

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı

**SEBOREİK DERMATİTLİ HASTALAR İLE TOLL-LİKE
RESEPTÖR 2 EKSPRESYONU VE GEN POLİMORFİZMİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet ATEŞ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Cemal BİLAÇ

Manisa, 2015

ÖNSÖZ

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, eğitimimde özverili çabalar gösteren ve uzmanlık tezimin konusunun belirlenmesinden, basım aşamasına gelinceye kadar desteklerini esirgemeyen tez danışmanı değerli hocam Sayın Doç. Dr. Cemal BİLAÇ'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Işıl İNANIR'a, Sayın Prof. Dr. Serap ÖZTÜRKCAN'a, Sayın Prof. Dr. Kamer GÜNDÜZ'e, Sayın Prof. Dr. M.Turhan Şahin'e, ve Sayın Prof. Dr. Aylin TÜREL ERMERTCAN'a ve ayrıca yetişmemde büyük emeği bulunan ve meslek yaşantımda örnek aldığım Sayın Doç.Dr. Gülsüm Gençdoğan'a teşekkür ederim.

Tezimin başlangıcından sonuna kadar çalışmalarım sırasında değerli desteklerini esirgemeyen CBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Sırrı ÇAM ile Uzm.Dr. Safiye ULUÇAY'a teşekkür ederim. Çalışma süresince Tıbbi Genetik Laboratuvarında primer desteğinden dolayı Araştırma Görevlisi Burak BATIR'a ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan CBÜ Tıp Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ahmet VAR ile Dr. Raziye YILDIZ'a teşekkürü borç bilirim.

Bugünlere gelmemde emeklerini yadsıyamayacağım, annem, babam ve kardeşlerim ile gerek asistanlık, gerekse tez hazırlıkları sürecinde verdiği destek için, benimle her türlü güzelliği, zorluğu, paylaşan sevgili eşim CBÜ Dermatoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Lale ATEŞ'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KONU	Sayfa
------	-------

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
Kısaltmalar.....	iv
Tablolar dizini.....	iv
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Seboreik Dermatit.....	2
2.1.1 Tanım ve Tarihçe.....	2
2.1.2 Epidemiyoloji.....	2
2.1.3 Etyopatogenez.....	3
2.1.3.1 Malassezia Teorisi.....	3
2.1.3.2 İmmünolojik Faktörler.....	6
2.1.3.3 Sebum.....	8
2.1.3.4 Diğer Faktörler.....	8
2.1.4 Klinik Bulgular.....	10
2.1.4.1 İnfantil Seboreik Dermatit.....	10
2.1.4.3 Erişkin Tipi Seboreik Dermatit.....	10
2.1.5 Histopatoloji.....	11
2.1.6 Ayırıcı Tanı.....	12

2.1.7 Tedavi.....	13
2.1.7.1 Topikal Tedavi.....	13
2.1.7.2 Sistemik Tedavi.....	15
2.1.8 Prognoz.....	16
2.2 Toll-Like Reseptörler.....	16
2.2.1 Toll-Like Reseptörlerin Yapısı.....	16
2.2.2 TLR: Dermatolojik Hastalıklardaki Rolü.....	22
2.2.3 TLR: Deri Hastalıklarının Tedavisindeki Rolü.....	26
2.2.4 TLR-2 Geni ve Fonksiyonu.....	28
2.2.5 TLR-2 Gen Polimorfizmleri.....	28
 III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
 IV. BULGULAR.....	38
 V. TARTIŞMA.....	45
 VI. SONUÇ.....	52
 VII. ÖZET.....	55
 VIII. SUMMARY.....	57
 IX. KAYNAKLAR.....	59
 X. EKLER.....	80

KISALTMALAR

TLR2: Toll-Like Reseptör 2

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

SD: Seboreik dermatit

M.pachydermatis: Malassezia pachydermatis

M.furfur: Malassezia furfur

M.sympodialis: Malassezia sympodialis

M.restricta: Malassezia restricta

M.slooffiae: Malassezia slooffiae

M.obtusa: Malassezia obtuse

M.globosa: Malassezia globosa

HCV: Hepatit C virüs

IL: İnterlökin

AhR: Aril hidrokarbon reseptör

C.albicans: Candida albicans

P.acnes: Propionibacterium acnes

S.aureus: Staphylococcus aureus

C5: Kompleman 5

UVB: Ultraviyole B

PAMP: Pathogen-associated molecular pattern

PRR: Pathogen recognition receptor

TIR: Toll/interlökin -1 receptor

TRAM: Toll-receptor associated molecule

IRAK-1: İnterlökin-1 ilişkili kinaz

LPS: Lipopolisakkarit

TH1: T-helper 1

R753Q: Arjinin753Glisin

TABLolar

- Tablo 1: TLR ailesi ve ligandları
- Tablo 2: TLR'ler ile ilişkili deri hastalıkları
- Tablo 3: Toll-like reseptörlerin terapötik hedefleri
- Tablo 4: Projede kullanılan makine ve teçhizatlar
- Tablo 5: PCR için kullanılan forward ve reverse primerler
- Tablo 6: Çalışmada kullanılan enzimler ve özellikleri
- Tablo 7: rs5743708 polimorfizminin enzim kesimi sonucu oluşan kesim ürünleri
- Tablo 8: Seboreik dermatitli hastalarda klinik semptomlar arasındaki korelasyon
- Tablo 9: SD hastaları ve sağlıklı kontrol grubunda TLR2 Arg753Gln polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı
- Tablo 10: TLR2 gen polimorfizmi saptanan hastalarda monositlerdeki TLR2 yüzey ekspresyon oranları
- Tablo 11: Semptomların derecesi ile TLR2 ekspresyon oran arasındaki ilişki

ŞEKİLLER

Şekil 1: TLR sinyal iletim yolları

Şekil 2: rs5743708 polimorfizm bölgesine spesifik PCR jel görüntüleri

Şekil 3: Hasta grubunda rs5743708 polimorfizm bölgesinin enzim kesimi jel görüntüleri

Şekil 4: Kontrol grubunda rs5743708 polimorfizm bölgesinin enzim kesimi jel görüntüleri

Şekil 5: Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet ve yaşa göre dağılımı

Şekil 6: Hasta grubunda lezyonların dağılımı

Şekil 7: Seboreik dermatitli hastalarda semptomların şiddeti

Şekil 8: Hasta ve kontrol grubunda TLR2 monosit yüzey ekspresyon oranları

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Seboreik dermatit toplumda sık görülen ve hastalarda yaşam kalitesini olumsuz etkileyen, etiyolojisi tam aydınlatılamamış bir hastalıktır. Saçlı deri, yüz orta hat, kulaklar ve presternal bölge gibi seboreik alanları sık tutmaktadır. Hastalığın hem genetik hem de çevresel faktörler ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir ve etiyolojide *Malassezia* türü mantarlar ile direkt bağlantısı olduğu bilinmektedir. AIDS, organ transplantasyonu sonrası, kronik alkolik pankreatit ve çeşitli malignitelerde insidansının yüksek olması, seboreik dermatit patogenezinde immünolojik bazı değişikliklerin rol oynadığını göstermektedir.

Toll-like reseptörler (TLR), doğal ve adaptif immünitinin başlamasında görevli bir protein ailesidir. TLR2 ve TLR4 gram negatif bakteriler, *Candida albicans*, maya türü mantarlara karşı immün yanıtı uyarmaktadır. Deri için hem kommensal hem de patojen olabilen *Malassezia furfur* ile enfekte olmuş keratinositler ve psoriatik deri biyopsilerinde yapılan çalışmalarda TLR2 up-regülasyonu saptanmıştır. Seboreik dermatit şiddeti ile lezyon bölgesindeki *M.furfur* yoğunluğu arasında da pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Ancak seboreik dermatitli hastalarda TLR2 regülasyonu ve bu hastalardaki TLR2 gen polimorfizmi ile ilgili bir çalışma yoktur.

Bu çalışmada seboreik dermatitin patogenezinde rol oynadığı düşünülen Toll-like reseptör 2'nin ekspresyon düzeylerinin ve gen polimorfizminin saptanması amaçlandı. Toplumda sık görülen bir dermatit olan seboreik dermatitin patogenezinde, TLR'lerin yeri ve önemini aydınlatarak TLR'ler üzerinden etkili olabilecek yeni ilaçların gelişimini teşvik etmek, hastalığın daha etkin ve spesifik şekilde tedavisinin sağlanmasının yolunu açacaktır.

II. GENEL BİLGİLER

2.1 SEBOREİK DERMATİT

2.1.1 Tanım

Seboreik dermatit (SD), sık görülen, eritemli ve yağlı skuamlı plaklarla kendini gösteren, kronik, tekrarlayıcı bir inflamatuvar deri hastalığıdır. İlk olarak 1887 yılında Paul Gerson Unna tarafından tanımlanmış olan SD, saçlı deri, yüz (nazolabial oluklar, kulaklar, kaşlar) ve presternal bölge gibi derinin sebundan zengin alanlarını sık tutmaktadır. Bazı hastalarda SD inflame eritematöz follikülit ve blefarit şeklinde de karşımıza çıkabilmektedir (1). İnfantil ve erişkin başlangıçlı olmak üzere iki formu vardır (2).

2.1.2 Epidemiyoloji

Seboreik dermatit, infantlarda, adolesanlarda ve genç erişkinlerde sık görülmekte ve insidansı 50 yaşından sonra ikinci bir artış göstermektedir. İmmünkompetan bireylerde görülme sıklığı %1-3, genç erişkinlerde %3-5 oranında olup erkekleri daha sık etkilemektedir (2,3). Erişkin form 4. ve 6. onyıllarda zirve yapıp kronik bir seyir gösterirken, infantil form yaşamın ilk 3 ayında ortaya çıkıp kendi kendini sınırlar (4).

Prevalansın immün yetmezliği olanlarda daha yüksek olduğu, AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) hastalarında ise %30-83'e ulaştığı bildirilmektedir (5). Aynı zamanda Parkinson hastalığı (6), tardiv diskinezi (7), depresyon (8) gibi nörolojik ve psikiyatrik hastalığı olanlar ile Down sendromu (9), Hailey-Hailey hastalığı (10) ve kardiyofasiyokutanöz sendrom (11) gibi genetik hastalığı olanlarda da SD sıklığı normal popülasyondan fazladır.

2.1.3 Etyopatogenez

SD nedeni tam olarak aydınlatılamamış, endojen ve eksojen faktörler tarafından tetiklenen multifaktöriyel bir deri hastalığıdır. Herediter yatkınlığa dair bir kanıt yoktur (12). Stres, mikroorganizmalar, nutrisyonel faktörler, ilaçlar, klimakterik değişiklikler, immünolojik defektler SD etyopatogenezinde değişen oranlarda rol oynamakta ve hastalığın şiddetini etkilemektedirler (1).

İnfantlar dışında erkeklerde sık görülmesi ve pubertal dönemde ortaya çıkmaya başlaması etyopatogeneizde androjenler başta olmak üzere hormonal değişikliklerin de rol oynadığını düşündürmektedir (2,13).

2.1.3.1 Malassezia Teorisi

Malassezia türü mantarların varlığı 1846 yılında ilk olarak Eichstedt tarafından pitiriyazis versikolor tanılı bir hastadan alınan örneklerde maya ve hiflerin bulunması ile gösterilmiştir. 1873 yılında Rivolta mayaların saçlı deri kepeklenmesi olanlarda da bulunduğunu ileri sürmüştür. Ardından Malassez, saçlı deri kepeklenmelerinde hem oval hem de yuvarlak sporlar bulunduğunu keşfederek 1889 yılında *Malassezia* türünü tanımlamıştır. Saboraaud, saçlı deri kepeklenmelerine neden olan mantarlar ile pitiriyazis versikolora neden mantarlar arasında morfolojik benzerlikler olduğunu belirtip saçlı deri kepeklenmelerine neden olan türe *Pityrosporum malassezii* adını vermiştir. Moleküler genetik tekniklerinin gelişmesiyle birlikte yapılan taksonomiden sonra *Pityrosporum* adı maya şekli için, *Malassezia* adı ise miçelli şekli için kullanılmaktadır (14).

Malassezia mantarları, insan ve hayvan derisinde kıl follikül açıklıklarında kommensal olarak bulunan bir mantar türüdür (15). *Malassezia* cinsi, *Blastomycetes* sınıfında *Cryptococcaceae* ailesinde bulunmaktadır (16). Dimorfik, hem maya hem de miçelli şekilde bulunabilen mantarlar olup,

uzun zaman her iki fazı ayrı cinsler olarak kabul edilmiştir (17). *In vitro* aerop koşullarda normal olarak üreyebildiği gibi mikroaerofilik ve anaerop koşullarda da üreyebilir (18). Lipidleri tek karbon kaynağı olarak kullanabildiklerinden *M.pachydermatis* dışındaki türler lipofiliktir (19). Zengin enzimlere ve metabolitlere sahiptir. Mantar hem *in vitro* hem *in vivo* lipaz üretimine işaret eden lipolitik aktivite gösterirler. Lipaz hücre duvarında ve/veya sitoplazma zarında yerleşmiştir. *In vitro* fosfolipaz da üretirler (17, 20-22).

Malassezia türlerinin insan derisinde kommensal olarak bulunan 14 lipofilik türü izole edilmiş ve en sık rastlanan yedi türün *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatitis*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. obtusa* ve *M. globosa* olduğu gösterilmiştir. Bergbrant ve Faagermann derinin lipid seviyesine bağlı olarak *Malassezia* türlerinin derideki yoğunluğunun yaşla artıp azaldığını, 30 yaşındaki bir bireyin mantarı 40 ve 80 yaş gruplarındakilerden daha yüksek oranda taşıdığını göstermişlerdir (23).

Malassezia mantarları hem insanlarda hem hayvanlarda birçok hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Bunlardan ilk tanımlananlar; mantarların doku invazyonu sonucu oluşan pitiriyazis versikolor ile daha az görülen ve intravenöz lipid alanlarda gelişebilen sistemik mantar enfeksiyonlarıdır. Ayrıca immünolojik mekanizmalar aracılığı ile seboreik dermatit, psoriasis ve bazı fasiyal atopik dermatit formları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yeterli bilimsel kanıt olmamakla beraber konfluent ve retiküle papillomatozis, onikomikozis gibi hastalıkların patogeneğinde de rol oynadığı ileri sürülmüştür (24).

Deride lipidden zengin bölgelere dağılırlar ve bu bölgelerde seboreik dermatitin sık görülmesi mikroorganizma ile SD arasında direkt bir ilişki olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte hastalığın tedavisinde antifungal ajanlara yanıtın iyi olması *Malassezia* türü mantarların hastalığın ortaya çıkma nedenlerinden biri olduğunu desteklemektedir (14). Nistatin tedavisine yanıt veren saçlı deri seboreik dermatitli hastalarda nistatin-dirençli

Pityrosporum rekolonizasyonu ile beraber hastalıkta nüks olduğunun gösterilmesi de nedensel ilişkiyi destekler niteliktedir (25). Seboreik dermatitli hastalarda *Malassezia* ile ilişkili hastalıklar olan pitiriyazis versikolor ve pitirosporum folliküliti gibi hastalıklar da sık görülmektedir (26, 27).

Pitiriyazis versikolorda ışık mikroskobu ile mikroorganizmanın patojenik miçel fazı görülebilirken seboreik dermatit bu mikroskobik değişiklikler ile ilişkili değildir. Seboreik dermatit şiddeti ile mantar yoğunluğu arasında korelasyon olduğu bilinmekte, ancak mekanizma açıklanamamaktadır (28-30).

SD patogenezinde, *M. restricta* ve *M. globosa* türlerinin öne çıktığı kabul edilse de bazı çalışmalarda *M. furfur*, *M. sympoidalis*, *M. obtusa*, *M. slooffiae* türlerinin de etkili olduğu ileri sürülmüştür (31, 32). Bir çalışmada normal deride baskın olan *M. sympoidalis* türünün aksine, SD hastalarında predominant türün *M. globosa* olduğu görülmüştür (33). Bir başka çalışmada lezyonlu deride *M. globosa* ve *M. restricta*, kontrol grubunda *M. globosa* baskın bulunmuştur (34). Bu altı lipofilik türün prevalansı ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmesinin coğrafik şartlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (1).

İnflamatuar dermatozlarda *Malassezia* türlerinin üç ana mekanizma ile inflammatuar cevabı artırdığı düşünülmektedir. Bu mekanizmalar: epidermal bariyer fonksiyon bozukluğu yapmaları, lokal olarak bir dizi interlekin (IL) salınımına neden olmaları ve *Malassezia* türleri tarafından üretilen allerjenlere karşı çapraz reaksiyon oluşturmalarıdır (35).

Genom analizlerinde *M. globosa* ve *M. restricta* türlerinde lipaz ve fosfolipaz enzimleri ailesinden enzimler kodlayan genler tespit edilmiştir ve bu bilgi, türün lipid bağımlı olmasını açıklamaktadır. Artmış lipaz ve fosfolipaz sekresyonu *in vivo* olarak dört SD hastasında gösterilmiş, lezyon bölgesinden izole edilen *Malassezia* zincirlerinde β -endorfin stimülasyonu ile *in vitro* fosfolipaz üretiminin arttığı saptanmıştır (36, 37). Konakçı üzerine invazyon

ve disseminasyonda bu enzimlerin salınımı önemlidir (38). Mantar, uygun koşullar oluştuğunda saprofit maya şeklinden fırsatçı patojen miçelli şekle dönüşür ve keratinositlerin hem aralarına hem de içlerine nüfuz ederek stratum korneuma invaze olur (39, 40). Lipaz aynı zamanda araşidonik asit salınımına yol açarak inflamasyona sebep olmaktadır (41).

M. furfur deride kommensal olarak yaşayan non-patojenik bir mikroorganizma olup uygun koşullar altında patojenik forma dönüşebilmektedir (42). Yüksek yoğunluklarda derinin bariyer fonksiyonunu bozarak inflamasyonu uyatabilmektedir (43). Deri kazıntıları ve mikolojik analizler, SD hastalarında *M. furfur* sayısında normal popülasyona göre artış olduğunu göstermiştir (44). *M. furfur*'a karşı yama testi pozitifliği atopik dermatitli hastalarda sıklıkla saptanırken seboreik dermatitli hastalarda daha nadirdir (45-47).

SD patogenezinde defektif epidermal bariyerden penetre olan oleik asit gibi *Malassezia* metabolitleri ile hastalığa duyarlılık arasında ilişki olduğu geliştirilen son güncel hipotezlerdir (48). *M. furfur* tarafından üretilen *Malassezin* ve indol-3-karbaldehitin farelerde aril hidrokarbon reseptör (AhR) aracılığı ile TH17 hücre differensiyasyonu ve inflamasyona neden olduğu gösterilmiştir (49, 50). Seboreik dermatitte lipofilik *Malassezin* ve indol3-karbaldehit defektif epidermal bariyerden geçerek granüler ve spinöz tabakaya ulaşabilir ve AhR'leri uyabilir (48).

2.1.3.2 İmmünolojik Faktörler

Seboreik dermatitin immünsuprese bireylerde sık görülmesi hastalığın patogenezinde immün mekanizmaların önemli rol oynadığına işaret etmektedir (51, 52).

SD ile ilgili hem humoral hem de hücrel immünite çalışmaları yapılmış olup sonuçlar çelişkilidir. Bir çalışmada (53) hastaların %68'inde

düşük CD4+/CD8+ oranı saptanmış olup, başka bir çalışmada (54) ise bu oranın normal seviyelerde olduğu gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada CD4+/CD8+ oranı normal iken hastaların %28'inde B hücre sayısında azalma ve %48'inde NK hücre sayısında artma olduğu bildirilmiştir. SD hastalarında HIV enfeksiyonlu ile ilişkiyi açıklayabilecek spesifik bir T hücre fonksiyon bozukluğu saptanmamıştır (52). Aynı zamanda kontakt duyarlanma da bulunmamaktadır (47).

Bir çalışmada *Malassezia* mantarlarının dış yüzeyini kaplayan lipid zengin mikrofibriler tabakanın proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı gösterilmiştir (55). SD lezyonlarında ise mantarın lipid üretiminde bozukluk olduğu ve değişikliğe uğramış lipid tabakanın inflamasyona sebep olabileceği düşünülmektedir (56). *Malassezia* türü mantarların neden olacağı immün yanıtın mantar hücre duvarındaki lipid tabaka yapısına bağlı olması nedeniyle *Malassezia* tarafından stimüle edilen inflamatuvar sitokinler ile ilgili çalışma yapmak zordur (1).

Oksidatif stresin de SD patogenezinde rolü olabileceği belirtilmiştir (57). SD tanısı almış 54 hasta ve 54 sağlıklı kontrol ile yapılan bir çalışmada ortalama total antioksidan durumu hasta grubunda daha düşük ($P=0.024$), total oksidatif durum ve oksidatif stres indeksi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Reaktif oksijen radikallerinin hücre membranında lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve inflamatuvar sitokin salınımına neden olarak inflamasyona neden olduğu zaten bilinmektedir (58). Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda SD lezyonlarının olduğu alanlarda interleükin (IL)-1a, IL-1b, tümör nekroz faktör alfa, interferon- γ , IL-12 ve IL-4 seviyelerinde lezyonsuz bölgelere göre artış olduğu gösterilmiştir (59).

Seboreik dermatit patogenezinde *Malassezia* türlerinin proliferasyonuna bağlı olarak immünolojik yanıt tetiklenebilir ve bunun sonucu olarak inflamasyon ve SD lezyonlarında alevlenme olabilir; ancak inflamatuvar yollar henüz iyi açıklanamamıştır (60).

2.1.3.3 Sebum

Seboreik dermatitli hastalarda sebum düzeyleri ve sebum sekresyonu artmıştır. Yenidoğanda geniş sebase glandlar ve yüksek sebum oranları olduğu gösterilmiştir. İnfantil seboreik dermatitte gözlenen yüksek sebum, maternal androjen uyarımının etkisi ile oluşmaktadır. Altı aylıktan büyük bebeklerde sebumun azalması ile birlikte lezyonların gerilemesi, seboreik dermatitte sebumun rolünü desteklemektedir (61).

Seboreik dermatitin Parkinson hastalığı, fasiyal paralizi, poliomyelit, siringomyeli, epilepsi, kuadripleji, gasser ganglionunun tek taraflı yaralanması gibi nörolojik bozukluklarda immobiliteye bağlı sebum birikiminde artış nedeni ile sık görüldüğü düşünülmektedir. Sebase glandların nöral kontrolüne ait kanıt gösterilememiştir (62).

2.1.3.4 Diğer Faktörler

Seboreik dermatit tamamen yapısal bir sorun olmakla birlikte, atakların büyük çoğunluğu strese bağlı olarak gelişmektedir. Stres ve SD ilişkisi çift yönlüdür; stres sonucu hastalık ortaya çıkabileceği gibi, deri hastalıklarında şekil bozuklukları ya da kronik seyir nedeniyle stres ortaya çıkabilir. Böylece döngüsel bir çerçevede karmaşık olaylar silsilesi gelişir. Literatürde, SD etiyopatogenezinde emosyonel faktörlerin etkinliğine dair farklı bilgiler yer almaktadır. Bazı klasik kitap ve yayınlarda SD'in etiyopatogenezinde emosyonel faktörlere değinilmemesine karşın, emosyonel tetikleyici faktörlerin %40 oranında etkili olduğunu bildiren kaynaklar da mevcuttur (63). Seboreik dermatitli hastalarda anksiyete ve depresyon yüksek oranda bulunmaktadır (64).

Etiyopatogenezde etkili olabileceği düşünülen bir diğer faktör hormonal faktörlerdir. İnfantil SD hariç puberte öncesinde nadir görülen SD, sıklıkla

sebase glandların en aktif olduğu adölesan ve genç erişkin dönemde görülür. Neonatal formunun genellikle 6-12. aylarda kaybolması hastalığın androjenik maternal hormon stimölasyonuna bir cevap olarak geliştiğini düşündürmektedir. Yapılan araştırmalarda, sebase bez hücrelerinin androjen stimölasyonuna cevap verdiği görölmüştür (65). Hastalığın puberte dönemi dışında da görülmesi ve erkeklerde daha sık gözlenmesi, androjenlerin pilosebace ünite etki ettiklerini düşündürmektedir. Erkeklerde daha sık görülmesinin bir nedeni olarak da, sebase bez aktivitesinin androjen kontrolü altında olması gösterilmiştir (2).

Malassezia dışında bazı mikroorganizmaların da SD patogeneğinde etkili olabileceğine işaret eden çalışmalar vardır. Bunlardan *Candida albicans* genellikle infantil seboreik dermatitli hastaların deri lezyonları ve dışkı örneklerinde bulunmuştur. *C. albicans*'ın infantil seboreik dermatit patogeneğinde etkili olabileceği düşünölmüştür, fakat en önemli etiyolojik ajanlardan birisi değildir. AIDS'li hastalarda genellikle seboreik dermatit gelişiminden önce oral kandidiyazis öyküsü bulunmaktadır (66, 67). Bir diğeri mikroorganizma *Staphylococcus aureus*, genellikle infantil ve erişkin seboreik dermatit kültürlerinde tespit edilmektedir. *Propionibacterium acnes*, seboreik dermatitli hastalarda genellikle düşük olarak bulunmaktadır. Seboreik dermatitli hastaların deri yüzeyindeki *P. acnes* sayısının az olması, deri yüzeyindeki düşük serbest yağ asidi düzeyleri ile açıklanabilmektedir (66).

İlaçlardan altın, simetidin, klorpromazin, fenotiazin, karbamezepin, buspiron, interferon alfa, etionamid, lityum, psoralen ve stanozolol gibi ilaçlar SD benzeri lezyonlara neden olabilmektedir. Bu ilaçların SD lezyonlarını ortaya çıkarma mekanizması bilinmemektedir. Özellikle metildopa, simetidin ve klorpromazine bağılı ilaç erupsiyonları SD kliniğini taklit edebilmektedir (68, 69).

Nutrisyonel faktörler de etiyolojide diğeri faktörler kadar etkilidir. Serum bakır ve magnezyum düzeyleri seboreik dermatitli hastalarda yüksek olarak tespit edilmiştir. Bakır seruloplazmin komponentidir. Bakırdaki yükseklik bu

antiinflamatuvar plazma proteininin yansımaya bağı olabılır (70).

Etkili olabilecek diğeri etiyojik faktörler genetik, nem, sıcaklık, alkolik pankreatit, HCV enfeksiyonu ve çeşitli kanserlerdir (71-73).

2.1.4 Klinik Bulgular

2.1.4.1 İnfantil Seboreik Dermatit

Halk arasında “konak” olarak adlandırılan infantil seboreik dermatit tipik olarak ilk önce saçlı deriyi tutar. Saçlı deride yağlı, kalın, sarı renkte skuamlar şeklinde görülür ve saç dökülmesi yapmaz. Yüz, gövde ve intertriginöz bölgeleri etkileyebilmesinin yanı sıra eritrodermi tablosuna da neden olabilir. Özellikle intertriginöz alanları tuttuğunda sekonder olarak kandida ve *S. aureus* enfeksiyonları eklenebilir. Atopik ya da psoriaze eğilimli bebeklerde daha sık rastlanabilir (2, 66).

Bebeklerde görülen, seboreik dermatite bağı eritrodermi, ateş, anemi, kusma, ishal ve lenfadenopatinin eşlik ettiğii durum Leiner hastalığı olarak adlandırılmaktadır. Ölümle sonuçlanabilen bu hastalık C5 eksikliği ve nötrofil fonksiyon bozuklukları ile ilişkili bulunmuştur (74). Ancak orijinal bildirilerde 30 yıldan daha fazla süredir Leiner hastalığı yayımlanmamıştır ve ayrı bir durum olduğundan şüphelenilmektedir (4).

2.1.4.2 Erişkin Tipi Seboreik Dermatit

SD deri lezyonları sarı-yağlı skuamli, orta derecede veya belirgin eritemli, infiltrasyon gösteren plaklar şeklindedir. Erişkinlerde saçlı deri, yüz bölgesi, retroauriküler bölge, dış kulak yolu, presternal, interskapular ve fleksural bölgeler gibi seboreik alanlarda lokalizedir (4). Saçlı deri lezyonları

inflatuar veya non-inflatuar olabilir. Halk arasında “kepek” olarak bilinen ve en sık görülen skalp seboreik dermatit formu olan pitiriazis sikkâda eritem olmaksızın gevşek, beyaz, diffüz skuamalar görülür. İnflatuar tipte ise yağlı sarı skuamalar, somon rengi-turuncu eritemli plaklar sıklıkla temporoparietal bölgede görülür. Alın saçlı deri sınırı tutulabilir, keskin sınır görülmez. Yüz lokalizasyonunda özellikle nazolabial oluk, göz kapağı, kaşlar ve glabellayı tutar, blefarit eşlik edebilir. Dış kulak yolu tutulumunda otitis eksterna gelişebilmektedir (2, 67).

Adölesan ve erişkinlerde gövde tutulumu en sık petaloid formdadır. Lezyonlar kırmızı-kahverengi folliküler ve perifolliküler papüller olarak başlayıp yuvarlak veya sirsine şekiller oluşturarak çevreye yayılan yağlı skuamlı yama ve plaklar şeklindedir. Daha nadir görülen diğer klinik formları pitiriaziform, fleksural, ekzematöz plak ve foliküler tablolar şeklindedir. Pitiriaziform tipte ise lezyonlar yaygın makül ve yamalar şeklinde olur ve pitiriazis roseaya benzer. Lezyonlar nadiren eritrodermiye neden olacak kadar generalize olabilir. Fleksural tutulumlarda ise skuamalar çok belirgin değildir ve genellikle süperenfeksiyon eşlik eder (13).

Bir diğer klinik form olan pitiriazis amiantasea, özellikle çocukluk çağında görülen ve saçlı deride kalın skuamalarla karakterize bir tablodur. Saçın özellikle proksimal kısmını tutar. Saçlı deride tek veya multipl, kalın, gümüş rengi, saça yapışık skuamalarla başlar ve skuamaların kalınlığı giderek artarak kılları bir kılıf gibi sarar. Skuamaları kiremitlerin dizilişine benzer ve üst üste birikerek tabakalaşan bu pullanmalar kaldırmaya dirençlidir. Deri normal görünümde veya eritematöz olup, hafif sızıntılı olabilir. Atrofi, sikatris veya alopesi yoktur (75).

2.1.5 Histopatoloji

Seboreik dermatit lezyonlarının histopatolojisi, psoriazis ve spongiotik dermatitin histopatolojik özelliklerinin kombinasyonu şeklindedir. Hafif-orta

şiddette hastalığı olan vakaların histopatolojisinde sadece subakut spongiotik dermatit bulgularına rastlanır. Stratum korneumda özellikle folliküler alanları tutan fokal parakeratoz görülür. Parakeratotik alanlarda ve skuam-kрут formasyonu içerisinde piknotik nötrofiller bulunur. Orta derecede bir akantoz ve spongioz ile fokal ekzositoz diğer histopatolojik bulgularıdır. Dermiste ise nötrofil ve lenfositlerden oluşan perivasküler seyrek mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenir (76).

2.1.6 Ayırıcı Tanı

İnfantharda ayırıcı tanıda atopik dermatit, irrtan bez dermatiti, infantil psoriasis akla gelmelidir. Atopik dermatitten daha erken yaşta başlaması, kaşıntı olmaması, dağılım paterninin farklı olması ve inflamasyonun daha az olması ile ayrılır. İrttan bez dermatiti bez bölgesine sınırlıdır ve seboreik dermatitin tersine kıvrım bölgesi korunmuştur. İnfantil psoriasisın ise klinik ve histopatolojik olarak ayrımı zor olabilir.

Ergenlik öncesi çocuklarda saçlı deride kepeklenme olduğu zaman tinea kapitis ayırıcı tanıda düşünölmelidir. Özellikle, *Trichophyton tonsurans'a* bağılı enfeksiyonlar alopesinin olmadığı kepeklenmelerle kendini gösterir.

Erişkin seboreik dermatinin ayırıcı tanısında birçok antite vardır. Saçlı derinin seboreik dermatinin psoriasisden ayrımı zor olabilir ve iki hastalık üst üste olabilir. Bununla birlikte psoriasis plakları daha kalın, sedefi beyaz kepekli, daha ayrı, az kaşıntılı ve sebore ile ilişkisiz olma eğilimindedir. Atopik dermatitte olduğu gibi kuru kırılğan saçla beraber saçlı derinin kuru kepeklenmesi de sıklıkla seboreik dermatit ile karıştırılan bir durumdur. Dermatomyozitte de saçlı derinin arkasında orta derecede eritem ve kepeklenme görölebilir, ancak dermatomyozitin karakteristik diğer lezyonlarının bulunması ile ayırt edilebilir.

Yüz bölgesinin seboreik dermatiti ise erken dönem rozasea ve sistemik lupus eritematozusun keşek lezyonundan ayırt edilmelidir. Gövde

lezyonlarının ayırıcı tanısı psoriazis, subakut kutanöz lupus eritematozus ve pitiriyazis roseayı içerir. İntertriginöz bölgelerin seboreik dermatiti eritrazma, invers psoriazis, kandidiyazis ve nadir olarak langerhans hücreli histiyositoz ile karışabilir (4).

2.1.7 Tedavi

2.1.7.1. Topikal Tedavi

SD tedavisinin ilk basamağını çinko piritiyon, azoller, allilaminler, benzilaminler (butenafin) ve hidroksipiridonları kapsayan topikal antifungal ajanlar oluşturur (77). Bu ajanların antifungal etkilerinin yanı sıra antiinflamatuvar etkileri de bulunmaktadır (78). Başlıca tedavi seçeneği olarak görülen ketokonazol gibi topikal azollerin etkinlikleri (yanıt oranları %75-90) çift kör çalışmalarda bildirilmiştir (4). Siklopiroksolamin ile yapılan çift kör, randomize kontrollü çalışmalar, %1'lik şampuan formunun saçlı deri SD'i için etkili bir tedavi olabileceğini göstermektedir. Hafif veya orta dereceli yüz tutulumu olan SD'li hastalarda siklopiroksolamin %1 krem formunun başlangıçta dört hafta süreyle günde iki kez, idame fazında günde bir kez uygulanmasının etkili olduğu bildirilmiştir (79, 80). Ayrıca fasiyal SD'li hastalarda, %2 ketokonazol kreme geçerli bir alternatif olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir (80).

İkinci plan tedavide salisilik asit veya kömür katranı gibi keratolitikler, yoğun kabukları kaldırmak için kullanılabilir. Sülfür keratinositlerle etkileşerek hidrojen sülfid oluşumu sonucu keratolitik aktivite gösterir. Çinko piritiyon, nonspesifik bir keratolitik olması yanında antifungal etkiye de sahiptir. Çinko piritiyon ve katran ekstresi kombinasyonunun kaşıntı ve kepeklenmeyi iyileştirdiği gösterilmiştir.

SD tedavisinde sık kullanılan topikal steroidler ile hastalık belirtileri hızla

gerilemekle, ancak tedavi kesildiğinde yüksek oranda relaps görülmektedir. Kortikosteroidlerin losyon, pomad ve krem formları yüz ve vücudun her bölgesinde, solüsyonlar ise daha çok saçlı deride kullanılmaktadır. Topikal kortikosteroidler kaşıntı ve eritem kaybolana kadar 1-3 hafta süreyle her gün kullanılabilir (81). Betametazon valeratın %0.1'lik köpük formu ile yapılan bir çalışmada saçlı deri SD'in topikal tedavisinde etkili ve iyi tolere edilebilir olduğu gösterilmiş ve tedaviden sonraki iki ay boyunca hastaların %88'inde remisyona sürdüğü saptanmıştır (82). Saçlı deri SD tedavisinde kalsipotriol ve betametazon 17-valerat solüsyonunun etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada dört hafta süreyle günde iki kez uygulanan tedavi sonrasında betametazon valeratın kalsipotriolden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha etkili olduğu saptanmıştır (83).

Yeni tedavi seçeneklerinden takrolimus ve pimekrolimus, SD'te denenmiş ve etkili bulunmuştur (84). Bu ajanlar, T hücre aktivasyonu ve pro-inflamatuar sitokin üretimi için gerekli olan kalsinörünü inhibe ederek etki gösterirler. Antiinflamatuar özelliklerinden dolayı SD tedavisinde yararlı olabilirler (85-87). İn vitro çalışmalarda takrolimusun başka bir potansiyel etki mekanizması olarak *P. ovale*'ye karşı antifungal aktivite gösterebileceği ileri sürülmüştür (85). Benzer etki mekanizmasına sahip olan pimekrolimusun kalsinörün inhibisyonunun yanı sıra ayrıca mast hücre degranülasyonunu önlediği düşünülmektedir. SD, pimekrolimusun aracılık ettiği antiinflamatuar etkiye yanıt verir. Şiddetli olgularda veya düşük potens kortikosteroidlere yanıtız olgularda topikal kalsinörün inhibitörleri yararlı olabilir (86).

Dirençli hastalarda kepek şampuanı + antifungal + topikal steroid kombinasyonu ile yeterli etki sağlanamaz ise pulse tarzında daha güçlü bir topikal steroidün kısa süreli kullanımı, hastaları remisyona sokabilir ve total steroid maruziyetini azaltabilir. Kepek şampuanı, antifungal ajan veya her ikisini de içeren adjuvan tedavi, pulse period esnasında gereklidir ve idame tedavisi olarak sürdürülmelidir (81).

Bir diğer topikal tedavi seçeneği olan lityum bileşikler, lityum süksinat

pomad, %8 lityum süksinat ve %0.05 çinko sülfat kombinasyonu şeklinde bazı ülkelerde mevcuttur. Lityum süksinat pomadın, özellikle AIDS ile fasiyal SD'in birlikte izlendiği hastalarda günde iki kez uygulanmasının etkili olduğu gösterilmiştir (88). Orta şiddetli eritem ve deskuamasyonu olan fasiyal SD'li 288 hastayı kapsayan bir çalışmada lityum glukonat %8 pomad, %2 ketokonazol emülsiyon ile karşılaştırılmış ve lityum glukonat %8 pomadın daha etkili olduğu saptanmıştır. Daha yüksek bir tam remisyon oranıyla ketokonazole yeni bir alternatif tedavi olarak bildirilmiştir (89).

2.1.7.2 Sistemik Tedavi

Oral antifungal tedavi azoller ve allilaminleri kapsamaktadır. Ketokonazol 200 mg/gün dört hafta, itrakonazol 200 mg/gün bir hafta, terbinafin 250 mg/gün dört hafta kullanılmaktadır. Itrakonazolün sebum seviyesi dört günlük tedaviden sonra ketokonazol ve griseofulvin gibi antifungallerin sebum seviyelerinden çok daha yüksek bulunmuştur (77). Itrakonazol, aynı zamanda epidermal keratinositlerde IL-8 üretiminin inhibisyonu yoluyla nötrofil hareket ve kemotaksisini baskılayarak antiinflamatuvar özellikler gösterir. Bu çift etki, düşük doz itrakonazolün uzun süren terapötik etkisini açıklayabilir (90). Terbinafin ile yapılan kontrollü bir çalışmada dört hafta süreyle 250 mg/gün oral terbinafinin orta-şiddetli SD tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (91). Terbinafinin oral kullanımda, *P. ovale*'ye karşı etkili olmadığı bilinmekle birlikte seboreyi düzelterek maya gelişimini indirekt olarak etkileyebileceği öne sürülmüştür (92, 93).

Dirençli hastalıkta son çare olarak yağ bezi aktivitesini azaltmak için izotretinoin kullanılabilir. Şiddetli SD'in izotretinoin ile tedavisinin, yağ atılım oranını azalttığı ve SD'i anlamlı derecede iyileştirdiği saptanmıştır (94). İzotretinoin ile 0.1-0.3 mg/kg/gün dozunda bir tedavi, dört hafta sonra iyileşmeyle sonuçlanabilmektedir. İdame tedavisi olarak günde 10 mg'dan, haftada üç kez kadar çok düşük dozlar önerilmektedir (81, 94).

SD tedavisinde kullanılan diğ er sistemik tedavi seçenekleri dar band UVB (95) ve mevcut tedavilere cevapsız jeneralize SD lezyonlarında hızlı yanıt alınabilen sistemik glukokortikoidlerdir (96).

2.1.8 Prognoz

SD, konvansiyonel tedavilere yanıt veren ancak n ukslerle seyreden ve kendi kendini sınırlayan kronik bir hastalıktır. Yaz mevsimlerinde düzelme ve kış mevsimlerinde alevlenme eğilimindedir. Bebeklik dönemi ve adölesan SD'i yaşı ilerledikçe kaybolur. Özellikle bebeklerde lezyonların ilerlemesi ile eritrodermi gelişebilir. Uygulanan topikal tedavilere karşı gelişebilen kontakt dermatit, ikincil infeksiyonlar ya da ciddi SD formlarına eklenebilen dizhidrotik ekzema ile komplike olabilir. Seboreik dermatitin, hasta yaşıam kalitesini negatif yönde etkilediği gösterilmiştir (78).

2.2 TOLL L KE RESEPTÖRLER

2.2.1 Toll-Like Reseptörlerin Yapısı

Toll-like reseptörler, birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını sağlayan bir grup tip 1 transmembran proteinleridir. Toll-like reseptörler tek membranlı, non-katalitik bir reseptör grubudur. Vücuda girmiş olan mikroorganizmaları tanımada ve bağışıklık yanıtını oluşturmada görev alırlar. TLR'lerin immün sistemde anahtar rol üstlendikleri düşünülmektedir. İnfeksiyoz hastalıklara karşı immün sistemin şekillenmesinde ve patojenin tanınmasında da katkıları vardır (97).

İmmün sistem, doğal (nonspesifik) ve adaptif olarak iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir. Bu iki sistem birbiriyle çok hassas bir denge içerisinde olup konağı patojenlere karşı korumaktadır. Doğal

immünite, bir patojenle karşılaşınca ilk cevabı doğumdan itibaren oluşturabilen ve konağın kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip olan savunma sistemidir. Adaptif immün sistem ise immünolojik hafızanın gelişimi ve enfeksiyonun geç fazında patojenlerin ortadan kaldırılmasında görev yapar. Adaptif immün sistemin antijen tanıma kapasitesi çok geniş bir reseptör ağıyla spesifisiteyi sağlarken, doğal immün sistem patojenlerde ortak olan bir dizi moleküler yapıyı tanıyabilmekte ve böylece konağa ait olan ve olmayanı belirleyerek savunmayı başlatabilmektedir. Patojenler üzerinde bu evrimsel olarak korunmuş moleküler yapılara “pathogen-associated molecular pattern (PAMP)” denilmektedir (98-101). Doğal immün sistem hücreleri üzerinde bunları tanıyan reseptörlere de “Pathogen Recognition Receptor (PRR)” adı verilmektedir. Bu reseptörler, endositik, sekrete edilen ve sinyal ileten olmak üzere üç gruba ayrılır. Sinyal ileten reseptör grubunu TLR ailesi oluşturmaktadır. TLR’ler, mikrobiyal ajanlar tarafından üretilen PAMP’ları tanırlar (102).

Toll geni ilk olarak 1985’te Nobel ödüllü Christiane Nüsslein-Volhard, Eric Weischaus ve arkadaşları tarafından bir meyve sineği olan *Drosophila melanogaster*’de tanımlanmıştır. 1997 yılında bu reseptörün insan homologu tariflenmiş ve bu reseptörlerin doğal immün sistemin parçası olduğu görülmüştür (103). Bir grup PRR olan ve patojen tanınmasında, inflamatuvar ve immün sistem cevabının başlatılmasında oldukça önemli bir role sahip olan TLR, karakteristik olarak ekstraselüler lüsinden zengin tekrar bölgeleri (LRR) ve intraselüler toll/interlökin (IL)-1 reseptör (TIR) domaininden oluşur. TLR, PAMP ile bağlandığında, intrasitoplazmik TIR domaini aracılığı ile bir dizi sinyal iletim yolağı aktive olur. Bunun sonucu olarak antimikrobiyal protein ve inflamatuvar sitokinler sentezlenmektedir. Bunlara ek olarak dendritik hücrelerin maturasyonu ve antijen sunum kapasitesindeki artış ile beraber, doğal immün sistem adaptif immün sistemi yönlendirmektedir (104).

TLR’ler makrofajlar, monositler, dendritik hücreler, natural killer hücreler, B hücreler, T hücrelerin spesifik tiplerinin yanı sıra;

miyofibroblastlarda, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsakların matur ve immatur epitelial hücrelerinde, bağırsak submukozasının endotelial hücreleri ve adipositler gibi immün sistem hücresi olmayan hücreler üzerinde de sunulurlar. Değişik hücrelerde TLR ekspresyonunun varlığı doğal immün yanıtın yanı sıra adaptif immün yanıt, inflamasyon, inflamatuvar hastalıklar, kanser ve birçok hücre yanıtında TLR'lerin rolünü vurgulamaktadır (105).

Bugüne kadar TLR ailesinde 13 üye saptanmıştır. Farelerle birlikte insanda 13 TLR tanımlanmasına rağmen ayrı ayrı insanda 11, farelerde 12 TLR saptanmıştır (98-101). Farelerde sunulan TLR11, 12 ve 13'ün hiçbirisi insanda gösterilememiştir. Diğer memelilerde, insanda bulunmayan TLR'ler sunulabilir. Bu durum insan doğal immünitesinin modelleri olarak deneysel hayvanların kullanımını zorlaştırmaktadır (98, 106,107). TLR1, 2, 4, 5, 6 ve 10 hücre yüzeyinde sunulur ve aktivasyondan sonra fagozomlara göç eder. Halbuki TLR3, 7, 8 ve 9 hemen hemen tüm hücre tiplerinde, özellikle endozomlar ve endoplazmik retikulum başta olmak üzere hücre içi kompartmanlarda sunulur (105). TLR'ler ligandlarının yokluğunda nonkovalent dimerler oluştururlar (108). Her bir TLR'nin ligand spesifitesi farklıdır. Bunlardan TLR1-TLR9 arası ve TLR11'in ligandları belirlenmiş; TLR10, TLR12 ve TLR13'ün ligandları ise henüz bilinmemektedir (Tablo 1).

TLR'ler dimer olarak fonksiyon yaparlar. Çoğu TLR'lerin homodimer olarak işlev yaptıkları görülürken, TLR2 formları, TLR1 veya TLR6 ile heterodimer olup her bir dimer farklı bir ligand spesifitesine sahiptir. TLR5, TLR11, TLR4 ve TLR2&TLR1 ya da TLR2&TLR6 heterodimerleri, hücre yüzeyinde ilgili ligandlarına bağlanırken; TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 ve TLR 13 mikrobiyal ya da konak kökenli nükleik asitleri tanıdıkları endozomlarda yer alırlar. TLR4 hem plazma membranı, hem de endozomda konumlanmıştır. İlgili ligandların sebep olduğu reseptör dimerizasyonu ile TLR sinyalini başlatır (109-111).

Tablo 1. TLR ailesi ve ligandları

TLR	Ligandlar	Dağılım ve hücre lokalizasyonu	Sitokin indüksiyonu
TLR1	Mikobakteri: tri-açıl peptidler	İnsan ve farelerde sık yüzey ekspresyonu. TLR2 ile heterodimerizasyon	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.)
TLR2	Gram-pozitif bakteri: peptidoglikan, lipoprotein, ısı şok proteinleri	İnsan ve farelerde sık yüzey ekspresyonu. TLR1 ve TLR6 ile heterodimerizasyon	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.)
TLR3	Virüsler: çift sarmal DNA (dsDNA) Sentetik: polinosik polisitilik asid	İnsan miyeloid dendritik hücrelerde (mDC) ve fare monosit ve mesengial hücrelerde hücre içi ekspresyon	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.), IFN-1
TLR4	Gram-negatif bakteri: LPS (korereseptör CD14, LBP, MD-2)	Yaygın yüzey ekspresyonu. Sindirim sistemi epitelinde intrasellüler ekspresyon	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.), IFN-1
TLR5	Bakteri: flagellin	Sindirim sistemi epiteli dahil insan ve farede yaygın yüzey ekspresyonu	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.)
TLR6	Mikoplazma: diaçıl lipoproteinler	Öncelikle insan ve farede mDC, mast hücre ve B hücre yüzeyinde ekspresyon TLR2 ile heterodimerizasyon	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.)
TLR7	Virüsler: tek sarmal RNA Sentetik: imidazoquinolinler	İnsanlarda plasmasitoid Dendritik hücreler (pDC) ve B hücrelerde endosomal ekspresyon Farede mDCde ekspresyon	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.), IFN-1
TLR8	Virüsler: tek sarmal RNA Sentetik: imidazoquinolinler	İnsan miyeloid, NK ve T hücrelerinde endosomal ekspresyon Farelerde fonksiyonel değil	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.), IFN-1
TLR9	Virüsler ve bakteri: çift sarmal DNA Sentetik: CpG olidodeoksinükleotidler	İnsanlarda pDC, B hücreleri ve NK hücrelerinde endosomal ekspresyon Farelerde daha yaygın olarak doku ekspresyonu	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.), IFN-1
TLR10	Bilinmiyor	İnsan pDC ve B hücre yüzeyinde ekspresyon	Bilinmiyor
TLR11	Toxoplasma gondii: profilin Üropatojen bakteri	Fare üroepitel yüzeyinde eksprese edilir. İnsanlarda bulunmaz	İnflamatuar sitokinler (TNF- α , IL-6 vs.)

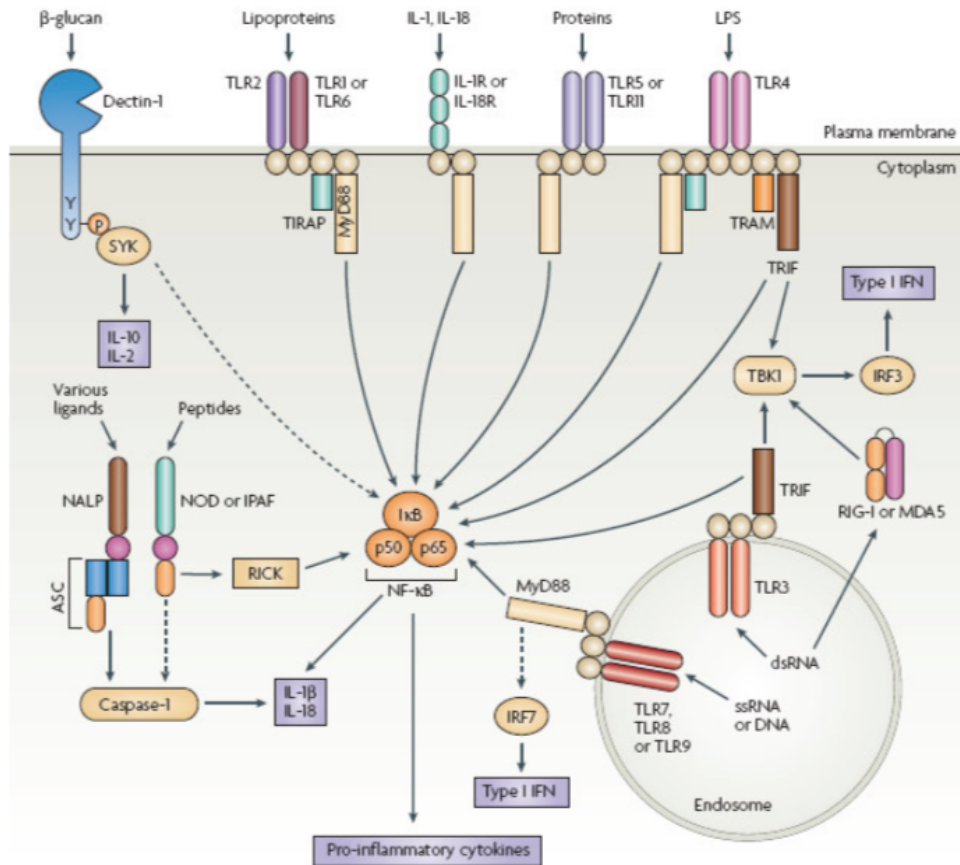
TLR sinyaline aracılık eden bazı adaptör proteinler ve kinazlar bulunur. TLR'ler aktive olduğu zaman bir sinyal üretmek için hücrenin sitoplazması içinde adaptör moleküller toplanır. Sinyalde beş adaptör molekül bulunmaktadır. Bu adaptör proteinler; myeloid farklılaşma faktörü 88 (MyD88), TIR domaini içeren adaptör protein (TIRAP)/MyD88-adaptorlike (Mal), TIR domain içeren adaptör protein uyaran IFN- β (TRIF)/TICAM-1, toll-receptor associated molecul (TRAM)/Tirp/TICAM-2 ve steril alfa ve armadilo motifleri (SARM) olarak bilinir (109-111). Bu adaptörler, hücre içinde diğer molekülleri aktive ederler ve inflamatuvar cevabı düzenleyen genlerin uyarılması veya baskılanmasına yol açarlar. Binlerce gen TLR sinyali ile aktive edilir (107, 109) (Şekil 1).

Toll-like reseptör sinyal yolu; MyD88 bağımlı sinyal yolu ve MyD88 bağımsız sinyal yolu olmak üzere iki yoldan oluşmaktadır. MyD88 bağımlı sinyal yolunda; MyD88 önemli rol oynayıp bu molekül TLR'nin sitoplazmik kuyruğuyla birleşir ve uç bölgesi IRAK-1 (IL-1R ilişkili kinaz) ile homofilik etkileşimde bulunarak bu molekülü reseptöre bağlar. MyD88 bağımsız/TRIF bağımlı sinyal yol, IFN- α 'yı indüklemek için TLR-3 ve TLR-4 aracılı sinyal yollarını kullanır. TLR sinyalleri, NF- κ B ve IFN regülatör faktör (IRF) içeren çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açabilir. Ardından çeşitli immün cevap genleri uyarılır. Her bir TLR, benzer sinyal yollarını aktive etmesine rağmen, bazı TLR'ler spesifik sinyal yollarını tetikler. Bu farklı indüksiyon paternleri TLR'lerin intrasitoplazmik bölgeleri ile birlikte olan sitoplazmik adaptör moleküllere bağlıdır (109, 112).

TLR aracılı NF- κ B'nin aktivasyonu ile salınan enzimler, sitokinler ve mediyatörler konağın antimikrobiyal savunmasını uyarır ve inflamatuvar olayları tetikler. Bu süreç patojenin ortadan kaldırılmasını sağlar. İnflamatuvar reaksiyon sınırlandırılmazsa, konak hücrelerinin harabiyetine neden olabilir. TLR aktivasyonu, patojenlerin fagositozunu uyarır, fagozom içeriğine karşı gelişen inflamatuvar yanıtı güçlendirir ve fagozomun maturasyonuna yardımcı olur. Böylelikle fagosite edilmiş bakterinin öldürülmesi kolaylaşır (113). TLR, farede intraselüler patojenlerin öldürülmesini sağlayan reaktif oksijen ve

nitrojen türevlerinin üretimine ve salgılanmasına neden olur (114). İnsan keratinositleri *S.aureus* ile uyarıldığında TLR2 tarafından, NF- κ B aracılığıyla nitrik oksit sentetaz, siklo-oksijenaz-2 ve IL-8 gen aktivasyonları sağlanabilmektedir (115). TLR aktivasyonu apoptoza da neden olabilir. Lipopolisakkaritlerin (LPS) ya da lipoproteinlerin, TLR4 ve TLR2/6 üzerinden apoptoza uyarabildikleri gösterilmiştir (113). Bellek T hücreleri üzerinde bulunan TLR2, aynı ajanla tekrar maruz kalındığında immün sistemin daha erken ve hızlı uyarılmasını sağlar. Otoimmün hastalıklarda, mikrobiyal enfeksiyonların ataklara neden olması aynı mekanizmayla olmaktadır (116).

Şekil 1. TLR sinyal iletim yolları (106)



TLR2, 4q31-32 kromozomda kodlanan, 784 aminoasitlik bir proteindir. 84kDa moleküler ağırlıktadır. TLR2 mRNA ekspresyonu beyin, kalp, akciğer ve dalak dokularında gözlenir ve özellikle myelomonositik orijinli periferik kan lökositlerinde en yüksektir (117). TLR2 kompleksleri çoğunlukla bakterilerdeki PAMP'ların geniş bir aralığını tanır. Bunlar lipoarabinomannan, lipopolisakkarid, lipoteikoik asit, peptidoglikan ve diğer glikolipidler, glikoproteinler ve lipoproteinlerdir. TLR2'nin ligandları tanınması ve sinyal iletimi oluşturabilmesi için diğer TLR'ler ile dimerize olması gerekmektedir. Peptidoglikan, TLR2 ve TLR6'nın dimer oluşturduğu reseptör aracılığı ile sinyal iletirken, lipoproteinler, TLR6'ya ihtiyaç duymadan TLR2'yi aktive edebilmektedir (118). TLR2 kompleksleri aynı zamanda kızamık virüsü, sitomegalovirus (CMV) ve hepatit C virüsü (HCV) gibi virüsleri ve mantar PAMP'larını tanıyabilir. TLR4 gibi TLR2 komplekslerinin PAMP'ları tanınması ve sinyal iletmesi için CD14 gerekir (98, 119).

2.2.2 TLR: Dermatolojik Hastalılardaki Rolü

TLR'ler monositler, makrofajlar, dendritik hücreler ve granülositler gibi erken immün sistem hücrelerinden eksprese edilir. Bu hücreler, konak-patojen etkileşimi olan bölgelerde yoğun olarak bulunurlar (113).

İnsan derisinde epidermisten yağ dokusuna kadar farklı hücre tiplerinde TLR ekspresyonu olmaktadır. Ekspresyonun varyasyonu ve fonksiyonu hücre tipine göre belirlenmektedir. En önemli TLR eksprese eden epidermal hücreler TLR1, 2, 6, 9'u eksprese eden keratinositler ve özellikle TLR1, 2, 3, 5, 6 ve 10 eksprese eden Langerhans hücreleridir. Primer keratinositler ile HaCaT hücreleri arasında TLR ekspresyonları yönünden farklılıklar vardır. TLR1 sadece primer keratinositlerde, TLR4 ise sadece HaCaT hücrelerinde bulunur. TLR2, TLR3 ve TLR5 her iki hücre grubunda da bulunmaktadır. Diğer TLR eksprese eden hücreler dermal monosit,

makrofajlar, dendritik hücreler, T ve B lenfositler, dermisteki mast hücreleri, endotelial hücreler ve adipositler ile fibroblastlardır (120-124).

İnsan keratinositlerinde eksprese edilen TLR'ler içinde, TLR2 ve TLR4 önemlidir. TLR4 gram (-) bakterilerdeki lipopolisakkaritlerin sinyal reseptörüdür. TLR4 aynı zamanda gram (+) bakterilerin lipoteik asitlerini de bağlayabilir. TLR2 lipoprotein, lipopeptid, peptidoglikan, lipoteikoik asit, lipoarabinomannan, glikoinositolfosfolipid, glikolipid ve zimosan gibi hücre yapılarındaki farklı molekülleri tanır. LPS'ler TLR2 için ligand değildirler. TLR2'nin bazı çalışmalarda kullanılan ticari LPS'ler ile uyarılması, ürün içerisindeki fenole duyarlı bir içeriğe bağlanmaktadır. Dendritik hücrelerin mikrobiyal ürünler ile aktive edilerek fenotipik ve fonksiyonel maturasyonunun sağlanmasında, ana aracı rolü TLR2'nin oynadığı gösterilmiştir (125).

Yapılan çalışmalarda epiderminin farklı tabakalarındaki keratinositlerde, TLR ekspresyonlarında farklılıklar olduğu saptanmıştır (113). Baker ve ark. sağlıklı deriden alınan biyopsilerde bazal tabaka keratinositlerinde TLR2 ve 5, epiderminin diğer tabakalarında değişik oranda TLR1 ve 2 ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir (126). Her bir TLR'nin ligandı da farklıdır. Bu nedenle TLR'lerin dağılımındaki bu değişikliklerin anlamı ve önemi araştırılmaktadır. Keratinositler bazal tabakadan yukarı doğru çıktıkça mature olurlar; TLR ekspresyonlarındaki farklılıklar bu maturasyon süreciyle ilişkili olabilir (113). Keratinosit TLR'leri kutanöz immünolojide NF-kB aktivasyonu ile etkili olur. TLR, keratinositlere etkileriyle adaptif immün cevabı da belirleyebilir. İnflamatuar deri hastalıklarında TLR'lerin bu etkisi önemli olabilir, çünkü dendritik hücrelerin T hücrelerini TH1 yönünde maturasyon için uyardığı bilinmektedir (121).

TLR'lerin derideki saprofit mikroorganizmalar ile etkileşmesi, immün sistemin devamlı uyarılmasına, salınan sitokinler ve enzimler aracılığıyla da konak hücrelerinin harabiyetine yol açacaktır. Antijen sunan hücreler olan Langerhans hücrelerinin mikrobiyal TLR ligandlarına karşı, dendritik hücrelerden farklı yanıt verdiği görülmüştür. LPS'ler, dendritik hücreler

üzerindeki bazı moleküllerin ekspresyonunu arttırdığı ve maturasyonunu uyardığı halde, Langerhans hücrelerinde benzer etki göstermemiştir (127).

TLR'lerin birçok immünolojik ve inflamatuvar hastalıklar, kanser ve yara iyileşmesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Enfeksiyöz ve otoimmün hastalıkların yanı sıra santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem, akciğer ve renal patolojilerde de önemli role sahiptir (128-131).

TLR ile ilişkili olan deri hastalıkları psoriasis, liken planus, Behçet hastalığı, akne, allerjik kontakt dermatit, mikozis fungoides, deri kanserleri, bakteriyel, fungal ve viral deri hastalıkları ve ultraviyole hasarıdır (121, 128, 130, 132-134). Ayrıca kaşıntı, yara iyileşmesi ve hipertrofik skar oluşumunda rolü olduğu da bildirilmiştir (124).

Tablo 2. TLR'ler ile ilişkili deri hastalıkları (135, 152)

Deri Hastalığı	İlişkili TLR
Akne	TLR2, 4
Psoriasis	TLR1-4, 5, 9
Atopik dermatit	TLR2, 9
Bazal hücreli karsinom	TLR 7, 8, 9
Skuamöz hücreli karsinom	TLR 7, 8
Melanom	TLR4, 7, 9
S.aureus	TLR2, 6
C.albicans	TLR2, 4
Herpes simplex/Varisella	TLR2, 3, 9
Verruka/molluskum	TLR3, 7, 9
Lyme Hastalığı	TLR1, 4, 6
Lepa	TLR1, 2
Sifiliz	TLR2, 4/5
Liken planus	TLR9
Sarkoidoz	TLR2, 4
Behçet hastalığı	TLR4, 6
Sistemik lupus eritematozus	TLR2, 7, 9
Skleroderma	TLR4
Vitiligo	TLR2, 4

İnflamatuvar akne de pilosebace follikülerdeki *Propionibacterium acnes* miktarı belirgin olarak artmıştır. *P. acnes*'in monositlerden proinflamatuvar

sitokinlerin salınmasını uyararak kemotaktik faktörleri ve doku enzimlerini aktive ettiği ve nötrofil birikimine neden olduğu düşünülmektedir. Kim ve ark. aknedeki lokal inflamatuvar yanıtın, *P. acnes* ile uyarılan TLR2+ monositlerden salınan sitokinlerle oluştuğunu iddia etmişlerdir. Bu çalışmada akne lezyonlarında ve pilosebace folliküllerin çevrelerinde TLR2+ makrofajlar bulunmuş ve sayılarının hastalığın seyri sırasında arttığı tespit edilmiştir (136). Hunger ve ark.'nın yapmış oldukları bir çalışmada kronik inflame aknedeki bakteri kolonizasyonunun, infiltre makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından eksprese edilen TLR2 stimülasyonunu arttırdığı ve doku hasarına sebep olduğu gösterilmiştir (137).

Psoriatik plaklardaki keratinositlerde, normal deriye göre TLR1, 2, 4, 5 ve 9 ekspresyonlarında artış olduğu saptanmıştır. TLR aktivasyonundaki bu artışın psoriatik plaklarda patojenik mikroorganizmalar ile süperenfeksiyona karşı direnç olması ve hastalığın alevlenmesi ile ilişkisi olduğu belirtilmiştir (120, 130). HSP60 gibi ısı şok proteinlerinin TLR2 ve 4'ü tetikleyerek psoriasis gelişiminde veya lezyonların aktivasyonunda rol oynayabileceği düşünülmüştür (138, 139). Baker ve ark.'nın yaptığı çalışmada sağlıklı deride bazal tabakada yoğun olan TLR2'nin, lezyonlu deride epidermisin en üst kısmında ve proliferasyon olmayan keratinositlerde belirgin olarak eksprese edildiği gösterilmiştir. Psoriatik lezyonlu deride bazal tabakadaki keratinositlerde TLR5 ekspresyonu da azalmış olarak saptanmıştır. Üst epidermisteki TLR2 ekspresyonunun fazla olması hastalığa özgü bir bulgu olarak kabul edilmiştir. TLR2 ekspresyonu; keratin tabakasında kolonize olan gram(+) bakterilerin devamlı uyarımlarıyla, psoriatik lezyonlardaki proinflamatuvar sitokinlerin etkileriyle ve psoriatik keratinosit differansiasyonundaki farklılıklarla ilişkili bulunmuştur (124). Bir başka çalışmada psoriatik deride TLR2, 3 ve 4'ün NFkB'yi uyararak TNF-alfa ve IL-8 salınımında artışa neden oldukları gösterilmiştir (140). Aynı zamanda TLR7 ve 8 sinyalizasyonunun da psoriasis alevlenmeleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (138).

TLR2 ve TLR4 allerjik hastalıklarla da ilişkilidir ve mast hücreleri TLR4

ile uyarıldıklarında çeşitli sitokinler salgırlar. Bir çalışmada atopik dermatitli olguların %11'inde TLR2 polimorfizmi tespit edilmiştir (141). TLR6 da insan mast hücrelerinde eksprese edilir. Ancak TLR6 Ser249Pro polimorfizmi çocuklarda astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gelişme riskinin arttığı gösterildiği halde, atopik dermatit gelişme riski ile ilişkili bulunmamıştır (142).

Yüzeyel mantar enfeksiyonu ve pitiriyazis versikolor lezyonları olan hastalar ile yapılan bir çalışmada enfekte bölgeden alınan dokularda enfekte olmayan bölgelerden alınan dokulara göre derinin değişik tabakalarında TLR2 ve 4 ekspresyonunda artış olduğu saptanmıştır (143).

2.2.3 TLR: Dermatolojik Tedavilerde Rolü

TLR aktivasyonu ile immün yanıtı uyarılması bazı deri hastalıkları ve deri kanserlerinde TLR hedefli tedavilere olan ilgiyi artırmıştır. TLR ile uyarılan inflamatuvar yolaklar daha iyi anlaşıldığında ve diğer ligandlar tanımlandığında, immün yanıtı ilk oluştuğu andan itibaren düzenlemek mümkün olabilecektir (121).

Kullanımı onaylanan ilk TLR agonisti olan imiquimod bir imidazoquinolinamindir. Imiquimod ve resiquimod, immün sistemi uyaran kimyasal olarak ilişkili bileşiklerdir. Güçlü antiviral ve antitümöral özelliklere sahiptirler (120, 130). TLR7 ligandı olarak tanımlanan imidazoquinolinaminler makrofajlarda MyD88 yolağı üzerinden NFkB'yı indükleyerek IFN- α/γ , TNF- α , IL-6, IL-8 ve IL-12'yi içeren çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırarak etki göstererek, böylece lenfositlerin proliferasyonunu ve maturasyonunu sağlarlar. Bu sitokinler konağın immün cevabını Th1 fenotipi yönünde değiştirirler. Immn cevaptaki bu yönlendirmenin sitotoksik antiviral ve antitümöral etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ek olarak imiquimod, Langerhans hücrelerinin lenf nodlarına gn uyararak T hücrelerine antijen sunumunu artırmaktadır. İlk olarak genital verrlerin tedavisinde onay alan imiquimod daha sonra yüzeyel bazal hücreli karsinom

ve aktinik keratozda da kullanıma girmiştir (120). Verruka vulgaris, molluskum contagiozum, herpes simpleks virus enfeksiyonları, keloid, Bowen hastalığı, skuamöz hücreli karsinom, lentigo maligna, kutanöz T hücreli lenfoma, Kaposi sarkomu, Paget hastalığı, alopesi areata ve vitiligo da endikasyon dışı kullanım alanlarıdır (144-150).

Loxoribine (7-allyl-8-oxoguanosine) ve bropirimine (2-amino-5-bromo-6-phenyl-4(3)- pyrimidinone) TLR7 üzerinden etki gösteren diğer immünmodülatör ilaçlardır. Loxoribine IFN üretimini artırarak NK hücrelerini aktive eder ve B hücre proliferasyonunu sağlar. Bropirimine antineoplastik ilaçlardan aril pirimidinonlara aittir. IFN- α ve diğer sitokinleri uyarır, aynı zamanda NK hücre sitotoksitesini artırır. Değişik deri malignitelerinin tedavisinde klinik çalışmaları vardır (130).

TLR üzerinden etki eden bir diğer ilaç grubu olan kalsinörin inhibitörleri, T hücre aracılı immüniteyi baskılamaktadırlar. Takrolimus ve pimekrolimus, T hücrelerinden proinflamatuvar sitokin sentezini inhibe ederler (151). Nikotinamid, all trans retinoik asit, adapalen, çinko ve disifin TLR ile ilişkili diğer tedavi seçenekleridir (120).

Tablo 3. Toll-like reseptörlerin terapötik hedefleri (152)

Terapötik ajan	İlişkili TLR	Hedeflenen deri hastalığı
Imiquimod, resiquimod	TLR7	Genital verrü, yüzeysel BCC, aktinik keratoz
Loxorubin, bropirimin	TLR7	Deri maligniteleri
Pimekrolimus Takrolimus	TLR2/6 TLR1, 2	Atopik dermatit
Nikotinamid	TLR2	Akne vulgaris, büllöz pemfigoid, nekrobiyozis lipoidika, dermatitis herpetiformis
All trans retinoik asit	TLR2, 4	Akne vulgaris
Adapalen	TLR2	Akne vulgaris
Çinko tuzları	TLR2	Akne vulgaris
Disifin	TLR4	Bakteriyel deri enfeksiyonları
CpG-ODN	TLR9	Melanoma

2.2.4 TLR2 Geni ve Fonksiyonu

TLR2 geni, 4q32 bölgesinde yer almaktadır. 4,2 kb'lık transkript uzunluğuna sahip olan TLR2 geninin kodlama yapan tek ekzonu 784 amino asitlik bir ürün oluşturmaktadır. TLR2, insanda üzerine en çok çalışma yapılmış olan reseptördür. Gram(+) bakterilerden kaynaklanan lipoproteinler, lipopeptidler, lipoteikoik asit ve peptidoglikanları içeren PAMP'ları tanır (153). Aynı zamanda TLR2, mantar kaynaklı zymosan'ı (154), mikobakteriden kaynaklanan lipoarabinomannanı (155), *Staphylococcus*'tan kaynaklanan fenol-çözücü modulin'ni, *Trypanosoma cruzi*'den kaynaklanan glikozilfosfatidilinositol'u (156) da tanımaktadır. TLR2 aktivitesini ve ekspresyonunu tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve glukokortikoidler gibi proinflamatuvar ve antiinflamatuvar moleküllerin bir araya gelerek düzenlendiği belirtilmiştir (157).

2.2.5 TLR2 Gen Polimorfizmleri

TLR'lerin konak tarafından patojen tanınmasındaki önemli rolü göz önüne alındığında, TLR2 polimorfizmlerinin bakteriyel enfeksiyonlar için risk faktörü oluşturabileceği düşünülmüştür (158). Yapılan çalışmalar, belirli bireylerin TLR ligandlarına uygun cevap verebilme yeteneğinin tek nükleotid polimorfizimleri (SNP) tarafından etkilenebileceğini önermektedir. TLR gen polimorfizmi, konağı çeşitli enfeksiyonlara yatkın hale getirir (159).

TLR2'nin korunmuş C-terminal bölgesinde yer alan Arg753Gln (R753Q) polimorfizminin, TLR2 ligandı ile transfekte olmuş HEK293 hücrelerinde azalmış aktivasyona neden olduğu gösterilmiştir (160). Bu polimorfizmde genin 753.pozisyonunda arjinin/glutamin aminoasit değişikliği oluşmaktadır. Bu değişimin gen ürünü proteinin fosforilasyon mekanizması dolayısı ile sinyal yolağında değişime neden olduğu bildirilmiştir (159, 161).

Her bir TLR’de aminoasit sıralarındaki değişikliklere bağlı olarak iki tane anlamlı tek nükleotid polimorfizmi bulunmuştur. R753Q mutasyonu, reseptörün intraselüler kısmı ile ilişkilidir, bu mutasyonda *S.aureus* enfeksiyonları sıklığı artmıştır (162). R677W mutasyonu, intraselüler mikobakteriyel iletimle ilişkilidir ve bu mutasyon lepromatöz lepra gelişiminde rol oynar (163).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

“Seboreik dermatitli hastalar ile Toll-like reseptör 2 ekspresyonu ve gen polimorfizmi arasındaki ilişki” adlı tez çalışmamız için Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından çalışmanın yapılmasında etik açıdan sakınca olmadığına dair onay alındı.

Çalışma Grubu

Çalışmaya Ocak 2015 - Nisan 2015 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji polikliniğinde seboreik dermatit tanısı konulan, topikal ya da sistemik herhangi bir tedavi almayan 18 ile 75 yaş arası 60 hasta ve Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji polikliniğine nevus taraması için başvuran gönüllülerden 60 sağlıklı kontrol dahil edildi. Tüm hastalardan ayrıntılı anamnez alınarak vücut muayeneleri yapıldı. Tüm hastalara çalışmanın amacı ve içeriği konusunda sözel bilgi verildi ve imzalı onamları alındı (Ek-1). Çalışmaya dahil edilen hastaların tanısı klinik lezyonlar tespit edilerek konuldu ve lezyonların tutulum bölgeleri kaydedildi. Bilinen akut veya kronik enfeksiyöz hastalığı bulunanlar, eşlik eden bir başka dermatolojik hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların sosyodemografik bilgilerini ve hastalık şiddetini belirlemek amacı ile oluşturulan anket her hastaya dolduruldu. Hastalık şiddeti, tüm semptomları (eritem, kepeklenme, infiltrasyon, yağlanma, kaşıntı) 0'dan 4'e kadar derecelendiren bir semikantitatif skala ile belirlendi. Her bir semptom için “0” değeri semptom olmadığına, “1” değeri hafif derecede, “2 “ değeri orta derecede, “3” değeri ciddi ve “4” değeri çok ciddi derecede semptoma karşılık olarak değerlendirildi. Hastaların yaşı, meslekleri, öğrenim durumları, medeni halleri, hastalık süreleri ve seboreik dermatit ile ilgili aile öyküsü sorgulanarak kaydedildi. Ek-2’de Sosyodemografik ve Klinik Bilgi Veri Formu görülmektedir.

Hastalardan ve kontrol grubunu oluşturacak sağlıklı bireylerden TLR2’nin monositlerdeki ekspresyonunu saptamak ve TLR2 gen polimorfizm

dağılımını yapmak için iki adet EDTA'lı tüpe 2 ml periferik kan alındı.

Çalışmamızda TLR2 ekspresyonu flowsitometre yöntemi ile TLR2 geni R753Q polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmiştir. Tablo 4'de projede kullanılan makine ve teçhizatlar verilmiştir.

Tablo 4. Projede kullanılan makine ve techizatlar

ADI	PROJEDE KULLANIM AMACI
Derin dondurucu	Kimyasalların saklanması
Manyetik karıştırıcı	Solüsyonların hazırlanması
Elektroforez güç kaynağı	PCR reaksiyonlarının analizi
Elektroforez jel sistemi	PCR reaksiyonlarının analizi
pH metre	Tampon hazırlanması
Hassas tartı	Küçük ölçeklerle çalışılacak kimyasalların tartılması
PCR cihazı	DNA fragmanlarının üretimi
Buzdolabı	Kimyasalların saklanması
Mikropipet seti	Araştırmanın tüm deneylerinde pipetleme amacıyla
Mikrodalga fırın	Agaroz jel yapımı
Fotoğraf makinesi	Jel görüntülerinin kaydedilmesi
Nanodrop cihazı	DNA kalite ve yoğunluk belirlenmesi
UV transluminator	DNA profilinin görüntülenmesi
Mikrosantrifüj	DNA izolasyonu
Isıtıcı blok	Kesim enzimlerinin inkübasyonunda ve DNA izolasyonu
Flow Cihazı	Flowsitometri/Bechman Coulter fc-500

TLR2 Genotipinin Belirlenmesi

Olgulardan alınan periferik venöz kan örneklerinden elde edilen DNA ile PCR-RFLP yöntemi kullanılarak genotip belirlenmiştir.

DNA İzolasyonu

Olgulardan alınan periferik venöz kan örneklerinden 200 µl alınarak spin kolon yöntemine dayanan Invitrogen DNA izolasyon kiti ile hasta DNA'ları elde edilmiştir. DNA izolasyonunda kullanılan protokol aşağıda verilmiştir.

1. Periferik venöz kan örneklerinden 200 µl kan örneği 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne alınmıştır.
2. Aynı tüpe protein hidrolizi için 20 µl Proteinaz K, 15 µl RNAaz eklenerek vortekslenerek 15 dakika inkübe edilmiştir.
3. Kitin içerisinde bulunan genomik lizis bufferdan 200 µl eklenerek vortekslleme sonrası 10 dakika 56 derecede yarım saat inkübe edilerek hücre membranlarının parçalanması sağlanmıştır.
4. Bir sonraki aşamada 200 µl %70 etil alkol eklenir ve vortekslenmiştir.
5. Spin kolona aktarılan miks 10000xg'de 1 dakika santrifüjlenmiş, toplama tüpünde biriken sıvı tüp ile birlikte atılarak yeni tüp yerleştirilir.
6. Spin kolona 500 µl wash buffer 1'den 500 µl eklenerek 10000xg'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve toplama tüpünde biriken sıvı tüp ile birlikte atılır yeni tüpe yerleştirilmiştir.
7. Spin kolona wash buffer 2'den 500 µl eklenerek maksimum hızda 3 dakika santrifüjlenmiş, toplama tüpü atılarak 1,5 ml santrifüj tüpü yerleştirilmiştir.
8. Spin kolona 70 µl elution buffer eklenerek maksimum hızda 1 dakika santrifün ardından DNA'nın santrifüj tüpüne geçişi sağlanmıştır.

9. Santrifüj tüpünde elde edilen genomik DNA'nın kantitasyonu nanodrop cihazında yapılmıştır.
10. Nanodrop cihazında DNA ölçümleri yapılan örneklerin DNA miktarı 30 ng/µl altında olan örneklerden izolasyon işlemi tekrarlanmıştır.

PCR İşlemleri

Olguların DNA örneklerinden 200 ng/µl olacak miktarda alınarak PCR bileşenlerinden 25 µl standart PCR reaksiyonu kurulmuştur. Tablo 5'de her bir bölge için kullanılan primerler gösterilmiştir

Tablo 5. PCR için kullanılan forward ve reverse primerler

POLİMORFİZM	KULLANILAN PRİMERLER	PCR ürünü
rs5743708 4:g.153705165G>A c.2258G>A p.Arg753Gln R753Q	F: 5'-GGACTTCTCCCATTTCCGTC- 3' R: 5'-TCCCTTAACCAACGTCCTAG- 3'	500 bp

PCR Bileşenleri

- 10x reaksiyon tamponu
- 2.5 mM MgCl₂
- 20 µM dNTPs
- Primer Forward (10 pmol/ µl)
- Primer Reverse (10 pmol/ µl)
- 5U/µL Hot Start Taq polimeraz

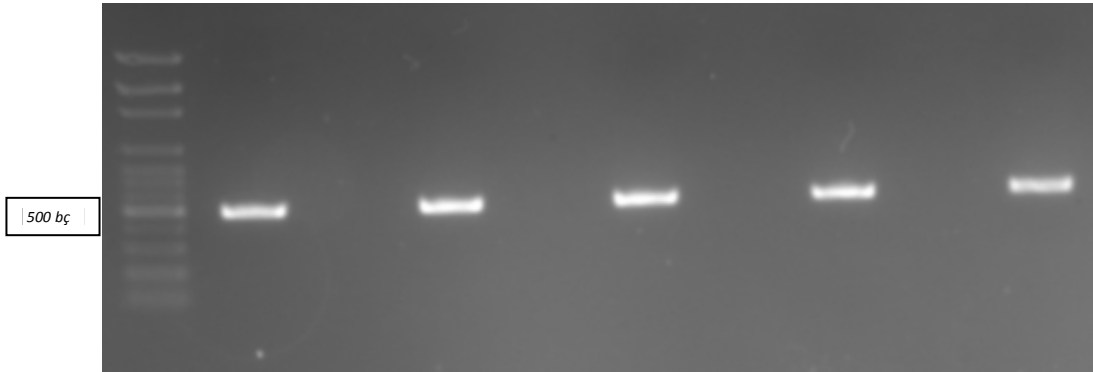
Öngörülen PCR döngü koşulları; PCR (Isı döngü cihazı) cihazının kapak sıcaklığı 105 °C olacak biçimde 35 döngü (denatürasyon, bağlanma ve uzama işlemi) ısı döngü cihazında gerçekleştirilmiştir.

PCR döngü sayıları ve sıcaklıkları aşağıda belirtilmiştir.

- 94 C'de 15 dakika ön denatürasyon
 - 94 C'de 45 saniye (denatürasyon)
 - 60 C'de 45 saniye (bağlanma)
 - 72 C'de 1 dakika 45 saniye (uzama)
 - 72 C'de 10 dakika (son uzama)
- } 35 döngü

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek 100 bp DNA Ladder ile birlikte amplifikasyon ürünlerinin kontrolü yapılmıştır. Şekil 2'de elde edilen 500 bp uzunluğunda PCR ürünlerinin jel görüntüleri verilmiştir.

Şekil 2. rs5743708 polimorfizm bölgesine spesifik PCR jel görüntüleri



Restriksiyon Enzim Kesim Uygulaması

BbvI enzim kesimi için 13,3 µl PCR ürünü, 0,2 µl enzim ve 1,5 µl 10X tampon solüsyon toplam 15 µl olacak şekilde hazırlanan karışım 2 saat

37°C’de inkübasyonun ardından 65°C’de 20 dakika inaktivasyon yapılarak işlem sonlandırıldı.

Tablo 6. Çalışmada kullanılan enzimler ve özellikleri

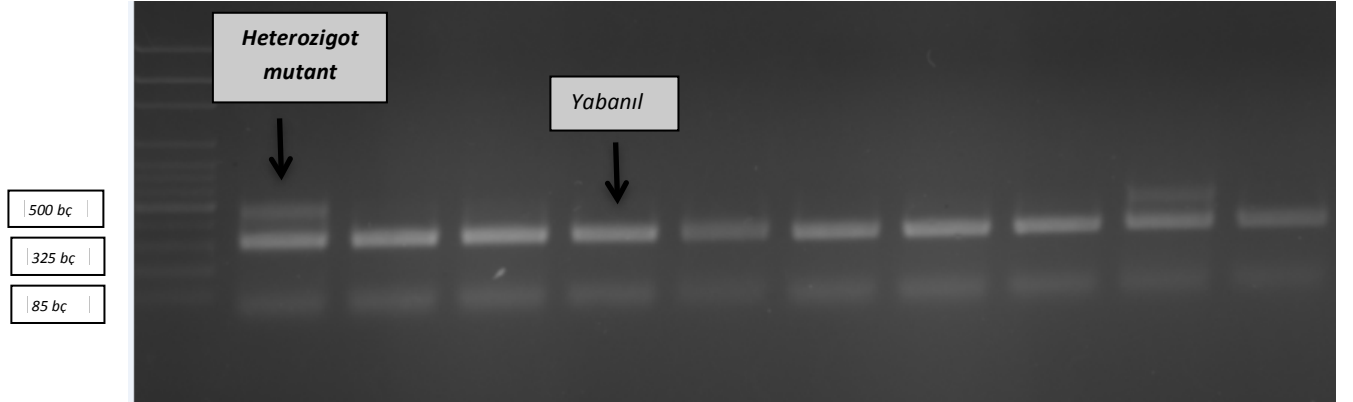
POLİMORFİZM	ENZİM	KESİM BÖLGESİ	AKTİVASYON	İNAKTİVASYON
rs5743708	BbvI	5’...GCAGC^N...3’ 3’... CGTCG^N...5’	37°C’ 2 saat	65°C’de 20 dk.

Elde edilen ürünler %3,5’lik agaroz jel elektroforezinde 150 dk 110 V’da yürütülerek bandlar değerlendirilmiştir. Tablo 7’de enzim kesimi sonrasında elde edilen ürünleri ve şekil 3’de bu ürünlerin jel elektroforez görüntüleri verilmiştir.

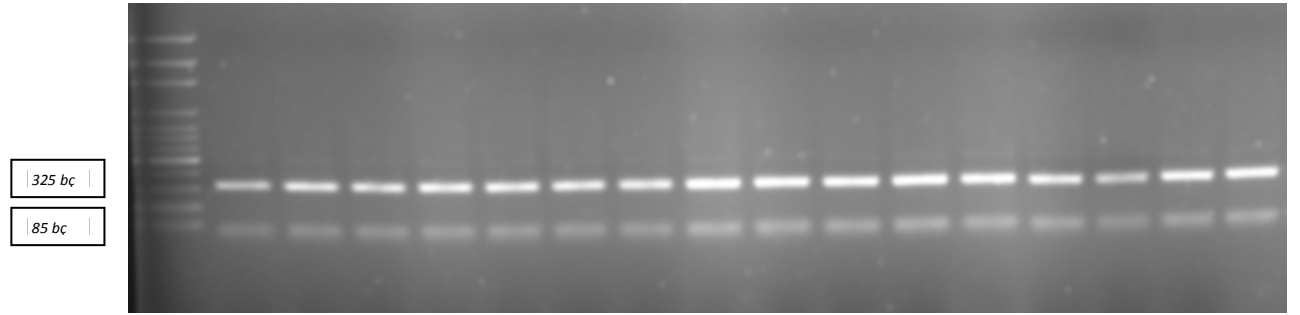
Tablo 7. rs5743708 polimorfizminin enzim kesimi sonucu oluşan kesim ürünleri

Polimorfizm	PCR ürünü	Enzim	Kesim ürünleri		
			Yabanıl tip	Heterozigot mutant tip	Homozigot mutant tip
rs5743708	500 bç	BbvI	GG	GA	AA
			325	500	500
			85	325	
			62	85	
			28	62	
				28	

Şekil 3. Hasta grubunda rs5743708 polimorfizm bölgesine enzim kesimi jel görüntüleri



Şekil 4. Kontrol grubunda rs5743708 polimorfizm bölgesine enzim kesimi jel görüntüleri



Monositlerdeki TLR2 ekspresyonunun saptanması

TLR 2'nin monositlerdeki ekspresyon oranını belirlemek EDTA'lı tüpe 2 ml periferik kan alındı ve Celal Bayar Üniversitesi Biyokimya laboratuvarına flowsitometrik incelemeye gönderildi. Çalışma Becton Dickinson (BD) Alexa Fluor 488 Mouse Anti Human CD 282 (materyal no: 558318), Alexa Fluor 488 Mouse IgG κ Isotype Control (katolog no:557702) ticari kitleri kullanılarak flow sitometrik yöntemle yapıldı. Taze tam kan örneklerine, TQ-PREP cihazı ile immunoprep reagent system ile lizis uygulandıktan sonra monositlerde kapı alınarak TLR2 yüzdeleri saptandı ve sonuçlar % olarak ifade edildi.

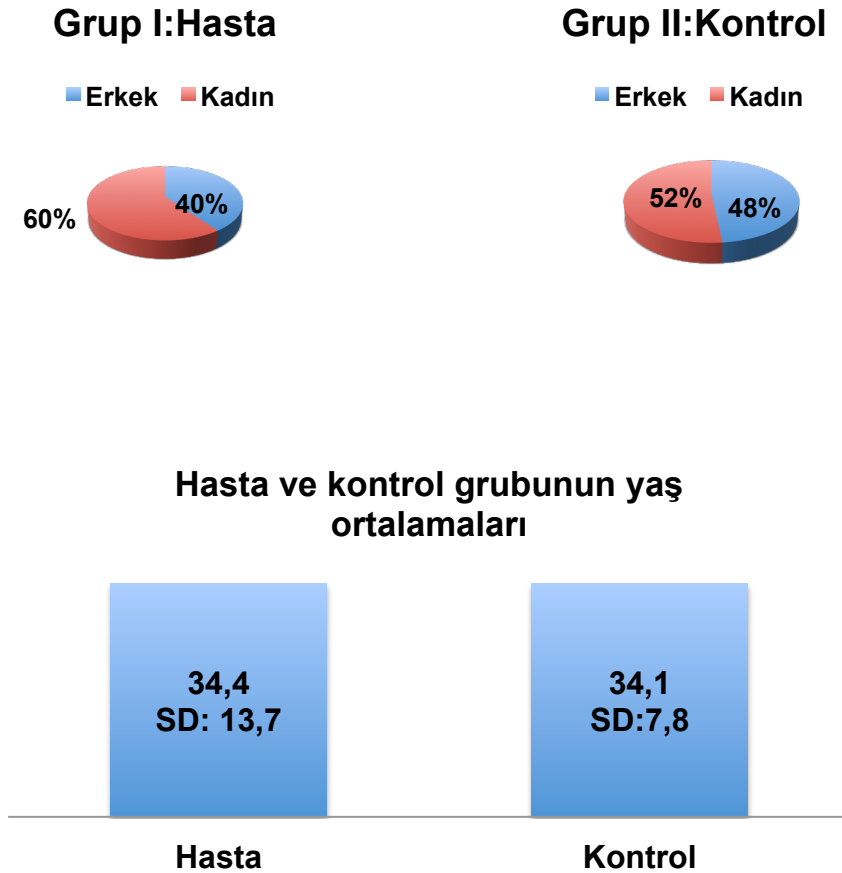
İstatistiksel Değerlendirme

Her hastanın bilgileri ve muayene sonuçları araştırma formuna kaydedildi. Tüm verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows 15.0 kullanıldı. İstatistiksel açıdan TLR2 geni genotip dağılım ve sıklığının gruplar arası farklılıkları ki-kare testi ile allelik dağılım ve sıklığının gruplar arası farklılıkları da tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi, yüzdeleri ve p değerleri hesaplandı. TLR ekspresyon düzeyleri ortalamaları bağımsız gruplarda t testi yapıldı. Ekspresyon düzeyleri ile risk faktörleri ve genotipler arasındaki ilişkinin tespitinde çok yönlü varyans analizi ile kullanıldı.

IV. BULGULAR

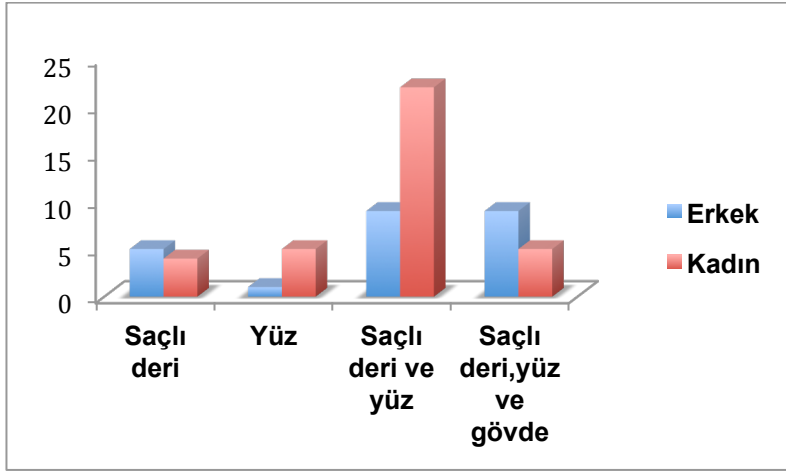
Çalışmaya 60 hasta grubu ve 60 kontrol grubunda olmak üzere toplam 120 kişi alınmıştır. Toplam 60 hastanın bulunduğu grup I, 24 erkek ve 36 kadın hastadan oluşmaktaydı. Toplam 60 kontrol grubu üyesinin bulunduğu grup II ise 29 erkek ve 31 kadın katılımcıdan oluşmaktaydı. Hastaların yaşları 18-75 arasında değişmekte olup, yaş ortalamaları $34,4 \pm 13,75$ olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun yaşları 18-68 arasında değişmekte olup, yaş ortalamaları $34,1 \pm 7,8$ olarak bulunmuştur (Şekil 5). Hasta ve kontrol grubundaki hastaların yaş ve cinsiyet dağılımlarında bir farklılık saptanmamıştır.

Şekil 5. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet ve yaşa göre dağılımı



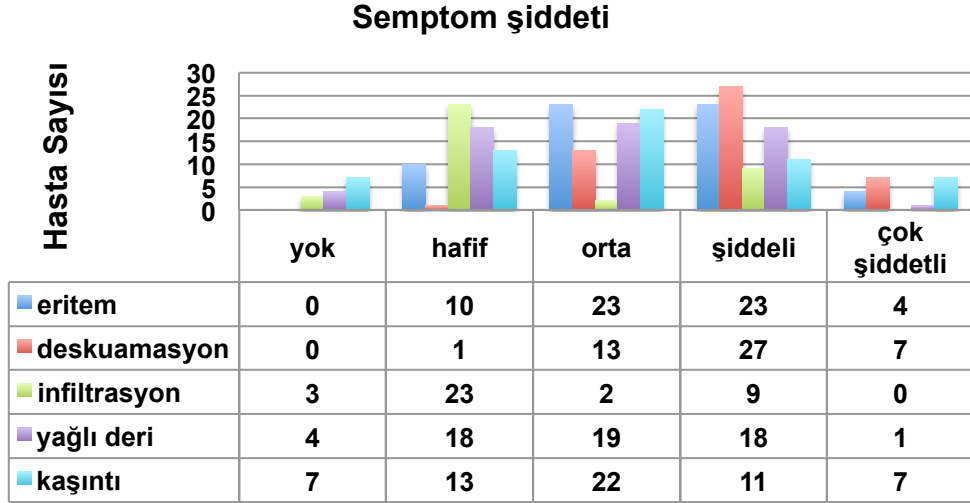
Hasta grubundaki bireylerin medeni hali %60'ının evli, meslek %58,4'ü işsiz veya öğrenci, öğrenim durumu %35'i lise ve %28'inde ilköğretim olarak saptandı. Hastaların %89'unda hastalık öyküsü 6 aydan uzun iken %11'inde 6 aydan kısaydı. Hastalardaki seboreik dermatit tutulum bölgeleri Şekil 6'da yer almaktadır.

Şekil 6. Hasta grubunda lezyonların dağılımı (n=60)



Eritem, deskuamasyon, infiltrasyon, deride yağlanma ve kaşıntının şiddetine göre gruplanan hasta sayıları Şekil 7'de görülmektedir.

Şekil 7. SD hastalarında semptomların şiddeti (n=60)



Hastaların %65'inde ailede seboreik dermatit öyküsü yok iken %35'inde birinci dereceden akrabalarda seboreik dermatit öyküsü mevcut idi.

Semptomlar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde eritem ile deskuamasyon, infiltrasyon ve kaşıntı arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Aynı zamanda kaşıntının şiddeti ile eritem, infiltrasyon ve yağlanma şiddeti arasında artan bir korelasyon saptanmıştır. Klinik semptomlar arasındaki korelasyon Tablo 8'de görülmektedir.

Tablo 8. Hastalarda klinik semptomlar arasındaki korelasyon (n=60)

		Eritem	Deskuamasyon	İnfiltrasyon	Yağlı Deri	Kaşıntı
Eritem	r	1,00	0,52**	0,58**	0,18	0,30*
	p	.	0,00	0,00	0,15	0,01
Deskuamasyon	r	0,52**	1,00	0,56**	0,09	0,18
	p	0,00	.	0,00	0,45	0,15
İnfiltrasyon	r	0,58**	0,56**	1,00	0,18	0,49**
	p	0,00	0,00	.	0,16	0,00
Yağlı Deri	r	0,18	0,09	0,18	1,00	0,26*
	p	0,15	0,45	0,165	.	0,04
Kaşıntı	r	0,30*	0,18	0,498**	0,26*	1,00
	p	0,01	0,15	0,000	0,04	.

r: Spearman korelasyon katsayısı

** Korelasyon p 0,01 değerinde anlamlı

* Korelasyon p 0,05 değerinde anlamlı

TLR2 Arg753Gln Genotip ve Allel Sıklığı Dağılımı

TLR2 Arg753Gln genotip polimorfizmi seboreik dermatitli grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak fazla gözlemlendi ve ikisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,0001$). Seboreik dermatit hastalarında heterozigot polimorfizm sıklığı 12 hastada (%20 oranında) saptanırken, sağlıklı kontrol grubunda ise hiçbir katılımcıda polimorfizm saptanmadı ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,0001$). Hem seboreik dermatitli grupta, hem de sağlıklı kontrol grubunun hiçbirinde mutant allel homozigotluğu görülmedi. Tüm seboreik dermatitli hastalardaki ve sağlıklı kontrol grubundaki TLR2 Arg753Gln gen polimorfizmi dağılımı ve allel sıklıkları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. SD hastaları ve sağlıklı kontrol grubunda TLR2 Arg753Gln polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklıkları

	Hasta grubu n (%)	Kontrol grubu n (%)	p değeri
Genotip dağılımı ve sıklığı			
GG	48 (80)	60 (100)	<0.0001*
GA	12 (20)	---	
AA	---	---	
Allel sıklığı ve dağılımı			
G alleli	108 (90.2)	120 (100)	<0.0001*
A alleli	12 (9.8)	---	

*Sağlıklı grup ile kontrol grubu arasında belirgin olarak anlamlı Arg753Gln genotip polimorfizmi (Fisher's p value, $p<0,001$).

Polimorfizm saptanan 12 hastanın yaş aralığı 19-68 arasında olup ortalama yaş 35 ± 15 , cinsiyet dağılımları %33,3 erkek, %66,7 kadın olarak saptanmıştır. TLR2 polimorfizmi olan hastaların birinci dereceden akrabalarında seboreik dermatit öyküsü %33,3 oranında bulunmuş olup aile öyküsü ile polimorfizm arasında istatistiksel olarak anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,89$).

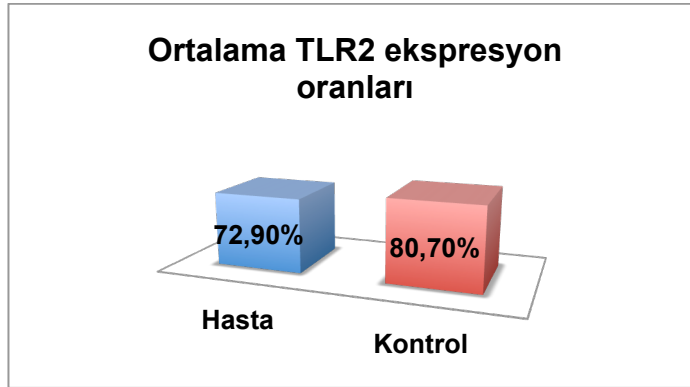
Heterozigot polimorfizm saptanan hastaların semptomlarının şiddetine bakıldığında %41'inde şiddetli, % 33'ünde orta derecede şiddetli eritem olduğu görülmüştür. Deskuamasyon derecesi bu hastaların %66,6'sında orta derece veya şiddetli derecede bulunmuştur. İnfiltrasyonun hastaların %41'inde şiddetli bulunmuştur. Yağlanma %41,7'sinde orta derecede olup

kaşıntı ise %36,7'sinde orta derece şeklinde saptanmıştır. Semptomların derecesi ile polimorfizm arasındaki ilişki tek tek değerlendirilmiş olup eritem ($p=0,20$), deskuamasyon ($p=1,89$), infiltrasyon ($p=2,09$), yağlanma ($p=1,73$) ve kaşıntının derecesi ($p=0,77$) ile TLR2 polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı sayılabilecek bir ilişki bulunmamıştır.

Monositlerdeki TLR2 ekspresyonu

Hasta grubunda periferik kanda ölçülen ortalama TLR2 monosit yüzey ekspresyon oranı $72,9\pm3,1$ olarak saptanırken bu oran kontrol grubunda $80,7\pm2,7$ olarak saptanmıştır (Şekil 7). Monositlerdeki ortalama TLR2 ekspresyonu kontrol grubunda daha fazla saptanmış olsa da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,129$).

Şekil 7. Hasta ve kontrol grubunda TLR2 monosit yüzey ekspresyon oranları



*Her iki grupta benzer TLR2 ekspresyon oranı (Pearson Ki kare test, $p=0,129$).

TLR2 polimorfizmi saptanan 12 hastada ise monosit yüzey ekspresyonu oranı $62,2\pm26$ 'dır. Bu oran tüm hasta grubu ile karşılaştırıldığında TLR2 tek nükleotid polimorfizmi saptanan hastalarda monosit yüzeylerindeki TLR2 ekspresyon oranında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulunmuştur ($p=0,03$).

Tablo 10. TLR2 gen polimorfizmi saptanan hastalarda monositlerdeki TLR2 yüzey ekspresyon oranları

Genotip	TLR2 ekspresyonu (%)	Standart sapma (%)	p
Gln753Gln	75.6	23	0.03*
Arg753Gln	62.2	26	
Arg753Arg	---	---	---

*Arg753Gln genotip polimorfizmi olan hastaların TLR2 monosit yüzey ekspresyon oranlarında anlamlı azalma (Pearson Ki kare test, p=0,03)

Hastalığın klinik şiddeti ile monosit ekspresyon oranları arasındaki ilişkiye bakıldığında; eritem, deskuamasyon, infiltrasyon, yağlı deri ve kaşıntı skorları ile monosit ekspresyon yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Semptomlar ile TLR2 ekspresyon oranları arasındaki ilişki Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Semptomların derecesi ile TLR2 ekspresyon oranı arasındaki ilişki

	r*	p**
TLR2 & Eritem	-0,08	0,52
TLR2 & Deskuamasyon	0,08	0,50
TLR2 & İnfiltrasyon	-0,06	0,64
TLR2 & Yağlanma	0,02	0,879
TLR2 & Kaşıntı	-0,04	0,978

*Spearman korelasyon katsayısı.

** Pearson Ki kare test.

V. TARTIŞMA

Seboreik dermatit infant ve erişkinlerde görülebilen, yağlanma, kepeklenme ve sınırları belirgin olmayan eritem ile karakterize kronik inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Hastalığın şiddeti asemptomatik saçlı deri kepeklenmesinden eritrodermiye kadar değişebilir. Etkilenen hastalar sıklıkla sağlıklı bireyler olmalarına rağmen, seboreik dermatit HIV enfeksiyonu ve Parkinson hastalığı gibi diğer sistem hastalıkları ile de ilişkili olabilir (164). Seboreik dermatitin etyopatogenezi tam olarak bilinmemektedir. SD'li hastalarda sebum seviyesinin artmış olmasına rağmen, SD bir sebace bez hastalığı değildir. Bununla birlikte hastalığın tutulum bölgelerine bakıldığında sebace glandların hastalık gelişiminde önemli olduğu görülmektedir. İnfantil formunda transplasental geçiş yapan maternal androjenler tarafından uyarılan infant sebace bezlerindeki büyüme sonucu olduğu düşünülmektedir (165). *Malassezia* türü mantarların da SD patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir (31, 32).

TLR2 membran bağımlı patern tanıyıcı reseptör olup tanıma yeteneğine sahip olduğu yapılarla karşılaştıklarında proinflamatuvar sitokin salınımına ve inflamasyon gelişimine neden olurlar. Ayrıca adaptif immün sistem sinyal yolunu aktive ederler (166). Farklı TLR'lerin aktivasyonu Th1 hücre differansiyonunu sağlar ve böylece Th2 oluşumunu sınırlar. Kronik inflamatuvar, enfeksiyöz, otoimmün hastalıklar ve birçok dermatolojik hastalık ile Toll-like reseptör aracılı yolların ilişkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (135, 152). TLR aktivasyonu ile sitokinlerin, kemokinlerin ve araşidonik asit moleküllerinin sentezi ve salınımı artar, reaktif oksijen metabolitlerinin ortaya çıkması ile de dokuda hasar verici olaylar meydana gelir (167).

Viral ve bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkili TLR'lerin genetik polimorfizmlerinin konak savunmasında ve inflamatuvar hastalık patogenezinde yeri bulunmaktadır (168). TLR'lerdeki polimorfizmin mikrobiyal patojenlere karşı azalmış immün cevapla ilişkili olduğu ve bunun da

intraselüler sinyal yollarına zarar verdiği bildirilmiştir. Defektif TLR ekspresyonu ve bozulmuş fonksiyonu, patojenlerin temizlenmesine yönelik protektif inflamasyon dengesini bozabilir, bakteriyel kolonizasyona neden olabilir ve Th1 cevabı/Th2 dönüşümünü aksatabilir (169). Ayrıca TLR2 tek nükleotid polimorfizmlerinin, mikrobiyal ligandların geniş bir bölümünü tanıdığı ve inflamatuvar ve infeksiyöz hastalıklara duyarlılık oluşturan bir etki gösterdiği önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (170, 171).

TLR2'nin akut enfeksiyonlardaki rolü iyi bilindiği gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Tek nükleotid polimorfizmi bulunan olgularda mikroorganizmalar konakla anormal etkileşime girebilmekte ve Crohn hastalığında olduğu gibi kronik inflamasyona neden olabilmektedir ve bu çalışma kronik inflamatuvar hastalıklarda TLR2'nin rolü olabileceğini akla getirmiştir (172).

Baroni ve ark. *M. furfur* ile enfekte edilen keratinositleri gerçek zamanlı PCR yöntemi ile analiz etmişler ve keratinositlerin *M. furfur* ile enfekte edildiğinde TLR2, myeloid farklılaşma faktörü 88(MyD88), insan beta defensin 2(HBD2), HBD3 ve IL-8 mRNA ekspresyonunda enfekte olmamış keratinositlere göre artış olduğunu saptamışlardır. Aynı sonuçlar *M. furfur* ile enfekte psoriatik deri lezyonlarında da elde edilmiştir ve *M. furfur*'a bağlı IL-8 ve beta defensin gibi moleküllerin ekspresyonunda TLR2'nin önemli rol oynadığı vurgulanmıştır (173). Ryu ve ark. da bir antimikrobiyal peptid olan modifiye hibrid peptid analogu P5'in *M. furfur* enfeksiyonları üzerindeki etkilerini incelemişler ve *M. furfur* ile enfekte keratinositlerde TLR2 mRNA ekspresyonunda 1,5 kat artış olduğunu, P5'e maruz kalan keratinositlerde ise ekspresyonda azalma olduğunu ($p<0,0002$) göstermişlerdir (174). Bu çalışmalar *Malassezia* türlerine karşı oluşan immün yanıtta TLR2'nin önemi olduğunu göstermiştir. Bu bilgiler ışığında kronik inflamatuvar bir hastalık olan seboreik dermatit gelişiminde rolü olduğu gösterilen *Malassezia* türü mikroorganizmaların hastalık gelişimindeki etkinliği göz önünde bulundurularak SD'li hastalarda TLR2 ekspresyonu ve gen polimorfizmi profilini belirleyip, bu parametrelerin hastalıkla ilişkili olup olmadığını

göstermek çalışmamızın amacı olmuştur.

TLR gen polimorfizminin sıklığı çeşitli ülkelerde değişiklik göstermektedir. Schröder ve ark. yaptıkları çalışmada Alman ırkında TLR2 Arg753Gln polimorfizmi varlığı %9,4 olarak rapor edilmiştir (162). Berdeli ve ark. TLR2 Arg753Gln ve Arg677Trp gen polimorfizmlerini artrit, kardit, kore ile başvuran 61 ARA hastasında ve 91'i çocuk ve 116'sı yetişkin kontrol olmak üzere 207 kontrol grubunda incelemişler; sağlıklı bireylerde TLR2 Arg753Gln genotip polimorfizmi sıklığı erişkinlerde %10,34 ve çocuklarda %9,89 olarak bulunmuştur (175).

Literatürdeki bilgilere göre TLR2 polimorfizmlerinin seboreik dermatit patogenezi ile ilişkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Ancak, birçok kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıkta TLR2 gen polimorfizmleri değerlendirilmiştir. Ahmad-Nejad ve ark. atopik dermatitli hastalarda TLR2 R753Q polimorfizmini %11,5 (9/78) oranında tespit etmişlerdir (141). Bacanlı ve ark. tarafından Türkiye'de (176), Tomiyama ve ark. tarafından da Japonya'da (177) yapılan çalışmalarda Behçet hastalığı patogenezinde TLR2 Arg753Gln polimorfizminin önemli bir rolünün olmadığı belirtilmiştir. Karaca ve ark. tarafından vitiligolu hasta grubu üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise TLR2 Arg753Gln genotip polimorfizmi vitiligolu grupta sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin olarak fazla saptanmış ($p<0,001$) ve 753Gln allel sıklığı vitiligo hastalarında %32, kontrol grubunda ise %7 olarak bulunduğu bildirilmiştir ($p<0,001$). Aynı çalışmada ayrıca vitiligo ile TLR4 Asp299Gly polimorfik genotipleri ile belirgin olarak ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar TLR2 Arg753Gln ve TLR4 Asp299Gly genotip polimorfizmlerinin, hastalarda vitiligoya yatkınlıkta belirgin olarak ilişki içinde olduğunu göstermiştir (135).

Veltkamp ve ark.nın yaptığı çalışmada sarkoidozlu hasta grubunda TLR2 gen polimorfizminin önemli olabileceği belirtilmiştir (178). Emingil ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise jeneralize agresif periodontit hastalarında TLR2 753Gln alleli %3,9, kontrol grubunda %6,1 olarak

bildirilmiş ve anlamlı fark bulunamamıştır (179). Ailesel akdeniz ateşinin sekonder amiloidoz gelişimine etkisini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada TLR2 Arg753Gln polimorfizmi hasta grupta %25,2 ve sağlıklı kontrol grubunda %6 oranında saptandığı ($p<0,001$) ve ayrıca sekonder amiloidoz gelişmiş FMF grubunda da TLR2 Arg753Gln polimorfizminin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (180).

Literatürde TLR2 polimorfizmi sonucu oluşabilecek fonksiyonel değişiklikleri bildiren az sayıda çalışma mevcuttur ve bu çalışmalar özellikle atopik dermatitli hasta grupları ile yapılmıştır. Mrabet-Dahbi ve ark. TLR2 R753Q polimorfizmi sonucu atopik dermatit hastalarında T hücre cevaplarında farklılık olduğunu göstermişlerdir. Hücre yüzeyinde TLR2 ekspresyonu, R753Q heterozigot polimorfizmi olan hastalarda, kontrol grubu ve normal allel sahibi atopik dermatitli hastalara göre düşük bulunmuştur ve bu çalışmada TLR2'nin hücre yüzeyine aktarımında 753.pozisyonadaki argininin önemli rol oynayabileceği belirtilmiştir (181). Biz de çalışmamızda benzer şekilde seboreik dermatitli hastalarda R753Q mutasyonu olan grupta TLR2 yüzey ekspresyonunu kontrol grubu ve normal genotip sahibi hasta grubuna göre daha düşük olduğunu saptadık.

Hasannejad ve ark. atopik dermatit hastalarında monositlerde TLR2 aracılı sitokin salınımının değişmiş olduğunu ve bu hastaların *S. aureus*, *S. pyogenes* ve HSV enfeksiyonlarına yatkın olma nedeninin TLR2 fonksiyonundaki bozukluktan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (182). Bir başka çalışmada Niebuhr ve ark. atopik dermatitli hastalarda TLR2 R753Q tek nükleotid polimorfizminin monositler üzerindeki etkisini incelemek amacı ile TLR2 agonistleri kullanarak R753Q mutasyonu olan hastalardaki cevabı normal genotipe sahip atopik dermatit hastaları ve sağlıklı gönüllüler ile ayrı ayrı karşılaştırmışlar .Bu araştırmada da bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde TLR2 ile ilişkili sitokin salınımında yabancı tip genotipe sahip olan atopik dermatitli hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. TLR2 R753Q polimorfizmi olan atopik dermatitli hastaların monositlerinde ise IL-12 ve IL-6 üretiminde artış olduğu

belirlenmiştir. Böylece R753Q mutasyonunun monosit yanıtında fonksiyonel bir farklılığa neden olduğu gösterilmiştir. TLR2 polimorfizminin atopik dermatitli hastalarda *S. aureus* kökenli enfeksiyona duyarlılığı artırdığını ve daha şiddetli bir inflamatuvar yanıtı neden olduğu vurgulanmıştır (183). Potaczek ve ark. tarafından atopik dermatitli hasta grubunda yapılan bir başka çalışmada, TLR2-16934A polimorfizminin transkripsiyonel faktörleri etkilediği, özellikle IgE seviyeleri yüksek olan hastalarda atopik dermatitin şiddetiyle ve hastalığa astım veya allerjik konjuktivitin eşlik etmesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (184).

Xiong ve ark.nın lepra ve tüberküloz tanılı hastaların periferik kan monositlerinde TLR2 ekspresyonu ile TLR2 Arg753Gln polimorfizmi arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla yaptıkları çalışmada ise bizim çalışmamızın aksine R753Q polimorfizminin TLR2 ekspresyon seviyesinde anlamlı azalmaya neden olmadığı bildirilmiştir. R753Q mutasyonu olan bireylerde TLR2-TLR6 heterodimerizasyonu, tirozin fosforilasyonu ve MyD88 ile olan etkileşimin bozulduğu, TLR2 sinyal iletiminde değişiklik olduğu, ancak yüzey ekspresyonunu etkilemediği gösterilmiştir. NF-kB aktivasyonunda, IL-8 gen ekspresyonunda inhibisyon meydana geldiği, bu nedenle mikobakterilere karşı duyarlılık oluşabileceği vurgulanmıştır (185).

Ohno ve ark. oral liken planuslu hasta grubunda hem lezyon dokusunda, hem de periferik kan monositlerinde 10 farklı TLR ekspresyonunu analiz etmişler ve dokuda spinöz tabakada TLR2 ekspresyonunda artış saptamışlardır. Aynı zamanda flowsitometrik yöntem ile hasta grubunda periferik kan monositlerinde normal popülasyona göre TLR2 ekspresyonunda artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada oral liken planusu olan hastalarda Th1/Th2 dengesinin Th1 yönüne kaymasında TLR2 upregülasyonunun rolü olduğu vurgulanmıştır (186).

Bir başka çalışmada ise psoriasis hastalarında periferik kanda mononükleer hücrelerde TLR2, TLR4 ve TLR9 ekspresyon düzeyleri bakılmış ve kontrol grubu ile psoriasis grubu arasında anlamlı bir farklılık

görülmemiştir (187). Kondiloma aküminatalı hasta grubunda yapılan bir çalışmada da periferik kanda monositlerde bakılan TLR2, TLR3 ve TLR9 ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (188).

Literatürde seboreik dermatitli hastalarda TLR2 gen polimorfizmi ve monositlerdeki TLR2 ekspresyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda SD'li hastalarda TLR2 polimorfizmi ve hastalık şiddeti, hastalığın yerleşim yeri ile TLR2 polimorfizmi arasındaki ilişki incelendi. Hasta grubunda %20 oranında TLR2 R753Q tek nükleotid polimorfizmi saptanırken, kontrol grubunda hiçbir bireyde polimorfizm saptanmadı. Hasta ve kontrol gruplarından monosit yüzeyinde TLR2 ekspresyon yüzdesi açısından fark saptanmaz iken R753Q polimorfizmi olan grupta monositlerde TLR2 ekspresyonunda azalma olduğu saptandı. Bu sonuçlar Niebuhr ve ark. ile Mrabet-Dahbi ve ark.nın atopik dermatitli hasta grubunda elde ettikleri verilere benzer şekilde, TLR2 yüzey ekspresyonunda azalmanın seboreik dermatitli hastalarda *M. furfur*'a karşı duyarlılık oluşturabileceğini ve inflamatuvar yanıtta değişikliklerin hastalığı ortaya çıkarabileceğini akla getirmektedir. Fakat bu hipoteze karşıt olarak Ballanger ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada seboreik dermatitli hastalarda lityumun yüksek konsantrasyonlarda IL-10 üretimini artırıp TLR2 ve TLR4 ekspresyonunu azaltarak, immünsupresif ve antiinflamatuvar bir etkiyle lezyonları iyileştirdiği bildirilmiştir. Lityumun TLR2 ekspresyonunu azalttığı ve bunun sonucu olarak *Malassezia* mayalarının inflamasyonu aktive edici etkisinin bu mekanizma ile engellendiği belirtilmiştir (189). Literatürdeki tüm yayınlar ve bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar göz önünde alındığında, TLR2 ekspresyonundaki azalmanın SD patogenezinde *M. furfur*'a karşı duyarlılık oluşturduğu düşünülebileceği gibi karşıt olarak ekspresyondaki artışın seboreik dermatitte inflamatuvar süreci tetiklediği hipotezi de akla gelmektedir. Çalışmamızın eksik yanları, TLR2 polimorfizmi ile seboreik dermatit patogenezinde rolü olan sitokinler arasındaki ilişkinin ve hastalardaki *M. furfur* kolonizasyonunun gösterilmemiş olmasıdır. Yine de elde ettiğimiz veriler TLR2'nin hastalık patogenezinde anahtar rolü olabileceğini

göstermiştir. TLR2'nin rolünü daha net bir şekilde ortaya çıkarmak ve bu iki karşıt hipotezden hangisinin daha geçerli olduğunu aydınlatabilmek için TLR2 polimorfizmi ile ilişkili olabilecek sitokinlerin belirlenmesinin yanı sıra polimorfizmin *Malassezia* kolonizasyonuna olan etkisinin aydınlatılması gerekmektedir.

VI. SONUÇ

Çalışmamıza Ocak 2015 – Mayıs 2015 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji polikliniğine başvuran, yaşları 18 ve üzerinde olan klinik olarak seboreik dermatit tanısı koyulan 36 kadın ile 24 erkek toplam 60 seboreik dermatit hastası ve kontrol grubu olarak 31 kadın ile 29 erkek sağlıklı gönüllüden oluşan toplam 120 kişi dahil edildi.

Seboreik dermatitli hastalarda TLR2 gen polimorfizmi olup olmadığını ve monositlerdeki TLR2 ekspresyon yüzdesini belirleme ve elde edilen bilgilerin kontrol grubu ile karşılaştırılması amacıyla hasta ve kontrol grubundan alınan periferik kan örnekleri analiz edildi.

Sonuç olarak;

1. Çalışmaya katılan hastaların yaşları 18-75 arasında değişmekte olup, yaş ortalamaları $34,4 \pm 13,75$ olarak bulundu. Kontrol grubunun yaşları 18-68 arasında değişmekte olup, yaş ortalamaları $34,1 \pm 7,8$ olarak bulundu.
2. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş, cinsiyet ve medeni durum dağılımı açısından fark saptanmadı ($p > 0.05$).
3. Seboreik dermatitli hastaların %88,4'ünde hastalık süresi altı aydan daha uzun olarak saptandı.
4. Hasta grubu eğitim seviyelerine göre gruplandırıldığında çoğunluğunun ortaokul ve lise seviyesinde eğitime sahip olan kişiler olduğu bulundu.
5. Hasta grubundaki 21 kişide (%35) birinci derece akrabalarda seboreik dermatit öyküsü saptanırken 39 kişide (%65) aile öyküsü saptanmadı.
6. Hastaların %11'inde hastalık süresi altı aydan kısa olarak saptanırken %89'unda altı aydan uzun olarak saptandı.

7. Lezyonlar hastaların %15'inde sadece saçlı deri, %10'unda sadece yüz, %52'sinde saçlı deri ile beraber yüz ve %23'ünde saçlı deri, yüz ve gövdede yerleşmiş olduğu gözlemlendi.
8. Eritem şiddeti hastaların %38'inde orta derecede, %38'inde şiddetli derecede saptandı ve TLR2 polimorfizmi ile eritemin derecesi arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmadı ($p=0,97$).
9. Deskuamasyon derecesi hastaların %45'inde şiddetli olarak bulundu ve TLR2 polimorfizmi ile deskuamasyon derecesi arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmadı ($p=0,59$).
10. İnfiltrasyon derecesi hastaların %41,6'sında orta derecede, %40'ında hafif derece olarak saptandı ve TLR2 polimorfizmi ile infiltrasyon derecesi arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmadı ($p=0,56$).
11. Deride yağlanmanın derecesi hastaların %31,6'sında orta, %30'unda hafif, %30'unda şiddetli derecede idi ve TLR2 polimorfizmi ile deride yağlanmanın derecesi arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmadı ($p=0,78$).
12. Kaşıntı hastaların %36,6'sında orta derecede, %21,6'ında hafif derecede bulundu ve TLR2 polimorfizmi ile kaşıntı derecesi arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmadı ($p=0,94$).
13. Eritem ile deskuamasyon, infiltrasyon ve kaşıntı şiddetleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü.
14. Kaşıntı şiddeti ile eritem, infiltrasyon ve yağlanma şiddeti arasında pozitif bir korelasyon saptandı.
15. Seboreik dermatit hastalarında TLR2 R753Q polimorfizm sıklığı %20 oranında saptanırken, sağlıklı kontrol grubunda ise hiçbir katılımcıda polimorfizm saptanmadı ($p<0,001$).
16. Hem seboreik dermatitli grupta, hem de sağlıklı kontrol grubunun hiçbirinde TLR2 Arg753Arg mutant allel homozigotluğu görülmedi.
17. G Alleli hasta grubunda %90,2 kontrol grubunda %100 olarak bulundu ($p<0,01$).
18. A alleli hasta grubunda %9,8 olup kontrol grubunda saptanmadı ($p<0,01$).

19. TLR2 polimorfizmi olan hastalarda %33,3 oranında aile öyküsü pozitif olarak bulundu, ailede SD öyküsü ile polimorfizm arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki saptanmadı ($p=0,89$).
20. Hasta grubunda periferik kanda ölçülen ortalama TLR2 monosit yüzey ekspresyon oranı $72,9 \pm 3,1$, kontrol grubunda $80,7 \pm 2,7$ olarak saptandı ($p=0,129$).
21. TLR2 R753Q polimorfizmi olan 12 hastada monosit yüzey ekspresyonu oranı $62,2 \pm 26$ olarak hesaplandı. Bu hastalarda monosit yüzeylerindeki TLR2 ekspresyon oranında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu ($p=0,03$).
22. Eritem, deskuamasyon, infiltrasyon, yağlı deri ve kaşıntı skorları ile monosit ekspresyon yüzdeleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Çalışmamız seboreik dermatitli hastalarda TLR2 gen polimorfizmi ve monositlerdeki TLR2 ekspresyon düzeyi ile ilgili yapılan literatürdeki ilk çalışma olmuştur. Çalışmamızda seboreik dermatitli hastalarda ilk kez TLR2 R753Q tek nükleotid polimorfizmi olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda R753Q polimorfizmi olan grupta monositlerde TLR2 ekspresyonunda azalma olduğu belirlenerek bu mutasyonun fonksiyonel bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar göz önünde bulundurulunca TLR2 R753Q tek nükleotid polimorfizmi ve bununla ilişkili olarak TLR2 ekspresyonundaki azalmanın, SD patogenezinde rol oynayan *M. furfur*'a karşı bir duyarlılık oluşturduğu ve bu yolla hastalık patogenezinde önemli rol oynadığı fikrinin oluşmasına neden olmuştur.

VII. ÖZET

Giriş: Seboreik dermatit yağlanma, kepeklenme ve sınırları belirgin olmayan eritemli yamalar ile karakterize kronik inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Birçok faktörün SD gelişiminden sorumlu olduğu bildirilse de hastalığın patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Patogeneizde *Malassezia* türü mantarların da rol oynadığı gösterilmiştir.

Toll-like reseptör ailesi konakçı immün sisteminde patojen mikroorganizmalara karşı inflamatuvar yanıt oluşmasında anahtar role sahiptirler. TLR2 geninde meydana gelen değişikliklerin konak savunmasında ve inflamatuvar hastalık patogenezinde yeri bulunmaktadır. SD'li hastalarda TLR2 gen polimorfizmi ve TLR2 ekspresyonu, *Malassezia* türü mikroorganizmalara karşı duyarlılık oluşturarak hastalığın ortaya çıkmasında rol oynayabilir.

Amaç: Seboreik dermatit ile TLR2 gen polimorfizmi ve monositlerdeki TLR2 ekspresyonu oranlarını belirlemek çalışmamızın amacı olmuştur.

Gereç ve Yöntem: 60 hasta ve 60 kontrol grubundan olmak üzere 120 kişiden alınan periferik kan örneklerinde genomik DNA elde edildi. TLR2 Arg753Gln polimorfizmleri polimeraz zincir reaksiyonu sonrası restriksiyon enzim kesimi yöntemi ile belirlendi. Monosit yüzeyindeki TLR2 ekspresyon yüzdesini periferik kan örneklerinde flowsitometrik yöntem ile analiz edildi. Veriler ki-kare testi ve Weinberg equilibrium test ile analiz edildi.

Bulgular: Seboreik dermatit hastalarında TLR2 R753Q polimorfizm sıklığı %20 oranında saptanırken sağlıklı kontrol grubunda ise hiçbir katılımcıda polimorfizm saptanmadı ($p<0,001$). Hem seboreik dermatitli grupta, hem de sağlıklı kontrol grubunun hiçbirinde TLR2 Arg753Arg mutant genotip (AA) homozigotluğu görülmedi. G Alleli hasta grubunda %90,2 ve kontrol grubunda %100 olarak bulundu ($p<0,01$). A alleli hasta grubunda %9,8 olup kontrol grubunda saptanmadı ($p<0,01$).

Hasta grubunda periferik kanda ölçülen ortalama TLR2 monosit yüzey ekspresyon oranı $72,9 \pm 3,1$, kontrol grubunda $80,7 \pm 2,7$ olarak saptandı ($p=0,129$). TLR2 R753Q polimorfizmi olan 12 hastada monosit yüzey ekspresyonu oranı $62,2 \pm 26$ olarak hesaplandı. Bu hastalarda monosit yüzeylerindeki TLR2 ekspresyon oranında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalma olduğu bulundu ($p=0,03$).

Sonuç: Çalışmamızda literatürde ilk kez seboreik dermatitli hasta grubunda TLR2 R753Q tek nükleotid polimorfizmi olduğunu saptadık. Aynı zamanda R753Q polimorfizmi olan grupta monositlerde TLR2 ekspresyonunda azalma olduğu belirlendi. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar göz önünde bulundurulunca TLR2 ekspresyonundaki azalmanın SD patogeneğinde *M. furfur*'a karşı duyarlılık oluşturduğu hipotezi gündeme gelmiş oldu.

Anahtar kelimeler: seboreik dermatit, Malassezia, TLR2, polimorfizm

VIII. SUMMARY

Introduction: Seborrheic dermatitis (SD) is a common chronic inflammatory skin condition, characterized by scaling and poorly defined erythematous patches. The etiopathogenesis of SD remains unknown, although many factors have been implicated. *Malessezia furfur* has been implicated in the development of this condition.

The family of Toll-like receptors (TLRs) is a key role in host immunity by mediating inflammatory reactions against a wide range pathogens. Mutations and polymorphism in TLRs have revealed the importance of TLRs in human defence against diseases. The TLR2 expression and gene polymorphism linked with impaired reactivity to *Malessezia furfur* may play role in pathogenesis of seborrheic dermatitis.

Aim: The aim of the present study was to investigate the Toll-like receptor 2 (TLR2) gene polymorphism and TLR2 expression in seborrheic dermatitis patient compared to healthy controls.

Materials and Methods: Genomic DNA was obtained from the peripheral blood of 60 patients with SD and 60 healthy subjects. The TLR2 Arg753Gln gene polymorphism were genotyped by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. Surface expression of TLR2 on the monocytes was also assessed by means flow cytometry. The data were analysed by a χ^2 test, logistic regression analysis and the Hardy-Weinberg equilibrium test.

Results: The Arg753Gln mutant allele was found in 20% of the seborrheic dermatitis patients. Arg753Gln single nucleotide polymorphism was not seen in the control group. The frequency of the A allele was 9,8% in seborrheic dermatitis patients. For the healthy subjects, A allele was not detected ($p < 0,0001$). Compared with healthy controls, the TLR2 Arg753Gln genotype

was significantly higher in the entire group of seborrheic dermatitis cases ($p < 0.0001$).

While TLR2 expression on monocytes mean rate was $72,9 \pm 3,1\%$ in the patients group, this rate was $80,7 \pm 2,7\%$ in healthy group. However, there was no significant difference in TLR2 expression rates ($p = 0,129$). At the same time, compared with non-mutant SD patients, the TLR2 expression on monocytes was significantly lower in patients with TLR2 R753Q mutant SD patients ($p = 0,03$).

Conclusion: We show for the first time TLR2 R753Q single nucleotide polymorphism in SD patients. We also determined that TLR2 R753Q mutation is associated with lower expressions of TLR2 on monocytes. TLR2 may be essential in the pathogenesis and maintenance of SD and may be involved in the enhanced susceptibility to skin colonization with *M. furfur* in patient with SD carrying TLR2 polymorphism.

IX. KAYNAKLAR

1. Dessinioti C, Katsambas A. Seborrheic dermatitis: etiology, risk factors, and treatments: facts and controversies. Clin Dermatol. 2013 Jul-Aug;31(4):343-51.
2. Gupta AK, Bluhm R. Seborrheic dermatitis. JEADV 18: 13-26; 2004.
3. Del Rosso JQ. Perspectives on seborrheic dermatitis: looking back to move ahead. Clin Dermatol 2009;27:s39-40.
4. Fritsch P, Reider N. Seborrheic dermatitis. In: Bologna JL, Lorizzo JL, Rapini RP, editors. Dermatology. 2nd ed. USA: Mosby Elsevier; 2008. p. 197-200.
5. Smith KJ, Skelton HG, Yeager J, et al. Cutaneous findings in HIV- 1 positive patients: a 42-month prospective study. J Am Acad Dermatol 31: 746-754; 1994.
6. Binder RL, Jonelis FJ. Seborrheic dermatitis in neuroleptic induced Parkinsonism. Arch Dermatol 1983;119:473-5.
7. Sandyk R. Seborrhea and persistent tardive dyskinesia. Int J Neurosci 1990;50:223-6.
8. Maietta G, Fornaro P, Rongioletti F, et al. Patients with mood depression have a high prevalence of seborrhoeic dermatitis. Acta Derm Venereol 1990;70:432-4.
9. Ercis M, Balci S, Atakan N. Dermatological manifestations of 71 Down syndrome children admitted to a clinical genetics unit. Clin Genet 1996;50:317-20.
10. Marren P, Burge S. Seborrhoeic dermatitis of the scalp—a manifestation of Hailey–Hailey disease in a predisposed individual? Br

J Dermatol 1992;126:294-6.

11. Gross-Tsur V, Gross-Kieselstein E, Amir N. Cardio–facio cutaneous syndrome: neurological manifestations. Clin Genet 1990;38:382-6.
12. Schwartz JR1, Messenger AG, Tosti A, et al. A comprehensive pathophysiology of dandruff and seborrheic dermatitis - towards a more precise definition of scalp health. Acta Derm Venereol. 2013 Mar 27;93(2):131-7.
13. Schwartz RA, Janusz CA, Janniger CK. Seborrheic dermatitis: an overview. Am Fam Phys 2006;74:125-30.
14. Hay Rj. Malassezia, dandruff and seborrhoeic dermatitis: an overview. Br J Dermatol. 2011 Oct;165 Suppl 2:2-8.
15. Crespo Erchiga V, Ojeda Martos A, Vera Casano A, et al. Malassezia globosa as the causative agent of pityriasis versicolor. Br J Dermatol 2000; 143:799–803.
16. Unat EK, Yücel A. Tıp mikolojisi. Unat E, Yücel A, Altaş K, Samastı M (ed). Unat'ın Tıp Parazitolojisi'nde. İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Bulaşan Hastalıkları'nda. Beşinci baskı. İstanbul, Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yayınları; 15; 1995: 700-766.
17. Ashbee HR, Evans EGV. Immunology of diseases associated with Malassezia species. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 21-57.
18. Faergeman J, Bernander S. Microaerophylic and anaerobic growth of Pityrosporum species. Sabouradia 1981; 19: 117-121.
19. Kwon Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia; Lea and Fabinger, 1992: 170-182.
20. Catterall MD, Ward ME, Jacobs P. A reappraisal of the role of Pityrosporum orbiculare in pityriasis versicolor and the significance of

- extracellular lipase. J Invest Dermatol 1978; 71: 398-401.
21. Marples RR, Downing DT, Kligman AM. Influence of *Pityrosporum* species in the generation of free fatty acids in human surface lipid. J Invest Dermatol 1972; 58: 155-159.
 22. Ran Y, Yoshike T, Ogawa H. Lipase of *M.furfur*, some properties and their relationship to cell growth. J Med Vet Mycol 1993; 31: 77-85.
 23. Bergbrant IM, Faergeman J. Variations of *Pityrosporum orbiculare* in middle-aged and elderly individuals. Acta Dermatol-Venerol 1988, 68: 537-540.
 24. Crespo Erchiga V, Delgado Florencio V. *Malassezia* species in skin disease. Curr Opin Infect Dis 2002; 15:133–42.
 25. Gosse RM, Vanderwyk RW. The relationship of a nystatin-resistant strain of *Pityrosporum ovale* to dandruff. J Soc Cosmet Chem 1969;20:603-6.
 26. Sunenshine PJ, Schwartz RA, Janniger CK. *Tinea versicolor*: an update. Cutis 1998;61:65-72.
 27. Gupta AK, Kohli Y, Faergemann J, et al. Epidemiology of *Malassezia* yeasts associated with pityriasis versicolor in Ontario, Canada. Med Mycol 2001;39:199-206.
 28. Bergbrant I-M, Faergemann J. Seborrhoeic dermatitis and *Pityrosporum ovale*: a cultural and immunological study. Acta Derm Venereol (Stockh) 1989;69:332-5.
 29. McGinley KJ, Leyden JJ, Marples RR, et al. Quantitative microbiology of the scalp in non-dandruff, dandruff and seborrhoeic dermatitis. J Invest Dermatol 1975;64:401-5.
 30. Heng MCY, Henderson CL, Barker DC, et al. Correlation of

- Pityrosporum ovale* density with clinical severity of seborrheic dermatitis as assessed by a simplified technique. *J Am Acad Dermatol* 1990;23:82-6.
31. Lee YW, Byun HJ, Kim BJ, et al. Distribution of *Malassezia* species on the scalp in Korean seborrheic dermatitis patients. *Ann Dermatol* 2011;23:156-61.
32. Oh BH, Lee YW, Chow YB, Ahn KJ. Epidemiologic study of *Malassezia* yeasts in seborrheic dermatitis patients by the analysis of 26S r DNA PCR-RFLP. *Ann Dermatol* 2010;22:149-55.
33. Gupta AK, Kohli Y, Summerbell RC, Faergemann J. Quantitative culture of *Malassezia* species from different body site of individuals with and without dermatoses. *Med Mycol* 2001;38:243-51.
34. Nakabayashi A, Sei Y, Guillot J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrhoeic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. *Med Mycol* 2000;38:337-41.
35. Gaitanis G1, Velegraki A, Mayser P, et al. Skin diseases associated with *Malassezia* yeasts: facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2013 Jul-Aug;31(4):455-63.
36. Patino-Uzcategui A, Amado Y, Cepero de Garcia M, et al. Virulence gene expression in *Malassezia* spp from individuals with seborrheic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2011;131:2134-6.
37. Vlachos C, Gaitanis G, Alexopoulos EC, et al. Phospholipase activity after β -endorphin exposure discriminates *Malassezia* strains isolated from healthy and seborrheic dermatitis skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. Epub 2012 Jul 4.
38. Xu J, Saunders CW, Hu P, et al. Dandruff associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence traits shared with

plant and human fungal pathogens. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:18730-5.

39. Borgers M, Cauwenbergh G, Van De Ven MA, et al. Pityriasis versicolor and *P. ovale*. Morphogenetic and ultrastructural considerations. Int J Dermatol 1987; 26: 586-589.
40. Tosti A, Villardita S, Fazzini ML. The parasitic colonisation of the horny layer in tinea versicolor. J Invest Dermatol 1972; 59: 233-237.
41. Riciputo RM, Oliveri S, Micali G, et al. Phospholipase activity in malassezia furfur pathogenic strains. Mycoses 1996; 39: 233-235.
42. Gaitanis G, Bassukas ID, Velegraki A. The range of molecular methods for typing Malassezia. Curr Opin Infect Dis 2009;22: 119-25.
43. Ryu S, Choi SY, Acharya S, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of cecropin A(1-8)–Magainin2(1-12) hybrid peptide analog P5 against Malassezia furfur infection in human keratinocytes. J Invest Dermatol 2011;131:1677-83.
44. Tajima M, Sugita T, Nishikawa A, et al. Molecular analysis of Malassezia microflora in seborrheic dermatitis patients: comparison with other diseases and healthy subjects. J Invest Dermatol 2008;128: 345-51.
45. Kieffer M, Berbrant IM, Faergemann JF, et al. Immune reactions to Pityrosporum ovale in adult patients with atopic and seborrheic dermatitis. J Am Acad Dermatol 1990;22:739-42.
46. Rokzgo M, Tagami H, Usuba Y, et al. Contact sensitivity to Pityrosporum ovale patients with atopic dermatitis. Arch Dermatol 1990;126:627-32.
47. Nicolls DSG, Midgley G, Hay RJ. Patch testing against Pityrosporum agents. Clin Exp Dermatol 1990;15:75-8.

48. DeAngelis Y, Gemmer C, Kaczvinsky J, et al. Three etiologic facets of dandruff and seborrheic dermatitis: *Malassezia* fungi, sebaceous lipids and individual sensitivity. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2005;10:295-7.
49. Gaitanis G, Magiatis P, Stathopoulou K, et al. AhR ligands, malassezin, and indolo[3,2-b]carbazole are selectively produced by *Malassezia furfur* strains isolated from seborrheic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008;128:1620-5.
50. Esser C, Rannug A, Stockinger B. The aryl hydrocarbon receptor in immunity. *Trends Immunol* 2009;30:447-54.
51. Marino CT, McDonald E, Romano JF. Seborrheic dermatitis in acquired immunodeficiency syndrome. *Cutis* 1991;50:217-8.
52. Bergbrant IM, Johansson S, Robbins D, et al. An immunological study in patients with seborrhoeic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 1991;16:331-8.
53. Kieffer M, Bergbrant IM, Faergemann J, et al. Immune reactions to *Pityrosporum ovale* in adult patients with atopic and seborrheic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:739-42.
54. Ashbee HR, Ingham E, Holland KT, et al. Cell-mediated immune responses to *Malassezia furfur* serovars A, B and C in patients with pityriasis versicolor, seborrheic dermatitis and controls. *Exp Dermatol* 1994;3:106-12.
55. Kesavan S, Walters CE, Holland KT, et al. The effects of *Malassezia* on pro-inflammatory cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Med Mycol* 1998;36: 97-106.
56. Prohic A. Distribution of *Malassezia* species in seborrhoeic dermatitis: correlation with patients' cellular immune status. *Mycoses* 2009;53:

343-9.

- 57.** Emre S, Metin A, Demirseren DD, et al. The association of oxidative stress and disease activity in seborrheic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 2012 Nov;304(9):683-7.
- 58.** Bickers DR, Ahtar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol* 2006;126:2565-75.
- 59.** Faergemann J, Bergbrant JM, Dohse M, et al. Seborrhoeic dermatitis and *Pityrosporum* (Malassezia) folliculitis: characterization of inflammatory cells and mediators in the skin by immunohistochemistry. *Br J Dermatol* 2001;144:549-56.
- 60.** Gupta AK, Batra R, Bluhm R, et al. Skin diseases associated with *Malassezia* species. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:785-98.
- 61.** Cowley NC, Farr PM, Shuster S. The permissive effect of sebum in seborrhoeic dermatitis: an explanation of the rash in neurological disorders. *Br J Dermatol*. 1990 Jan;122 [1]:71-6.
- 62.** Mastrolonardo M, Diaferio A, Logroscino G. Seborrheic dermatitis, increased sebum excretion, and Parkinson's disease: a survey of impossible links. *Med Hypotheses*. 2003 Jun;60 [6]:907-11.
- 63.** Gül Ü. Seboreik Dermatitte Psikolojik Faktörler. *Türkiye Klinikleri J Dermatol - Special Topics*. 2 (4): 55-7; 2009.
- 64.** Aydemir EH. Stres ve deri hastalıkları. *STE Sempozyum dizisi No: 47-Stres* s. 145- 152; 2005.
- 65.** Janniger CK, Schwartz RA. Seborrheic dermatitis. *Am Fam Physician* 52: 149.55- 159.60, 1995.
- 66.** Özdemir F. Seboreik Dermatit ve Perioral Dermatit. *Türkiye Klinikleri J*

Dermatol - Special Topics. 3 (1): 47-56; 2010.

67. Gülekon A. Psoriasis ve benzeri dermatozlar. In: Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL, editors. Dermatoloji. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 760-2, 2008.
68. Binder RL, Jonelis FJ. Seborrhoeic dermatitis: a newly reported side effect of neuroleptics. J Clin Psychiatry 1984; 45: 125.
69. Kanwar AJ. Seborrhoeic dermatitis-like eruption caused by cimetidine. Arch Derm 1981; 117: 65.
70. Patnaik R, Choudary TN, Shashikiran B. Nutrition and skin. In: Valia RG, Valia AR, editor. IADVL textbook and atlas of dermatology. 2nd edn. Bombay: Bhalani Publishing House, 1999; 974- 1001.
71. Barba A, Piubello W, Vantini I et al. Skin lesions in chronic alcoholic pancreatitis. Dermatologica 1982; 164: 322–326.
72. Cribier B, Samain F, Vetter D et al. Systematic cutaneous examination in hepatitis C virus infected patients. Acta Derm Venereol 1992; 72: 454–455.
73. Clift DC, Dodd JH, Kirby JD et al. Seborrheic dermatitis and malignancy. An investigation of the skin flora. Acta Derm Venereol 1988; 68: 48–52.
74. Tüzün Y, Dolar N. Neonatal eritrodermalar. Pediatrik Dermatoloji’de. Ed. Tüzün Y, Kotogyan A, Serdaroğlu S ve ark. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005, 67-71.
75. A Jamil, L Muthupalaniappen. Scales on the scalp. Malays Fam Physician. 2013; 8(1): 48–49.
76. Ioffreda D. Inflammatory Diseases of Hair Follicles, Sweat Glands,

and Cartilage. In: Lever's Histopathology of the skin, Elder D, Elenitsas R, Murphy F, Johnson B, Xu X editors. 10th ed. USA: Williams & Wilkins;2009. p. 243.

- 77.** Gupta AK, Ryder JE, Nicol K, et al. Superficial fungal infections: an update on pityriasis versicolor, seborrheic dermatitis, tinea capitis, and onychomycosis. Clin Dermatol 2003; 21:417-25.
- 78.** Plewig G, Jansen T. Seborrheic dermatitis. Dermatology in General Medicine. Ed. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB. 5th ed. Newyork, Mc Graw-Hill Inc, 1999;1482-9.
- 79.** Dupuy P, Maurette C, Amoric JC, et al. Randomized, placebo-controlled, double-blind study on clinical efficacy of ciclopiroxolamine 1% cream in facial seborrheic dermatitis. Br J Dermatol 2001;144:1033-7.
- 80.** Unholzer A, Varigos G, Nicholls D, et al. Ciclopiroxolamine cream for treating seborrheic dermatitis: a double-blind parallel group comparison. Infection 2002;30:373-6.
- 81.** Johnson BA, Nunley JR: Treatment of seborrheic dermatitis. Am Fam Physician 2000;61:2703-10.
- 82.** Milani M, Antonio Di Molfetta S, Gramazio R, et al. Efficacy of betamethasone valerate 0.1% thermophobic foam in seborrheic dermatitis of the scalp: an open-label, multicentre, prospective trial on 180 patients. Curr Med Res Opin 2003;19:342-5.
- 83.** Başak PY, Ergin Ş. Comparative effects of calcipotriol and betamethasone 17-valerate solution in the treatment of seborrheic dermatitis of the scalp. J Eur Acad Dermatol Venereol 2001;15:86-8.
- 84.** Kiremitçi Ü, Topçu E, Serdaroğlu S. Seboreik dermatit tedavisi.

Dermatose 2004;2:146-50.

- 85.** Braza TJ, DiCarlo JB, Soon SL, et al. Tacrolimus 0.1% ointment for seborrheic dermatitis: an open-label pilot study. *Br J Dermatol* 2003;148:1242-4.
- 86.** Brownell I, Quan LT, Hsu S. Topical pimecrolimus in the treatment of seborrheic dermatitis. *Dermatol Online J* 2003;9:13.
- 87.** Crutchfield CE. Pimecrolimus: a new treatment for seborrheic dermatitis. *Cutis* 2002;70:207-8.
- 88.** Langtry JAA, Rowland Payne CME, Staughton RCD, et al. Topical lithium succinate ointment (Efalith) in the treatment of AIDS-related seborrheic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 1997;22:216-9.
- 89.** Dreno B, Chosidow O, Revuz J, et al. Lithium gluconate 8% vs ketoconazole 2% in the treatment of seborrheic dermatitis: a multicentre, randomized study. *Br J Dermatol* 2003;148:1230-6.
- 90.** Baysal V, Yıldırım M, Özcanlı Ç et al. Itraconazole in the treatment of seborrheic dermatitis: a new treatment modality. *Int J Dermatol* 2004;43:63-6.
- 91.** Scaparro E, Quadri G, Virno G, et al. Evaluation of the efficacy and tolerability of oral terbinafine (DaskilR) in patients with seborrheic dermatitis. A multicentre, randomized investigator-blinded, placebo-controlled trial. *Br J Dermatol* 2001;144:854-7.
- 92.** Cassano N, Amoroso A, Loconsole F et al. Oral terbinafine for the treatment of seborrheic dermatitis in adults. *Int J Dermatol* 2002;41:821-2.
- 93.** Faergemann J. Treatment of seborrheic dermatitis with oral terbinafine. *Lancet* 2001;358:170.

- 94.** İnalöz HS, Kırtak N. The pathogenesis and treatment of seborrheic dermatitis. *T Klin J Med Sci* 2002;22:239-44.
- 95.** Pirkhammer D, Seeber A, Hönigsmann H. Narrow-band ultraviolet B phototherapy is an effective and safe treatment option for patients with severe seborrheic dermatitis. *Br J Dermatol* 2000;143:964-8.
- 96.** Holden CA, Berth-Jones J. Editors. *Rook's Textbook of Dermatology*. Seventh Ed. Italy, Blackwell Publishing, 2004; 3: 17.10-17.15.
- 97.** Himanshu K, Taro K, Shizuo A. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009;388: 621– 625.
- 98.** Janeway C, Medzhitov R. Innate immune recognition, *Annu. Rev. Immunol* 2002;20: 197–216.
- 99.** S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi. Pathogen recognition and innate immunity, *Cell* 2006;124: 783–801.
- 100.** R. Medzhitov. Recognition of microorganisms and activation of the immune response, *Nature* 2007;449: 819–826.
- 101.** B.A. Beutler. TLRs and innate immunity, *Blood* 2009;113: 1399–1407.
- 102.** Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 103-10.
- 103.** Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway Jr CA. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997;388: 394– 397.
- 104.** Lien E, Ingalls RR. Toll-like receptors. *Crit Care Med* 2002; 30(Suppl):1-11.

- 105.** Cario E. Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. *Gut* 2005;54: 1182-93.
- 106.** Akira S. Toll-like receptor signaling. *J Biol Chem* 2003; 278: 38105-8.
- 107.** Kaisho T, Akira S. Toll-like receptor function and signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117: 979-87.
- 108.** Kanzler H, Barrat FJ, Hessel EM. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat Med* 2007;13: 552-9.
- 109.** Bhattacharjee RN, Akira S. Toll-Like Receptor Signaling: Emerging opportunities in human diseases and medicine. *Curr Immunol Rev* 2005;1: 81-90.
- 110.** Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, et al. Role of adapter TRIF in the MyD88- independent Toll-like receptor signaling pathway. *Science* 2003;301: 640-3.
- 111.** Yamamoto M, Sato S, Hemmi H et al. TRAM is specifically involved in the Toll- like receptor 4-mediated MyD88-independent signaling pathway. *Nat Immunol* 2003;4: 1144-50.
- 112.** Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004;4: 499- 511.
- 113.** McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The Role of Toll-like Receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J Invest Dermatol* 2005;125:1-8.
- 114.** Thoma-Uszynski S, Kiertscher SM, Ochoa MT, et al. Activation of Tolllike receptor 2 on human denritic cells triggers induction of IL-12 but not IL-10. *J Immunol* 2000;165:3804-3810.
- 115.** Kollisch G, Kalali BN, Voelcker V, et al. Various members of the Toll-like

receptor family contribute to the innate immune response of human epidermal keratinocytes. *Immunology* 2005;114:531-541.

116. Xu D, Komai-Koma M, Liew FY. Expression and function of Toll-like receptor on T cells. *Cell Immunol* 2005;233:85-89.

117. Rock FL, Hardiman G, Timans JC, Kastelein RA, Bazan JF. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95: 588- 93.

118. Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13766-71.

119. Romagne F. Current and future drugs targeting one class of innate immunity receptors: the Toll-like receptors. *Drug Discov Today* 2007;12: 80-7.

120. Valins W, Amini S, Berman B. The expression of Toll-like receptors in dermatological diseases and the therapeutic effect of current and newer topical Toll-like receptor modulators. *J Clin Aesthet Dermatol* 2010; 3(9): 20–29.

121. Miller LS. Toll-like receptors in skin. *Adv Dermatol* 2008; 24: 71–87.

122. Lai Y, Gallo RL. Toll-like receptors in skin infections and inflammatory diseases. *Infect Disord Drug Targets* 2008; 8: 144–155.

123. Lew BL, Sim WY, Kim NI. Expression of Toll-like receptor 2 in cultured human keratinocytes: the effect of bacterial antigens, cytokines and calcium concentration. *Ann Dermatol* 2009; 21: 337–344.

124. Wang JF, Hori K, Ding J, et al. Toll-like receptors expressed by dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring. *J Cell Physiol* 2011; 226:

1265–1273.

125. Kawai K, Shimura H, Minagawa M, et al. Expression of functional toll-like receptor 2 on human epidermal keratinocytes. *J Dermatol Sci* 2002;30:185-194.

126. Baker BS, Ovigne JM, Powles AV, et al. Normal keratinocytes express toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol* 2003;148:670-679.

127. Miller LS, Sorensen OE, Liu PT, et al. TGF- α regulates TLR expression and function on epidermal keratinocytes. *J Immunol* 2005;174:6137-6143.

128. Chen K, Huang J, Gong W et al. Toll like receptors in inflammation, infection and cancer. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 1271–1285.

129. Drexler SK, Foxwell BM. The role of Toll-like receptors in chronic inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 506–518.

130. Hari A, Flach TL, Shi Y, et al. Toll-like receptors: role in dermatological disease. *Mediators Inflamm* 2010; 2010: 437246. Epub 2010 Aug 22.

131. O'Neill LA, Bryant CE, Doyle SL. Therapeutic targeting of toll-like receptors for infectious and inflammatory diseases and cancer. *Pharmacol Rev* 2009; 61: 177–197.

132. McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The role of Toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 1–8.

133. Miller LS, Modlin RL. Toll-like receptors in the skin. *Semin Immunopathol* 2007; 29: 15–26.

134. Kulczycka L, Sysa-Jedrzejowska A, Robak E. Role of Toll-like receptors

in etiology of selected diseases of the skin. *Postepy Hig Med Dosw* (online) 2010; 64: 364–371.

135. Karaca N, Ozturk G, Gerceker BT, et al. TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Turkish vitiligo patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013 Jan;27(1):e85-90.

136. Kim J, Ochoa MT, Krutzik SR et al. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *J Immunol* 2002; 169: 1535–1541.

137. Hunger RE, Surovy AM, Hassan AS, et al. Toll-like receptor 2 is highly expressed in lesions of acne inversa and colocalizes with C-type lectin receptor. *Br J Dermatol*. 2008; 158: 691-7.

138. Gaspari AA. Innate and adaptive immunity and the pathophysiology of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: S67–S80.

139. Seung NR, Park EJ, Kim CW et al. Comparison of expression of heat-shock protein 60, Toll-like receptors 2 and 4, T cell receptor in plaque and guttate psoriasis. *J Cutan Pathol* 2007; 34: 903–911.

140. Begon E, Michel L, Flageul B et al. Expression, subcellular localization and cytokinic modulation of Toll-like receptors (TLRs) in normal human keratinocytes: TLR2 up-regulation in psoriatic skin. *Eur J Dermatol* 2007; 17: 497-506.

141. Ahmad-Nejad P, Dahbi SM, Breuer K, et al. The Toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 113: 565-567.

142. Hoffjan S, Stemmler S, Parwez Q, et al. Evaluation of the toll-like receptor 6 Ser249Pro polymorphism in patients with asthma, atopic dermatitis and chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Med Genet* 2005; 28; 6-34.

143. Brasch J1, Mörig A, Neumann B, et al. Expression of antimicrobial peptides and toll-like receptors is increased in tinea and pityriasis versicolor. *Mycoses*. 2014 Mar;57(3):147-52.

144. Micali G, Lacarrubba F, Dinotta F et al. Treating skin cancer with topical cream. *Exp Opin Pharmacother* 2010; 11: 1515–1527.

145. Viera MH, Amini S, Huo R et al. Herpes simplex virus and human papillomavirus genital infections: new and investigational therapeutic options. *Int J Dermatol* 2010; 49: 733–749.

146. Fenske NA, Spencer J, Adam F. Actinic keratoses: past, present and future. *J Drugs Dermatol* 2010; 9: 45–49.

147. Love WE, Bernhard JD, Bordeaux JS. Topical imiquimod or fluorouracil therapy for basal and squamous cell carcinoma: a systematic review. *Arch Dermatol* 2009; 145: 1431–1438.

148. Farkas A, Kemeny L, French LE, et al. New and experimental skin-directed therapies for cutaneous lymphomas. *Skin Pharmacol Physiol* 2009; 22: 322–334.

149. Ganjian S, Ourian AJ, Shamtoub G, et al. Off-label indications for imiquimod. *Dermatol Online J* 2009; 15: 4.

150. Novak N, Yu CF, Bieber T. Toll-like receptor 7 agonists and skin. *Drug News Perspect* 2008; 21: 158–165.

151. Büchau AS, Schaubert J, Hultsch T et al. Pimecrolimus enhances TLR2/6-induced expression of antimicrobial peptides in keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 2646–2654.

152. Ermertcan AT, Öztürk F, Gündüz K. Toll-like receptors and skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011 Sep;25(9):997-1006.

153. Arancibia SA, Beltrán CJ, Aguirre IM, et al. Toll-like Receptors are Key

Participants in Innate Immune Responses. Biol Res. 2007;40: 97-112.

154. Sato M, Sano H, Iwakı D, et al. Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NFkappa B activation and TNF-alpha secretion are downregulated by lung collectin surfactant protein, A. J Immunol, 2003;171: 417-25.

155. Wieland Cw, Knapp S, Florquin S, et al. Non-mannosecapped lipoarabinomannan induces lung inflammation via toll-like receptor 2. Am J Respir Crit Care Med 2004;170: 1367-74.

156. Campos MA, Almeida IC, Takeuchi O, et al. Activation of Toll-like receptor-2 by glycosylphosphatidylinositol anchors from a protozoan parasite. J Immunol: 2001;167: 416-23.

157. Hermoso MA, Matsuguchi T, Smoak K, et al. Glucocorticoids and tumor necrosis factor alpha cooperatively regulate toll- like receptor 2 gene expression. Mol Cell Biol 2004: 24: 4743-56.

158. Von Aulock S, Schröder NW, Traub S, at al. Heterozygous toll-like receptor 2 polymorphism does not affect lipoteichoic acid-induced chemokine and inflammatory responses. Infect Immun. 2004; 72(3):1828-31.

159. Tabel Y, Berdeli A, Mir S. Association of TLR-2 gene Arg753Gln polymorphism with urinary tract infection in children. Int J Immunogenet. 2007; 34(6):399-405.

160. Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, et al. A novel polymorphism in the Toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. Infect Immun 2000; 68:6398 – 401.

161. Xiong Y, Song C, Snyder GA, et al. R753Q polymorphism inhibits Toll-like receptor (TLR) 2 tyrosine phosphorylation, dimerization with TLR6, and recruitment of myeloid differentiation primary response protein 88. J Biol Chem. 2012 Nov 2;287(45):38327-37.

- 162.** Schröder NW, Hermann C, Hamann L, et al. High frequency of polymorphism Arg753Gln of the Toll-like receptor-2 gene detected by a novel allele-specific PCR. *J Mol Med (Berl)*. 2003 Jun; 81(6):368-72.
- 163.** Clausen LN, Ladelund S, Weis N, et al. Genetic variation in toll- like receptors and retinoic acid-inducible gene I and outcome of hepatitis C virus infection: a candidate gene association study. *J Viral Hepat*. 2013 Nov 13.
- 164.** Berk T, Scheinfeld N. Seborrheic Dermatitis. *P T*. 2010 Jun; 35(6): 348–352.
- 165.** Burton JL, Pye RJ. Seborrhoea is not a feature of seborrhoeic dermatitis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 286:1169.
- 166.** Pisetsky DS. The role of innate immunity in the induction of autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2008; 8: 69-72.
- 167.** Atkinson TJ. Toll-like receptors, transduction-effector pathways, and disease diversity: evidence of an immunobiological paradigm explaining all human illness? *Int Rev Immunol*. 2008; 27: 255-81.
- 168.** Cheng PL, Eng HL, Chou MH, et al. Genetic polymorphisms of viral infection- associated Toll-like receptors in Chinese population. *Transl Res* 2007;150:311–8.
- 169.** Mutlubas F, Mir S, Berdeli A, et al. Association between Toll-like receptors 4 and 2 gene polymorphisms with chronic allograft nephropathy in Turkish children. *Transplant Proc*. 2009; 41: 1589-93.
- 170.** Ben-Ali M, Barbouche R, Bousnina S, et al. Toll like receptor-2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11(3):625– 626.
- 171.** Dahmer K, Randolph A, Vitali S, et al. Genetic polymorphism in sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2005: S61–73.

- 172.** Schröder NW, Schumann RR. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 156-64.
- 173.** Baroni A, Orlando M. Toll-like receptor 2 (TLR2) mediates intracellular signalling in human keratinocytes in response to *Malassezia furfur*. *Arch Dermatol Res*. 2006 Jan;297(7):280-8.
- 174.** Ryu S, Choi SY. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects of Cecropin A(1-8)–Magainin2(1-12) Hybrid Peptide Analog P5 against *Malassezia furfur* Infection in Human Keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 2011 Aug;131(8):1677-83.
- 175.** Berdeli A, Çelik HA, Özyürek R, et al. TLR-2 gene Arg753Gln polymorphism is strongly associated with acute rheumatic fever in children. *J Mol Med* 83 (7):535–541.
- 176.** Bacanlı A, Sallakci N, Yavuzer U, et al. Toll-like receptor 2 Arg753Gln gene polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol*. 2006; 31: 699-701.
- 177.** Tomiyama R, Meguro A, Ota M, et al. Investigation of the association between Toll-like receptor 2 gene polymorphisms and Behçet's disease in Japanese patients. *Hum Immunol*. 2009; 70: 41-4.
- 178.** Veltkamp M, Wijnen PA, van Moorsel CH et al. Linkage between Toll-like receptor (TLR) 2 promotor and intron polymorphisms: functional effects and relevance to sarcoidosis. *Clin Exp Immunol*. 2007 Sep;149: 453-62.
- 179.** Emingil G, Berdeli A, Baylas H, et al. Toll-like receptor 2 and 4 gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2007; 78:1968-77.
- 180.** Ozen S, Berdeli A, Türel B, et al. Arg753Gln TLR-2 polymorphism in

familial mediterranean fever: linking the environment to the phenotype in a monogenic inflammatory disease. *J Rheumatol.* 2006; 33: 2498-500.

181. Mrabet-Dahbi S, Dalpke AH, Niebuhr M et al. The Toll-like receptor 2 R753Q mutation modifies cytokine production and Toll-like receptor expression in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Apr;121(4):1013-9.

182. Hasannejad H, Takahashi R, Kimishima M et al. Selective impairment of Toll-like receptor 2-mediated proinflammatory cytokine production by monocytes from patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007 Jul;120(1):69-75.

183. Niebuhr M, Langnickel J, Draing C et al. Dysregulation of toll-like receptor-2 (TLR-2)-induced effects in monocytes from patients with atopic dermatitis: impact of the TLR-2 R753Q polymorphism. *Allergy.* 2008 Jun;63(6):728-34.

184. Potaczek DP, Nastalek M, Okumura K. An association of TLR2–16934A >T polymorphism and severity/phenotype of atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2011 Jun;25(6):715-21.

185. Xiong Y, Song C, Synder G et al. Arg753Gln Polymorphism Inhibits Toll-like Receptor (TLR) 2 Tyrosine Phosphorylation, Dimerization with TLR6 and Myeloid Differentiation Primary Response Protein 88 Recruitment. *J Biol Chem.* 2012 Nov 2; 287(45): 38327–38337.

186. Ohno S, Tateishi Y, Tatemoto Y. Enhanced expression of Toll-like receptor 2 in lesional tissues and peripheral blood monocytes of patients with oral lichen planus. *J Dermatol.* 2011 Apr;38(4):335-44.

187. Cai Y, Zheng J. Expression of TLR2,TLR4 and TLR9 mRNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Psoriasis Vulgaris. *Chinese Journal of Dermatology*;2007-7.

188. Xu P, Yuan D. Study on the expressions of TLR 2,3,9 mRNA in the peripheral blood mononuclear cells of Condylomata acuminata. Chongqing medicine 2010-15.

189. Ballanger F, Tenaud I, Volteau C et al. Anti-inflammatory effects of lithium gluconate on keratinocytes: a possible explanation for efficiency in seborrhoeic dermatitis. Arch Dermatol Res. 2008 Jun;300(5):215-23.

X.EKLER

EK-1

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

ÇALIŞMANIN ADI :

Yağlı ekzemalı hastalarda hastalığın nedenine yönelik genetik araştırma

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Eğer isterseniz, bu çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Çalışma amacıyla yapılan normal muayeneniz sırasında istenilen tetkikleriniz dışındaki tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyicisi tarafından karşılanacak; size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI :

Bu çalışmanın konusu toplumda sık rastlanan bir hastalık olan yağlı ekzemanın ortaya çıkmasında rol oynadığı düşünülen, bağışıklık sisteminde rol alan bir alimla ilgili gen bozukluğu olup olmadığının ve ve hastaların kanında alim yoğunluğunun belirlenmesidir. Çalışmanın amacı; yağlı ekzemanın nedeni olarak bağışıklık sisteminde rolü olan bir grup alimin yeri ve önemini aydınlatıp bu alimler üzerinden etkili olabilecek yeni ilaaların gelişimini teşvik etmek, hastalığın daha etkin ve özgün bir şekilde tedavisinin sağlanmasının yolunu açmaktır.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Yağlı ekzemanın şiddetini artıran sebepler olarak vücudun başka bir yerinde bir mikrobik hastalık olup olmadığını saptamak ve ağızdan alınacak ilaı tedavilerini vermeden önce hastaların eşlik eden karaciğer ile böbrek hastalığı olup olmadığına bakmak için rutin olarak kan örneğı alınan hastalardan ek olarak alınacak bir çay kaşığı kadar kan örneğinde genetik araştırma yapılacak, bir çay kaşığı kadar kanda da alim yoğunluğu bakılacaktır. Normal muayene sırasında kan alınması gerekli olan hastalardan ek olarak alınacak kan örnekleri kullanılacaktır. Çalışma işlemlerinin hasta açısından herhangi bir yan etkisi bulunmamaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Bu çalışma yağlı ekzema hastalığının nedenlerinin daha iyi anlaşılması, bağışıklık sisteminde rol alan bir takım almaçlarla ilişkisinin saptanarak daha uygun ve etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından yararlı olacaktır.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Yaş, cinsiyet, hastalığın yaygınlığı ve şiddeti dışında kişisel bilgiler gizli kalacaktır

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :

1. Dr. Mehmet Ateş Tel: 0534 955 45 35

2. Doç. Dr. Cemal Bilaç 0505 552 72 75

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıdaki bilgileri doktorumla ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyor ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

<i>Gönüllü Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Veli / Vasinin Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Tanık¹ Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Araştırmacı² Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

EK-2**SOSYODEMOGRAFİK VE KLİNİK BİLGİ VERİ FORMU**

Hastanın Adı Soyadı:		Tarih:	
Yaş:	Cinsiyet: Erkek ☐ ¹	Kadın ☐ ²	
Adres:			
Tel (Ev, iş):		Tel (GSM):	
Medeni hali:	Bekar ☐	Evli ☐	Boşanmış ☐
Meslek: Aşağıda farklı işler farklı seçeneklerde toplanmıştır. Hane halkı reisinin ne iş yaptığına uyan seçeneği işaretleyiniz. (Hane halkı reisi emekli ise hangi işten emekli olduğuna göre yanıtlayınız) ¹İşsiz ²İşçi, şoför, bekçi, koruma görevlisi, hizmetli, kapıcı, seyyar satıcı, temizlikçi, sezonluk işçi, inşaat işçisi, seyyar satıcı ve benzeri işler ³İşveren, doktor, diş hekimi, veteriner, mimar, mühendis, avukat, eczacı, öğretim üyesi, polis hemşire, ebe, öğretmen, bankada veya devlet dairelerinde memur, belediye büro çalışanı, özel sektörde büro çalışanı, küçük sanayide tamirci, elektrikçi vs, çarşı esnafı (bakkal, market, zahireci, manifaturacı, vs), muhasebeci, pazar esnafı vb işler			
Öğrenim durumu: Okuma-yazma biliyor ☐			
İlkokul ☐		Ortaokul ☐	
Lise ☐		Üniversite ☐	
Lisans üstü ☐			

Hastalık süresi:				
Lezyonların yerleşimi:	Saçlı deri	☐	Nazolabial	☐
	Retroaurikuler	☐	Burun kenarı	☐
	Kaş	☐	Presternal	☐
	Diğer:			

Hastalık şiddeti (Semiquantitative scale):

	0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	4 (Çok şiddetli)
Eritem					
Deskuamasyon					
İnfiltrasyon					
Yağlı deri					
Kaşıntı					