

2004-417

52138



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu
Health Sciences Research Committee

TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

PSORİAZİS VE VİTAMİN D RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARALARINDAKİ MUHTEMEL
İLİŞKİLERİN ARAŞTIRILMASI

PROJE NO: SBAG-2571

(1025048)

Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu
Health Sciences Research Committee

PSORİAZİS VE VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARALARINDAKİ MUHTEMEL İLİŞKİLERİN
ARAŞTIRILMASI

PROJE NO: SBAG-2571

Yrd Doç Dr İbrahim Açıkbaz
Yrd Doç Dr Berna Şanlı Erdoğan
Yrd Doç Dr Şeniz Ergin
Doç Dr Şebnem Aktan
Prof Dr Hüseyin Bağcı

OCAK 2004
DENİZLİ

Önsöz

Bu projede, Vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin Psoriasis olgularında kullanılan Vitamin D tedavisine hastalar tarafından verilen farklı tedavi yanıtlarının nedeni olup olmadıkları araştırılmıştır. Projenin sunulduğu dönemde literatürdeki açık bu planlamanın kaynağını oluşturmuştur.

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD ve PAMGEN de yürütülmüş olan bu proje TÜBİTAK tarafından SBAG-2571 kodu ile desteklenmiştir.

İçindekiler

Tablo ve Şekil Listesi.....	i
Öz.....	ii
Abstract.....	iii
Giriş.....	1
Genel Bilgi.....	2
Gereç ve Yöntem.....	4
Olgular.....	4
Tedavi.....	4
DNA Eldesi.....	4
PZR.....	5
RFLP.....	6
Elektroforez.....	7
İstatistik Analiz.....	7
Bulgular.....	8
Klinik Tip.....	8
Tedaviye Yanıt.....	11
VDR Polimorfizmi.....	12
Tartışma.....	22
Kaynaklar.....	25
Ek1 Olgularda saptanan VDR Polimorfizmleri.....	28
Ek2 Kontrollerde saptanan VDR Polimorfizmleri.....	29
Ek 3 VDR Gen Bigisi.....	30
Ek 4 VDR Geni Kromozomal Yerleşimi.....	31
Ek 5 VDR Amino Asit Sekansı.....	32
Ek 6 VDR Geni mRNA Sekansı.....	33

Tablo ve Şekil Listesi

Tablo 1 Olgu grubunun ve cinsiyete göre olguların yaş ortalamaları	8
Tablo 2 Olguların psoriasis başlama yaşına göre dağılımı	8
Tablo 3 Olguların psoriasis başlama yaşı ortalamaları	8
Tablo 4 Olguların psoriasis klinik tiplerine göre dağılımı	9
Tablo 5 Psoriasis hastalarında görülen tırnak tutulumu, artralji ve artrit dağılımı	9
Tablo 6 Farklı Klinik tiplerde görülen tırnak tutulumu, artralji, artrit ve aile öyküsü olanlar	9
Tablo 7 Psoriasis klinik tiplerinin başlama yaşına göre dağılımı	10
Tablo 8 Psoriasis farklı klinik tipleri ile Calcipotriol tedavisine yanıt	11
Tablo 9 Cinsiyet ve tedaviye yanıt dağılımı	11
Tablo 10 Psoriasis başlama yaşı ve tedaviye yanıt arasındaki dağılım	11
Tablo 11 Olgu ve kontrol gruplarına ait allel frekansları	15
Tablo 12 Olgu ve kontrol gruplarına ait genotip frekansları	16
Tablo 13 Psoriasis farklı klinik tiplerinde görülen genotip yüzdeleri	16
Tablo 14 Tip I ve Tip II Psoriasis genotip frekanslarının dağılımı	16
Tablo 15 Tedaviye alınan yanıtta VDR genotiplerinin dağılımı	17
Tablo 16 Çalışmada görülen tüm haplotipler	17
Tablo 17 Olgu ve kontrollerde görülen haplotiplerin dağılımı	18
Tablo 18 Olgu ve kontrollerde görülen haplotiplerin cinsiyete göre dağılımı	19
Tablo 19 Olgu haplotiplerinin Vitamin D tedavisine verdikleri yanıtta göre dağılımı	20
Tablo 20 Olgu haplotiplerinin ailesindeki psoriasis öyküsüne göre dağılımı	21
Tablo 21 Literatürde psoriasis için yayınlanmış VDR polimorfizmleri	24
Tablo 22 Türkiyede yapılan çalışmalarda saptanan VDR polimorfizmleri	24
Şekil 1 Fok I kesim örneği	12
Şekil 2 Bsm I kesim örneği	12
Şekil 3 Apa I Kesim örneği	13
Şekil 4 Çalışmada saptanan yeni Taq I RFLP paterninin elektroforetik ayırılma şeması	14
Şekil 5 Taq I Kesim örneği	14
Şekil 6 Taq I kesim bölgelerini şematik yerleşimi	15

Öz

Psoriasis, epidermal proliferasyonda artma ve diferansiasyonda bozulma ile karakterize erezimli, skuamlı bir hastalıktır. Kültüre insan keratinositlerinde Kalsitriolün ($1,25(OH)_2D_3$) hücre içi kalsiyum miktarını artırarak proliferasyonu inhibe ettiği ve terminal diferansiyasyonu induklediği bildirilmektedir. Vitamin D (VitD) türevlerinin hem topikal, hem de oral kullanımlarının psoriasis tedavisinde güvenli ve etkili olduğu saptanmıştır. Ancak bazı hastaların vitamin D tedavisine dirençli oldukları gözlenmiştir. Vitamin D reseptörü (VDR) 50-60 KD'luk bir polipeptiddir ve hücre içi lokalizasyona sahip vitamin D'nin hedef reseptörüdür. VDR genindeki polimorfizmlerin, keratinositlerin $1,25(OH)_2D_3$ 'ün normal fizyolojik yanıtını etkilediği ve tedaviye yanıtındaki değişkenliği açıklayabileceği ileri sürülmektedir.

Yüz iki psoriasis olgusu ve 102 sağlıklı kontrol bireyden toplanan, venöz kan örneklerinden, tuzla çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu yapılmıştır. *Apa I* ve *Taq I* polimorfizm bölgeleri aynı primer çifti ile tek bir tüp içerisinde, *Bsm I* ve *Fok I* polimorfizmleri ise farklı primer çiftleri kullanılarak farklı tüpler içerisinde çoğaltılmıştır. PCR sonrası her bir örnek uygun restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve sonuçlar agaroz jel elektroforezinde değerlendirilmiştir.

Psoriasis hastalarının demografik verileri, klinik parametreleri, vitamin D tedavisine yanıtları ile VDR genotipleri arasında herhangi bir ilişki bulunmadı. Bununla birlikte VDR geni Aa ve bb genotiplerinin erken başlama yaşı ile ilişkili olduğu saptandı. Ayrıca FfBbAa haplotipinin psoriasis hastalarında sağlıklı bireylere göre daha yüksek sıklıkta bulunduğu tespit edildi. *Taq I* polimorfizmi için hem psoriasis olgularında hem de sağlıklı bireylerde çalışmanın yapıldığı yoredeki popülasyona özgül olduğu düşünülen yeni bir RFLP paterni saptandı.

Sonuç olarak VDR geni polimorfizmlerinin psoriasis hastalarında vitamin D tedavisine yanıtta bir gösterge olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, FfBbAa haplotipinin psoriasis için bir risk faktörü olarak kabul edilebileceği ve Aa ve bb polimorfizmlerinin başlama yaşı ve psoriasis ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Abstract

Psoriasis is dermatological disease characterized by erythema and increased squamous cell proliferation and impaired differentiation. Calcitriol (1,25(OH)₂D₃) inhibits keratinocyte proliferation and induce terminal differentiation in vitro cell culture. The therapeutic effect of Vitamin D is suggested that regulate impaired intraepithelial calcium homeostasis. Oral and topical vitamin D and it's analogues successfully used for psoriasis therapy. However, cause of some psoriasis patients are resistant to Vitamin D therapy is unclear. Vitamin D mediate it's activity by vitamin D receptor (VDR) which is an intracellular polypeptid, 50-60Kd, receptor. It's suggested that polymorphisms in VDR gene can explain the differences in vitamin D therapy.

There are two important polymorphic region in the VDR locus: first, *FokI* site in exon2, second a cluster of polymorphisms, *BsmI* in intron8, *Apal* in intron8, and *TaqI* in exon9 sites. Role of the VDR gene polymorphisms is investigated in a lot of human disease such as osteoporosis, oostearthritis, parathyroidosis, and certain malignancies. However, there are conflicting results about polymorphisms and vitamin D therapy and diseases. This indefinite situation make difficult to clearance the role of VDR gene polymorphisms in vitamin D therapy. In this study planed to search all polymorphisms in proper for powerful statistical examination. The four VDR gene polymorphisms is determined by PCR-RFLP in 102 psoriasis patients and 102 control subjects and are correlated with all clinical parameters of patients.

There was no any significance between clinical parameters of the psoriasis patients each other, vitamin D therapy and VDR polimorphisms. However, Aa and bb genotypes were significantly higher in early onset than late onset patients. The haplotype "FfBbAa" was significantly higher in psoriasis patients than healty controls. Additionally, a new *Taq I* RFLP was detected in both psoriasis and control group, it's suggested that the new SNP is specific to population under study.

In conclusion, Our results is indicated that VDR gene polymorphisms is not affect the response to vitamin D therpy in psoriasis patients. However, "FfBbAa" haplotype and Aa and bb polymorphisms is associated of psoriasis and early onset of the disease, respectively.

1. Giriş

Psoriasis yaygın görülen, keratinosit proliferasyonunda artma ve daha çok aktive T hücreleri olmak üzere lökosit infiltrasyonu ile karakterize hiperproliferatif bir deri hastalığıdır (1). Hastalığın etyopatogenezi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik bir zeminde travma, ultraviyole, psikolojik stres, infeksiyonlar, bazı ilaçlar gibi çeşitli ekzojen ve endojen tetikleyici ajanların etkisiyle ortaya çıktığı bildirilmektedir. Psoriasis toplumun % 1-5'ini etkilemektedir. Hastalığın 40 yaş altında başlayan erken başlangıçlı tipinde (Tip I), 40 yaş üstünde başlayan geç başlangıçlı tipine göre (Tip II) HLA birlikteliği daha fazladır ve hastalığın ailesel görülme riski artmaktadır. Tip I psoriasisde HLA-B13, -Cw6, -B57, -DR7, Tip II psoriasisde ise HLA-A2, -B27, -Cw2 sıklığı artmıştır (1-6).

Klinikte eritemli, gümüş rengi, skuamli ve keskin sınırlı plaklar tipiktir. Lezyonlar kronik plak, guttat, folliküler, nummuler, püstüler veya eritrodermik paternde olabilir. Klasik olarak dizler, dirsekler, tırnakların tutulduğu hastalıkta saçlı deri, büküm yerleri, perianal bölge, penis, palmar ve plantar bölgeler de tutulabilmektedir. Mukozal tutulum oldukça nadirdir. Hastalarda çoğu zaman klinik görünümü kesin tanı için yeterli olmakla birlikte bazı durumlarda histopatolojik inceleme gerekebilmektedir (1,7,8).

Vitamin D in vitro olarak terminal diferansiasyonu indüklemekte, proliferasyonu inhibe etmektedir. Hem topikal, hem de oral vitamin D türevlerinin psoriasis tedavisinde etkili ve güvenilir olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte klinik deneyimler bazı hastaların vitamin D tedavisine dirençli olduğunu göstermektedir (9).

2. Genel Bilgiler

Psoriasis, epidermal proliferasyonda artma ve diferansiasyonda bozulma ile karakterize eritemli, skuamli bir hastalıktır. Kültüre insan keratinositlerinde Kalsitriol'ün ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) hücre içi kalsiyum miktarını arttırarak proliferasyonu inhibe ettiği ve terminal diferansiasyonu indüklediği bildirilmektedir. Vitamin D (VitD) türevlerinin hem topikal, hem de oral kullanımlarının psoriasis tedavisinde güvenli ve etkili olduğu saptanmıştır. Psoriaziste intraepidermal kalsiyum homeostazının bozulduğu ve kalsitriolün bunu düzenlediği düşünülmektedir. Ancak bazı hastaların vitamin D tedavisine dirençli olduğu da gösterilmiştir. Bazı hastalar vitamin D tedavisine yanıt verirken bazılarının dirençli olmasının nedenleri halen tartışılmaktadır. VitaminD reseptörü (VDR) genindeki polimorfizmlerinin, keratinositlerin $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aracılığıyla ortaya çıkan normal fizyolojik yanıtı etkilediği ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ve onun analoglarıyla tedaviye yanıtındaki değişkenliği açıklayabileceği ileri sürülmektedir, ancak tersi görüşler de mevcuttur (1, 7, 8, 10, 11). VDR 50-60 KD'luk polipeptid bir hücre içi reseptördür, ligandı ise Vitamin D'nin aktif formu olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'tür. Steroid ve tiroid hormon reseptörlerinin de dahil olduğu "transacting" transkripsiyonel düzenleyici faktörler süper ailesinin bir üyesidir. VDR VitD ile bağlandıktan sonra konformasyonel değişikliğe uğramakta DNA'da VitD response elemente bağlanmakta ve diğer transkripsiyon kontrol elemanları ile ilişki halinde hedef genin transkripsiyonunu kontrol etmektedir. VDR geni kromozomal olarak 12q12-q14 te bulunmaktadır ve 11 exondan oluşmaktadır. Gen içinde iki önemli polimorfik bölge bulunmaktadır. Birinci bölge ekzon2'deki *Fok I*, ikinci bölge ise intron8/ekzon9'daki *Apal*, *Taq I* ve *Bsm I* polimorfizmleridir. VitD temel olarak keratinositlerin çoğalma ve farklılaşmasında rol almakta ve hiperproliferasyonla karakterize psoriasis gibi bazı dermatolojik patolojilerde tedavi amacıyla kullanılmaktadır. VitD ayrıca Ca metabolizmasında da rol almaktadır. Buradan hareketle osteolojik patolojiler (osteoporoz ve menopoza bağlı osteoporoz, osteoartrit, paratiroidozlar gibi) ve VDR polimorfizmlerinin ilişkilerini araştıran birçok araştırma bulunmaktadır (12, 13). Bunların yanı sıra VitD'nin hücre çoğalmasına olan etkisiyle ilişkili olarak çeşitli kanser türlerinde de (prostat, mesane, meme, malign melanom) VDR polimorfizmleri araştırılmaya başlanmıştır (14-16). Bu çalışmalar her toplum için farklı gruplar tarafından yürütülmektedir. Taiwan popülasyonunda Tip1 diabet ile yapılan bir çalışmada *Bsm I* ve *Apal* polimorfizmleri ilişkili bulunurken, Fransa'da Tip 2 diabet ve *Taq I* polimorfizmi arasında ilişki saptanmamış, bununla birlikte erken yaşta başlayan tip2 diabette risk faktörü olduğuna dair bulgular elde edilmiştir (17). Osteoporoz, kemik yoğunluğu ve metabolizması ile yapılan çalışmalarda ise *Bsm I* polimorfizmi anlamlı sonuçlar vermektedir (12). Renal kalsiyum taşı oluşumu için *Fok I* polimorfizminin iyi bir genetik marker olabileceği yönünde yayınlar bulunmaktadır (18). Bening prostat hipertrofisi ve prostat kanserinden korunmada *Bsm I* polimorfizminin önemli bir rol oynayabileceği, malign melanomda ise *Fok I* polimorfizminin büyük bir risk faktörü olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (14, 19).

1996'da Holick 48 psoriasis olgusunda yaptığı çalışmada *Bsm I* ile sıkı bir ilişki olduğunu bildirmiştir (20). 1997 yılında Kontula 19 (Finli) psoriasis olgusunda, 1998'de Mee 92 psoriasis olgusunda yalnızca *Bsm I* polimorfizmi araştırmış ve ilişki saptamadıklarını bildirmiştir (1, 8). 1999 yılında Park 104 (Koreli) olguda *Apal*, *Taq I* ve *Bsm I* polimorfizmlerini araştırılmış, *Apal* polimorfizmi ile ilişkili bulgular

yayınlanmıştır (7). Son olarak 2002 yılında Lee (Koreli) 55 olguda bir vitD türevi olan kalsipotriol tedavisine yanıt ile *Bsm1* ve *Apal* polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmış ve *Apal* polimorfizmi ile psoriaze yatkınlık olabileceğine dair bulgular elde etmiştir (10). Ayrıca 2002 yılında Kayal'nın 53 Türk psoriasis hastasında (Akdeniz Bölgesi) yaptığı çalışmada *Apal* polimorfizminin psoriasis ile ilişkili olduğunu bulmuştur (11).

Planlanan çalışmanın bugün itibariyle psoriasisde yurtiçinde ilk, yurtdışında ise sayılı birkaç araştırmadan birisinin olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada, 102 psoriasis olgusunda ve 102 sağlıklı kontrolde VDR geninde çalışılan mevcut tüm 4 polimorfizm bir arada araştırılmıştır. Literatürde bu polimorfizmler tek tek yada farklı kombinasyonlar halinde , çeşitli patolojilerde araştırılmış ve her birisi için farklı sonuçlar elde edilmiştir. Psoriasis olgularında VDR polimorfizlerinin araştırılması ve bunların psoriasisin başlangıç yaşı, klinik tipi, şiddeti, aile öyküsü, tırnak tutulumu, psoriatik artropati ve vitamin D tedavisine yanıtındaki ilişkisi gibi oldukça kapsamlı parametreler kullanılarak değerlendirilmiştir.

3. Gereç ve Yöntem

3.1 Olgular:

Çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvuran , klinik olarak psoriasis tanısı alan 47 kadın, 55 erkek toplam 102 olgu dahil edildi.

Kontrol grubu olarak dermatoloji polikliniğine başvuran ve psoriasis olmayan 50 kadın, 52 erkek, toplam 102 birey kullanıldı.

Çalışmaya katılan tüm bireylerden yazılı gönüllü olur formu alındı.

3.2 Tedavi

Olgu grubunda 50 bireye (23 kadın, 27 erkek) günde 2 kez 6 hafta calcipotriol pomad ve/veya saç losyonu (Psorcutan[®] pomad ve Psorcutan[®] saç losyonu) tedavileri uygulandı.

Hastalık şiddeti tedavi öncesinde ve tedavinin 4 ve 6 haftalarında PAŞI ile değerlendirildi. Hastaların tedaviye yanıtları PAŞI skorunda artış (0), %50'den az iyileşme (1), %50'den fazla iyileşme (2) ve tam iyileşme (3) olarak gruplandı. Ayrıca 0 ve 1 olarak gruplananlar "tedaviye yanıt yok", 2 ve 3 olarak gruplananlar "tedaviye yanıt var" olarak yeniden gruplandırıldı. Yine hastaların yüzde iyileşme oranları da hesaplandı. Tüm hastaların ilk muayenelerinde hastalığın başlangıç yaşı, ailede psoriasis öyküsü, tırnak tutulumu ve psoriasis tipi kaydedildi. Ayrıca hastalar hastalığın başlama yaşına göre tip I (40 yaş altı) ve tip II (40 yaş üstü) psoriasis olarak gruplandırıldı.

3.3 DNA Eldesi

K3 EDTA'lı tüplere venöz kan örnekleri toplandı. DNA izolasyonu için modifiye edilmiş tuzla çöktürme yöntemi kullanıldı (21).

3.3.1 Çözeltiler

Eritrosit parçalama çözeltisi

8.3 g NH_4Cl_2
1g KHCO_3
2 ml 0.5M EDTA pH8
1 L distile su

Lökosit parçalama çözeltisi

400 mM NaCl
10 mM Tris
2 mM EDTA

3.3.2 Yöntem

- 1) 5 ml venoz kan EDTA'lı tüplere alındı
- 2) Kan örnekleri DNA eldesi için 50 ml'lik plastik kapaklı tüplere aktarıldı, üzerine 20 ml soğuk eritrosit parçalayıcı çözelti konuldu ve 10 dakika 4°C'de bekletildi.
- 3) Süre sonunda 1500 rpm'de 10 dakika, 4°C'de santrifüj edildi, dökelti atıldı.
- 4) Çökeltinin üzerine 10 ml eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek homojenize edildi ve 10 dakika 4°C'de bekletildi.
- 5) Süre sonunda 1500 rpm'de 10 dakika, 4°C'de santrifüj edildi, dökelti atıldı.
- 6) Çökeltinin üzerine 5 ml eritrosit parçalayıcı çözelti eklenerek homojenize edildi ve 10 dakika 4°C'de bekletildi.
- 7) Süre sonunda 1500 rpm'de 10 dakika, 4°C'de santrifüj edildi, dökelti atıldı.
- 8) Çökeltinin üzerine 10 ml lökosit parçalama çözeltisi eklenerek homojenize edildi, son derişimi 0.1mg/ml olacak şekilde proteinaz K (Appllichem) ve %02 olacak şekilde sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma) konulduktan sonra karıştırdı.
- 9) Bu karışım 16 saat 37°C'de bekletildi.
- 10) Süre sonunda karışımın üzerine 2.5 ml 10 M amonyum asetat solüsyonu eklenerek kuvvetli şekilde karıştırdı ve 5000rpm'de 20 dakika 25°C'de santrifüj edildi.
- 11) Dökelti yeni bir tüpe alındı, üzerine 2 katı hacimde isopropanol konuldu, yavaşça karıştırılarak DNA çöktürüldü.
- 12) Çöktürülen DNA distile suda çözüldü.

3.4 DNA'nın Miktar ve Saffık Tayini (22)

DNA'ların miktarları ve saflıkları spektrofotometrik olarak hesaplandı. Bunun için DNA distile su ile 1/10 oranında seyreltilerek sırasıyla 260 ve 280 nm'deki absorbans değerleri Ependorf Biophotometre cihazında dsDNA modu kullanılarak ölçüldü.

3.5 DNA Çoğaltılması (Polymerase chain reaction:PCR)

VDR Geni ekson II'de bulunan *Fok I* polimorfizminin bulunduğu bölge aşağıdaki primer çifti kullanılarak çoğaltıldı (14).

Fu 5'-AgC Tgg CCC Tgg CAC TgA CTC TgC TCT-3'

Fd 5'-ATg gAA ACA CCT TgC TTC TTC TCC CTC-3'

VDR geni intron 8 ekson 9 bölgesinde bulunan *Bsm I* (15) ve *Apa I-Taq I* (9) polimorfizmlerinin bulunduğu bölgeler ise aşağıdaki primer çiftleri kullanılarak çoğaltıldı.

Bu 5'-CAA CCA AgA CTA CAA gTA CCg CgT CAg TgA -3'

Bd 5'- AAC CAg Cgg gAA gAg gTC AAg gg -3'

Atu 5'-CAg AgC ATg gAC Agg gAg CAA -3'

Atd 5'-gCA ACT CCT CAT ggC TgA ggT CTC -3'

Amplifikasyonlar 50 µl toplam reaksiyon hacminde, ortalama 150ng kalıp DNA, 10 pmol herbir primer, 1,5mM MgCl₂, 0,2mM herbir dNTP (MBI Fermentas), 1 Ü Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas), 1X reaksiyon çözeltisi (10mM Tris_HCl pH8.8, 50mM KCl, %0.8 NP 40) kullanılarak, Hybaid-Sprint Thermal Cycler cihazında, 30 döngüde aşağıdaki sıcaklık profili ile gerçekleştirildi :

ilk denatürasyon	94 °C'de 5 dakika
denatürasyon	94 °C'de 30 saniye
tutunma	60 °C'de 30 saniye (Fu-Fd, Atu-Atd) 65 °C'de 30 saniye (Bu-Bd)
sentez	72 °C'de 30 saniye
son sentez	72 °C'de 5 dakika

Fu-Fd primerleri için 265 baz çifti (bç), Bu-Bd primerleri için 825bç, Atu-Atd primerleri için 740bç ürünler elde edildi.

3.6 Restriksiyon Endonükleaz Enzim Kesimleri (9,13,14)

İlgili polimorfizlerin saptanması için toplam 25µl reaksiyon hacminde 10µl PCR ürünü 1 Ü restriksiyon enzimi (MBI-Fermentas) kullanılarak gece boyu kesim reaksiyonuna bırakıldı.

Apa I ve *Mva1269I* (*Bsm I*) kesimleri 37 °C de, *BseGI* (*Fok I*) 55 °C de, *Taq I* ise 65 °C'de gerçekleştirildi.

3.7 Agaroz Jel Elektroforezi (22)

3.7.1 Çözeltiler

5X TBE

54 g Tris

27.5 g Borat

20 ml 0.5M EDTA pH8

1 L distile su

Yükleme Tamponu

%:0.25 Brom Fenol Mavisi(w/v)

%:40 Sükroz(w/v)

3.7.2 Yöntem

Çoğaltma ve kesim reaksiyonlarının ürünlerini belirlemek için %1,5 ve %2 derişimde agaroz (Sigma) kullanıldı. 1X TBE içerisinde (w/v) hazırlanan agaroz kaynatılarak eritildikten sonra içerisinde 0.1 µg/ml olacak şekilde etidyum bromür eklenerek karıştırıldı ve donması için kalıba doküldü. Elektroforez edilecek örnekler yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Elektroforez 1-5V/cm voltaj uygulanarak gerçekleştirildi.

3.8 Görüntüleme

Elektroforez sonucunda ayrılan PCR ve enzim kesim ürünleri, görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat) ile ultraviyole dalga boyunda görüntüledi.

3.9 İstatistik Analiz

Elde edilen verilerin istatistik analizleri yapılırken, karşılaştırılan grup ve alt gruplardaki birey sayılarının, yalnızca analiz için yeterli sayıda ve uygun aralıkta olanlarının analizleri yapıldı. Bu amaçla SPSS 10 programının ilgili modülleri (Ki-Kare Testi (Likelihood Ratio), İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi, Mann Whitney U Testi, Kruskal Wallis Varyans Analizi, Tek Yönlü Varyans Analizi, Odds Ratio) kullanıldı.

4. Bulgular

4.1 Klinik Tip

Olgu ve kontrol grubunun her biri 102 bireyden oluştu. Olgu grubunda 47 kadın, 55 erkek hasta, kontrol grubunda ise 50 kadın, 52 erkek birey bulunmaktadır.

Olgu grubuna ait örneklerin yaşları 10-73 arasında değişmektedir. Olgu grubunun yaş ortalaması 44.36 ± 16.35 'dir. Kontrol grubunun yaşları 15-75 arasında değişmektedir, yaş ortalaması 40.83 ± 16.83 olarak hesaplanmıştır (Tablo 1). Olgu ve kontrol grubunun genel yaş ortalamaları arasında fark yoktur ($p=0.509$).

Psoriasis hastası olan kadın ve erkek hastaların yaş ortalamaları arasında fark bulunmadı ($p=0.046$).

Tablo 1 Olgu grubunun ve cinsiyete göre olguların yaş ortalamaları

	Olgu Grubu		Kontrol Grubu	
	Yaş aralığı (Yıl)	Ortalama (\pm SD)	Yaş aralığı (Yıl)	Ortalama (\pm SD)
Kadın	10-68	40.57 ± 16.09	15-72	42.80 ± 16.27
Erkek	19-73	47.35 ± 16.11	17-75	38.98 ± 17.40

Genel olarak 102 kişilik olgu grubunun hastalık başlama yaş ortalaması 32.33 ± 16.76 'dir. Kadınlarda başlama yaş ortalaması 29.22 ± 16.14 iken, erkeklerde 35.04 ± 16.96 'dir. Kadın ve erkek hastalarda psoriasis başlama yaşları arasında farklılık saptanmadı ($p=0.085$).

Olguların %63.7'sini erken (40 yaşın altındaki olgular: Tip I psoriasis) başlama yaşına sahip olanları, %36.3'ünü ise geç (40 yaşın üzerindeki olgular: Tip II Psoriasis) başlama yaşına sahip olanları oluşturdu (Tablo 2-3).

Tablo 2 Olguların psoriasis başlama yaşına göre dağılımı

	Tip I (n)	Tip II (n)	Toplam
Kadın	31	16	47
Erkek	34	21	55
Toplam	65	37	102

Kadın ve erkek hastaların başlama yaşları arasında fark saptanmadı (Tablo 3)

Tablo 3 Olguların psoriasis başlama yaşı ortalamaları

	Tip I	Tip II	
Kadın	20.39 ± 11.14	47.47 ± 6.45	$p=0.013$
Erkek	24.94 ± 10.87	53.11 ± 8.80	$p=0.216$

Tüm hastaların hastalık süreleri 1-50 yıl arasında değişim gösterdi.

Tüm hastaların ortalama hastalık süresi 12.05 ± 10.87 yıl olarak saptandı.

Kadın hastaların ortalama hastalık süresi 11.91 ± 11.59 yıl iken erkek hastaların ise 12.17 ± 10.30 olarak bulundu.

Kadın ve erkek hastaların ortalama hastalık süreleri arasında fark bulunmadı ($p=0.583$)

Tip I Psoriasis hastalarında ortalama hastalık süresi 14.60 ± 11.63 yıl.

Tip II Psoriasis hastalarında ortalama hastalık süresi 7.18 ± 7.14 yıl olarak bulundu.

Tip I ve Tip II grubundaki kadın ve erkek hastaların hastalık süreleri arasında bulunmadı ($p=0.392$).

Psoriasisin klinik tiplerine göre gruplandırıldığında kliniğimizde en fazla plak tip tanısı, en az ise püstüler palmoplantar tanısı konuldu (Tablo 4-6).

Tablo 4 Olguların psoriasisin klinik tiplerine göre dağılımı

Klinik Tip	Hasta Sayısı	Yüzde
Plak	69	67.6
Guttat	10	9.8
Palmoplantar	5	4.9
Guttat+Plak	16	15.7
Püstüler palmoplantar	2	2.0
Toplam	102	100.0

Tablo 5 Psoriasis hastalarında görülen tırnak tutulumu, artralji ve artrit dağılımı

	%		p
	Yok	Var	
Tırnak tutulumu	67.6	32.4	0.982
Artralji	61.8	38.2	0.348
Artrit	62.7	37.3	0.410

Tablo 6 Farklı Klinik tiplerde görülen tırnak tutulumu, artralji, artrit ve aile öyküsü olanlar

Klinik Tip	Tırnak Tutulumu		Artralji		Artrit		Aile Öyküsü	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Plak	22/69	31.9	30/69	43.5	40/69	42.0	19/69	27.5
Guttat	3/10	30.0	2/10	20.0	2/10	20.0	1/10	10.0
Palmoplantar	2/5	40.0	1/5	20.0	1/5	20.0	1/5	20.0
Guttat+Plak	6/15	37.5	4/15	25.0	4/15	25.0	6/15	40.0
Püstüler palmoplantar	0/2	0.0	2/2	100.0	2/2	100.0	0/2	0.0

Olguların ailesinde psoriasis öyküsü olanlar ve olmayanlar klinik tiplerle karşılaştırıldığında aralarında fark bulunmadı ($p=0.479$).

Psoriazisin klinik tipleri ile erken ve geç başlama yaşı arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunmadı ($p=0.694$) (Tablo 7).

Tablo 7 Psoriazisin klinik tiplerinin başlama yaşına göre dağılımı

Klinik Tip	Tip I		Tip II	
	n	%	n	%
Plak	45	69.2	24	64.9
Guttat	7	10.8	3	8.1
Palmoplantar	2	3.1	3	8.1
Guttat+Plak	11	16.9	5	13.5
Püstüler palmoplantar	0	0	2	5.4

Olguların hastalık şiddetleri (PASI) 1.0-31.5 arasında skorlandı.

Aile öyküsü ile PASI arasında fark bulunmadı ($p=0.378$).

Psoriazis başlama yaşı ile PASI arasında fark bulunmadı ($p=0.792$).

Fok I Polimorfizmi ile PASI arasında fark bulunmadı ($p=0.106$).

Bsm I polimorfizmi ile PASI arasında fark bulunmadı ($p=0.565$).

4.2 Tedaviye Yanıt

Toplam 50 hastaya Calcipotriol tedavisi (Pomad/Lecyon) verildi. Bir olguda irritasyon nedeniyle tedavi yarıda kesildi ve 49 hasta üzerinden değerlendirme yapıldı.

Ayrıca iyileşme yüzdeleri ile plak ve palmoplantar+püstüler arasında fark bulunmadı ($p=0.292$) (Tablo 8).

Tablo 8 Psoriazisin farklı klinik tipleri ile Calcipotriol tedavisine yanıt

		Tedaviye Yanıt		Toplam
		Yok	Var	
plak	n	24	12	36
	% Klinik Tip	66,7	33,3	100,0
guttat	n	1	2	3
	% Klinik Tip	33,3	66,7	100,0
palmoplantar	n	2	1	3
	% Klinik Tip	66,7	33,3	100,0
guttat + plak	n	4	3	7
	% Klinik Tip	57,1	42,9	100,0
Toplam	n	31	18	49
	% Klinik Tip	63,3	36,7	100,0

Aile öyküsü ile iyileşme yüzdesi açısından fark bulunmadı ($p=0.593$)

Cinsiyet ile Calcipotriol tedavisine yanıt arasında (yanıt=var /yok) istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmadı (Tablo 9). Ayrıca iyileşme yüzdeleri ile cinsiyet arasında da fark bulunmadı ($p=0.184$).

Tablo 9 Cinsiyet ve tedaviye yanıtın dağılımı

Cinsiyet	Tedaviye Yanıt			
	var		yok	
	n	%	n	%
Kadın	8	3.3	16	66.7
Erkek	10	40.0	15	60.0
p Değeri	0.135		0.337	

Başlangıç yaşı (Tip I ve Tip II) ile Calcipotriol tedavisine yanıt (var/yok) arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmadı (Tablo 10). Ayrıca iyileşme yüzdeleri açısından bir farkta bulunmadı ($p=0.792$)

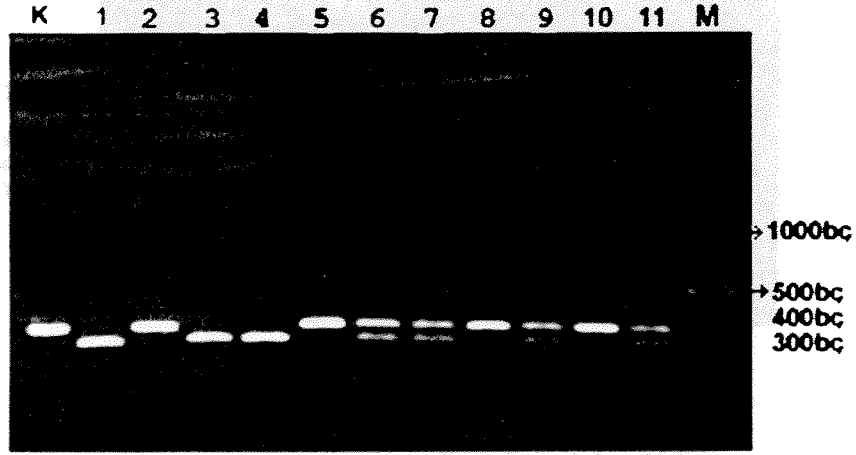
Tablo10 Psoriazis başlama yaşı ve tedaviye yanıt arasındaki dağılım.

Başlama Yaşı	Tedaviye Yanıt			
	var		yok	
	n	%	n	%
Tip I	11	61.1	20	64.5
Tip II	7	38.9	11	35.5
p Değeri	0.852		0.886	

4.3 VDR Polimorfizmi

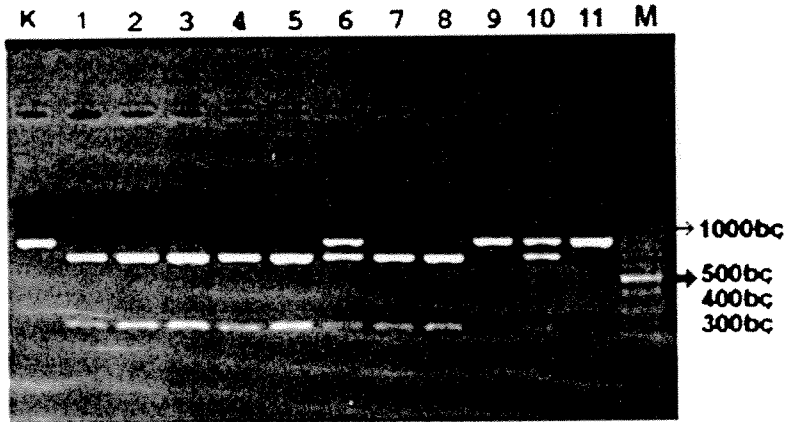
Enzim kesimleri sonrası elde edilen kesim paternlerine göre her bireyin genotipi belirlendi.

Fok I polimorfizmi için 292bç'lik PZR ürünü elde edildi, *Fok I* Enzimi ile kesildiğinde 196 ve 69bç'lik fragmantlar elde edildi (Şekil 1).



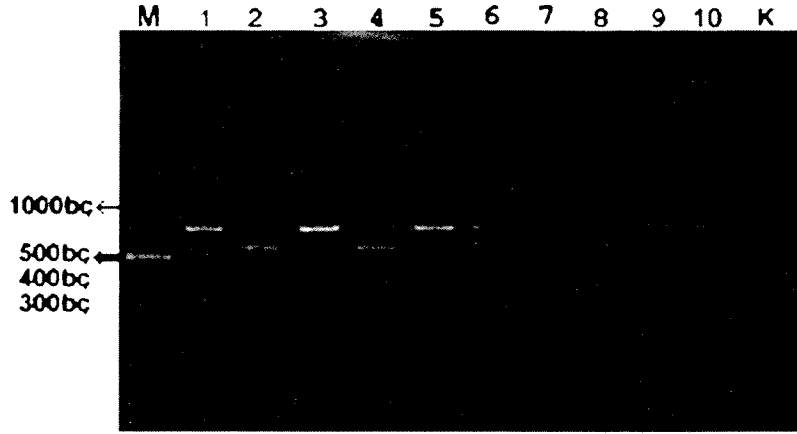
Şekil 1. *Fok I* Kesim Örneği. K Enzim kesimine tabi tutulmamış PZR örneği. M 100bç'lik Ladder DNA. 1-3-4 kuyular aa genotip; 2, 5, 8, 10. kuyular AA genotip; 6, 7, 9. ve 11. kuyular Aa genotip.

Bsm I Polimorfizmi için 825bç'lik PZR ürünü elde edildi *Bsm I* ile kesildiğinde 650 ve 175bç'lik fragmantlar elde edildi (Şekil 2).



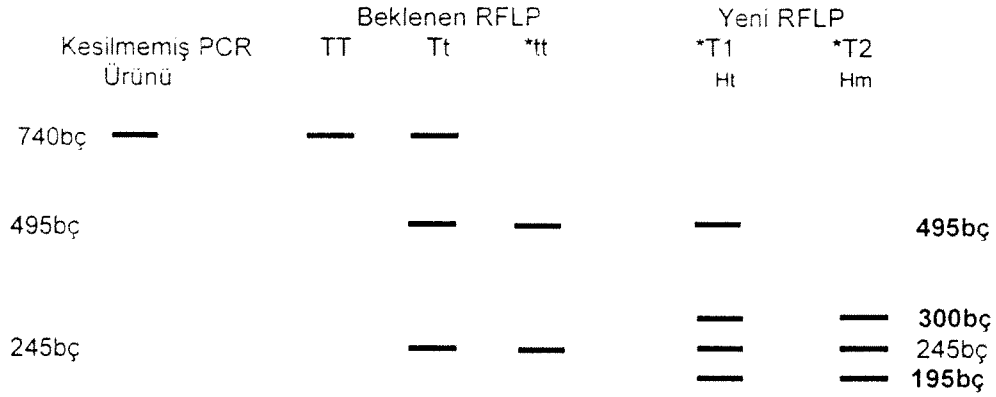
Şekil 2. *Bsm I* Kesim örneği. K Enzim kesimine tabi tutulmamış PZR örneği. M 100bç'lik Ladder DNA. 1-5. ve 7-8. kuyular bb genotip; 6-10. kuyular Bb genotip; 9. ve 11. kuyular BB genotip

Apa I ve *Taq I* polimorfizmi için tek bir primer çifti kullanarak 740bp'lik tek bir PZR ürünü elde edildi. *Apa I* enzimi ile kesildiğinde 530 ve 210bp'lik fragmanlar elde edildi (Şekil 3).



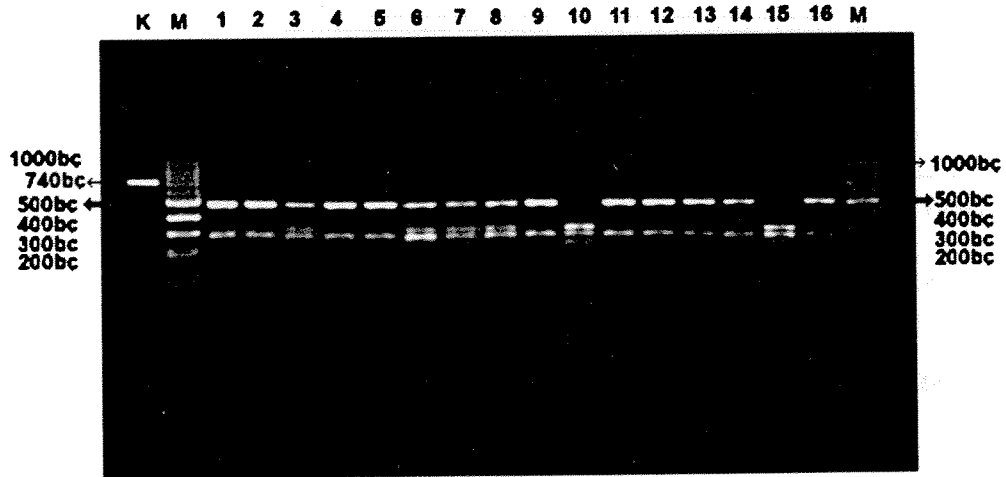
Şekil 3. *Apa I* kesim örneği: K Enzim kesimine tabi tutulmamış PZR örneği; M 100bp'lik Ladder DNA; 1., 2., 4, 6, 7, ve 10. kuyuları Aa genotipi; 3., 5., 9. kuyular AA genotipi; 8. kuyusu aa genotipi.

Çalışmada analiz edilen tüm olgu ve kontrol bireylerinde *Taq I* polimorfizmi açısından yeni olduğu düşünülen bir RFLP paterni ile karşılaşıldı (Şekil 4, 5)



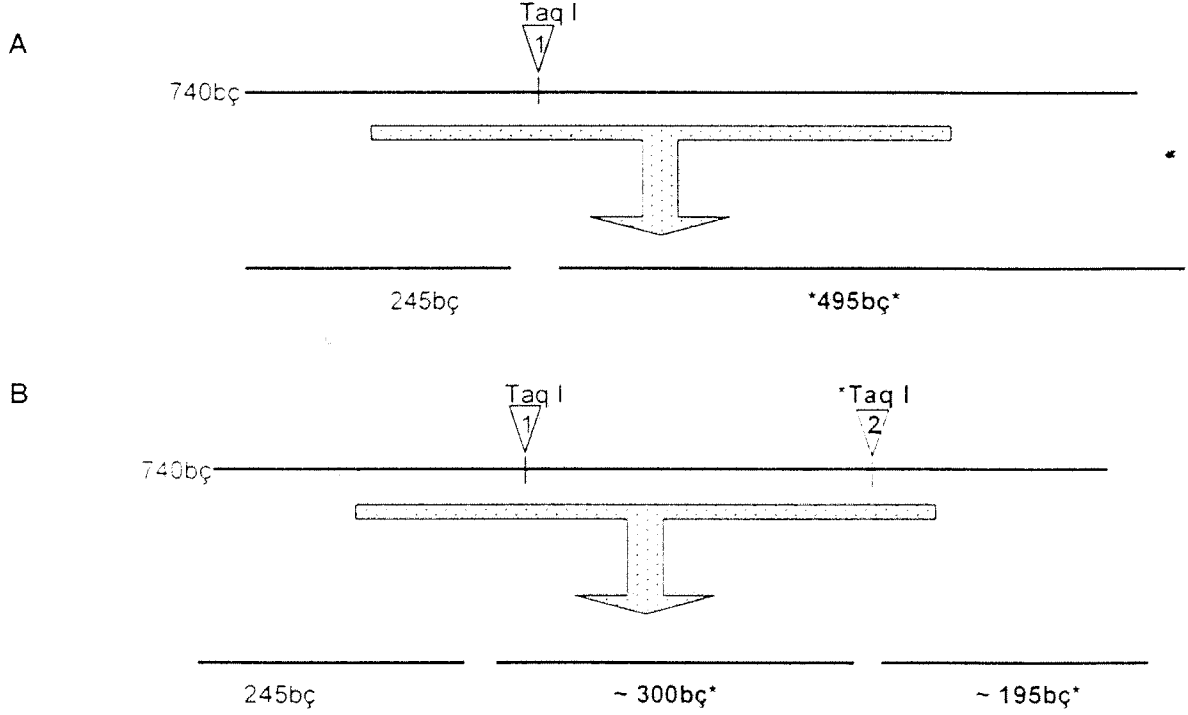
Şekil 4 Çalışmada saptanan yeni *Taq I* RFLP paterninin elektroforetik ayrılma şeması.

T1:Ht:Heterozigot patern; T2:Hm:Homozigot patern. *: Çalışmada gözlenen paternler(tt, T1, T2)



Şekil 5. *Taq I* kesim örneği, K:Enzim kesimine tabi tutulmamış PZR örneği; M1 ve M2 100bç'lik Ladder DNA; 1.,2., 4., 5., 9., 11.-14. ve 16. kuyular: tt (beklenen) genotip; 3., 6.-8., kuyular: heterozigot patern (yeni); 10. ve 15. kuyular: homozigot patern (yeni).

Bu yeni RFLP paterninin oluşmasında 495bç fragmantın ortasında yeni bir *Taq I* kesim bölgesi oluştuğu düşünülmektedir. Böylece 495bç'lik fragmant yaklaşık olarak 300 ve 195bç uzunlukta iki parçaya ayrılmaktadır (Şekil 6). Bu hastalarda birinci mutasyon sonucu beklenen klasik kesim yerinin kaybolduğu ve ikinci bir mutasyonda yeni kesim bölgesinin oluştuğu düşünülmektedir. Bu yeni paternin tanımlanması için VDR geninin bu bölgesinin sekans analizinin yapılması planlanmıştır. Bu durum sonucu hiçbir bireyde beklenen normal paternde TT ve Tt genotipi saptanmamıştır. Yalnızca normalde beklenen tt genotipi saptanmıştır. Bu kesim paterni, yeni bir vial *Taq I* enzimi satın alınarak ta denenmiş ve aynı kesim paterni elde edilmiştir.



Şekil 6 *Taq I* kesim bölgelerini şematik yerleşimi, A: *Taq I* enziminin beklenen kesim yeri, B: ikinci *Taq I* kesim bölgesi ve oluşan fragmantlar

Bu nedenle projede *Taq I* polimorfizmlerinin psoriasis ile ilişkisi değerlendirilememiştir. Diğer 3 enzim ile elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

Psoriasis hastalarında F, b, a allelleri kontrollere göre yüksek sıklıkta olduğu, f, B, A, allellerinin ise kontrol grubuna göre daha düşük sıklıkta olduğu görüldü. Ancak, psoriasis ve kontrol grubu arasındaki allel frekansları arasında istatistiksel açıdan fark saptanmadı (Tablo 11).

Tablo 11. Olgu ve kontrol gruplarına a: allel frekansları

	F		f		B		b		A		a	
	n	p*	n	q*	n	p	n	q	n	p	n	q
Olgu grubu	139	0.68	65	0.32	75	0.37	129	0.63	123	0.60	81	0.40
Kontrol grubu	130	0.64	74	0.36	91	0.45	113	0.55	135	0.66	69	0.34
p değeri	0.489		0.620		0.290		0.210		0.320		0.450	

* allel frekansları

Psoriasis hastalarında bb, Aa, aa genotiplerinin daha yüksek sıklıkta bulunduğu. Ff, BB, Bb, AA genotiplerinin ise psoriasisli hastalarda daha az sıklıkta bulunduğu görüldü. FF, ff, genotipleri hasta ve kontrol gruplarında eşit sıklıkta bulundu. Ancak, olgu ve kontrol gruplarında görülen genotipler arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo12).

Tablo12 Olgu ve kontrol gruplarına ait genotip frekansları

	FF	Ff	ff	BB	Bb	bb	AA	Aa	aa
	p^2	$2pq$	q^2	p^2	$2pq$	q^2	p^2	$2pq$	q^2
Olgu grubu	0.46	0.44	0.10	0.13	0.47	0.40	0.36	0.48	0.16
Kontrol grubu	0.46	0.50	0.10	0.20	0.50	0.30	0.43	0.45	0.12
p	0.641	0.845	0.829	0.489	0.827	0.317	0.522	0.769	0.864

Olgu grubuna ait polimorfizmlerin klinik tiplere göre dağılımı Tablo 13'te görülmektedir. Klinik tiplerdeki hasta sayıları uygun ve yeterli olanlar için yapılan istatistiksel analizde, Guttat* ve Guttat+Plak* tipteki FF ve Aa alleleri açısından arasında fark bulunmadı.

Tablo 13 Psoriasisin farklı klinik tiplerinde görülen genotip yüzdeleri

Klinik Tip	FF		Ff		ff		BB		Bb		bb		AA		Aa		aa	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Plak	3	66.0	5	62.5	30	66.7	18	72.0	16	64.0	35	67.3	22	81.5	43	63.2	4	66.7
Guttat	3	17.0	3	37.5	2	4.4	3	12.0	4	16.0	3	5.8	2	7.4	6	8.8	2	33.3
Polimoplantar	1	2.1	0	0	3	6.7	1	4.0	0	0	4	7.7	2	7.4	2	2.9	0	0
Guttat+Plak	2	12.8	0	0	9	20.0	3	12.0	4	16.0	9	17.3	1	3.7	15	22.1	0	0
Ekstremiteler	1	2.1	0	0	1	2.2	0	0	1	4.0	1	1.9	0	0	2	2.9	0	0
Polimoplantar	1	2.1	0	0	1	2.2	0	0	1	4.0	1	1.9	0	0	2	2.9	0	0
p	0.832		-		-		-		-		-		-		0.457		-	

Psoriasis başlama yaşı (TipI, TipII) ile VDR genotipleri (Tablo 14) arasındaki ilişki araştırıldığında "bb" ve "Aa" allellerinin erken başlayanlarda geç başlayanlara göre fazla olduğu bulundu (p=0.040, p=0.008), aralarında anlamlı fark olduğu saptandı. Diğer genotipler arasında fark bulunmadı.

Tablo 14 Tip I ve Tip II Psoriasisde genotip frekanslarının dağılımı

Başlama yaşı	FF		Ff		ff		BB		Bb		bb		AA		Aa		aa	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Tip I	27	57.4	29	64.4	9	9.0	14	56.0	17	68.0	34	65.4	15	55.6	46	67.6	4	66.7
Tip II	20	42.6	16	65.6	1	10.0	11	44.0	8	32.0	18	34.6	12	44.4	22	32.4	2	33.3
p	0.321		0.936		-		0.557		0.104		0.040		0.568		0.008		-	

Ayrıca Calcipotriol tedavisine yanıt (var / yok anahtarı) ile VDR geninde saptanan genotipler araştırıldı (Tablo15). Genotipler ve tedaviye yanıt arasında fark bulunmadı. Ek olarak, iyileşme yüzdesi ile genotipler arasında da fark bulunmadı

Tablo 15 Tedaviye alınan yanıtta VDR genotiplerinin dağılımı

Yanıt	FF		Ff		ff		BB		Bb		bb		AA		Aa		aa	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Yok	15	62.5	11	64.7	5	62.5	5	55.6	7	70.0	19	63.3	8	66.7	21	65.6	1	25.0
Var	9	37.5	6	35.3	3	37.5	4	44.4	3	30.0	11	36.7	4	33.3	11	34.4	3	75.0
P*	0.247		0.263		-		-		-		0.170		-		0.102		-	
p**	0.979				-				0.616				0.590					

*: tedavi var/ yok için, **: iyileşme yüzdesi için.

Ayrıca tüm olgu ve kontrollerde analiz edilen VDR polimorfizmlerinin haplotipleri değerlendirildiğinde 204 bireyde 19 farklı haplotip olduğu belirlendi (Tablo16, 18) (Ek1.2).

Tablo 16 Çalışmada görülen tüm haplotipler

Haplotip No	Genotip		
	Fok I	Bsm	Apa I
1	ff	bc	Aa
2	ff	bt	AA
3	ff	Bc	Aa
4	ff	BB	Aa
5	ff	BB	AA
6	Ff	bc	aa
7	Ff	bc	Aa
8	Ff	bb	AA
9	Ff	Bc	aa
10	Ff	Bc	Aa
11	Ff	Bc	AA
12	Ff	BB	Aa
13	Ff	BB	AA
14	FF	bb	aa
15	FF	bb	Aa
16	FF	bb	AA
17	FF	Bc	aa
18	FF	Bb	Aa
19	FF	BB	AA

Olgu ve kontrol grubunun haplotipleri arasında 10 numaralı haplotipin (Ff Bb Aa) psoriasisli hastalarda daha yuksek oranda bulunduğu saptandı (p=0.003) (Tablo 17).

Tablo 17 Olgu ve kontrollerde görülen haplotiplerin dağılımı

Kontrol			Olgu			p Değeri
Haplotip No	n	%	Haplotip No	n	%	
1	4	3,9	1	5	4,9	-
2	1	1,0	2	1	1,0	-
3	3	2,9	3	3	2,9	-
4	1	1,0	4	-	-	-
5	3	2,9	5	1	1,0	-
6	2	2,0	6	4	3,9	-
7	17	16,7	7	17	16,7	-
8	2	2,0	8	-	-	-
9	1	1,0	9	-	-	-
10	9	8,8	10	11	10,80	0.003
11	3	2,9	11	-	-	-
12	3	2,9	12	2	2,0	-
13	13	12,7	13	11	10,8	0.887
14	-	-	14	2	2,0	-
15	12	11,8	15	18	17,6	0.669
16	4	3,9	16	5	4,9	-
17	1	1,0	17	1	1,0	-
18	12	11,8	18	13	12,7	0.946
19	11	10,8	19	8	7,8	0.829
Total	102	100,0	Toplam	102	100,0	

4 (1/102), 8 (2/102), 9 (1/102) ve 11 (3/102) numaralı haplotipler yalnızca sağlıklı kontrollerde bulundu

Buna karşın 14 (2/102) numaralı haplotip ise yalnızca psoriasisli kadın bireylerde bulundu.

4 (2/102) ve 8 (2/102) numaralı haplotipin yalnızca sağlıklı erkek bireylerde olduğu

9 (1/50) numaralı haplotipin yalnızca sağlıklı kadınlarda olduğu.

11 (3/102) numaralı haplotipin yalnızca sağlıklı bireylerde olduğu, hasta bireylerde olmadığı.

17 numaralı haplotipin yalnızca erkek bireylerde (1 sağlıklı+1 psoriasisli) olduğu

5 numaralı haplotipin hasta erkeklerde hiç olmadığı görüldü.

Olgu grubundaki kadın ve erkek bireylerin haplotipleri arasında fark bulunmadı ($p=0.804$) (Tablo 18).

Tablo 18 Olgu ve kontrollerde görülen haplotiplerin cinsiyete göre dağılımı

Kontrol				Olgu				p Değeri	
Cinsiyet	Haplotip No	n	%	Cinsiyet	Haplotip No	n	%		
Disi	1	2	4,0	Disi	1	2	4,3	-	
	2	1	2,0		2	-	-	-	-
	3	-	-		3	2	4,3	-	-
	4	-	-		4	-	-	-	-
	5	1	2,0		5	1	2,1	-	-
	6	-	-		6	2	4,3	-	-
	7	10	20,0		7	9	19,1	0,804	-
	8	-	-		8	-	-	-	-
	9	1	2,0		9	-	-	-	-
	10	5	10,0		10	2	4,3	-	-
	11	2	4,0		11	-	-	-	-
	12	-	-		12	2	4,3	-	-
	13	7	14,0		13	4	8,5	-	-
	14	-	-		14	2	4,3	-	-
	15	6	12,0		15	5	10,6	-	-
	16	1	2,0		16	2	4,3	-	-
	17	-	-		17	-	-	-	-
	18	7	14,0		18	9	19,1	-	-
	19	7	14,0		19	5	10,6	-	-
	Total	50	100,0		Total	47	100,0	-	
Erkek	1	2	3,8	Erkek	1	3	5,5	-	
	2	-	-		2	1	1,8	-	-
	3	3	5,8		3	1	1,8	-	-
	4	1	1,9		4	-	-	-	-
	5	2	3,8		5	-	-	-	-
	6	2	3,8		6	2	3,6	-	-
	7	7	13,5		7	8	14,5	-	-
	8	2	3,8		8	-	-	-	-
	9	-	-		9	-	-	-	-
	10	4	7,7		10	9	16,4	-	-
	11	1	1,9		11	-	-	-	-
	12	3	5,8		12	-	-	-	-
	13	6	11,5		13	7	12,7	-	-
	14	-	-		14	-	-	-	-
	15	6	11,5		15	13	23,6	-	-
	16	3	5,8		16	3	5,5	-	-
	17	1	1,9		17	1	1,8	-	-
	18	5	9,6		18	4	7,3	-	-
	19	4	7,7		19	3	5,5	-	-
	Total	52	100,0		Total	55	100,0	-	

Olgu grubunda vitamin D tedavisi değerlendirilen 49 hastadan tedaviye yanıt veren ve vermeyenlerin haplotipleri arasında fark olup olmadığı, haplotipler arası sayıların ve dağılımının az olması nedeniyle analiz edilemedi (Tablo 19).

- 1, 3, 13, 15, 18 numaralı haplotiplerin heriki grupta olduğu,
14 ve 17 numaralı haplotiplerin yalnızca tedavi (+) grupta olduğu,
6, 7, 10, 16 ve 19 numaralı haplotiplerin ise yalnızca tedavi (-) grupta olduğu görüldü

Tablo 19 Olgu haplotiplerinin Vitamin D tedavisine verdikleri yanıtı göre dağılımı

Yok		Yanıt		Var	
Haplotip No	n	%	Haplotip No	n	%
1	2	6,5	1	2	11,1
3	2	6,5	3	1	5,6
6	3	9,7	13	4	22,2
7	5	16,1	14	2	11,1
10	5	16,1	15	5	27,8
13	2	6,5	17	1	5,6
15	5	16,1	18	1	5,6
16	1	3,2	Total	18	100,0
18	3	9,7			
19	3	9,7			
Total	31	100,0			

Olgu grubunda ailesinde psoriasis öyküsü olanlar ve olmayanların haplotip sayılarının dağılımının az olması nedeniyle analiz edilemedi (Tablo 20).

2 ve 5 numaralı haplotiplerin yalnızca aile öyküsü olan hastalarda olduğu.

16, 17 ve 19 numaralı haplotiplerin ise yalnızca aile öyküsü olmayan hastalarda olduğu görüldü

Tablo 20 Olgu haplotiplerinin ailesindeki psoriasis öyküsüne göre dağılımı

Grup	Aile Öyküsü	n	%	
Hasta	Yok	1	2	2,7
		3	1	1,4
		6	3	4,1
		7	15	20,3
		10	8	10,8
		12	1	1,4
		13	6	8,1
		14	1	1,4
		15	14	18,9
		16	5	6,8
		17	1	1,4
		18	9	12,2
		19	8	10,8
		Toplam		74
Var	Yok	1	3	11,1
		2	1	3,7
		3	2	7,4
		5	1	3,7
		6	1	3,7
		7	2	7,4
		10	2	7,4
		12	1	3,7
		13	5	18,5
		14	1	3,7
15	4	14,8		
18	4	14,8		
Toplam		27	100,0	

5. Tartışma

Bu çalışmada 102 psoriasis olgusu ve 102 sağlıklı bireyde VDR genindeki *Fok I*, *Bsm I*, *Apa I* ve *Taq I* polimorfizmleri tayin edilerek, VDR gen polimorfizmleri ile psoriasis arasındaki herhangi bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Ayrıca, olgu grubundaki 50 psoriasis hastasına vitamin D tedavisi verilerek, bu hastaların tedaviye yanıtları ile VDR polimorfizmleri arasında bir ilişki olup olmadığı da araştırılmıştır.

Psoriasis hastalarının klinik özellikleri değerlendirildiğinde, psoriasis tipi, hastalık şiddeti (PASI), tırnak tutulumu, artralji ve artrit, hastalığın başlama yaşı, ailelerinde psoriasis öyküsü olup olmaması gibi parametreler kendi içinde değerlendirilmiş ve birbirleriyle aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Elde edilen yukarıdaki klinik parametreler ile hastaların VDR polimorfizmlerinin allel, genotip ve haplotip frekansları arasında da bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır.

Vitamin D yaygın olarak psoriasis tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak vitamin D'nin psoriasisın tedavisindeki rolünün, keratinsitelerin ve/veya psoriasis lezyonlarındaki immün reaksiyona katılan lenfositlerin proliferasyonunu düzenleyerek ya da farklı bir mekanizma yoluyla gerçekleşip gerçekleşmediği konusu henüz açıklık kazanmamıştır. Psoriasis hastalarının vitamin D tedavisine verdikleri yanıt farklılık göstermektedir. Psoriasis hastalarının %25'inin vitamin D tedavisine dirençli olduğu belirtilmektedir (8). Bu durumunun VDR genindeki polimorfizmlerle ilişkili olabileceği yönündeki düşüncelerden hareketle araştırmalar yapılmaktadır. Ancak bu konudaki çalışmaların azlığı, tedaviye yanıtındaki değişkenliğin açığa çıkarılmasına imkan vermemektedir (1, 7, 8, 10, 11, 20, 23).

Holick'in yaptığı çalışmada "b" alleleline sahip bireylerin vitamin D tedavisine daha iyi yanıt vermesi, Morrison'un vitamin D ekspresyonun karakterizasyonu ile ilgili çalışmasında bulunduğu "b" allelinin düşük mRNA ekspresyon seviyesi ile ilişkili olması ile çelişmektedir (20, 24). Bununla birlikte Chen ve Holick yaptıkları ekspresyon çalışmalarında psoriatik lezyonlarda VDR mRNA miktarının vitamin D tedavisine yanıt verenlerde vermeyenlere göre yüksek olduğunu ve epidermis VDR mRNA seviyesinin vitamin D ile indüklendiğini bildirmişlerdir (20, 23).

Çalışmamızda, "aa" genotipine sahip 4 hastadan 3'ünün tedaviye yanıt vermesi dikkat çekici bulunmuş, ancak VDR genotipleri ile tedaviye yanıt olup olmaması ve iyileşme yüzdeleri ile aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 15). Literatürde, Holick 48 kişilik hasta grubunda "b" alleleline (bb genotipine) sahip 13 hastada, Lee ise 43 kişilik hasta gruplarında Apal polimorfizminin vitamin D tedavisine yanıtta önemli role sahip olduğunu belirtmektedir (10, 20). Bununla birlikte diğer araştırmalarda vitamin D tedavisine yanıtla ilişkili olarak önemli bir VDR polimorfizmi bildirilmemektedir (1, 7, 8, 23). Bu durumun kaynağı olarak, etnik farklılıklardan ziyade, hasta sayısı ve daha önemlisi

psoriazisin genetiğinin heterojen ve multigenik olması ve çevresel etkenlerin rolünün büyük olmasında kaynaklandığını düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda, bb ve Aa genotiplerinin erken başlama yaşına sahip hastalarda anlamlı şekilde yüksek olduğu bulunmuştur. *Apa I* polimorfizminin erken başlama yaşına sahip hastalarda yüksek olduğu ilk kez Mee 1998'de 92 hasta ile yaptığı çalışmada yayınlanmıştır (8). Diğer çalışmalarda benzer bir bulgu saptanmamıştır ve bizim çalışmamızla birlikte literatürde ikinci kez yayınlanacak ve ilk kez konfirme edilmiş olacaktır.

Bununla birlikte bizim çalışmamızda saptanan bb genotipinin erken başlayanlarda daha yüksek bulunması literatürde ilk kez saptanmakta ve yayınlanmaktadır. Kaya 53 Türk hasta ile yaptığı çalışmada benzer bir bulgu yayınlanmamıştır (11). *Apa I* polimorfizminin ikinci kez yayınlanacak olması, bu polimorfizmin psoriasis ile ilişkisini güçlendirmektedir. Bununla birlikte bb genotipinin ilk kez saptanması ise psoriazisin genetik yönünün heterojen ve multifaktöryel olduğuna işaret ettiğini düşündürmektedir.

Saptanan *Fok I*, *Bsm I* ve *Apa I* polimorfizimleri birleştirilip haplotip olarak değerlendirildiğinde 19 farklı haplotip ortaya çıkmıştır. Bunlardan 9 numaralı haplotipin yalnızca sağlıklı kadın bireylerde, 14 numaralı haplotipin ise yalnızca hasta kadınlarda görülmesine rağmen bu bireylerin sayılarının az olması nedeniyle istatistik analizi yapılamamıştır. Ek olarak, 11 numaralı haplotipin sadece sağlıklı bireylerde bulunmasında dikkat çekicidir. Ancak istatistiksel olarak yalnızca 10 numaralı haplotipin hasta bireylerde önemli olarak bulunduğu saptanmıştır. 10 numaralı haplotipin içinde daha önce hem psorizisle hemde erken başlama yaşı ile ilişkisi saptanan Aa polimorfizminin bulunması çok dikkat çekici bir özellik olup, bu durumun *Apa I* polimorfizmi için konfirmatif yönünde bulunmaktadır.

Literatürde psorizis ve VDR geni polimorfizimleri ile yapılan çalışmalarda genellikle aralarında ilişki olmadığı şeklinde ve farklı yönlerde bulgular olmasına karşın, bizim çalışmamızda da erken başlama yaşıyla ilgili olarak ilk kez konfirme edildiği gibi, *Apa I* polimorfizmi ve Aa genotipi öne çıkmaktadır. *Apa I* polimorfizmi intron 8 bölgesinin içindedir. Intronların genlerin transkripsiyon seviyesinde ekspresyonlarının kontrolünde rolleri olduğu dikkate alındığında, hem mRNA kesilip birleştirilmesinde (splicing), hem stabilizasyonunda, hemde ekspresyonda diğer faktörlere olan afinitesini etkiyebileceği ve bu yolla vitamin D'ye alınan farklı seviyelerdeki yanıtı etki edebileceği düşünülebilir. Ayrıca Türk psoriazis hastaları açısından bakıldığında, Kaya çalışmasında Aa genotipinin psoriazis için risk faktörü olabileceğini belirtmekte ise de, bizim çalıştığımız kontrollerle hastaların genotipleri arasında fark bulunmamıştır (11). Ancak, Aa ve bb genotiplerine sahip hastalarda tip I psoriazisin daha sık olduğu, yani hastalığın erken yaşta başladığı saptanmıştır.

Bütün bunlardan ayrı olarak, yine ilk defa bu çalışmada, farklı bir *Taq I* RFLP saptanmıştır. Bu farklı RFLP'nin hem de psoriasis grubunda bulunması, bu özelliğin yöredeki popülasyona özgül olabileceğini düşündürmektedir. Saptanan yeni SNP'nin önemi bu noktada açık değildir. Ancak bu gen bölgesinin sekans analizinin yapılması ve sonrasında elde edilen klinik ve diğer polimorfizm verileri ile karşılaştırılmasından sonra, bu yeni SNP nin yöre insanına özgü sezgisiz mutasyonlar mı, yada önemli bir genetik etkenmi olduğu açığa çıkarılabilecektir.

Bu araştırma ile birlikte Türk popülasyonunda VDR polimorfizmleri ile ilgili 3 çalışma literatüre kazanılmış olmaktadır. Özışık idiopathic hypogonadotrophic hypogonadismde kemik mineral dansitesine VDR etkilerini, Kaya ise psoriasis hastalarında VDR genotip frekanslarını çalışmıştır (11, 13). Özışık'ın bulunduğu kontrol ve olgulardaki genotip frekansları ile Kaya ve bizim çalışmamızda bulunduğumuz genotip frekansları aynı olmamakla birlikte birbirine yakındır (Tablo 21, 22) (11).

Tablo 21 Literatürde Psoriasis için yayınlanmış VDR polimorfizmleri

Çalışma Adresi	%			Referans
	AA	Aa	aa	
Türk	36.0	48.0	16.0	Bu Çalışma
Türk	26.4	58.5	15.1	Kaya 2002 (18)
Kore	9.1	50.9	40.0	Lee 2002 (17)
Kore	2.9	27.0	69.0	Park 1999 (7)
	BB	Bb	bb	
İngiltere	39.1	38.0	22.9	Mee 1998 (17)
Finlandiya	10.5	63.2	26.3	Kontula 1997 (1)

Tablo 22 Türkiyede yapılan çalışmalarda saptanan VDR polimorfizmleri

	Referans	%								
		FF	Ff	ff	BB	Bb	bb	AA	Aa	aa
Olgu grubu (Psoriasis)	Bu Çalışma	46.0	44.0	10.0	13.0	47.0	40.0	36.0	48.0	16.0
	Kaya 2002 (18)	45.3	43.4	11.3	18.9	47.2	34.0	26.4	58.5	15.1
Kontrol grubu	Bu Çalışma	46.0	50.0	10.0	20.0	50.0	30.0	43.0	45.0	12.0
	Kaya 2002 (18)	53.7	40.7	5.6	20.4	40.7	38.9	50.0	38.9	11.1
	Özışık 2001 (15)	-	-	-	24.0	40.0	36.0	40.0	52.0	8.0

Sonuç olarak VDR geni polimorfizmlerinin psoriasis hastalarında vitamin D tedavisine yanıtta bir gösterge olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, FfBbAa haplotipinin psoriasis için bir risk faktörü olarak kabul edilebileceği, Apa I ve Bsm I polimorfizminin başlama yaşı ve psoriasis ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- 1-Kontula K., Valimaki S., Kainuainen K., Vitanen A.M., Keski-Oja J., Vitamin D receptor polymorphism and treatment of psoriasis with calcipotriol, *Br J Dermatol*, 1997; 136: 977-978.
- 2-Cristophers E., Mrowietz U., Psoriasis, *Dermatology in General Medicine*, Eds: Freedberg I.M., Eisen A.Z., Wolff K., Austen K.F., Goldsmith L.A., Katz S.I., Fitzpatrick T.B., 5th ed., McGraw Hill Inc, New York, (1999), p:495-521.
- 3-Braun-Falco O., Plewig G., Wolff G., Burgdorf W.H.C., Erythematopapulosquamous diseases, *Dermatology*, 2th ed., Springer-Verlag, Heidelberg- Berlin, (2000), p: 572-647.
- 4-Camp B.D.R., Psoriasis, *Textbook of Dermatology*, Eds: Champion R.H., Burton J.L., Burns D.A., Breathnach A.M., 6th ed. Blackwell Science, (1998), p: 1589-1649.
- 5- Odom R.B., James W.D., Berger T.G., Seborrheic dermatitis, psoriasis, recalcitrant palmoplantar eruptions, pustular dermatitis and erythroderma, *Andrews' Diseases of Skin*, 9th ed., WB Saunders Company, Philadelphia, (2000), p: 214-253.
- 6-Ortonne J.P., Aetiology and pathogenesis of psoriasis. *Br J Dermatol*, 1996; 135 (Suppl. 49): 1-5.
- 7-Park B.S., Park J.S., Lee D.Y., Youn J.I., Kim I.G., Vitamin D receptor polymorphism is associated with psoriasis, *J Invest Dermatol*, 1999; 112:113-116.
- 8-Mee J.B., Coek M.J., Vitamin D receptor polymorphism and calcipotriol response in patients with psoriasis, *J Invest Dermatol*, 1998; 110(3):301.
- 9-Ban Y., Taniyama M., Ban Y., Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with Graves2 disease in the Japanese population, *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85(12):4639-4643.
- 10-Lee D.Y., Park B.S., Choi K.H., Jeon J.H., Cho K.H., Song K.Y., Kim I.G., Youn J.I., Vitamin D receptor genotypes are not associated with clinical response to calcipotriol in Korean psoriasis patients, *Arch Dermatol Res*, 2002; 294:1-5.
- 11-Kaya T.I., Erdal M.E., Tursen Ü., Çamdeviren H., Gündüz Ö., Söylemez F., İkizoğlu G., Association between vitamin D receptor gene polymorphism and psoriasis among the Turkish population, *Arch Dermatol Res*, 2002. 294:286-289.
- 12-Langdahl B.L., Gravholt C.H., Braxen K., Eriksen E.F., Polymorphism in the Vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures, *Euro J Clin Invest*, 2000; 30(7):608-17.

- 13-Ozişik G., Mergen H., Ozata M., Uyanık C., Çağlayan S., Turan M., Bolu E., Ilgın S., Oner R., Ozelimci Ç., Oner C., Vitamin D receptor gene polymorphisms and vertebral bone density in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism, *Med Sci Monit*, 2001;7(2):233-237.
- 14-Hutchinson P.E., Osborn J.E., Lear J.T., Smith A.G., Bowers P.W., Morris P.N., Jones P.W., York C., Strange R.C., Fryer A.A., Vitamin D receptor polymorphisms are associated with altered prognosis in patients with malignant melanoma, *Clin Cancer Res*, 2000;6:498-504.
- 15-Habuchi T., Suzuki T., Sasaki R., Wang L., Sato K., Satoh S., Akao T., Tsuchiya N., Shimoda N., Wada Y., Koizumi A., Chiara J., Ogawa O., Kato T., Association of Vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in Japanese population, *Cancer Res* 2000;Jan15:305-308.
- 16-Bretherton-Watt D., Given-Wilson R., Mansi J.L., Thomas V, Carter N., Colston KW., Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a UK Caucasian population, *British Journal of Cancer*, 2001; 85(2):171-175.
- 17-Chang T.J., Lei H.H., Yeh J.I., Chiu K.C., Lee K.C., Chen M.C., Tai T.Y., Chuang L.M., Vitamin D receptor gene polymorphism influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population, *Clin Endocrinol*, 2000;52(5):575.
- 18-Chen W.C., Chen W.Y., Lu H.F., Hsu C.D., Tsai F.J., Association of Vitamin D receptor gene start codon Fok I polymorphism with calcium oxalate stone disease, *BJU Int*, 2001;87:168-171.
- 19-Brown A.J., Therapeutic Uses of Vitamin D Analogues, *Am J Kid Dis*, 2001,38(5):S3-S19
- 20-Holick M.F., Chen M.L., Kong X.F., Sanan D.K., Clinical uses for calcipotrophic hormones 1,25-dihydroxyvitamin D3 and parathyroid hormone-related peptide in dermatology: a new perspective. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 1996;1:1-9,
- 21-Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F., A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nuc Acid Res*, 1988;16(3):1215.
- 22-Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T., *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd ed., Vol:1/Vol 3, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, (1989), p:6.3-6.19/ p:E5.

23-Chen M.L., Perez A., Sanan D.K., Heinrich G., Chen T.C., Holick M.F., Induction of vitamin D receptor mRNA expression in psoriatic plaques correlates with clinical response to 1,25 dihydroxyvitamin D₃. *J Invest Dermatol*, 1996;106: 637-641.

24-Morrison N.A., Yeoman R., Kelly P.J., Eisman J.A., Contribution of Trans-acting factor alleles to normal physiological variability: Vitamin D receptor gene polymorphisms and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci*, 1992;89:6665-6669.

Ek 1 Olgularda saptanan VDR Polimorfizmleri

Olgu No	Fok I	Bsm I	Apa I	Haplotip No
1	FF	Bb	Aa	18
2	Ff	Bb	Aa	10
3	FF	bb	AA	16
4	Ff	BB	AA	13
5	ff	bb	AA	2
6	Ff	Bb	Aa	10
7	Ff	Bb	Aa	10
8	ff	bb	Aa	1
9	FF	BB	AA	19
10	FF	Bb	Aa	18
11	FF	bb	Aa	15
12	FF	bb	aa	14
13	Ff	BB	AA	13
14	FF	bb	Aa	15
15	FF	bb	Aa	15
16	FF	bb	AA	16
17	Ff	Bb	Aa	10
18	FF	Bb	Aa	18
19	Ff	bb	Aa	6
20	FF	Bb	Aa	18
21	FF	bb	Aa	15
22	Ff	BB	AA	13
23	FF	Bb	Aa	18
24	Ff	bb	Aa	7
25	Ff	BB	AA	13
26	Ff	bb	Aa	7
27	Ff	Bb	Aa	10
28	FF	Bb	aa	17
29	Ff	bb	Aa	7
30	ff	Bb	AA	3
31	FF	bb	aa	14
32	FF	BB	AA	19
33	FF	bb	Aa	15
34	Ff	bb	Aa	7
35	ff	bb	Aa	1
36	FF	bb	AA	16
37	FF	BB	Aa	18
38	FF	Bb	Aa	18
39	ff	bb	Aa	1
40	FF	bb	Aa	15
41	FF	bb	Aa	15
42	FF	BB	AA	19
43	Ff	bb	Aa	7
44	FF	bb	Aa	15
45	Ff	BB	AA	13
46	Ff	bb	Aa	7
47	Ff	bb	Aa	7
48	FF	BB	AA	19
49	FF	bb	Aa	15
50	FF	bb	AA	16
51	FF	bb	Aa	15

Olgu No	Fok I	Bsm I	Apa I	Haplotip No
52	ff	bb	Aa	1
53	FF	Bb	Aa	18
54	Ff	bb	Aa	7
55	FF	bb	AA	16
56	Ff	bb	Aa	7
57	Ff	BB	Aa	12
58	Ff	Bb	Aa	10
59	Ff	BB	AA	13
60	Ff	bb	Aa	7
61	FF	BB	Aa	18
62	Ff	BB	AA	13
63	FF	bb	Aa	15
64	Ff	Bb	Aa	10
65	FF	BB	AA	19
66	Ff	Bb	Aa	10
67	Ff	BB	AA	13
68	FF	BB	AA	19
69	Ff	BB	AA	13
70	Ff	bb	Aa	7
71	Ff	BB	Aa	12
72	Ff	Bb	Aa	10
73	ff	Bb	Aa	3
74	Ff	Bb	Aa	10
75	FF	Bb	Aa	18
76	ff	Bb	Aa	3
77	FF	bb	Aa	15
78	Ff	bb	Aa	7
79	FF	BB	AA	19
80	FF	bb	Aa	15
81	Ff	BB	AA	13
82	FF	Bb	Aa	18
83	FF	bb	Aa	15
84	Ff	Bb	Aa	10
85	Ff	bb	Aa	7
86	Ff	bb	Aa	7
87	FF	BB	AA	19
88	FF	BB	Aa	18
89	ff	BB	AA	5
90	FF	bb	Aa	15
91	Ff	bb	aa	6
92	Ff	bb	Aa	7
93	Ff	bb	Aa	7
94	Ff	bb	aa	6
95	Ff	bb	aa	6
96	FF	bb	Aa	15
97	FF	bb	Aa	15
98	FF	Bb	Aa	18
99	Ff	BB	AA	13
100	ff	bb	Aa	1
101	Ff	bb	Aa	7
102	FF	bb	Aa	15

Ek 2 Kontrollerde saptanan VDR Polimorfizmleri

Olgu No	Fok I	Bsm I	Apa I	Haplotip No	Olgu No	Fok I	Bsm I	Apa I	Haplotip No
1	Ff	bb	Aa	7	52	Ff	BB	AA	13
2	FF	Bb	Aa	18	53	FF	Bb	Aa	18
3	ff	BB	AA	5	54	Ff	Bb	AA	11
4	Ff	bb	Aa	7	55	FF	Bb	Aa	18
5	Ff	bb	Aa	7	56	FF	BB	AA	19
6	Ff	BB	Aa	12	57	Ff	bb	Aa	7
7	ff	BB	AA	5	58	Ff	bb	Aa	7
8	Ff	bb	Aa	7	59	FF	BB	AA	19
9	FF	Bb	Aa	18	60	Ff	bb	Aa	7
10	FF	bb	Aa	15	61	FF	Bb	Aa	18
11	Ff	BB	AA	13	62	Ff	bb	aa	6
12	Ff	BB	AA	13	63	FF	bb	Aa	15
13	FF	BB	AA	19	64	Ff	bb	Aa	7
14	Ff	bb	Aa	7	65	FF	BB	AA	19
15	ff	BB	Aa	4	66	Ff	Bb	Aa	10
16	Ff	bb	Aa	7	67	Ff	Bb	AA	11
17	Ff	BB	AA	13	68	Ff	bb	Aa	7
18	Ff	BB	AA	13	69	FF	bb	AA	16
19	FF	bb	AA	16	70	FF	Bb	Aa	18
20	Ff	Bb	aa	9	71	Ff	BB	AA	13
21	FF	bb	Aa	15	72	FF	Bb	Aa	18
22	FF	Bb	aa	17	73	ff	bb	Aa	1
23	ff	Bb	Aa	3	74	ff	bb	Aa	1
24	Ff	bb	Aa	7	75	Ff	Bb	Aa	10
25	FF	bb	Aa	15	76	FF	bb	AA	16
26	Ff	BB	AA	13	77	FF	BB	AA	19
27	Ff	bb	aa	6	78	Ff	Bb	Aa	10
28	FF	Bb	Aa	18	79	Ff	BB	AA	13
29	Ff	bb	AA	8	80	FF	bb	Aa	15
30	FF	bb	Aa	15	81	ff	bb	Aa	1
31	Ff	BB	AA	13	82	ff	bb	Aa	1
32	Ff	bb	Aa	7	83	FF	bb	Aa	15
33	FF	BB	AA	19	84	Ff	Bb	Aa	10
34	ff	bb	AA	2	85	FF	BB	AA	19
35	Ff	BB	AA	13	86	FF	bb	Aa	15
36	FF	Bb	Aa	18	87	Ff	BB	AA	13
37	FF	BB	AA	19	88	FF	bb	Aa	15
38	Ff	bb	Aa	7	89	FF	Bb	Aa	18
39	Ff	BB	AA	13	90	Ff	bb	AA	8
40	FF	bb	AA	16	91	FF	Bb	Aa	18
41	Ff	BB	Aa	12	92	ff	BB	AA	5
42	Ff	Bb	Aa	10	93	Ff	bb	Aa	7
43	ff	Bb	Aa	3	94	FF	BB	AA	19
44	Ff	Bb	Aa	10	95	FF	bb	Aa	15
45	Ff	bb	Aa	7	96	FF	BB	AA	19
46	Ff	Bb	Aa	10	97	Ff	BB	Aa	12
47	ff	Bb	Aa	3	98	Ff	BB	AA	13
48	FF	bb	Aa	15	99	FF	BB	AA	19
49	Ff	Bb	Aa	10	100	FF	Bb	Aa	18
50	Ff	bb	Aa	7	101	Ff	Bb	Aa	10
51	FF	bb	Aa	15	102	Ff	Bb	AA	11

Ek 3 VDR Gen Bigisi

Genin adı VDR: vitamin D (1,25- dihydroxyvitamin D3) reseptör
Lokus ID: 7421

UniGene: Hs2062

OMIM 601769

Sitogenetik Lokus: 12q12-q14

Gen büyüklüğü: 46.5Mb

Exon sayısı : 10

mRNA uzunluğu: 4604bp

Amino asit sayısı: 426aa

Kaynak Klonları:

Genomik: NT 029419

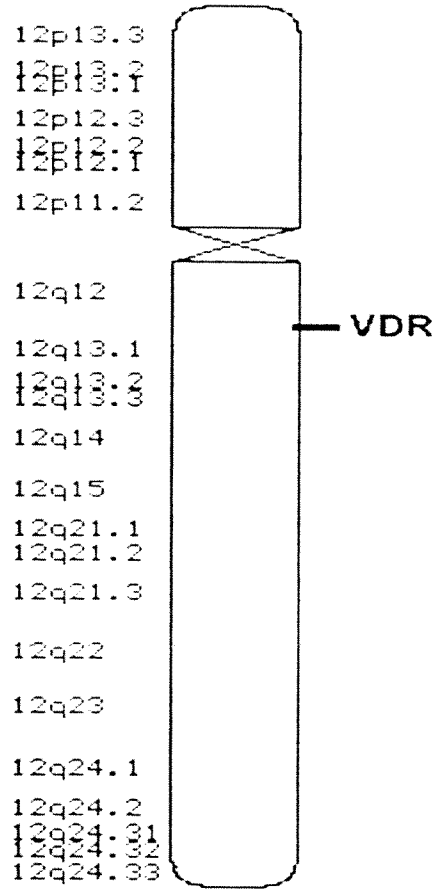
mRNA: NM 000376

Protein: NP 000367

Ekson No.	Ekson / Intron	Krm ²	İplik	Başlama ³	Sonlanma ³	Uzunluk
1	ENSE00001354640 ¹	12	-1	46585005	46585036	32 bç
	Intron 1-2	12	-1	46562825	46585004	22180 bç
2	ENSE00001354497	12	-1	46562744	46562824	81 bç
	Intron 2-3	12	-1	46559166	46562743	3578 bç
3	ENSE00000888048	12	-1	46559018	46559165	148 bç
	Intron 3-4	12	-1	46545228	46559017	13790 bç
4	ENSE00000738168	12	-1	46545097	46545227	131 bç
	Intron 4-5	12	-1	46537739	46545096	7358 bç
5	ENSE00000738167	12	-1	46537554	46537738	185 bç
	Intron 5-6	12	-1	46537300	46537553	254 bç
6	ENSE00000738166	12	-1	46537179	46537299	121 bç
	Intron 6-7	12	-1	46535852	46537178	1327 bç
7	ENSE00000738165	12	-1	46535680	46535851	172 bç
	Intron 7-8	12	-1	46526859	46535679	8821 bç
8	ENSE00000738164	12	-1	46526707	46526858	152 bç
	Intron 8-9	12	-1	46526502	46526706	205 bç
9	ENSE00000738163	12	-1	46526385	46526501	117 bç
	Intron 9-10	12	-1	46525056	46526384	1329 bç
10	ENSE00000888047	12	-1	46521589	46525055	3467 bç

1: Ensembl Transcript ID; 2: Kromozom numarası; 3: Klonladığı vektördeki (1) nükleotid sıra numarası.

Ek 4 VDR Geni Kromozomal Yerleşimi



Ek 5 VDR Amino Asit Sekansi:

"MEAMAASTSLPDPGDEFDRNVPRICGVCGDRATGFHFNAMTCEGC
KGFRRSMKRKALFTCPFNGDCRITKDNRRHCQACRLKRCVDIGMMKEFILTDEEVQR
KREMILKRKEEEALKDSLRLPCLSEEQQRIIAILLDAHHKTYDPTYSDFCQFRPPVRVN
DGGGSHPSRPNRHTPSFSGDSSSSCSHCITSSDMMSSSFSNLDLSEEDSDDPSVT
LELSQLSMLPHLADLVSYISIQKVIKFAKMI PGFRDLTSEDQIVLLKSSAIEVIMLRN
ESFTMDDMSWTCGNQDYKYRVSDVTKAGHSLELIEPLIKFQVGLKKNLHEEEHVLLM
AICIVSPDRPGVQDAALIEAIQDRLSNTLQTYIRCRHPPPGSHLLYAKMIQKLADLRS
LNEESKQYRCLSFQPECSMKLTPLVLEVFGNEIS"

Ek 6 VDR Geni mRNA Sekansi:

```

1 gaaacagctt gtccacccgc cggccggacc agaagccttt ggtcttgaag tgtctgtgag
61 acctcacaga agagcaccce tgggctccac ttacctgccc cctgctcctt cagggatgga
121 ggcaatggcg gccagcactt ccttgccctga ccttgagac tttgaccgga acgtgccccg
181 gatctgtggg gtgtgtggag accgagccac tggctttcac tcaatgcta tgacctgtga
241 aggctgcaaa ggcttcttca ggccaagcat gaagcgggaag gcaactattca cctgcccctt
301 caacggggac tggccatca ccaaggacaa ccgacgccac tgccaggcct gccggctcaa
361 acgctgtgtg gacatcggca tgatgaagga gttcattctg acagatgagg aagtgcagag
421 gaagcgggag atgatcctga agcgggaagga ggaggaggcc ttgaaggaca gtctgcccgc
481 caagetgtct gaggagcagc agcgcacatc tgccatactg ctggacgcc accataagac
541 ctacgacccc acctactccg acttctgcca gttccggcct ccagttcctg tgaatgatgg
601 tggaggggagc cactcttcca ggcccaactc cagacacact cccagcttct ctggggactc
661 ctctctctcc tgetcagatc actgtatcac ctctcagac atgatggact cgtccagctt
721 ctccaatctg gatctgagtg aagaagattc agatgacctt totgtgacct tagagctgtc
781 ccagctctcc atgctgcccc acctggctga cctggctcagt tacagcatcc aaaaggctcat
841 tggctttgct aagatgatac caggattcag agacctcacc totgaggacc agatcgtact
901 gctgaagtea agtgccattg aggtcatcat gttgcgctcc aatgagctct tcaccatgga
961 cgacatgtcc tggacctgtg gcaaccaaga ctacaagtac cgcgtcagtg acgtgaccaa
1021 agccggacac agcctggagc tgattgagcc cctcatcaag ttccagggtg gactgaagaa
1081 gctgaacttg catgaggagg agcatgtcct gctcatggcc atctgcatcg tctcccaga
1141 tctcctggg gtgcaggagc ccgctctgat tgagccatc caggaccgcc tgtccaacac
1201 actgcagacg tacatccgct gccgccccc gcccccgggc agccacctgc totatgcaa
1261 gatgatccag aagctagccg acctgcagc cctcaatgag gacactcca agcagtaccg
1321 ctgctctctc tccagcctg agtgcagcat gaagtaacg ccccttgtgc tccaagtgtt
1381 tggcaatgag atctctgac taggacagcc tgtgoggtgc ctgggtgggg ctgctctctc
1441 agggccacgt gccaggcccg gggctggcgg ctactcagca gccctctca cccgtctggg
1501 gttcagcccc tctctgcca cctcccctat ccaccagcc cattctctct cctgtccaac
1561 ctaaccctt tctgcccggc ttttcccggg tcccttgaga cctcagccat gaggagtgtc
1621 tgtttgtttg acaaagaaac ccaagtgggg gcagagggca gaggctggag gcaggccttg
1681 cccagagatg cctcccaccg tgccaaagtg gctgctgact gatgtgagg gaacagacag
1741 gagaaatgca tccattctc agggacagag acacctgcac ctccccccac tgcaggcccc
1801 gcttgtccag cgcctagtgg ggtctccctc tctgctta ctacgataa ataatcgccc
1861 cacagctccc accccacccc cttcagtgcc caccaacatc ccattgccc gggtatattc
1921 tcaacgggag tagctgtggt gagggtgggt ttcttcccat cactggagca ccaggcacga
1981 acccacctgc tgagagacc aaggaggaaa aacagacaaa aacagcctca cagaagaata
2041 tgacagctgt cctctcacc aagctcacag ttctctgccc tgggtctaag gggttggttg
2101 aggtggaagc cctccttcca cggatccatg tagcaggact gaattgtccc cagtttgag
2161 aaaagcacct gccgaacctg tctccccct gccagtgct tacctctgc ccaggagagc
2221 cagccctccc tgtctctctc ggatcaccca gagtgcga gagcctgct cccaccccc
2281 tccccagggg agagggctct gagaagcagt gagccgcatc ttctccatct ggcagggtg
2341 gatggaggag aagaattttc agaccccagc ggctgagtca tgatctcct gccgctcaa
2401 tgtggttgca aggccgctgt tcaccacagg gctaagagct aggtgccgc accccagagt
2461 gtgggaaggg agagcggggc agtctcgggt ggctagttag agagagtgt tgggggttc
2521 gtgatgtagg gtaaggtgcc ttcttattct cactccacca cccaaaagtc aaaaggtgcc
2581 tgtgaggcag gggcggagtg atacaacttc aagtgcagtc tctctgcagg tcgagcccag
2641 cccagctggt gggaaagcgtc tgtccgttta ctccaagggt ggtctttgtg agagtgagct
2701 gtagggtgtc gggaccggta cagaaaggcg ttcttcgagg tggatcacag aggtctctc
2761 agatcaatgc ttgagtttgg aatcggccgc attcctgag tcaccaggaa tghtaaagtc
2821 agtgggaacg tgactgccc aactcctgga agctgtgtcc ttgcaacctg atccgtagtt
2881 cctgaaaac ccagagagga atcagacttc acactgcaag agccttggtg tccacctgga
2941 cccatgtctc tcagaattct tcaggtggaa aaacatctga aagccagctt ccttactgca
3001 gaatagcata tatatcgtt aatcttaaat ttattagata tgagtgttt tcagactcag
3061 actccatttg tattatagtc taatatacag ggtagcaggt accactgatt tggagatatt
3121 tatgggggga gaactacat tgtgaaactc ctgtacatta attattattg ctgttgttat
3181 tttacaaggg tctagggaga gacccttgtt tgattttagc tgcagaactg tattgggtcca
3241 gcttgcctct cagtgggaga aaaacacttg taagttgcta aacgagtc aa tcccctcatt
3301 caggaaaact gacagaggag ggcgtgactc acccaagcca tatataacta gctagaagtg

```

3361 ggccaggaca ggccggggcgc ggtggctcac gcctgtaatc ccagcagttt gggaggtcga
 3421 ggtaggtgga tcacctgagg tcgggagttc gagaccaacc tgaccaacat ggagaaacc
 3481 tgtctctatt aaaaatacaa aaaaaaaaaa aaaaaaaatc agccgggcat ggtggcgcaa
 3541 gcctgtaatc ccagctactc aggaggctga ggcagaagaa ttgaaccag gaggtggagg
 3601 ttgcagtgag ctgagatcgt gccgttactc tccaacctgg acaacaagag cgaaactccg
 3661 tcttagaagt ggaccaggac aggaccagat tttggagtoa tggtcgggtg tccctttcac
 3721 tacaccatgt ttgagctcag acccccactc tcattcccca ggtggtgac ccagtcctg
 3781 ggggaagccc tggatttcag aaagagccaa gtctggatct gggaccttt ccttctctc
 3841 ctggcttgta actccaccaa gcccatcaga aggagaagga aggagactca cctctgctc
 3901 aatgtgaatc agaccctacc ccaccacgat gtgcccggc tgetgggctc tccacctcag
 3961 gccttgata atgctgttgc ctcatctata acatgcattt gtctttgtaa tgtcaccacc
 4021 tccccagctc tccctctggc cctgcttctt cggggaactc ctgaaatata agttactcag
 4081 ccttgggccc caccacctag gccactcctc caaaggaggt ctaggagctg ggaggaaaag
 4141 aaaagagggg aaaatgagtt tttatggggc tgaacgggga gaaaaggta tcatcgattc
 4201 tactttagaa tgagagtgtg aaatagacat ttgtaaatgt aaaactttta aggtatatca
 4261 ttataactga aggagaaggt gccccaaaat gcaagatttt ccacaagatt ccagagaca
 4321 ggaaaatcct ctggctggct aactggaagc atgtaggaga atccaagcga ggtcaacaga
 4381 gaaggcagga atgtgtggca gatttagtga aagctagaga tatggcagcg aaaggatgta
 4441 aacagtgcct gctgaatgat ttccaaagag aaaaaagtt tgccagaagt ttgtcaagtc
 4501 aaccaatgta gaaagctttg cttatggtaa taaaaatggc tcatacttat atagcactta
 4561 ctttgtttgc aagtactgct gtaaataaat gctttaagca aacc

PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Kodu: SBAG-2571
Proje Başlığı: Psoriasis ve VitaminD Reseptör Gen Polimorfizmlerinin Aralarındaki Muhtemel İlişkilerin Araştırılması
Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Yrd Doç Dr İbrahim Açıkbaş Yrd Doç Dr Berna Şanlı Erdoğan Yrd Doç Dr Şeniz Ergin Doç Dr Şebnem Aktan Prof Dr Hüseyin Bağcı
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD ve PAMGEN
Morfoloji Binası Kınıklı Kampüsü, Denizli
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: TÜBİTAK-SBAG Atatürk Bulvarı No:221 Kavaklıdere ANKARA
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 1 Eylül 2002- 31 Ocak 2004
Öz (en çok 70 kelime): Psoriasis, epidermal proliferasyonda artma ve diferansiyasyonda bozulma ile karakterize bir hastalıktır. Vitamin D'nin hem topikal, hem de oral kullanımlarının psoriasis tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bazı hastalar vitamin D tedavisine dirençlidir. Bu çalışmada yüz iki psoriasis olgusu ve 102 kontrolde <i>Apa I</i>, <i>Bsm I</i>, <i>Fok I</i> ve <i>Taq I</i> polimorfizmleri araştırıldı. VDR polimorfizmi ile vitamin D tedavisine yanıt arasında bir ilişki saptanmadı. Ancak, Aa ve bb genotiplerinin erken başlama yaşı ile ilişkili olduğu, FfBbAa haplotipinin psoriasis hastalarında sağlıklı bireylere göre daha yüksek sıklıkta olduğu bulundu.
Anahtar Kelimeler: Psoriasis, Vitamin D, VDR, Polimorfizm, Gen, PCR, SNP, RFLP.
Projeden Kaynaklanan Yayınlar: İbrahim Açıkbaş, Berna Şanlı Erdoğan, Şeniz Ergin, Hüseyin Bağcı. Psoriasis ile Vitamin D Reseptör Geninin <i>Fok I</i> Polimorfizmi Arasındaki İlişki. VIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 14-17 Ekim 2003, Adana. (Poster)
Bilim Dalı: Tıbbi Biyoloji <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Doçentlik Bilim Dalı Kodu: 1055.1