



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

PSORİASİSTE ANTI-TNF AJANLARLA TEDAVİYE YANITTA TNF-ALFA
GEN POLİMORFİZMLERİNİN BİYOMARKER OLARAK ROLÜ

Dr. Berrin GÜNAY

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2017



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PSORİASİSTE ANTI-TNF AJANLARLA TEDAVİYE YANITTA TNF-ALFA
GEN POLİMORFİZMLERİNİN BİYOMARKER OLARAK ROLÜ**

Dr. Berrin GÜNAY

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Kenan AYDOĞAN

BURSA-2017

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
Summary.....	iii
Giriş	1
Gereç ve Yöntem	19
Bulgular	25
Tartışma ve Sonuç	35
Kaynaklar.....	41
Teşekkür.....	48
Özgeçmiş	49

ÖZET

Psoriasis, eritemli, skuamli plaklar ile karakterize, multisistemik, Th1 ve Th17 hücre aracılı enflamatuvar bir hastalıktır. Sistemik konvansiyonel tedavilere yanıtızsızlık veya kontrendikasyon varlığında anti-TNF (Tümör nekrozis faktör) ajanlar kullanılmaktadır. Anti-TNF ajanlar hastalık kontrolünde efektif bir tedavi yöntemi olmasına rağmen direnç gelişimi önemli bir sorundur.

Bu çalışmada psoriasis hastalarında anti-TNF ajanlara yanıt ile TNF- α gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Klinik ve histopatolojik olarak psoriasis tanısı almış ve en az bir yıl süreyle anti-TNF ajan tedavisi alan 157 olguda, TNF- α 238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C gen polimorfizmlerinin, anti-TNF ajanlara primer ve/veya sekonder direnç gelişimi ile ilişkisi değerlendirildi. Genotip tayini için *Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP) yöntemi uygulandı.

Çalışmamızda, 22/157 hastada bu ajanlardan en az birine karşı primer direnç mevcuttu. Primer direnç gelişimiyle TNF- α 238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. Sekonder direnç göz önünde bulundurulduğunda, 62 hastada (%39.5) herhangi bir ajana karşı direnç gelişimi saptanmazken, 95 hastada (%60.5) en az bir ajana karşı primer ve/veya sekonder direnç saptandı. Direnç gelişimi ile TNF- α 857C>T ve 1031T>C polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki yoktu. TNF- α 238 AA ve TNF- α 308 AA genotipleri, GA ve GG genotiplerine göre daha düşük direnç gelişimi oranlarıyla ilişkili bulundu. (sırasıyla %16.7 vs %85.7 ve %60.3, $p=0.013$; %0 vs %63.0 ve %57.7, $p=0.43$). Adalimumab kullananlarda; TNF- α 238 GA genotipi, AA ve GG genotiplerine göre daha yüksek sekonder direnç oranlarıyla ilişkili bulundu (%69.2 vs %0 ve %40.7; $p=0.035$).

Bulgularımız, spesifik gen polimorfizmlerinin tedaviye sekonder direnç gelişimini öngörmeye rolü olabileceğini gösterse de; sonuçlarımızın, geniş serili çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Psoriasis, polimorfizm, TNF- α , anti-TNF ajanlar.

SUMMARY

Role of TNF-Alpha Gene Polymorphisms as a Biomarker In Response To Treatment of Psoriasis With Anti-TNF Agents

Psoriasis is a multisystemic, Th1 and Th17 cell-mediated inflammatory disease, characterized by erythematous, squamous plaques. Anti-TNF agents are used in the presence of unresponsiveness to conventional therapies or any contraindication. Anti-TNF agents represent an effective treatment modality to control the disease, however, treatment resistance remains a significant issue. In the current study, we aimed to evaluate the relationship between the response to anti-TNF agents in psoriasis patients and the TNF- α gene polymorphisms.

In 157 cases of the study, who were clinically and histopathologically diagnosed with psoriasis and received anti-TNF therapy for at least one year, the relationship between TNF- α 238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C gene polymorphisms and the primary and/or secondary non-response to anti-TNF agents was investigated. *Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)* method was used to determine the genotype. In this study, 22 of 157 patients had primary resistance to at least one of these agents. No relationship between primary non-response and TNF- α 238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C polymorphisms was found. Considering secondary non-response, 62 patients (39.5%) had no resistance to any of the agents, while 95 patients (60.5%) had primary and/or secondary non-response to at least one agent. There was no relation between non-responsiveness and TNF- α 857C>T and 1031T>C polymorphisms. The genotypes of TNF- α 238 AA and TNF- α 308 AA were found to be associated with lower rates of non-response, comparing to the genotypes of GA and GG (16.7% vs 85.7% and 60.3%, $p=0.013$; 0% vs 63.0% and 57.7%, $p=0.43$, respectively). TNF- α 238 GA genotype was found to be associated with higher rates of secondary non-response, comparing to the genotypes of AA and GG in patients who were receiving adalimumab (69.2% vs 0% and 40.7%; $p=0.035$).

Although the results of the current study show that specific gene polymorphisms may play a role in predicting the secondary non-response to therapy, these results are needed to be supported by further large series.

Key Words: Psoriasis, polymorphisms, TNF- α , anti-TNF agents.



GİRİŞ

Psoriasis, toplumun yaklaşık %2-3'ünü etkileyen kronik seyirli, eritemli, keskin sınırlı, beyaz sedefi skuamlı plaklar ile karakterize immün-aracılı bir hastalıktır (1). Hastalığın etiopatogenezinde genetik, çevresel ve immünolojik birçok faktör rol oynamaktadır. Dendritik hücreler ve enflamatuvar sitokinlerin yer aldığı, T helper 1 (Th1) ve T helper 17 (Th17) hücre aracılı enflamatuvar bir hastalıktır. Keratinosit ve dendritik hücre gibi doğal immün sistem elemanlarının aktivasyonunu takiben naif T hücreleri, TNF- α (Tümör nekrozis faktör), IL-1 (İnterlökin-1), IL-6 gibi sitokinlerin etkisi ile aktive olur ve deriye doğru göç eder. Antijen sunan hücrelerden salınan IL-18, IL-15, IL-6, IL-8, TNF- α , IL-1, IL-12, IL-23 gibi sitokinlerin etkisi ile Th1 ve Th17 aktive olur ve TNF- α , IL-17, IL-22, IFN- γ (İnterferon-gama) gibi proenflamatuvar sitokinler artar (2). Bu kaskat, psoriasis dışında psoriatik artrit, romatoid artrit, Crohn hastalığı gibi diğer enflamatuvar hastalıkların patofizyolojisinde de rol oynamaktadır.

Psoriasis, deri yanısıra bazı hastalarda gelişebilen eklem tutulumu ile de kalıcı eklem deformitelerine neden olabilmektedir. Ayrıca metabolik sendrom, kardiovasküler hastalık gibi sistemik komorbiditeler ile ilişkili olması nedeniyle sadece deri tutulumu ile sınırlı olmayan, sistemik enflamatuvar bir hastalık olduğu tartışılmaktadır (3, 4). Bütün bu yönleriyle psoriasis, hem psikolojik hem de fizyolojik olarak yaşam kalitesini belirgin bir şekilde azaltmaktadır. Tedavi maliyeti yüksek olması nedeni ile de sosyoekonomik açıdan önemli bir hastalıktır (5, 6).

Psoriasis tedavisinde; topikal tedaviler, fototerapi ve sistemik konvansiyonel tedaviler yer almakla birlikte, bu tedavilere yanıtızsızlık veya kontrendikasyon olduğunda anti-TNF ajanlar kullanılabilir (7). Anti-TNF ajanlar efektif bir tedavi seçeneği olmasına rağmen hastalıkta kür sağlamamaktadır. Ayrıca; bazı hastalarda tedaviye yanıtızsızlık da görülebilmektedir. Bu nedenle bu hastaların Anti-TNF tedaviye direnç gösterip göstermeyeceğini öngörecektir biyomarkere ihtiyaç duyulmaktadır.

TNF- α potent proenflamatuvar bir sitokindir ve enfeksiyöz hastalıkların ve kronik enflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynar. Etkilerini TNF reseptör 1 (TNF-R1) ve TNF reseptör 2 (TNF-R2) aracılığı ile gösterir (8). Psoriatik lezyonlarda TNF- α düzeyinin arttığı gösterilmiştir (9). TNF- α promotör gen polimorfizmlerinin artmış veya azalmış psoriasis riski ile ilişkili olabileceği ve anti-TNF ajanlarla tedaviye yanıtta rol oynayabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (10, 11).

Bu çalışmada; psoriasis hastalarında anti-TNF tedaviye yanıt ile TNF- α gen polimorfizmleri (-238G>A, -308G>A, -1031T>C, -857C>T ve -489G>A) arasında ilişki olup olmadığının araştırılması planlanmıştır.

Genel Bilgiler

Tanım

Psoriasis deri, eklem ve tırnakları etkileyebilen, kronik, tekrarlayıcı bir seyir gösteren, klinik olarak keskin sınırlı, eritemli, kalın sedefi skuamlı plaklar ile karakterize enflamatuvar bir hastalıktır (12-15).

Tarihçe

Hastalığa ilişkin ilk bilgiler Hippocrates'e (MÖ 416-377) aittir. *Celsus* (MÖ 25-MS 45), psoriasisin kliniğini ve *Austpitz* fenomenini tanımlamıştır. Psoriasis terimini ise ilk kez Ferdinand von Hebra (1816-1880) kullanmıştır. Psoriasis Yunanca'da kaşıntılı, kepekli hastalıklar anlamına gelen "psora" sözcüğünden türetilmiştir (12).

Epidemiyoloji

Psoriasis oldukça yaygın görülen bir hastalıktır. Toplumda %2-4 oranında görülmektedir. Genellikle soğuk kuzey ülkelerinde tropikal bölgelere göre daha sık görülmektedir (1). Ülkemizde ise psoriasis insidansı Kundakçı ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada %1.3 olarak saptanmıştır (16). Dermatoloji kliniklerine başvuran hastaların %6-8'ini psoriasis hastaları oluşturmaktadır (15). Erkek ve kadınlarda eşit oranda ve her yaşta görülebilmektedir. Başlangıç yaşı olarak biri 20-30 diğeri ise 50-60 yaşları olmak üzere iki pik yapar; kadınlarda daha erken başlama eğilimindedir (14).

Etiyoloji ve Patogenez

Psoriasis etiyopatogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Hastalığın gelişiminde kalıtsal bir yatkınlığın olduğu ve yaşam süresi içinde

herhangi bir zamanda tetikleyici faktörlerle ortaya çıktığı düşünülmektedir (13).

Genetik Faktörler

Epidemiyolojik çalışmalar, ikiz ve aile çalışmaları ile HLA tiplendirme çalışmaları, psoriasisın poligenik bir hastalık olduğunu göstermiştir (17). Epidemiyolojik çalışmalarda psoriasis hastalarının akrabalarında hastalık insidansının genel nüfusa göre artmış olması (17), çocukluk çağında psoriasis tanısı alanların %70'inde aile öyküsünün bulunması (18), ikiz çalışmalarında monozigotik ikizlerin (%35) dizigotik ikizlere (%12) göre daha yüksek konkordans oranına sahip olması (19) hastalığın genetik faktörlerden etkilendiğini göstermektedir. Ancak, hastalık konkordansının monozigot ikizlerde %100 olmaması ve genetik faktörlerin etkisinin her hastada aynı olmaması multifaktöriyel etiyopatogenezi desteklemektedir (17, 20).

Genom assosiyasyon çalışmalarında (*Genom wide association studies, GWAS*) psoriasis patogenezi ile ilişkili olan 50'den fazla yatkınlık geni bulunmuştur. Bu genler doğal immün sistem, kazanılmış immün sistem ve deri bariyer fonksiyonu ile ilgilidir (21-26). Psoriasis ile ilişkili genler Tablo-1'de gösterilmiştir.

PSORS1, kromozomun 6p21.3 bölgesinde yerleşim gösteren ve hastaların %35-50'sinde hastalıktan sorumlu olan majör gen bölgesidir. PSORS1 gen bölgesinde, HLA-Cw6 (*human leukocyte antigen-C*), CCHCR1 (*coiled-coil- α -helical rod protein 1*) ve CDSN (*corneodesmosin*) genleri yer almaktadır. CDSN, keratinosit kohezyonu ile ilişkili bir desmosomal proteindir ve psoriatik epidermiste daha yüksek oranda eksprese olduğu gösterilmiştir. CCHCR1, keratinosit proliferasyonunu etkilemekle birlikte transgenik fare çalışmalarında psoriasis fenotipi gözlenmemiştir. HLA-Cw6, psoriasis ile en çok ilişkilendirilen ve hastalığa yatkınlıktan esas sorumlu olduğu düşünülen genlerdir. HLA-C geni, antijen sunucu hücreler tarafından prezente edilen, CD8⁺ T hücre aktivasyonu ile ilgili olan MHC-I'i (*major histocompatibility kompleks-1*) kodlamaktadır. Tüm bunlar psoriasis patogenezindeki immün disfonksiyonu desteklemektedir (28-31).

Tablo-1: Psoriasis ile ilişkili genler (27)

Gen	İmmün sistemdeki rolü
IL23R	IL23A sinyali için gerekli olan reseptör alt ünitesini kodlar. Bu protein temel olarak JAK2 ile ilişkilidir ve transkripsiyon aktivatör STAT3'e bağlanır.
IL10	Monosit ve lenfositler tarafından üretilen ve Th1 sitokin ekspresyonunu ve NF-κB sinyalini inhibe eden sitokini kodlar. B hücre proliferasyonunu ve antikor üretimini sağlar ve JAK-STAT sinyal yolağını düzenler
TNF-α	Makrofajlar tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokini kodlar. TNF-α, hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve apoptozis ile ilgili birçok yolak ile ilişkilidir.
IL12B	Aktive makrofajlar tarafından üretilen ve Th1 hücre gelişimi için gerekli olan bir sitokindir.
GBP6	İnterferon, GTP'yi GDP ve GMP'ye hidrolize eden GBP'yi indükler
IL6	B hücre matürasyonu ve IL6Rα aracılığı ile enflamatuvar cevabı indükleyen sitokini kodlar
IL13	B hücre matürasyon ve diferansiyasyonu ile ilişkili aktive Th2 hücreleri tarafından üretilen bir sitokini kodlar. IL13 makrofaj aktivasyonunu ve proinflamatuvar sitokin ve kemokin üretimini inhibe eder.
TNFAIP3	TNF, NF-κB aktivasyonunu ve TNF aracılı apoptozisi inhibe eden TNFAIP3 ekspresyonunu indükler. TNFAIP3 sitokin aracılı immün ve inflamatuvar cevap ile ilişkilidir.
TNIP1	NF-κB aktivasyonunu düzenleyen <i>TNFAIP3 interaction protein 1</i> 'i kodlar
IL1RN	IL1RN, IL1'i inhibe eder ve immün ve inflamatuvar cevabı düzenler
HLA-C	HLA sınıf 1 molekülü, endoplazmik retikulum lümeninde üretilen peptidlerin sunumu ile immün sistemde merkezi bir rol oynar
NF-κBIA	NF-κB inhibitör ailesinin bir üyesini kodlar. Bu protein REL dimerleri ile etkileşime girerek enflamatuvar cevap ile ilişkili NF-κB/REL kompleksi oluşumunu inhibe eder.
APOE	T lenfosit proliferasyonunda önemli bir rol oynar ve psoriasisli hastalarda bazı enfeksiyonlara karşı koruyucudur.
VDR	İmmün cevap yollarını düzenleyen vitamin D3 için nükleer hormon reseptörünü kodlar.
IFN _γ	Antiviral, immünregulatuvar ve anti-tümör özellikleri olan ve makrofajlar için potent bir aktivatör olan bir sitokini kodlar.
IL2	T ve B lenfosit proliferasyonu için önemli olan bir sitokindir.
IL4	Th2 immün cevabı düzenler. IL4 reseptörüne ayrıca IL13 de bağlanmaktadır.
IL15	T hücre ve NK hücre aktivasyon ve proliferasyonunu düzenler. IL15 ayrıca JAK kinaz aktivasyonunu indükler ve STAT3, STAT5 ve STAT6 fosforilasyon ve aktivasyonuna neden olur
TNFRSF1B	TNF-α reseptörüdür, Antiapoptotik proteinleri düzenler
MCP1	Monosit ve basofiller için kemotaktik aktivite gösteren bir sitokini kodlar.
CTLA4	T hücrelerini inhibe eden bir proteini kodlar

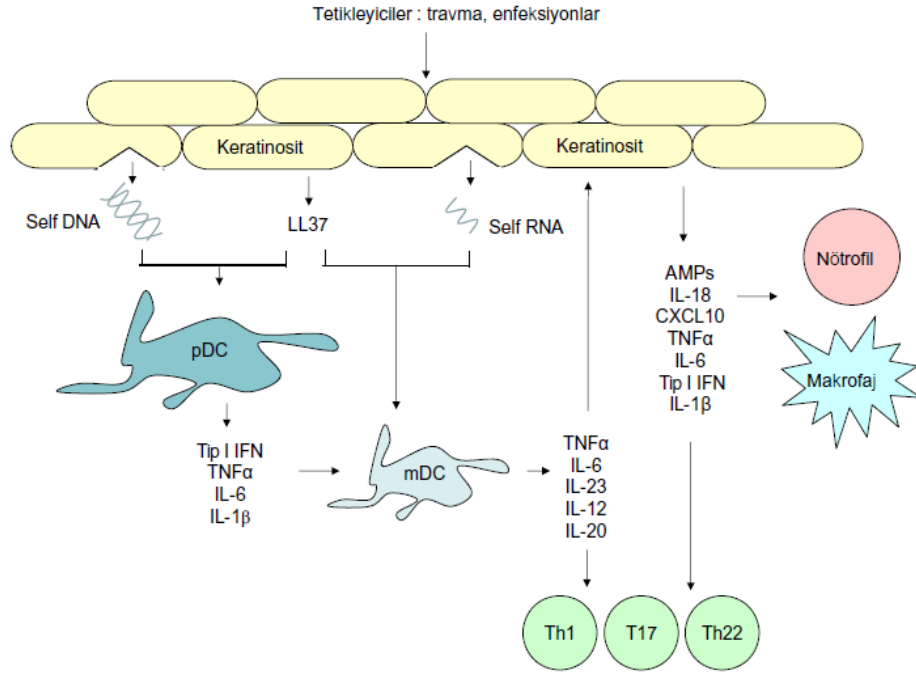
DEFB4	Nötrofiller tarafından üretilen mikrobisidal ve sitotoksik peptid ailesinin bir üyesidir
STAT4	Sitokine cevap olarak STAT proteinleri fosforile olur ve hücre nükleusuna giderek transkripsiyon aktivatörü olarak rol oynar. STAT, lenfositlerdeki IL12, IL23 ve IFN tip 1 sinyal yollarını etkiler ve Th hücre diferansiyasyonunu düzenler
IL18	TH1 hücreleri tarafından IFN γ üretimini artırır
IL19	İnflamatuar cevapta rol oynayan IL10 sitokin alt ailesinin bir üyesidir.
IL20	Yapısal olarak IL10 ile ilişkilidir ve keratinositlerde STAT3 aracılığı ile sinyalini iletir.
IL20RA	Epidermal fonksiyonda rol oynayan bir sitokin olan IL20 reseptörüdür.
ERAP1	HLA üzerinde sunulabilmeleri için HLA sınıf 1'e bağlanan proteinleri kesen aminopeptidazları kodlar.
IL1B	Aktive makrofajlar tarafından üretilen ve enflamatuvar cevapta önemli bir rol oynayan sitokindir.
TRAF3IP2	TRAF proteinleri ile etkileşime giren ve doğal immün sistemde önemli bir rol oynayan bir proteini kodlar
IL28RA	IL28A, IL28B ve IL29 ile etkileşime giren bir reseptörü kodlar. Bu sitokinlerin ekspresyonu özellikle viral enfeksiyonlarda artmaktadır.
TYK2	Reseptör subunitlerini fosforile ederek sitokin sinyallerini yayan JAK protein ailesinin bir üyesidir. TYK2, IFN 1 ve 2 sinyal yolağının bir komponentidir ve antiviral etkide rol oynar
IFIH1	Viral RNA'ya karşı IFN cevabını indükleyen bir proteini kodlar
LCE	Deri bariyer fonksiyonunda önemli rol oynayan bir proteini kodlar
ZNF313	T hücre aktivasyonu ile ilişkili bir proteini kodlar

IL: İnterlökin, R: Reseptör, JAK: Janus Kinaz, STAT: *Signal transducer and activator of transcription*, Th1: T helper 1 lenfosit, TNF: Tümör nekrozis faktör, GBP: Guanilat bağlayıcı protein, GTP: Guanozin trifosfat, GDP: Guanozin difosfat, GMP: Guanozin monofosfat, TNFAIP3: *Tumor necrosis factor alfa induced protein 3*, IL1RN: İnterlökin 1 reseptör antagonisti, HLA: İnsan lökosit antijeni, NF- κ BIA: Nükleer faktör kappa B inhibitör alfa, REL: v-rel retikuloendotelioz viral onkogen, APOE: apolipoprotein E, VDR: Vitamin D reseptör, TNFRSF1: Tümör nekrozis faktör reseptörü süperailisi 1, MCP: Monosit kemoatraktan protein, CTLA4: Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein 4, DEFB4: Defensin beta 4A, IFN: İnterferon, ERAP: Endoplazmik retikulum aminopeptidaz, TRAF3IP: *TNF receptor associated factor 3 interacting protein*; IRAK: İnterlökin 1 reseptörü ile ilişkili kinaz, TYK: Tirozin kinaz, IFIH1: *İnterferon induced with helicase C domain 1*; LCE: Geç kornifiye zarf proteini, ZNF313: Çinko parmak proteini 313.

Birçok tek nükleotid polimorfizmi (SNP), psoriasis riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur. IL-23/Th17 yolağı psoriasis patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. IL12B, IL23R, IL23A genlerindeki değişiklikler psoriasisle yatkinlık ile ilişkilidir (32, 33). Terminal epidermal diferansiyasyonda görev alan stratum korneum proteinlerini kodlayan LCE (geç kornifiye zarf, *late cornified envelope*) genlerinde görülen SNP'ler psoriasis ile ilişkili bulunmuştur (34). NF-κB (Nükleer faktör-kappa B), apoptoz ve doğal immün sistem ile ilişkili dimerik transkripsiyon faktörleri ailesidir. Genom assosiyasyon çalışmaları, NF-κB sinyal yolağının birçok komponentinin psoriasis ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır (32). TNFAIP3 (*Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein 3*), TNF ve mikrobiyal ürünlere karşı cevapta NF-κB aktivasyonunu düzenler ve psoriasis ile ilişkili bulunmuştur (32, 35). CARD14 (*Caspase recruitment domain family member 14*), keratinositlerde eksprese olmakta ve NF-κB yolağında görev almaktadır. Aday gen çalışmaları sonucunda CARD14 ve psoriasis arasında ilişki saptanmıştır (36). Proenflamatuvar bir sitokin olan TNF-α gen polimorfizmlerinin artmış veya azalmış psoriasis riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11).

İmmunolojik faktörler

Lande ve ark (37) psoriasisdeki başlatıcı olayın, keratinositler tarafından salınan antimikrobiyal protein olan katelisidin/LL37 kompleksinin ölü hücre DNA ve RNA'sına bağlanarak TLR 8-9 (*Toll-like-receptor 8-9*) aracılığı ile plazmasitoid ve miyeloid dendritik hücreleri aktive etmesi olduğunu göstermişlerdir. Aktive olmuş bu hücrelerden IFN, TNF-α, IL-6, IL-1β salınır. Ayrıca miyeloid dendritik hücreler drene olunan lenf nodlarına göç ederek burada TNF-α, IL-23 ve IL-12 sitokin salınımı ile T hücre aktivasyonuna ve farklılaşmasına neden olurlar. T hücreleri bir kez aktive olduktan sonra endotel hücrelerdeki adhezyon molekülleri aracılığı ile deriye göç ederler ve burada keratinosit aktivasyonuna neden olan sitokinleri salgırlar (38, 39). Şekil-1'de psoriatik lezyon başlangıç aşaması gösterilmektedir.



Şekil-1: Psoriatik lezyon başlangıç şeması (39). Travma ve enfeksiyon gibi tetikleyiciler, self-DNA ve self-RNA salınımına neden olurlar. Bunlar LL37 ile kompleks oluşturarak myeloid (mDC) ve plazmastoid dentritik hücreleri (pDC) hücreleri aktive ederler. Bu antijen sunucu hücreler proinflatuar sitokinleri salgırlar ve T lenfosit aracılı enflamasyona ve keratinosit aktivasyon ve proliferasyonuna neden olurlar. Çeşitli kemokinlerin etkisi ile nötrofil ve makrofajlar gibi diğer enflamatuvar hücreler de aktive olur. IFN: İnterferon, TNF: Tümör nekrozis faktör, IL: İnterlökin, AMP: Antimikrobiyal peptid, CXCL10: Kemokin (C-X-C motif) ligand 10

Psoriasis ile ilişkili birbirinden farklı, çeşitli sitokinler üreten birçok T lenfosit alt grubu tanımlanmıştır. Bunlar CD4+ Th1, Th17 ve Th22 hücreleridir ve sırasıyla IFN- γ /TNF- α , IL-17/IL-22 ve IL-22 üretmektedir. Naif CD4+ T lenfositler; IL-12 aracılığı ile Th1 hücrelerine, IL-6, IL-1 β , TGF- β ve sonrasında IL-23 aracılığı ile Th17 hücrelerine farklılaşırlar. IL-23 sadece Th17 hücrelerini değil, CD8+ Tc17 hücrelerini ve IL-17 üreten $\gamma\delta$ T hücrelerini de aktive eder (40, 41).

Son yıllarda yapılan çalışmalar keratinositlerin sadece bariyer fonksiyonu oluşturmadığını, çok önemli immün fonksiyonlara da sahip

olduklarını göstermiştir. Psoriasisde, normalde 28-30 gün olan epidermal döngü 3-4 güne inmekte ve büyüme döngüsüne giren germinatif hücre oranı %60'lardan %100'e kadar yükselmektedir (14). Psoriasisdeki bu keratinosit aktivasyonu, T hücre aktivasyonu ve proliferasyonu sonucu gelişmektedir. Aktive keratinositlerden salınan kemokin, sitokin ve AMP (antimikrobiyal peptid); T hücrelerini, dendritik hücreleri, nötrofil ve makrofajları etkilemekte, bu yolla psoriatik enflamasyonun kronikleşmesine katkı sağlamaktadır (2, 42).

Sitokin ve kemokinler, doğal ve kazanılmış immün sistemin fonksiyonlarını ve hücreler arası iletişimini sağlayan moleküllerdir. Psoriasis patogeneğinde, aktive T lenfositler tarafından salınan ve tip 1 sitokinler olarak tanımlanan IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ ve ayrıca IL-23, IL-17, IL-20, IL-22 ve IL-18 önemli rol oynamaktadır. Hastalıkta görülen kronik enflamasyon ve keratinosit proliferasyonuna bu sitokinlerin neden olduğu düşünülmektedir (2, 39, 43). IFN- γ , antijen sunucu hücre aktivasyonunu, dendritik hücrelerden IL-1 ve IL-23 salınımını, keratinositlerden salınan kemokin ve adhezyon moleküllerin aktivasyonunu sağlar. Daha çok erken fazda etkili bir sitokindir (39, 44). Fakat monoklonal antikor kullanarak IFN- γ 'nın antagonize edilmesi ile psoriatik lezyonlarda belirgin bir düzelme elde edilememiştir (45). IL-8, nötrofil kemotaksisini, keratinositlerin proliferasyonunu ve anjiogenezi uyarır (46). IL-12, T lenfositlerinin Th1 hücrelerine dönüşümünü sağlar (41). IL-23, IL-23p19 ve IL-12/IL-23p40 subünitlerinden oluşan bir heterodimerdir. T17 hücrelerinin terminal farklılaşması ve aktivasyonunu, keratinosit aktivasyonunu ve makrofajlardan TNF- α upregülasyonunu sağlar (39, 40). IL-17, T17 hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri ve NK hücreleri tarafından salınır. IL-17'nin keratinositlerden AMP üretimi, keratinosit ve diğer immün hücrelerden proinflatuvar sitokin üretimi, dendritik hücre ve T lenfosit göçünde rol oynayan bir kemokin olan CCL20 (Kemokin C-C motif ligand 10) ve ICAM-1(*Intercellular adhesion molecule-1*) üretimini arttırma gibi birçok fonksiyonu mevcuttur. Yanı sıra epidermal hiperplazi ve kutanöz enflamatuvar cevabın devamlılığında kritik rol oynamaktadır (39, 47). IL-22, Th17 ve Th22 hücreleri tarafından salınır.

Keratinosit proliferasyonunu, keratinositlerden proenflamatuvar sitokin ve AMP salınımını ve matriks proteazlarının üretimini sağlar. IL-17 ile sinerjistik olarak çalışır (48).

Psoriasis ve TNF- α ;

TNF- α , keratinosit, dendritik hücre, NK hücre, Th1, Th17 ve Th22 gibi psoriasis patogenezinde rol oynayan birçok hücre tarafından salgılanır. TNF- α , enflamasyon, immün cevap, hücre motilitesi, hücre döngüsü, doku yenilenmesi ve apoptozisi düzenleyen multifonksiyonel bir sitokindir. Psoriasisın hem başlangıç hem de kronik fazında rol oynar (47-49).

TNF- α , etkilerini TNFR1 ve TNFR2 aracılığı ile göstermektedir. Enflamasyonun erken fazında kemokin ve adhezyon moleküllerini etkileyerek nötrofil ve makrofaj göçünü sağlar. Ayrıca aktive lenfosit ve keratinositlerden sekonder proenflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını arttırarak enflamasyonu arttırır. Sitokeratin 6 ekspresyonu ile epitel proliferasyonunu arttırır. Prostaglandin sentezini arttırarak ateşe neden olur, endojen pirojendir. Karaciğerde lipogenezini inhibe ederek, lipolizi aktive eder, kaşeksiye neden olur. Yara iyileşmesi için gerekli olan anjiogenezini arttırır. Böylece TNF- α enflamasyona ve yıkıma neden olurken bir taraftan da doku onarımını sağlar. TNF- α hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik proteinlerin sentezini arttırır. Hücre döngüsünde yer alan siklin D1'i inhibe ederek, hücre döngüsünün G1 fazında durmasına neden olur, bu G1 fazındaki durma hücrenin proliferasyon ve diferansiyasyona mı? ilerleyeceği yoksa apoptoza mı? gideceği kararının verilmesi açısından gereklidir. Böylece TNF- α , hücrenin büyüme ve farklılaşmasını ve hücre ölümünü düzenler (49, 50).

Klinik Bulgular

Psoriasis, tipik olarak sınırları belirgin, eritemli, üzeri beyaz sedefi skuamla kaplı plaklar ile karakterize olmakla birlikte, guttat psoriasis, eritrodermik psoriasis, püstüler psoriasis gibi çeşitli klinik formları mevcuttur. Psoriasis, yavaş progresif bir seyir gösterebileceği gibi guttat psoriasisteki

gibi akut da seyredebilir. Uzun veya kısa süreli remisyonlar gösterebileceği gibi persistan da seyredebilir (13-15, 51).

Psoriasis Vulgaris (Kronik Plak Psoriasis)

Psoriasisin en sık görülen formudur (%70-80). Eritemli, keskin sınırlı, üzeri beyaz sedefi skuamla kaplı plaklar ile karakterizedir. Mum lekesi, son zar, Auspitz ve Koebner fenomeni görülebilmektedir. Sıklıkla bilateral ve simetrik olarak diz ve dirseklere, saçlı deriye, lumbosakral ve palmoplantar bölgeye yerleşim görülmeyle birlikte her bölgeyi tutabilir. Psoriatik plakların çevresinde toplu iğne başı büyüklüğünde papüllerin var olması, plakların daha yoğun eritemli aktif bir kenarla çevrili olması ve Koebner fenomeni hastalığın aktif dönemde olduğunu gösteren bulgulardır. Lezyonlar gerilerken iyileşmeye genellikle merkezden başlar ve annuler bir görünüm oluşturabilir. Postinflamatuar hipopigmentasyon veya hiperpigmentasyon bırakabilir (14, 54). Psoriasisin diğer klinik formları Tablo-2'de gösterilmiştir (13-15, 51, 52).

Tablo-2: Psoriasisin diğer klinik formları

Guttat psoriasis	<ul style="list-style-type: none">- Eritemli, skuamli 0.2-1cm çaplı papüller ile karakterizedir- Çocuk hastalarda sıklığı artmaktadır- Sıklıkla öncesinde streptokoksik boğaz enfeksiyonu öyküsü bulunmaktadır- Erişkinde hastalığın alevlenmesine işaret eder- Vücudun %80'inden fazlasının tutulduğu form
Eritrodermik psoriasis	<ul style="list-style-type: none">- Tipik psoriasis lezyonlarına göre eritem daha belirgin, skuam ise daha azdır.- Lenfadenopati, ateş, halsizlik olabilir. Hipotermi, sıvı-elektrolit kaybı, protein kaybı, koruyucu deri bariyerinin olmaması nedeni ile komplikasyonlar gelişebilmekte ve ölümcül seyredebilmektedir
Püstüler psoriasis	<ul style="list-style-type: none">- Generalize veya lokalize olabilmektedir- Generalize; Eritemli zeminde çok sayıda steril püstül ile karakterizedir- Yüksek ateş, halsizlik, poliartralji gibi genel semptomlar eşlik edebilir.- Lokalize; Palmoplantar püstüler psoriasis ve Hallopeau'nun akrodermatitis kontinuası olmak üzere iki formu mevcuttur
İnvers Psoriasis	<ul style="list-style-type: none">- Aksilla, boyun, meme altı, inguinal bölge, intergluteal bölge ve genital bölge gibi kıvrım bölgelerine yerleşim gösteren formdur.-Sürtünme ve nemden dolayı bu bölgede skuam gözlenmez, canlı kırmızı eritemli, keskin sınırlı plaklar ile karakterizedir

Tırnak Tutulumu

Hastaların yaklaşık %40'ında tırnak tutulumu görülmektedir. En sık el tırnakları, daha az sıklıkla da ayak tırnakları tutulur. Deri tutulumu olmadan tek başına tırnak tutulumu nadirdir. Yaş, hastalık süresi, hastalığın şiddeti ve artrit varlığı ile tırnak tutulum sıklığı artmaktadır.

Psoriasis, hem tırnak yatağını hem de tırnak matriksini etkiler. Tırnak matriksinin tutulumuna bağlı olarak pitting, lökonişi, onikodistrofi; tırnak yatağı tutulumuna bağlı olarak da yağ damlası fenomeni, splinter hemoraji, subungual hiperkeratoz, onikoliz görülebilmektedir (53).

Psoriatik Artrit

Artropati tüm psoriasis hastalarının %5-30'unda gözlenmektedir. %10 olguda ise artrit bulguları deri lezyonlarından önce çıkmaktadır. 5 klinik tipi tanımlanmıştır.

- **Mono ve asimetrik oligoartrit:** El ve ayakların distal interfalangeal (DİF) ve proksimal interfalangeal (PİF) eklemlerinin tutulumudur. En yaygın görülen tiptir.

- **Distal interfalangeal eklem tutulumu:** Tek DİF tutulumu psoriasis için klasik ama nadir bir bulgudur. Tırnak tutulumu ile ilişkili olabilir.

- **Romatoid artrit benzeri görünüm:** Orta veya küçük eklemlerin simetrik poliartritinden oluşmaktadır.

- **Artritis mutilans:** Falanks ve metakarpal kemiklerde osteoliz ve kalıcı deformite ile sonuçlanan şiddetli formdur.

- **Spondilit ve sakroiliit:** Ankilozan spondilit benzeri eklem tutulumu ile karakterizedir (14).

Histopatolojik Bulgular

Epidermiste akantoz, retelerde uzama, stratum granülozumda incelme ve yer yer kaybolma, stratum korneumda parakeratoz ve hiperkeratoz görülür. Stratum korneumda parakeratotik alanlarda nötrofillerin toplanması sonucu 'Munro mikroabseleri' oluşur. Papiller dermiste kapillerler sayıca artmış ve ileri derecede kıvrımlı ve dilatedir. Dermal papillalar uzamış

ve ödemlidir, dermal papilla üzerini örten epidermis ise incelmıştır. Dermiste lenfositik perivasküler infiltrasyon görülür (54).

Komorbid hastalıklar (Psoriatik Yürüyüş)

Psoriasis hastalarında; metabolik sendrom, obezite, diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı sıklığı artmıştır (3, 4, 55). Psoriasis yaşam kalitesini bozan kronik bir hastalıktır. Bu hastalarda sosyal stigmatizasyon nedeni ile anksiyete, depresyon, sigara içme ve alkol bağımlılığı prevalansı normal populasyona göre artmıştır. Bu durum aynı zamanda psoriasis hastalığını da olumsuz etkilemektedir (55).

Tedavi

Psoriasis tedavisinde ana hedef hastayı uzun süre remisyonda tutmak, tekrarları önlemek ve hastanın yaşam kalitesini artırmaktır. Tedavi seçiminde hastalığın yaygınlığı, süresi, tipi, daha önce uygulanan tedaviler, yaş, cinsiyet, sosyoekonomik durum, psikolojik faktörler, eşlik eden hastalıklar, uygulanacak tedavinin etkinliği, güvenilirliği ve hasta uyumu göz önünde bulundurulmalıdır (7).

Psoriasis şiddetinin değerlendirilmesi çok yönlüdür. Psoriasis şiddetinin tanımlanmasında en çok kullanılan ölçeklerden biri; hastalığın eritem, kepek ve endürasyon/infiltrasyon gibi semptomlarını anatomik lokalizasyonlarına göre derecelendiren Psoriasis Alan Şiddet İndeksi'dir (PAŞİ). Tutulum alanlarının % dağılımını gösteren vücut yüzey alanı (VYA) PAŞİ uygulanmadığı durumlarda kullanılacak diğer bir basit ölçektir. Psoriasis yaşam kalitesi üzerine etkisini hasta tarafından değerlendiren ölçek ise Dermatoloji Yaşam Kalite İndeksi'dir (DYKİ). Bu ölçeklere göre; PAŞİ, VYA ve DYKİ skorlarının 10'un altında olması hafif plak tip psoriasis olarak tanımlanmaktadır. Hafif plak tip psoriasis tedavisi seçenekleri topikal tedavi veya dirençli durumlarda fototerapidir. PAŞİ, VYA ve DYKİ skorlarının 10'un üzerinde olması ise orta şiddetli psoriasis olarak tanımlanmaktadır. Görünür alan tutulumu, saçlı deride şiddetli tutulum, genital bölge, ayak

tabanı ve avuç içlerinin tutulması, tırnak tutulumu, kaşıntı-ağrı- yanma gibi şikayetlerin varlığı, rekalsitran plakların varlığı ve artrit varlığında ise PAŞİ skoru 10'un altında olsa bile hasta orta-şiddetli psoriasis olarak tanımlanmaktadır. Orta şiddetli psoriasisde tedavi seçenekleri fototerapi, sistemik konvansiyonel tedaviler (metotreksat, siklosporin, asitretin) veya kombinasyon tedavileridir (7, 56).

Biyolojik Ajanlar

Biyolojik ajanlar, kronik enflamatuvar hastalıkların patogeneğinde yer alan anahtar enflamatuvar molekülleri inhibe ederler. Psoriasis tedavisinde kullanılan biyolojik ajanlar; hücre adhezyon ve stimülasyonunda önemli rol oynayan transmembran proteinlerini, TNF- α sitokinini veya Th17 yollarını hedef almaktadır (57). Alefasept, kronik plak tip psoriasis için ilk FDA (Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi) onayı alan ajandır. Alefasept, CD2'ye bağlanır ve CD2 ile LFA-3 (*Leucocyte-function-associated antigen-3*) etkileşimini inhibe ederek T hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu baskılar (57). Efalizumab; LFA-1'in (*Leucocyte-function-associated antigen-1*) CD11a alt ünitesine bağlanarak lenfosit aktivasyonunu ve hücre göçünü inhibe eder. Efalizumab, progresif multifokal lökoensefalopatiye sebep olması nedeni ile tedavülden kaldırılmıştır (58). TNF- α 'yı bloke eden ajanlar; etanercept, adalimumab, infliksimab, sertolizumab pegol ve golimumabtır. Etanercept, adalimumab ve infliksimab psoriasis vulgaris ve psoriatik artrit tedavisinde kullanılırken; sertolizumab pegol ve golimumab psoriatik artrit tedavisinde onay almıştır. Tablo-3'te etanercept, infliksimab ve adalimumabın etki mekanizması, kullanım şekli ve dozları gösterilmiştir. (7, 56). İnfliksimab ve adalimumab, hem trimer hem de monomer formdaki TNF- α molekülünü bağlarken, etanercept sadece trimer yapıdaki TNF- α molekülünü bağlar. Her üç ajan da aynı zamanda transmembran yerleşim gösteren TNF- α molekülleri üzerine -etanercept ile daha az oranda- etki gösterir (8). Ustekinumab, IL-12/23 p40 alt ünitesine bağlanarak Th1 ve Th17 yolağını inhibe etmektedir. Sekukinumab ise seçici olarak IL-17A molekülüne bağlanarak etki gösteren insan monoklonal antikorudur (57).

Anti-TNF ajanlar; konvansiyonel sistemik tedavilere yanıt vermeyen, bu tedavilerin kontrendike olduğu veya tolere edilemediği orta ve şiddetli plak psoriasis, stabil olmayan psoriasis ve psoriatik artritli hastaların tedavisinde kullanılmaktadır. Biyolojik ajanlar aktif enfeksiyon, aktif tüberküloz ya da malignite varlığında (Tedavi edilmiş melanom dışı deri kanserleri ve beş yıl süre ile remisyonda olan tedavi almış maligniteler hariç), demiyelinizan hastalıklarda, New York Kalp Birliği Sınıflamasına göre evre III ve IV konjestif kalp yetmezliğinde kullanılmamalıdır (7, 56).

Tablo-3: Psoriasis tedavisinde kullanılan anti-TNF ajanların (Etanercept, infliksimab ve adalimumab) etki mekanizması, kullanım şekli ve dozu

İlaç	Yapısal özellikleri	Etki mekanizması	Kullanım şekli ve dozu
Etanercept	IgG Fc fragmanı ve TNF reseptörü soluble p75 subünitinin birleşmesi ile oluşan füzyon proteini	TNF- α molekülüne bağlanarak etkisini gösterir (daha çok soluble ve trimer yapıdaki TNF- α molekülü)	- Sc - İlk 3 ay 100mg/hafta sonrasında 50mg/hafta
Adalimumab	Rekombinant insan monoklonal IgG1 antikoru	TNF- α molekülüne bağlanarak etkisini gösterir (hem soluble hem transmembran)	- Sc - 0. hafta 80mg, 1. hafta 40mg sonrasında 2 haftada bir 40mg
İnfliksimab	insan-fare kimerik IgG1 tipi monoklonal antikor	TNF- α molekülüne bağlanarak etkisini gösterir (hem soluble hem transmembran)	- İv infüzyon - 5mg/kg dozunda 0, 2 ve 6. haftalar ve sonrasında 8 haftada bir

Sc: Subkutan, iv: İntravenöz, IgG: İmmunglobulin G, TNF: tümör nekrozis faktör

Biyolojik ajanlar psoriasisde oldukça etkili bir tedavi seçeneğidir (59). Fakat tedaviye yanıt kişiler arasında farklı olabilmektedir. Bu farklılıkta kişinin demografik özellikleri, fizyolojik ve psikolojik faktörler yanında genetik faktörler de etkili olmaktadır (60)

Psoriasis ve TNF- α Gen Polimorfizmi

TNF- α 'yı kodlayan gen, 6. kromozomun kısa kolunda, HLA-B ve HLA-DR genleri arasında, MHC kompleksinin 3. bölgesinde bulunur. TNF- α gen ekspresyonunun hem transkripsiyonel, hem de posttranskripsiyonel

regülasyonu olduğu ve bakteriyel polisakkaritler, mitojenler ve virüslerin TNF- α gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (61, 62).

Polimorfizm, popülasyonda bir lokus için iki ya da daha fazla allelin mutasyonla oluşabileceğinden daha yüksek sıklıkla birlikte bulunmasıdır. Bu sıklığın %1'den fazla olması durumunda bu lokus polimorfik olarak kabul edilmektedir. Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki allelik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sitokin genlerinin değişik polimorfik bölgeleri tanımlanmış olup, bu polimorfizm popülasyonlara göre farklılık gösterebilmektedir (63). Yapılan çalışmalarda sitokin düzeyleri bireysel farklılık göstermekte ve bu farklılık; gen düzenleyici bölgelerdeki allelik polimorfizmlerle açıklanmaktadır. Sitokinlerin üretimini kontrol eden genlerdeki polimorfik lokuslar, sitokinlerin anormal üretimine ve fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Birçok sitokinin promoter bölge polimorfizmlerinin sitokin düzeylerinde değişime yol açarak patolojik yanıtı neden olduğu gösterilmiştir (64).

Tek nükleotid polimorfizmleri, tek baz değişiklikleri olup TNF- α promoter gen bölgesinde oldukça fazla görülmekte ve TNF- α sentezini etkilemektedirler. Örneğin; TNF- α promoter regülatuar sekansındaki -308 pozisyonundaki guanin (G) allelinin adenin (A) alleleine değişimi TNF- α 'nın transkripsiyonel aktivitesini artırmakta ve daha yüksek TNF- α düzeylerine neden olmaktadır (65, 66). Kaluza ve ark (67) ise yaptıkları çalışmada TNF- α 238 A allelinin, azalmış promoter aktivitesi ile ilişkili olduğunu ve farklı mitojen ve antijenlerle stimülasyonda azalmış TNF- α yanıtı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Buna karşılık Reich ve ark (68) ise, TNF- α 238 A allelini artmış TNF- α düzeyleri ile ilişkili bulmuşlardır. Homozigot TNF- α 857 CC (sitozin) genotipinin de daha yüksek TNF- α düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (69).

TNF- α promoter gen bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin aynı zamanda psoriasis, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, ankilozan spondilit gibi otoenflamatuvar hastalıklara yatkınlık ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (70).

Yapılan bazı çalışmalarda, TNF- α 308 varyant tip olan GA ve AA genotipinin azalmış psoriasis riskiyle, wild tip olan GG genotipinin ise artmış psoriasis riskiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (11, 66, 71-73). Bazı çalışmalarda ise -özellikle Japonlar üzerinde yapılan çalışmalarda- TNF- α 308G>A gen polimorfizmi ile psoriasisle yatkınlık arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (74, 75).

Li ve ark (72) ile Le Zhuang ve ark (11) tarafından yapılan metaanalizde TNF- α 238 varyant tip olan G/A polimorfizmi, psoriasis riskinde artışla ilişkili bulunmuştur. Buna karşılık Gallo ve ark (71) ise TNF- α 238 GG genotipini psoriasisli hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek saptamışlardır. Rahman ve ark.'nın (76) çalışmasında, TNF- α 238 A alleli psoriatik artritli hastalarda kontrol grubuna göre 2 kat yüksek bulunmuştur.

Magalhaes ve ark. (77), Brezilyalı hastalarda yaptıkları, grup 1 (hafif hastalık), grup 2 (ciddi hastalık) ve kontrol grubundan oluşan bir çalışmada; kontrol ve hasta grupları arasında TNF- α 238G>A ve 308G>A polimorfizmi yönünden anlamlı bir fark bulunmazken; TNF- α 238 GG genotipi ciddi hastalık grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Reich ve ark (68), TNF- α 238G>A polimorfizmini hastalık riskinde artışın yanı sıra erken hastalık başlangıç yaşı ile de ilişkilendirmişlerdir.

TNF- α 857 C>T polimorfizmi bir çalışmada kontrol grubunda psoriasisli hastalara göre daha yüksek oranda bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuca ulaşılammıştır (71). Aynı çalışmada TNF- α 1031 wild tip timin (T) alleli ise psoriasis hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek bildirilmiştir. Yapılan bir metaanalizde; TNF- α 1031T>C polimorfizmi ile hastalığa yatkınlık arasında herhangi bir ilişki saptanmazken, TNF- α 857 C>T polimorfizmi hem psoriasis hem de psoriatik artrit riskiyle ilişkilendirilmiştir (73). Başka bir çalışmada da TNF- α 857C>T ve 1031T>C polimorfizmleri ile psoriatik artrit arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (76).

TNF- α promoter bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin biyolojik ajanlarla tedavide artmış veya azalmış tedavi yanıtı ile ilişkili olabileceği ile

ilgili çalışmalar da mevcuttur. O’Rielly ve ark.’nın (78) yaptıkları metaanalizde TNF- α 308 A alleli, anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt ile ilişkili bulunmuştur. Ancak, bu konudaki çalışmalar daha çok romatoid artrit, ankilozan spondilit, enflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi romatolojik hastalıklar ile ilgili iken, psoriasis ile yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmalarda tek nükleotid polimorfizmlerinin tedaviye yanıtı belirlemede rolü olabileceği gösterilmişse de, sonuçlar çelişkilidir (79-81).

Bu bilgiler işığında bu çalışmada psoriasis hastalarında anti-TNF ajanlar ile tedaviye yanıtı TNF- α gen polimorfizmlerinin (-238G>A, -308G>A, -1031T>C, 857C>T ve -489G>A) etkisinin ve bu genetik polimorfizmlerin tedaviye yanıtta biyomarker olarak rolünün araştırılması planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı psoriasis polikliniğinde takip edilen, klinik ve histopatolojik olarak psoriasis tanısı konulmuş, sistemik konvansiyonel tedavilere yanıtızlık veya kontrendikasyon nedeniyle en az bir yıl süreyle anti-TNF ajanlarla tedavi edilmiş olan 157 hasta dahil edildi.

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 13 Mayıs 2014 tarihli ve 2014-10/17 nolu kararı ile onaylandı. Çalışma kriterlerine uyan hastaların tümüne çalışmanın amacı anlatılıp gerekli izinleri alınarak bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı.

Hastaların yaş, cinsiyet, hastalık süresi, artrit varlığı, tırnak tutulumu, aile öyküsü gibi klinik ve demografik verileri kayıt edildi. Boy ve kilo ölçümleri yapılarak vücut kitle indeksleri hesaplandı. Hastalar; kullanılan ajanlara, primer/sekonder direnç gelişimine göre alt gruplara ayrıldı. Primer direnç; indüksiyon fazı sonunda PAŞİ skorunda %50 ve üzeri iyileşme sağlanamaması şeklinde tanımlandı. Sekonder direnç, indüksiyon fazında tedaviye yanıt alınmış olgularda, idame tedavi sırasında başlangıç PAŞİ'ye göre iyileşme oranının %50 veya altına inmesi şeklinde kabul edildi. Sekonder direnç gelişimini değerlendirirken enfeksiyon odağı, stres vb gibi yanıtı etkileyebilecek faktörler de göz önünde bulunduruldu (56, 82, 83).

TNF- α -238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C ve 489G>A gen bölgelerinin genotip tayini için PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction fragment length polymorphism*) yöntemi kullanıldı. Bu gen polimorfizmlerinin, anti-TNF ajanlara primer ve/veya sekonder direnç gelişimi ve hastaların klinik ve demografik özellikleri ile ilişkisi değerlendirildi.

DNA İzolasyonu

Hastalardan genotip tayini için EDTA'lı tüplere yaklaşık 2cc'lik kan örneği alındı ve örnekler -20°C'de saklandı. GeneMATRIX hızlı DNA

izolasyon kiti (EURx Ltd Şti, Polonya) işlemi uygulandı. 200µl kan örneği 1.5-2ml eppendorf tüpüne alınarak üzerine 10µl proteinaz K ve sonrasında 200µl Sol QB buffer eklendi. Karışım vorteksenerek 70°C'de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 200µl %96 etanol eklendi ve karışım vorteksenerek 12.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Oluşan lizat, kit ile beraber verilen ve önceden içerisine 40µl Buffer QB eklenip oda sıcaklığında bekletilen spin-kolona aktarıldı ve spin-kolon da toplama tüpüne yerleştirildi. 12.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Spin-kolon çıkarılarak toplama tüpüne geçen sıvı atıldı ve spin-kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirildi. Üzerine 500 µl Wash QBX1 buffer eklenerek 12.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi ve yine spin-kolon çıkarılarak toplama tüpüne geçen sıvı atıldı ve spin-kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirildi. Üzerine 500 µl Wash QBX2 buffer eklenerek 12.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Spin-kolon çıkarılarak yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. Üzerine 70°C'de ısıtılan 50 µl Elution buffer eklendi ve oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi. Spin-kolon 12.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Toplama tüpünde biriken DNA içeren sıvı çalışılma zamanına kadar -20°C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü

Bu çalışmada izole edilen DNA'larda TNF-α 238G>A, 308G>A, 1031T>C, 857C>T ve 489G>A polimorfizmlerini içeren gen bölgelerini çoğaltmak için PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yöntemi kullanıldı. PCR yöntemi, genomik DNA'nın sıcaklığın etkisiyle çift zincirinin tek zincir haline gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili DNA bölgesine yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksiniükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerinin çoğaltılması temeline dayanmaktadır. Öncelikle PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. Yaklaşık 50 µl'lik PCR karışımı 0.2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı (Tablo-4). Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR (SensoQuest GmbH, Almanya) cihazına yerleştirildikten sonra belirlenen

program uygulandı (Tablo-5). İlgili genin polimorfizmi için PCR döngü programı olarak Tablo 6'da belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi.

Tablo-4: TNF-alfa 238G>A, 308G>A, 1031T>C, 857C>T ve 489G>A polimorfizmleri için PCR reaksiyonu karışımında kullanılan malzemeler ve miktarları

1) PCR master Mix (SNP Biyoteknoloji, Universal PCR master Miks-1X).....	42.7 µL
2) Taq polimeraz enzimi (6µl) (SNP Biyoteknoloji).....	0.3 µL
3) 10 pmol/ml ilgili gene özgü primer forward (Macrogen Humanizing Genomics).....	1.0 µL
4) 10 pmol/ml ilgili gene özgü primer reverse (Macrogen Humanizing Genomics).....	1.0 µL
5) Genomik DNA.....	5.0 µL

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu, SNP: Tek nükleotid polimorfizmi

Tablo-5: PCR Döngü Programı

1)Başlangıç denatürasyonu	95°C.....	5 dakika
2)Denatürasyon	95°C.....	30 saniye
3) Bağlanma (primere özgü tablo 2).....	55-60°C.....	30 saniye
4) Uzama.....	72°C.....	45 saniye
5) Son Uzama.....	72°C.....	10 dakika

*2,3 ve 4 işlemler sırasıyla 30-32 siklus

TNF- α 238G>A, 308G>A, 1031T>C, 857C>T ve 489G>A polimorfizmlerini çoğaltmak için kullanılan primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları, oluşan ürünün uzunluğu ve kullanılan kesim enzimleri Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6: Kullanılan primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları, oluşan ürünün uzunluğu ve kullanılan kesim enzimi (84-87).

	Primer (forward) Primer (reverse)	Bağlanma sıcaklıkları	Oluşan Ürün (Baz çifti, bç)	Kullanılan kesim enzimi
TNF- α 238 G>A	5'-AGAAGACCCCCCTCGGAACC-3' 5'-ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3'	55°C	152bç	MspI (New England Biolabs)
TNF- α 857 C>T	5'-GGCTCTGAGGAATGGGTTAC-3' 5'-CCTCTACATGGCCCTGTCTAC-3'	56.5°C	127 bç	HpyCH4IV (New England Biolabs)
TNF-α-308 G>A	5'-AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT -3' 5'-TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3'	60 °C	107 bç	NcoI-HF (New England Biolabs ABD)
TNF-α 1031 T>C	5'-TATGTGATGGACTCACCAGGT-3' 5'-CCTCTACATGGCCCTGTCTT-3'	60 °C	264bç	BbsI (New England Biolabs)
TNF- 489 G>A	5'-CACACTTAGTGAGCACCTTC-3' 5'-GGAGAGAAGCAACTACAGAC-3'	58 °C	551bç	HpyCH4IV (New England Biolabs)

TNF-α 238, 308, 1031, 857 ve 489 polimorfizmlerine ait PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması

PCR reaksiyonu sonucu elde edilen TNF-α 238, 308, 1031, 857 ve 489 bölgelerine ait ürünler genotip tayini için sırasıyla MspI, NcoI-HF, BbsI ve HpyCH4IV kesim enzimleri kullanıldı. 24 hasta için, 3 µl ilgili restriksiyon enzimi, 30 µl restriksiyon enzim bufferı, 70 µl distile su karışımı hazırlandı. Karışım hasta başına 3.5 µl olacak şekilde 0.2 ml'lik tüplere dağıtıldı ve üzerine 12.5 µl hacimdeki PCR ürünü eklendi. Bu karışım 37°C'de 16 saat süre inkübasyona bırakıldı. Restriksiyon enzim kesim sonuçları agaroz jelde değerlendirildi.

Jel Elektrophorez Protokolü

Agaroz jel elektrophorezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %4'lük agaroz jel elektrophorezi

uygulandı. %4'lük jel hazırlanması için öncelikle 50 mL 10x TBE (Tris-Borik asit-EDTA; SNP Biyoteknoloji) solüsyonu 450 ml distile su ile beher içinde karıştırılarak 1x TBE elde edildi. 100ml 1x TBE içerisine 4 gr agaroz (VWR Life science AMRESCO) eklendi. Çözelti mikrodalga fırında "medium" ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 7 µL etidyum bromid (Chembio Laboratory Research) eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı, 1x TBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol mavisi ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 150V akımda 25 dakika kadar yürütüldü. Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirildi.

TNF-α 238G>A, 308G>A, 1031T>C, 857C>T ve 489G>A Polimorfizmlerinin Genotiplerinin Belirlenmesi

- **TNF-α 238** gen bölgesine ait 152 bç'lik PCR ürününden 132 bç ve 20 bç iki ayrı ürün oluşursa GG genotipi, 152 bç'lik tek ürün oluşursa AA genotipi, 152 bç, 132 bç ve 20 bç üç ayrı ürün oluşursa GA genotipi olarak belirlendi (84).

- **TNF-α 308** gen bölgesine ait 107 bç'lik PCR ürününden 80 bç ve 27 bç iki ayrı ürün oluşursa GG genotipi, 107 bç, 80 bç ve 27 bç üç ayrı ürün oluşursa GA genotipi ve 107 bç'lik tek ürün olursa AA genotipi olarak belirlendi (85).

- **TNF-α 1031** gen bölgesine ait 264 bç'lik PCR ürününden; sadece 264bç'lik ürün oluşursa T/T genotipi, 193 bç ve 71 bç'lik iki ürün oluşursa C/C genotipi, 264 bç, 193 bç ve 71bç'lik üç ayrı ürün oluşursa T/C genotipi olarak belirlendi (86).

- **TNF-α 857** gen bölgesine ait 127 bç'lik PCR ürününden 109 bç ve 18bç iki ayrı ürün oluşursa C/C genotipi, sadece 127 bç'lik ürün oluşursa T/T genotipi, 109 bç, 127 bç ve 18 bç'lik üç ayrı ürün oluşursa T/C genotipi olarak belirlendi (87).

- **TNF- α 489** gen bölgesine ait 551 bç'lik PCR ürününden 392 bç ve 159bç iki ayrı ürün oluşursa A/A genotipi; 392bç, 281bç, 159bç ve 111bç'lik dört ayrı ürün oluşursa G/A genotipi; 281bç, 159bç ve 111bç'lik üç ayrı ürün oluşursa G/G genotipi olarak belirlendi (88).

İstatistiksel Analiz

Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile araştırılmıştır. Normal dağılıma uygunluk gösteren sürekli değişkenlere ait betimleyici istatistikler ortalama \pm standart sapma, normal dağılıma uygunluk göstermeyen sürekli değişkenler için betimleyici istatistikler medyan (minimum-maksimum) olarak belirtilmiştir. Sürekli değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ve Mann-Whitney U testi, kategorik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında Pearson ki-kare testi, Fisher Freeman Halton testi ve Fisher exact test kullanılmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki Spearman sıra korelasyon katsayısı ile incelenmiştir. Analizler IBM SPSS v.20 programında yapılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya 81 erkek (%51.5), 76 kadın (%48.4) olmak üzere 157 hasta dahil edildi. Hastaların klinik ve demografik özellikleri Tablo-7'de özetlenmiştir. Yaşları 20-87 (ortalama±standart deviasyon (ort±SD); 48.88±12.12) arasında değişen olguların %77'sinde artrit, %47.7'sinde tırnak tutulumu, %33.7'sinde ailesinde psoriasis öyküsü vardı. Toplam biyolojik ajan kullanım süresi 12 ay ile 147 ay (ort±SD; 46.50±26.62) arasında değişmekteydi. Adalimumab kullanılan hasta sayısı 125, infliksimab kullanılan hasta sayısı 81 ve etanercept kullanılan hasta sayısı 62 idi. Hastaların 87'sinde direnç gelişimi ve/veya yan etki nedeni ile birden fazla biyolojik ajan kullanılmıştı. Tek ajan kullanılan 70 hastanın 49'u adalimumab (%70), 13'ü infliksimab (%18.5) ve 8'i etanercept (%11.4) kullanmıştı. Hastaların 62'sinde (%39.5) herhangi bir ajana karşı direnç saptanmaz iken, 95'inde (%60.5) en az bir ajana karşı primer ve/veya sekonder direnç gelişimi saptandı. Tablo-8'de adalimumab, infliksimab ve etanercept tedavilerinin ortalama kullanım süreleri, sekonder direnç gelişim süresi ve direnç geliştirmeyenlerde ortalama kullanım süresi görülmektedir. Sekonder direnç gelişim süreleri ve direnç geliştirmeyenlerde ortalama kullanım süreleri açısından her üç ajan arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Etanercept kullananlarda primer direnç gelişimi daha fazla görülmekle birlikte her üç ajanın primer ve sekonder direnç gelişim oranları arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo-7: Hastaların klinik ve demografik özellikleri ve kullanılan tedaviler (n=157)

Cinsiyet (Erkek/Kadın)	81/76
Yaş	48.88±12.12*
Hastalık başlangıç yaşı	28.00±14.00
Hastalık süresi	20.89±10.60
Artrit	121 (%77.0)**
Tırnak tutulumu	75 (%47.7)
Ailede psoriasis öyküsü	53 (%33.7)
BKİ	29.84±5.83
Ek hastalık	81 (% 51.5)
En sık görülenler;	
Hipertansiyon	44
Diyabetes Mellitus	18
Hiperlipidemi	17
Koronar arter hastalığı	10
Biyolojik ajan öncesi tedaviler	
Metotreksat	141
Siklosporin	131
Asitretin	74
Fototerapi	39
Kullanılan biyolojik ajan sayısı	
Tek ajan	70
2 ajan	37
3 ajan	31
>3 ajan	19
Direnç geliştirilen Anti-TNF ajan sayısına göre hasta sayısı	
Direnç gelişimi yok	62
Tek ajan	46
2 ajan	32
3 ajan	17

* Ortalama± standart deviasyon, ** n (%), BKİ: Beden kitle indeksi, TNF: Tümör nekrozis faktör

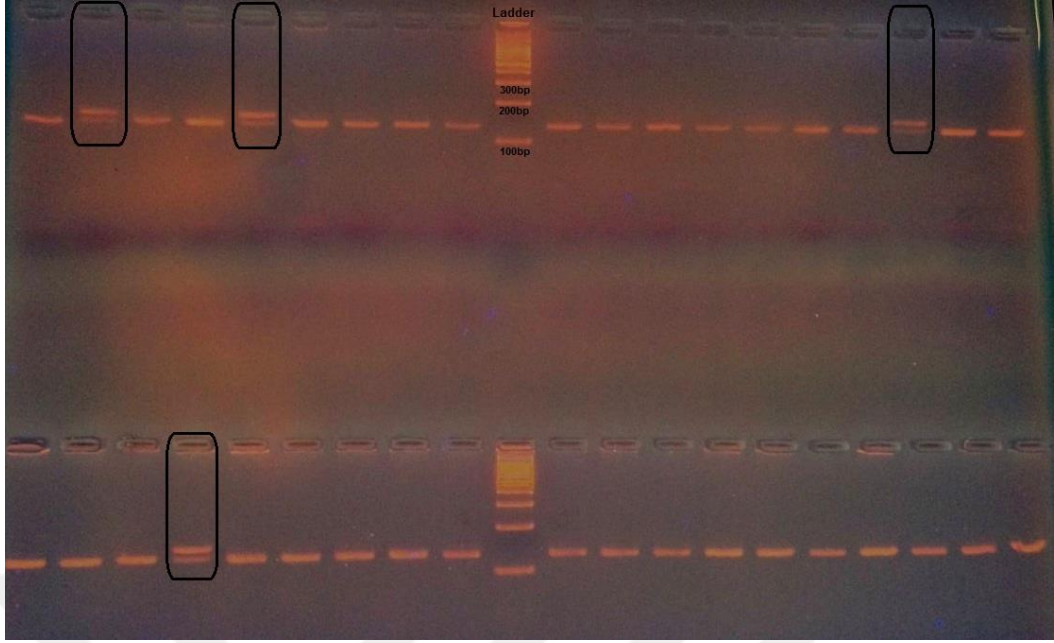
Tablo-8: Adalimumab, infliksimab, etanercept tedavilerinin kullanım süreleri.

	Adalimumab (n: 125)	İnfliksimab (n: 81)	Etanercept (n: 62)
Kullanım süresi (ay)	27.99±21.13* 22; 1-84**	22.80±22.75 15; 1-108	23.30±22.18 16.5; 1-100
Primer/sekonder direnc gelişimi	9/53 (%7.2/%42.4)	5/50 (%6.1/%61.7)	12/32 (%19.3/%51.6)
Sekonder direnc gelişim süresi (ay)	19.28±13.62 15; 6-66	18.6±10.65 15; 5-48	27.90±23.0 22.5; 6-100
Direnc geliştirmeyenlerde kullanım süresi (ay)	38.47±22.10 39; 1-84	35.36±34.86 19; 1-108	26.35±22.25 22;1-84

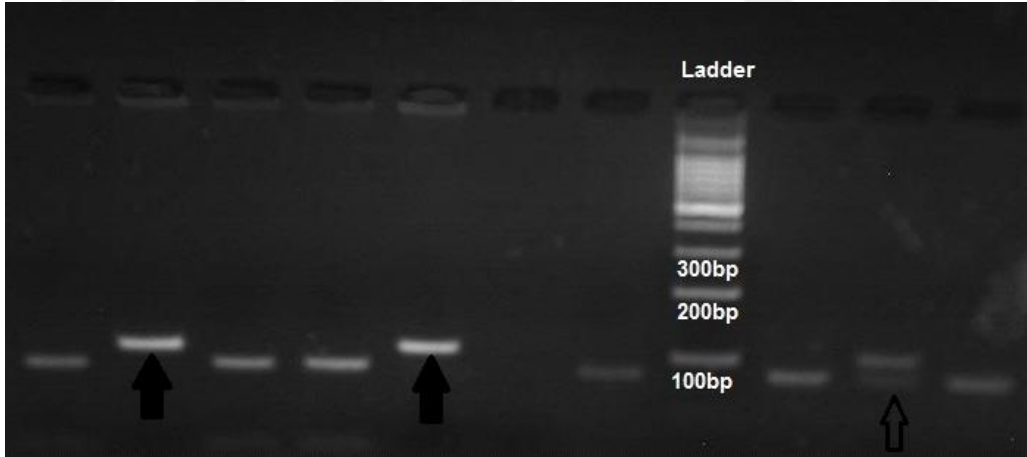
* Ortalama± standart deviasyon, ** ortanca; minimum-maksimum

Anti-TNF ajanların toplam kullanım süresi ile primer ve sekonder direnc ayrımı yapılmaksızın direnc gelişimi ve direnc sayısı arasında herhangi bir ilişki saptanmaz iken ($p>0.05$), toplam kullanım süresi ile sekonder direnc gelişim sayısı arasında düşük de olsa korelasyon mevcuttu. ($p<0.05$, $r:0.162$). Hastalık başlangıç yaşı ile direnc gelişimi, direnc sayısı ve sekonder direnc sayısı arasında herhangi bir ilişki yoktu ($p>0.05$). Beden kitle indeksi ile direnc gelişimi arasında da herhangi bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

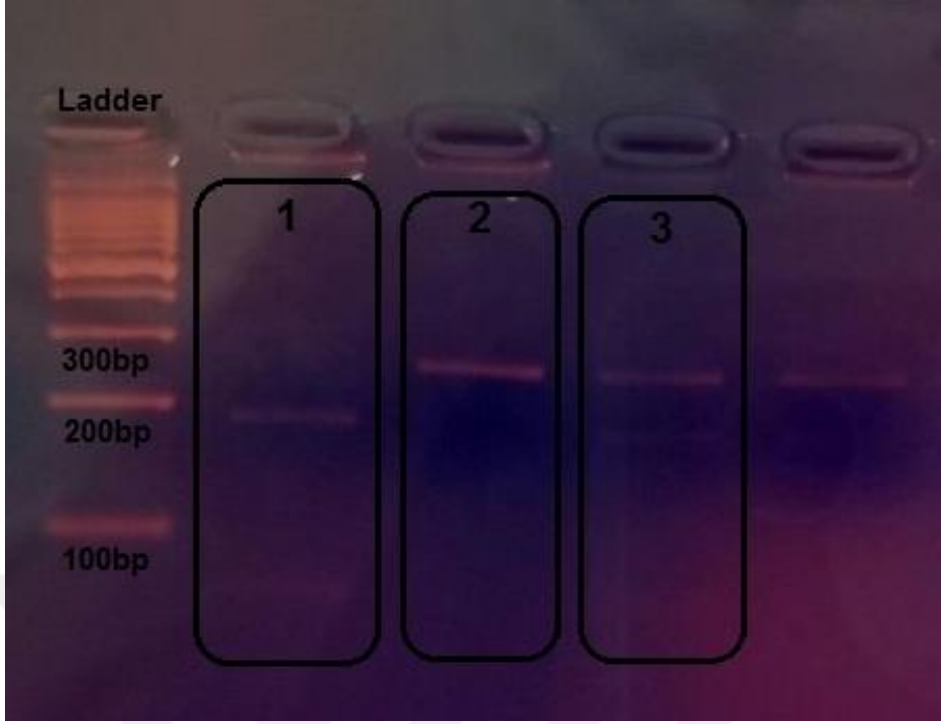
TNF- α genindeki -238G>A, -308G>A, -857C<T ve -1031T>C polimorfizmlerine ait agaroz jel görüntüleri Şekil 2-5'te gösterilmiştir.



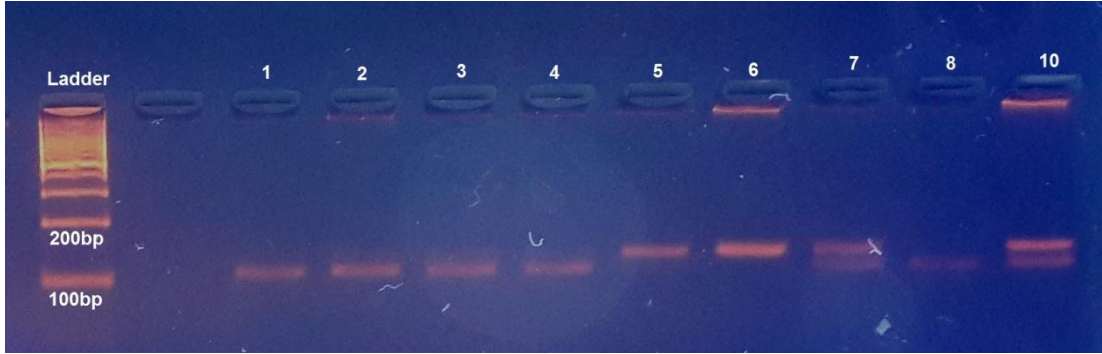
Şekil-2: TNF- α genindeki -238 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin MspI enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. Kutu içine alınmış kuyucuklar GA genotipine, diğerleri GG genotipine sahip bireyleri göstermektedir.



Şekil-3: TNF- α genindeki -308 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin NcoI enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. İçi dolu oklar ile gösterilmiş kuyucuklar AA genotipine, içi boş ok ile gösterilmiş kuyucuk GA genotipine, diğer kuyucuklar GG genotipine sahip bireyleri göstermektedir.



Şekil-4: TNF- α genindeki -1031 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin BbsI enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. 1 numaralı kuyucuk CC genotipine, 2 numaralı kuyucuk TT genotipine, 3 numaralı kuyucuk CT genotipine sahip bireyleri göstermektedir.



Şekil-5: TNF- α genindeki -857 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin HpyCH4IV enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. 1-4 ve 8 numaralı kuyucuklar CC genotipine, 5-6 numaralı kuyucuklar TT genotipine, 7 ve 10 numaralı kuyucuklar CT genotipine sahip bireyleri göstermektedir.

Tablo-9'da TNF- α -238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C gen polimorfizmlerinin genotip oranları ve allel sıklıkları görülmektedir. TNF- α

489G>A polimorfizminde PCR-RFLP yöntemi ile beklenenden farklı olarak çalışılan hastaların hepsinde GA genotipi saptanmış, ancak bu bulgu sekans analizi ile desteklenememiştir. Kontrol grubu olarak su ile de çalışılmış ve kontaminasyon dışlanmıştır. PCR bağlanma sıcaklıkları değiştirilerek işlemler tekrarlandığında agaraz jel görüntülemeye fazladan bandlar da görülmüştür. Sonuç olarak; ilgili polimorfik bölgenin genom üzerinde çok fazla psödobölgesi olması ve spesifik olarak PCR koşulları sağlanamaması nedeni ile çalışmamız TNF- α 489 polimorfizmi çalışılmadan diğer dört polimorfizm ile tamamlanmıştır.

Tablo-9: TNF- α geninin -238, -308, -857, -1031 bölgelerinin genotip oranları ve allel sıklıkları

TNF- α 238		TNF- α 308		TNF- α 857		TNF- α 1031	
Genotip	n (%)	Genotip	n (%)	Genotip	n (%)	Genotip	
GG	136 (87.,2)	GG	127 (80.9)	CC	60 (43.8)	CC	3 (2.0)
GA	14 (9)	GA	26 (16.6)	CT	70 (51.1)	CT	39 (26.4)
AA	6 (3.8)	AA	4 (2.5)	TT	7 (5.1)	TT	106 (71.6)
Allel sıklığı		Allel sıklığı		Allel sıklığı		Allel sıklığı	
G	286	G	280	C	190	C	45
A	26	A	34	T	84	T	251

Hastalık başlangıç yaşı ile TNF- α 238G>A, -308G>A, -1031T>C gen polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki saptanmaz iken ($p>0.05$), TNF- α 857 CC genotipine sahip bireylerde hastalık başlangıç yaşı TT genotipine sahip bireylere göre daha erken saptandı ($p=0.027$). Artrit gelişimi, tırnak tutulumu, yan etki gelişimi ile TNF- α gen polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$). Eşlik eden ek hastalık ile TNF- α 238G>A, -857C>T, -1031T>C gen polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki saptanmaz iken ($p>0.05$), TNF- α -308 AA genotipine sahip olan bireylerde eşlik eden ek hastalık varlığı daha fazla, GA genotipine sahip bireylerde ise daha az saptandı. Aile öyküsü, TNF- α -238 GA genotipine sahip bireylerde GG genotipine sahip bireylere göre daha yüksek oranda pozitif. TNF- α -308G>A, -857C>T ve 1031T>C polimorfizmleri ile aile öyküsü pozitifliği arasında herhangi bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo-10: TNF- α gen polimorfizmi ile hastaların klinik ve demografik özelliklerinin ilişkisi

	TNF- α 238 GG/GA/AA	P	TNF- α 308 GG/GA/AA	P	TNF- α 1031 TT/CT/CC	P	TNF- α 857 CC/CT/TT	P
Artrit								
Var	103/12/5		101/16/4		81/30/3		45/52/7	
Yok	33/2/1	0.819	26/10/0	0.104	25/9/0	1.000	15/18/0	0.398
Tırnak tutulumu								
Var	62/8/5		60/13/2		49/18/2		31/31/5	
Yok	74/6/1	0.161	67/13/2	0.936	57/21/1	0.830	29/39/2	0.361
Ek hastalık								
Var	72/6/3		70/8/3		56/20/2		34/33/5	
Yok	64/8/3	0.811	57/18/1	0.038	50/19/1	1.000	26/37/2	0.346
Aile öyküsü								
Var	42/9/2		41/10/2		32/16/1		20/21/2	
Yok	94/5/4	0.048	86/16/2	0.643	74/23/2	0.421	40/49/5	0.910
Yan etki								
Var	15/3/0		14/4/0		15/3/0		8/7/0	
Yok	121/11/6	0.464	113/22/4	0.701	91/36/3	0.594	52/63/7	0.647

Primer ve sekonder direnç gelişimi ile kullanılan ajanlara göre alt grup ayrımı yapılmaksızın, herhangi bir anti-TNF ajana karşı bir veya birden fazla direnç geliştiren hastalar ile Anti-TNF ajanlara karşı direnç gelişimi görülmeyen hastalar karşılaştırıldığında (Tablo-11); direnç gelişimi ile TNF- α 857C>T ve 1031T>C gen polimorfizimleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$). TNF- α 238 AA genotipine sahip olan bireylerde, GA ve GG genotipine göre direnç gelişim oranı daha düşük saptandı. Diğer bir deyişle TNF- α 238 AA genotipine sahip 6 hastanın 5'i (%83.3) direnç geliştirmeyen grupta yer aldığı halde, TNF- α 238 GG genotipine sahip 136 hastanın 54'ü (%39.7), AG genotipine sahip 14 hastanın 2'si (%14.3) direnç geliştirmeyen grupta yer almaktaydı ($p=0.013$). GA genotipi ile GG genotipi arasında ise istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Allel sıklıklarına baktığımızda ise TNF- α 238 polimorfizminde G ve A allel sıklığı ile direnç gelişimi arasında herhangi bir ilişki yoktu ($p=0.442$).

TNF- α 308 AA genotipine sahip bireylerde, GA ve GG genotipine sahip bireylere göre direnç gelişim oranı daha düşüktü. TNF- α 308 AA genotipine sahip 4 hastanın hepsi direnç geliştirmeyen hasta grubunda yer almakta iken, TNF- α 308 GG genotipine sahip 127 hastanın 47'si (%37.0), GA genotipine sahip 26 hastanın 11'i (%42.3) direnç geliştirmeyen hasta grubunda yer almaktaydı (p=0.043). Allel sıklıklarına baktığımızda ise A alleli direnç geliştirmeyen hasta grubunda, direnç gelişimi bulunan hasta grubuna göre daha fazla bulunmaktaydı (p=0.038). Alt gruplara baktığımızda primer direnç gelişimi ile TNF- α -238G>A, -308G>A, -857C>T ve -1031T>C gen polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0.755, 0.127, 0.841 ve 0.745). Direnç sayısı ile TNF- α 308G>A, 1031T>C, 857C>T gen polimorfizmleri (p>0.05) arasında ilişki yokken, TNF- α 238 AA genotipine sahip bireylerde geliştirilen direnç sayısı daha az bulundu (p=0.019).

Adalimumab, etanercept ve infliksimab tedavilerini ayrı ayrı değerlendirdiğimizde ise sadece adalimumab kullananlarda sekonder direnç gelişimi ile TNF- α -238G>A gen polimorfizmi arasında ilişki saptandı. TNF- α 238 GA genotipine sahip bireylerde, AA ve GG genotipine sahip bireylere göre adalimumaba karşı sekonder direnç gelişimi daha yüksek oranda saptandı (p=0.035) (Tablo-12).

Tablo-11: Alt grup ayrımı yapılmaksızın anti-TNF ajanlara karşı direnç geliştiren hastalar ile direnç geliştirmeyen hastalarda TNF- α gen polimorfizmleri

SNP		Direnç geliştirmeyen (n=62, %39.5)		Direnç geliştiren (n=95, %60.5)		p
		n	%	n	%	
TNF-238	Genotip					
	GG	54	%88.5	82	%86.3	
	GA	2	%3.5	12	%12.6	0.013
	AA	5	%8.2	1	%1.1	
	Allel sıklığı					
	G	110		176		
A	12		14		0.442	
TNF-308	Genotip					
	GG	47	%75.8	80	%84.2	
	GA	11	%17.7	15	%15.8	0.043
	AA	4	%6.5	0	%0.0	
	Allel sıklığı					
	G	105		175		
A	19		15		0.038	
TNF-1031	Genotip					
	TT	40	%70.2	66	%72.5	
	CT	16	%28.1	23	%25.3	0.933
	CC	1	%1.8	2	%2.2	
	Allel sıklığı					
	T	96		155		
C	18		27		0.824	
TNF-857	Genotip					
	TT	4	%7.1	3	%3.7	
	CT	29	%51.8	41	%50.6	0.587
	CC	23	%41.1	37	%45.7	
	Allel sıklığı					
	T	37		47		
C	75		115		0.478	

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi, TNF: Tümör nekrozis faktör

Tablo-12: Kullanılan anti-TNF ajana göre primer ve sekonder direnç gelişimi ile TNF- α gen polimorfizmlerinin ilişkisi

	TNF- α 238 GG/GA/AA	P	TNF- α 308 GG/GA/AA	P	TNF- α 1031 TT/CT/CC	P	TNF- α 857 CC/CT/TT	P
ADA Primer Direnç								
Var	8/0/1		6/3/0		6/2/0		3/5/0	
Yok	100/13/2	0.172	92/20/4	0.534	80/29/1	1.000	46/51/4	0.797
ADA Sekonder Direnç								
Var	44/9/0		45/8/0		37/12/1		24/18/2	
Yok	64/4/3	0.035	53/15/4	0.150	49/19/0	0.583	25/38/2	0.181
İFN Primer Direnç								
Var	5/0/0		3/2/0		5/0/0		2/3/0	
Yok	67/7/2	1.000	66/10/0	0.156	53/19/1	0.368	26/31/5	1.000
İFN Sekonder Direnç								
Var	45/5/0		42/8/0		36/13/0		18/21/2	
Yok	27/2/2	0.230	27/4/0	0.760	22/6/1	0.471	10/13/3	0.646
ETA Primer Direnç								
Var	11/1/0		10/2/0		7/5/0		4/5/0	
Yok	42/7/1	1.000	42/8/0	1.000	34/9/3	0.283	21/18/3	0.840
ETA Sekonder Direnç								
Var	26/6/0		27/5/0		22/6/2		10/12/2	
Yok	27/2/1	0.256	25/5/0	1.000	19/8/1	0.651	15/11/1	0.601

ADA: Adalimumab, İFN: İnfliksimab, ETA: Etanercept

TARTIŞMA VE SONUÇ

Psoriasis; genetik, immunolojik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı, Th1 ve Th17 hücre aracılı enflamatuvar bir hastalıktır. Tedavisinde sistemik konvansiyonel tedavilere yanıtızsızlık ve/veya kontrendikasyon varlığında anti-TNF ajanlar kullanılmaktadır. Anti-TNF ajanların psoriasis tedavisindeki etkinliği, birçok geniş, randomize kontrollü çalışma ile gösterilmiştir. Ancak hastaların bir kısmında primer veya sekonder direnç geliştiği bildirilmektedir (89). Anti-TNF ajanlardan birine karşı direnç geliştiğinde; bu ilaçlar etkilerini benzer şekilde etki gösterdikleri halde, kimyasal yapı, etki mekanizması ve farmakokinetik açıdan farklı ilaç olmaları ve farklı cevap oranlarına sahip olmaları nedeni ile ardışık tedavi uygulanabilmektedir (90). Bizim çalışmamızda 87 hastada birden fazla anti-TNF ajan kullanımı mevcuttu.

Biyolojik ajanlara yanıtı etkileyen; kişinin demografik özellikleri, fizyolojik ve psikolojik faktörler, genetik faktörler gibi birçok faktör bulunmaktadır ve tedavi seçimini etkilemesi nedeni ile bu faktörlerin tanımlanması önemlidir (60). Biyolojik tedavilere yanıtı etkileyen genetik olmayan faktörler Tablo-13'te gösterilmiştir.

Tablo-13: Biyolojik tedavilere yanıtı etkileyen genetik olmayan faktörler (60)

Genetik olmayan faktörler	Etki
BKİ	Anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt
Cinsiyet (Erkek)	Erkekler genellikle daha şiddetli hastalığa sahip olmakla birlikte tedaviye yanıtta cinsiyetin herhangi bir etkisi gözlenmedi
Yaş ↑	Adalimumab tedavisine azalmış yanıt
Psoriasis şiddeti	Anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt
Psoriatik artrit	Anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt
CRP yüksekliği	Anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt
Tanı anındaki yaş ↑	Anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt
Hastalık süresi ↑	Anti-TNF ajanlarla tedaviye azalmış yanıt
Ardışık biyolojik tedavi	İkinci biyolojik ajanın etkisi ilk

CRP: C-reaktif protein, BKİ: Beden kitle indeksi, TNF: Tümör nekrozis faktör

Genom asosiyasyon çalışmaları ile tanımlanan genler psoriasis etiyojisinde enflamatuvar yolakların önemini göstermektedir. Bu alışmalar ile elde edilen veriler ile verilen ilaca karşı klinik cevap veya yan etki ile ilişkili olabilecek varyasyonları tanımlamayı amaçlayan farmakogenetik çalışmalar yapılmaktadır.

TNF- α , psoriasis patogenezinde önemli rol oynayan proenflamatuvar bir sitokindir. SNPs, TNF- α geninde özellikle de promoter gen bölgesinde oldukça fazla görölmektedir. Birçok alışma ile de bu polimorfizmlerin hastalığa yatkınlık ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (11, 71, 73). Aynı zamanda bu polimorfizmlerin anti-TNF ajan tedavisine yanıt üzerine etkisi araştırılmıştır. Fakat bu konuda yapılan çalışmalar daha çok psoriasis ile aynı patogenezi paylaşan romatoid artrit, ankilozan spondilit, enflamatuvar bağırsak hastalığı gibi hastalıklar ile ilgilidir. Seitz ve ark. (91) infliksimab, adalimumab ve etanercept ile tedavi edilen 54 romatoid artrit, 10 psoriatik artrit ve 22 ankilozan spondilit hastasında yaptıkları bir çalışmada; TNF- α 308 GG genotipine sahip bireylerin GA ve AA genotipine göre tedaviye daha iyi yanıt verdiklerini göstermişlerdir. O’Rielly ve ark.’nın (78), romatoid artritli hastalar ile ilgili yaptıkları metaanalizde; TNF- α 308 A alleli, tedaviye cevap veren grupta %22 (119/531) oranında bulunur iken, tedaviye cevap vermeyen grupta %37 (60/161) oranında bulunmuş ve TNF- α 308 A alleli anti-TNF ajanlarla tedaviye daha az yanıt ile ilişkilendirilmiştir. 2579 romatoid artritli hastadan oluşan diğer bir metaanalizde ise TNF- α 308G>A gen polimorfizmi ile tedaviye yanıt arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (92). Murdaca ve ark. (93) ise psoriatik artritli hastalarda yaptıkları bir çalışmada TNF- α 238G>A ve 308G>A gen polimorfizmleri ile tedaviye yanıt arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır.

Literatürde psoriasis hastalarında anti-TNF ajanlarla tedaviye yanıt ile TNF- α gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların özellikleri Tablo-14’te gösterilmiştir. Çalışmamızda tedavisinde etanercept, infliksimab, adalimumab kullanılan 157 psoriasis hastası mevcuttu. Çalışmalarda tedavi yanıtı 3 ve 6. aylarda değerlendirilirken, bizim çalışmamızda 3. ayda değerlendirdiğimiz primer

Tablo-14: Psoriasis hastalarında TNF-α gen polimorfizminin, anti-TNF ajanlara yanıt üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalar

Ülke	Kullanılan Anti-TNF ajan	Hasta sayısı	Çalışılan polimorfizm (PCR-RFLP)	Takip süresi	TNF-α 238 G>A	TNF-α 308 G>A	TNF-α 857 C>T	TNF-α 1031 T>C
Bu çalışma Türkiye (2017)	ADA, IFN, ETA	157	TNF-α -238 G>A -308 G>A -1031 T>C -857 C>T	12 hafta *	- Primer direnç gelişimi ile ilişki saptanmadı - Uzun dönemde TNF-α 238 AA genotipine sahip bireylerde tedaviye direnç gelişimi daha az saptandı. - TNF-α 238 GA genotipine sahip bireylerde, adalimumaba karşı sekonder direnç gelişimi daha yüksek oranda saptandı	- Primer direnç gelişimi ile ilişki saptanmadı - Uzun dönemde TNF-α 308 AA genotipine sahip bireylerde tedaviye direnç gelişimi daha az saptandı.	Hem primer hem de sekonder direnç gelişimi ile ilişki saptanmadı	Hem primer hem de sekonder direnç gelişimi ile ilişki saptanmadı
Vasilopoulos ve ark. (81)	Yunanistan (2012) ADA, IFN, ETA	80	TNF-α -857 C>T	24 hafta	Değerlendirilmemiştir	Değerlendirilmemiştir	- Etanercept kullananlarda TNF-α 857 C alleli tedaviye daha iyi yanıt ile ilişki saptandı - IFN ve ADA tedavilerine yanıt ile TNF-α 857 polimorfizmi arasında ilişki saptanmadı	Değerlendirilmemiştir
De Simone ve ark. (79)	İtalya (2015) ETA	87	TNF-α -238 G>A -308 G>A -857 C>T	12 hafta	TNF-α 238 GA genotipi ve TNF-α 238 A alleli tedaviye daha kötü yanıt ile ilişki saptandı.	TNF-α 308 GA genotipi ve TNF-α 308 A alleli tedaviye daha kötü yanıt ile ilişki saptandı.	TNF-α 857 genotipi ile tedavi yanıtı arasında ilişki saptanmadı TNF-α 857 T alleli tedaviye daha kötü yanıt ile ilişki saptandı.	Değerlendirilmemiştir
Gallo ve ark. (80)	İspanya (2013) ADA, IFN, ETA	109	TNF-α -238 G>A -308 G>A -1031 T>C -857 C>T	12 ve 24 hafta	- 3. Ayda tedavi yanıtı ile ilişki yok - 6. Ayda TNF-α 238 GG genotipi daha yüksek PASI75 oranları ile ilişki (bu ilişki bu ilişki ETA ve IFN ile bulundu)	3 ve 6. Aylarda TNF-α 308 gen polimorfizmi ile tedavi yanıtı arasında herhangi bir ilişki yok	- 3. Ayda tedavi yanıtı ile ilişki yok - 6. Ayda TNF-α 857 TT/CT genotipleri daha yüksek PASI75 oranları ile ilişki (bu ilişki ETA ile bulundu)	- 3 ve 6. aylarda TNF-α 1031 TT genotipi daha yüksek PASI75 oranları ile ilişki (bu ilişki IFN ile bulundu)

*Çalışmada aynı zamanda sekonder direnç gelişimi de değerlendirilmiştir. ADA: Adalimumab, IFN: İnfliksimab, ETA: Etanercept, TNF: Tümör nekrozis faktör. PCR-RFLP: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism

direnç ile birlikte uzun dönemdeki yanıt oranları yani sekonder direnç gelişimi de değerlendirilmiştir. Çalışmamızda hastaların 22'sinde (%14) bu ajanlardan en az birine karşı primer direnç saptandı, diğer bir deyişle PAŞİ50 yanıtı elde edilemedi. Primer direnç gelişimi ile TNF- α 238G>A, -308G>A, -857C>T, -1031T>C gen polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki bulunmadı. Buna karşılık; De Simone ve ark.'nın (79) etanercept ile tedavi edilen 97 hasta ile yaptıkları çalışmada, tedavi yanıtı 3. ayda değerlendirilmiş ve 59 hastada PAŞİ75 yanıtı elde edilirken, 38 hastada PAŞİ75 yanıtı elde edilememiştir. Yanıt elde edilen 59 hastanın 5'i (%8.5) TNF- α 238 GA genotipli iken, tedaviye yanıt vermeyen 38 hastanın 14'ü (%36.8) TNF- α 238 GA genotipine sahip bulunmuş ($p=0.001$) ve TNF- α 238 GA genotipini tedaviye daha az yanıt ile ilişkilendirmişlerdir. Tedaviye yanıt veren 59 hastanın 48'i (%81.4) TNF- α 308 GG, 9'u (%15.3) TNF- α 308 GA ve 2'si (%3.4) TNF- α 308 AA genotipli iken, tedaviye yanıt vermeyen 38 hastanın 22'si (%57.9) TNF- α 308 GG, 11'i (%28.9) TNF- α 308 GA, 5'i (%8.5) TNF- α 308 AA genotipine sahip bulunmuş ($p=0.03$) ve TNF- α 308 GA polimorfizmini tedaviye daha az yanıt ile ilişkilendirmişlerdir. TNF- α 857C>T polimorfizmi ile tedavi yanıtı arasında ise herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Tedavi yanıtı ile allel sıklıklarını karşılaştırdıklarında ise 238 A alleli, 308 A alleli ve 857 T alleli tedaviye yanıt vermeyen grupta istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur (p değerleri sırasıyla 0.002, 0.004, 0.05). Çalışmada aynı zamanda gen polimorfizmi ile yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi, biyolojik tedavi öncesi tedavi sayısı ile herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Psoriatik artrit, 238 GA genotipine sahip bireylerde daha yüksek oranda saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise gen polimorfizmi ile artrit varlığı arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır.

Gallo ve ark.'nın (80) adalimumab, etanercept ve infliksimab ile tedavi edilen 109 hastada yaptıkları çalışmada, tedavi yanıtı 3 ve 6. aylarda değerlendirilmiştir. 3. ayda TNF- α 238G>A, -308G>A ve -857C>T gen polimorfizmleri ile PAŞİ50, PAŞİ75 ve PAŞİ90 yanıtları arasında herhangi bir ilişki saptanmaz iken, 1031 TT genotipi, CT ve CC genotiplerine göre PAŞİ75 yanıtı elde edilen hastalarda daha yüksek oranda bulunmuştur (%90.8 vs

%75.7; $p=0.047$). 6. ayda PAŞİ50 yanıtı ile TNF- α gen polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır, TNF- α 238 GG, 857 CT-CC, 1031 TT genotipleri daha yüksek PAŞİ75 yanıtları ile ilişkili bulunmuştur ($p=0.049$, 0.006, 0.038). TNF- α 308G>A gen polimorfizmi hem 3. ayda hem de 6. ayda tedavi yanıtı ile ilişkili bulunmamıştır.

Vasiopoulos ve ark.'nın (81) etanercept, infliksimab ve adalimumab kullanılan 80 hastada yaptıkları bir çalışmada, tedavi yanıtı 6. ayda değerlendirilmiştir. Tedaviye yanıt veren 63 hastanın 41'i, tedaviye yanıt vermeyen 17 hastanın 6'sı homozigot TNF- α 857 CC genotipine sahip bulunmuş ($p=0.027$) ve TNF- α 857 CC genotipi tedaviye daha iyi yanıt ile ilişkilendirilmiştir. Fakat bu ilişki sadece etanercept tedavisinde gözlenirken, infliksimab ve adalimumab tedavilerine yanıt ile TNF- α 857C>T gen polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada etanerceptin daha çok soluble TNF- α 'ya bağlanması nedeniyle, yüksek TNF- α düzeyleri ile ilişkili olan TNF- α 857 C>T polimorfizminin etanercept tedavisine daha iyi yanıt ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca sadece ek hastalığı bulunan hastalarda analiz yaptıklarında ise gen polimorfizmi ile tedaviye cevap arasında herhangi bir ilişki saptamamışlar ve ek hastalık varlığında tedaviye cevabın değişebileceğini ve genetik markerların tek başına tedaviye cevabı belirlemede yetersiz olacağını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda psoriasis ile ilgili yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak anti-TNF ajan tedavisinin uzun dönemdeki yanıt oranları da değerlendirilmiştir. Sekonder direnç gelişimi de göz önünde bulundurulduğunda 157 hastanın 62'sinde (%39.5) herhangi bir ajana karşı direnç gelişimi saptanmazken, 95'inde (%60.5) en az bir ajana karşı primer ve/veya sekonder direnç saptandı. Herhangi bir anti-TNF ajana karşı bir veya birden fazla primer ve/veya sekonder direnç geliştiren hastalar ile Anti-TNF ajanlara karşı direnç gelişimi görülmeyen hastalar karşılaştırıldığında; direnç gelişimi ile TNF- α 857C>T ve 1031T>C gen polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki yoktu. TNF- α 238 AA ve TNF- α 308 AA genotipleri daha düşük direnç gelişimi oranları ile ilişkili bulundu (sırasıyla %16.7 vs %85.7 ve %60.3, $p=0.013$; %0 vs %63.0 ve %57.7, $p=0.43$). Ayrıca TNF- α 238 GA

genotipine sahip bireylerde, adalimumaba karşı sekonder direnç gelişimi daha yüksek oranda saptanmıştır (%69.2 vs %0 ve %40.7; $p=0.035$). Direnç gelişimi ile anti-TNF ajan ile tedavi süresi, hastalık başlangıç yaşı, beden kitle indeksi arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır.

Sonuç olarak; günümüze kadar yapılan çalışmalarda tedaviye yanıt ile tek nükleotid polimorfizmleri arasındaki ilişki ile ilgili sonuçlar çelişkilidir ve halen önemli bir tartışma konusudur. Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak, tek nükleotid polimorfizmlerinin tek başına anti-TNF kullanan olgularda primer direnç gelişimini öngörmeye prediktif değeri olmadığını desteklemektedir. Aynı zamanda çalışmamızda TNF- α 238 AA ve TNF- α 308 AA genotipleri daha az sekonder direnç gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Her ne kadar literatür verileri sekonder direnç gelişimi ile anti-ilaç antikor ilişkisini vurgulasa da, bulgularımız genotipin de sekonder direnç gelişimini belirlemede rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular prospektif ve geniş vaka serili çalışmalar ile desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Parisi R, Symmons DP, Griffiths CE Ashcroft DM. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. *J Invest Dermatol.* 2013;133(2):377-85.
2. Lowes MA, Suarez-Farinas M, Krueger JG. Immunology of psoriasis. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:227-55.
3. Gottlieb AB, Dann F. Comorbidities in patients with psoriasis. *Am J Med.* 2009;122(12):1150.e1-9.
4. Grozdev I, Korman N, Tsankov N. Psoriasis as a systemic disease. *Clin Dermatol.* 2014;32(3):343-50.
5. Rapp SR, Feldman SR, Exum ML, Fleischer AB Jr, Reboussin DM. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. *Am Acad Dermatol.* 1999;41(3 Pt 1):401-7.
6. James SM, Hill DE, Feldman SR. Costs of Common Psoriasis Medications, 2010-2014. *J Drugs Dermatol.* 2016;15(3):305-8.
7. Nast A, Boehncke WH, Mrowietz U et al. S3 - Guidelines on the treatment of psoriasis vulgaris (English version). Update. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2012;10 Suppl 2:S1-95.
8. Horiuchi T, Mitoman H, Harashima S, Tsukamoto H, Shimoda T. Transmembrane TNF-alfa: Structure, Function and Interaction with Anti-TNF Agents. *Rheumatology* 2010;49:1215-28.
9. Ettehadi P, Greaves MW, Wallach D, Aderka D, Camp RD. Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) biological activity in psoriatic skin lesions. *Clin Exp Immunol.* 1994;96(1):146-51.
10. Prieto-Perez R, Cabaleiro T, Dauden E, Abad-Santos F. Gene polymorphisms that can predict response to anti-TNF therapy in patients with psoriasis and related autoimmune diseases, *The Pharmacogenomics J* 2013;13(4):297-305.
11. Zhuang L, Ma W, Cai D, Zhong H, Sun Q. Associations between tumor necrosis factor- α polymorphisms and risk of psoriasis: a meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(12):e68827.
12. Gülekon A. Psoriasis ve benzeri dermatozlar. Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL (eds). *Dermatoloji.* 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2008: 745-56.
13. Christophers E, Mrowietz U. Psoriasis. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI (eds). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* 6th edition. New York, McGraw-Hill, 2003: 407-27.
14. Van de Kerkhof PCM, O Nestle F. Psoriasis. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP et al (eds). *Dermatology.* 3th edition. London. Elsevier. 2012: 135-57.
15. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC (eds): *Dermatology.* 2. Edition. Berlin: Springer- Verlag. 2000; 585-607.

16. Kundakcı N, Tursen Ü, Babiker MO, Gurgey E. The evaluation of the sociodemographic and clinical features of Turkish psoriasis patients. *Int J Dermatol* 2002; 41: 220-24.
17. Rahman P, Elder JT. Genetic epidemiology of psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64 Suppl 2:ii37-9.
18. Morris A, Rogers M, Fischer G, Williams K. Childhood psoriasis: a clinical review of 1262 cases. *Pediatr Dermatol*. 2001;18(3):188-98.
19. Duffy DL, Spelman LS, Martin NG. Psoriasis in Australian twins. 1993;29(3):428-34.
20. Lonnberg AS, Skov L, Skytthe A, Kyvik KO, Pedersen OB, Thomsen SF. Heritability of psoriasis in a large twin sample. *Br J Dermatol*. 2013;169(2):412-6.
21. Aterido A, Julia A, Ferrandiz C, et al. Genome-Wide Pathway Analysis Identifies Genetic Pathways Associated with Psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2016;136(3):593-602.
22. Mahil SK, Capon F, Barker JN. Genetics of psoriasis. *Dermatol Clin*. 2015;33(1):1-11.
23. Tsoi LC, Spain SL, Ellinghaus E, et al. Enhanced meta-analysis and replication studies identify five new psoriasis susceptibility loci. *Nat Commun*. 2015;6:7001.
24. Tsoi LC, Spain SL, Knight J, et al. Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet*. 2012;44(12):1341-48.
25. Zuo X, Sun L, Yin X, et al. Whole-exome SNP array identifies 15 new susceptibility loci for psoriasis. *Nat Commun*. 2015;6:6793.
26. Yin X, Low HQ, Wang L, et al. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel associations and ethnic heterogeneity of psoriasis susceptibility. *Nat Commun*. 2015;6:6916.
27. Prieto-Perez R, Cabaleiro T, Dauden E, Ochoa D, Roman M, Abad-Santos F. Genetics of psoriasis and pharmacogenetics of biological drugs. *Autoimmune Dis*. 2013;2013:613086.
28. Capon F, Munro M, Barker J, Trembath R. Searching for the major histocompatibility complex psoriasis susceptibility gene. *J Invest Dermatol*. 2002;118(5):745-51.
29. Fan X, Yang S, Huang W, et al. Fine mapping of the psoriasis susceptibility locus PSORS1 supports HLA-C as the susceptibility gene in the Han Chinese population. *PLoS Genet*. 2008;4(3):e1000038.
30. Tiala I, Wakkinen J, Suomela S, et al. The PSORS1 locus gene CCHCR1 affects keratinocyte proliferation in transgenic mice. *Hum Mol Genet*. 2008;17(7):1043-51.
31. Nair RP, Stuart PE, Nistor I, et al. Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet*. 2006 May;78(5):827-51.
32. Nair RP, Duffin KC, Helms C, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet*. 2009;41(2):199-204.

33. Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet.* 2007;80(2):273-90.
34. Zhang XJ, Huang W, Yang S, et al. Psoriasis genome-wide association study identifies susceptibility variants within LCE gene cluster at 1q21. *Nat Genet.* 2009;41(2):205-10.
35. Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. The ubiquitin-editing enzyme A20 (TNFAIP3) is a central regulator of immunopathology. *Trends Immunol.* 2009;30(8):383-91.
36. Jordan CT, Cao L, Roberson ED, et al. PSORS2 is due to mutations in CARD14. *Am J Hum Genet.* 2012;90(5):784-95.
37. Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature.* 2007;449(7162):564-9.
38. Mackern-Oberti JP, Llanos C, Vega F, et al. Role of dendritic cells in the initiation, progress and modulation of systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2015;14(2):127-39.
39. Mahil SK, Capon F, Barker JN. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. *Semin Immunopathol.* 2016;38(1):11-27.
40. Lowes MA, Russell CB, Martin DA, Towne JE, Krueger JG. The IL-23/T17 pathogenic axis in psoriasis is amplified by keratinocyte responses. *Trends Immunol.* 2013;34(4):174-81.
41. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, et al. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. *J Exp Med.* 1993;177(4):1199-204.
42. Chiricozzi A, Guttman-Yassky E, Suarez-Farinas M, et al. Integrative responses to IL-17 and TNF- α in human keratinocytes account for key inflammatory pathogenic circuits in psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2011;131(3):677-87.
43. Gaspari AA. Innate and adaptive immunity and the pathophysiology of psoriasis. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(3 Suppl 2):S67-80.
44. Johnson-Huang LM, Suarez-Farinas M, Pierson KC, et al. A single intradermal injection of IFN- γ induces an inflammatory state in both non-lesional psoriatic and healthy skin. *J Invest Dermatol.* 2012;132(4):1177-87.
45. Harden JL, Johnson-Huang LM, Chamian MF, et al. Humanized anti-IFN- γ (HuZAF) in the treatment of psoriasis. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(2):553-6.
46. Baggiolini M, Clark-Lewis I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett.* 1992;307(1):97-101.
47. Grine L, Dejager L, Libert C, Vandenbroucke RE. An inflammatory triangle in psoriasis: TNF, type I IFNs and IL-17. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26(1):25-33.
48. Michalak-Stoma A, Pietrzak A, Szepietowski JC, Zalewska-Janowska A, Paszkowski T, Chodorowska G. Cytokine network in psoriasis revisited. *Eur Cytokine Netw.* 2011;22(4):160-8.

49. Brotas AM, Cunha JM, Lago EH, Machado CC, Carneiro SC. Tumor necrosis factor-alpha and the cytokine network in psoriasis. *An Bras Dermatol.* 2012;87(5):673-81.
50. Banno T, Gazel A, Blumenberg M. Effects of tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) in epidermal keratinocytes revealed using global transcriptional profiling. *J Biol Chem.* 2004;279(31):32633-42.
51. Naldi L, Gambini D. The clinical spectrum of psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007;25(6):510-8.
52. Prystowsky JH, Cohen PR. Pustular and erythrodermic psoriasis. *Dermatol Clin.* 1995;13(4):757-70.
53. Şanlı H. Tırnak psoriyazisi ve tedavisi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2005;3;39-45.
54. Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee PH (eds). *McKee's Pathology of The Skin.* 4th Edition. London. Elsevier. 2012; 201-11.
55. Ni C, Chiu MW. Psoriasis and comorbidities: links and risks. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2014;7:119-32.
56. Akyol M, Alper S, Atakan N, et al. Türkiye Psoriasis Tedavi Kilavuzu-2016. *Turkderm.* 2016;50:2.
57. Sivamani RK, Goodarzi H, Garcia MS, et al. Biologic therapies in the treatment of psoriasis: a comprehensive evidence-based basic science and clinical review and a practical guide to tuberculosis monitoring. *Clinical reviews in allergy & immunology.* 2013;44(2):121-40.
58. Kothary N, Diak IL, Brinker A, Bezabeh S, Avigan M, Dal Pan G. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with efalizumab use in psoriasis patients. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(3):546-51.
59. Zweegers J, Otero ME, van den Reek JM, et al. Effectiveness of Biologic and Conventional Systemic Therapies in Adults with Chronic Plaque Psoriasis in Daily Practice: A Systematic Review. *Acta Derm Venereol.* 2016;96(4):453-8.
60. Karczewski J, Poniedzialek B, Rzymiski P, Adamski Z. Factors affecting response to biologic treatment in psoriasis. *Dermatol Ther.* 2014;27(6):323-30.
61. Sariban E, Imamura K, Luebbers R, Kufe D. Transcriptional and posttranscriptional regulation of tumor necrosis factor gene expression in human monocytes. *J Clin Invest.* 1988;81(5):1506-10.
62. Goldfeld AE, Doyle C, Maniatis T. Human tumor necrosis factor alpha gene regulation by virus and lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(24):9769-73.
63. Smith AJ, Humphries SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009;20(1):43-59.
64. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun.* 1999;1(1):3-19.
65. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter

- on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(7):3195-9.
66. Karam RA, Zidan HE, Khater MH. Polymorphisms in the TNF-alpha and IL-10 gene promoters and risk of psoriasis and correlation with disease severity. *Cytokine*. 2014;66(2):101-5.
 67. Kaluza W, Reuss E, Grossmann S, et al. Different transcriptional activity and in vitro TNF-alpha production in psoriasis patients carrying the TNF-alpha 238A promoter polymorphism. *J Invest Dermatol*. 2000;114(6):1180-3.
 68. Reich K, Mössner R, König IR, Westphal G, Ziegler A, Neumann C. Promoter polymorphisms of the genes encoding tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta are associated with different subtypes of psoriasis characterized by early and late disease onset. *J Invest Dermatol*. 2002;118(1):155-63.
 69. van Heel DA, Udalova IA, De Silva AP, et al. Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF(-kappa)B transcription factors. *Hum Mol Genet*. 2002;11(11):1281-9.
 70. El-Tahan RR, Ghoneim AM, El-Mashad N. TNF-alpha gene polymorphisms and expression. *SpringerPlus*. 2016;5(1):1508.
 71. Gallo E, Cabaleiro T, Roman M, Abad-Santos F, Dauden E. Study of genetic polymorphisms in the tumor necrosis factor alpha promoter region in Spanish patients with psoriasis. *Actas Dermosifiliogr*. 2012;103(4):301-7.
 72. Li C, Wang G, Gao Y, Liu L, Gao T. TNF-alpha gene promoter -238G>A and -308G>A polymorphisms alter risk of psoriasis vulgaris: a meta-analysis. *J Invest Dermatol*. 2007;127(8):1886-92.
 73. Zhu J, Qu H, Chen X, Wang H, Li J. Single nucleotide polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter region alter the risk of psoriasis vulgaris and psoriatic arthritis: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(5):e64376
 74. Baran W, Szepietowski JC, Mazur G, Baran E. A -308 promoter polymorphism of tumor necrosis factor alpha gene does not associate with the susceptibility to psoriasis vulgaris. No difference either between psoriasis type I and type II patients. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2006;15(3):113-8.
 75. Tsunemi Y, Sekiya T, Saeki H, et al. Lack of association of CCR4 single nucleotide polymorphism with atopic dermatitis in Japanese patients. *Acta Derm Venereol*. 2004;84(3):187-90.
 76. Rahman P, Siannis F, Butt C, et al. TNF alpha polymorphisms and risk of psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(7):919-23.
 77. Magalhaes RF, Biral AC, Pancoto JA, et al. Human leukocyte antigen (HLA) and single nucleotide polymorphisms (SNPs) tumor necrosis factor (TNF)-alpha -238 and -308 as genetic markers of susceptibility to psoriasis and severity of the disease in a long-term follow-up Brazilian study. *Int J Dermatol*. 2010;49(10):1133-40.
 78. O'Rielly DD, Roslin NM, Beyene J, Pope A, Rahman P. TNF-alpha-308 G/A polymorphism and responsiveness to TNF-alpha blockade

- therapy in moderate to severe rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenomics J*. 2009;9(3):161-7.
79. De Simone C, Farina M, Maiorino A, et al. TNF-alpha gene polymorphisms can help to predict response to etanercept in psoriatic patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(9):1786-90.
 80. Gallo E, Cabaleiro T, Roman M, et al. The relationship between tumour necrosis factor (TNF)-alpha promoter and IL12B/IL-23R genes polymorphisms and the efficacy of anti-TNF-alpha therapy in psoriasis: a case-control study. *Br J Dermatol*. 2013;169(4):819-29.
 81. Vasilopoulos Y, Manolika M, Zafiriou E, et al. Pharmacogenetic analysis of TNF, TNFRSF1A, and TNFRSF1B gene polymorphisms and prediction of response to anti-TNF therapy in psoriasis patients in the Greek population. *Mol Diagn Ther*. 2012;16(1):29-34.
 82. Mrowietz U, Kragballe K, Reich K, et al. Definition of treatment goals for moderate to severe psoriasis: a European consensus. *Arch Dermatol Res*. 2011;303(1):1-10.
 83. de la Brassinne M, Ghislain PD, Lambert JL, Lambert J, Segaert S, Willaert F. Recommendations for managing a suboptimal response to biologics for moderate-to-severe psoriasis: A Belgian perspective. *J Dermatolog Treat*. 2016;27(2):128-33.
 84. Sghaier I, Zidi S, Mouelhi L, et al. The relationship between TNF alpha gene polymorphisms (-238/-308), TNF RII VNTR (p75) and outcomes of hepatitis B virus infection in Tunisian population. *Gene*. 2015;568(2):140-5.
 85. Seitzer U, Swider C, Stüber F, et al. Tumour necrosis factor alpha promoter gene polymorphism in sarcoidosis. *Cytokine*. 1997;9(10):787-90.
 86. Akman A, Sallakci N, Coskun M, et al. TNF-alpha gene 1031 T/C polymorphism in Turkish patients with Behcet's disease. *Br J Dermatol*. 2006;155(2):350-6.
 87. Anoosheh S, Farnia P, Kargar M. Association between TNF-Alpha (-857) Gene Polymorphism and Susceptibility to Tuberculosis. *Iran Red Crescent Med J*. 2011;13(4):243-8.
 88. Hsieh MH, Chong IW, Hwang JJ, et al. Lack of associations between several polymorphisms in cytokine genes and the risk of chronic obstructive pulmonary diseases in Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci*. 2008;24(3):126-37.
 89. Lynch M, Kirby B, Warren RB. Treating moderate to severe psoriasis - best use of biologics. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014;10(2):269-79.
 90. Leman J, Burden AD. Sequential use of biologics in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis. *Br J Dermatol*. 2012;167 Suppl 3:12-20.
 91. Seitz M, Wirthmuller U, Moller B, Villiger PM. The -308 tumour necrosis factor-alpha gene polymorphism predicts therapeutic response to TNFalpha-blockers in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2007;46(1):93-6.

92. Pavy S, Toonen EJ, Miceli-Richard C, et al. Tumour necrosis factor alpha -308G->A polymorphism is not associated with response to TNFalpha blockers in Caucasian patients with rheumatoid arthritis: systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(6):1022-8.
93. Murdaca G, Gulli R, Spano F, et al. TNF-alpha gene polymorphisms: association with disease susceptibility and response to anti-TNF-alpha treatment in psoriatic arthritis. *J Invest Dermatol.* 2014;134(10):2503-9.



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bana büyük emeği geçen, daima yakın desteğini gördüğüm sayın hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Kenan AYDOĞAN'a; bilgi ve tecrübelerinden daima faydalandığım ve eğitimim boyunca bana her zaman destek olan sayın hocam Anabilim Dalı Başkanımız, Prof. Dr. Emel Bülbül BAŐKAN'a; mesleki eğitimimde büyük katkıları bulunan ve tecrübelerini her zaman bizimle paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Hayriye SARICAOĞLU'na; çalışmalarımnda ve eğitimimde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Dr. Serkan YAZICI'ya; birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tüm Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına; tezimin her aşamasında ilgilerini esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ğretim yesi Yrd. Doç. Dr. Őebnem zemri SAĞ'a ve değerli asistan arkadaşım Dr. Lamiya ALIYEVA'ya; beni yetiştirip bugünlere getiren, bana inanan ve desteklerini hep arkamda hissettiğim sevgili aileme ve mesleki gelişimime katkıda bulunan tüm hastalarımna en içten teŐekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

14.04.1988'de Çanakkale'de doğdum. İlkokul ve orta öğrenimi Diyarbakırlı Ekrem Ergün İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi Çanakkale Fen Lisesi'nde tamamladım. 2006 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde eğitim görmeye hak kazandım. Temmuz 2012'de Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Kasım 2012'de Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı bölümde uzmanlık eğitimime devam etmekteyim.

