

**T.C.**  
**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ÇOCUK ÇÖLYAK HASTALARINDA HLA DQB1 VE IL-17  
POLİMORFİZMLERİNİN SAPTANMASI**

**ASLI ELDEM**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN:**  
**Doç.Dr. Tülay K. AYNA**

**2019- İZMİR**

ASLI ELDEM

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2019



**T.C.**  
**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ÇOCUK ÇÖLYAK HASTALARINDA HLA DQB1 VE IL-17  
POLİMORFİZMLERİNİN SAPTANMASI**

**ASLI ELDEM**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN:**  
**Doç.Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA**

**Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2018-TYL-SABE-0055 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**2019-İZMİR**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü'ne

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

25/07/2019

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Tülay K. AYNA İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Üye:

Prof. Dr. İbrahim PİRİM İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Üye:

Prof. Dr.Sırrı ÇAM Manisa Celal Bayar Üniversitesi

ONAY: Bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

(İMZA)

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ahmet KOYU

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

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

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

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

- Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)**

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

- Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

İmza

ASLI ELDEM

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Tez Danışmanım Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmir Katip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

İmza

ASLI ELDEM

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimde başından sonuna kadar desteği esirgemeyen tecrübeleriyle bana yön veren kendimi geliştirmemde büyük katkısı olan değerli danışmanım Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA'ya değerli hocalarım Prof. Dr. İbrahim PİRİM'e, Doç. Dr. Mustafa SOYÖZ'e ve Dr. Öğr. Üyesi Melek PEHLİVAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazımda her türlü yardımını esirgemeyen başta H. İlayhan Karahan olmak üzere tüm Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Tepecik Eğitim ve Araştırma hastanesi çocuk gastroenteroloji aynı zamanda İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi tıp fakültesi çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanı Prof. Dr. Maşallah BARAN'a örneklerimin toplanması aşamasında yardımcı olmasından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Koordinatörlüğünce (İKÇÜ BAP) yüksek lisans tez desteği verilmiştir. Bu destekten dolayı desteği veren kuruma teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans dönemim boyunca ve zorlu tez yazım sürecimde maddi manevi tüm desteğini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

## ÖZET

### ÇOCUK ÇÖLYAK HASTALARINDA HLA DQB1 VE IL-17 POLİMORFİZMLERİNİN SAPTANMASI

ELDEM ASLI

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

İzmir, 2019

**Giriş ve Amaç:** Çölyak hastalığı, gluten alımı ve genetik yatkınlık ile ortaya çıkan ve ince bağırsağın hasarına yol açan enteropatidir. Klinik olarak tek tedavi yöntemi gluten diyeti olarak bilinmektedir. Bağırsak mukozasından yapılan biyopsi, lenfosit artışı ve villilerin içine gömülü olan keselerde aşırı çoğalma (kript hiperplazisi) tanı konulmasında önemlidir. Bunun yanı sıra serolojik testler ve HLA tiplleme testi de tanı konulmasına destek sağlar. Hastalarda HLA DQ2 ve DQB1\*03:02 genlerinin çok sıklıkla görüldüğü bilinmektedir. Ayrıca çölyak hastalarının bağırsak mukozası glutene maruz kaldığında immün yanıt sırasında meydana gelen bazı sitokinler (interlökin, interferon gibi) sınıf II moleküllerin hücre yüzeyindeki ekspresyonunda artış görülmektedir. Çalışmamızda hasta ve sağlıklı kontrol grubunda HLA DQ ve IL-17 polimorfizmleri araştırılmış çölyak hastalığıyla ilişkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Düşük çözünürlüklü HLA DQB1 ve DQA1 polimorfizmleri bilinen 125 çocuk çölyak hastası ve 100 sağlıklı kontrolün polimeraz zincir reaksiyonlu restriksiyon (parça) polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile IL-17(IL-17A) genindeki tek nükleotit polimorfizmleri araştırıldı. Ayrıca çalışma grubundaki 25 hastanın yüksek çözünürlüklü HL-DQB1 polimorfizmi Sanger dizileme yöntemi ile belirlenerek sonuçlar kontroller ile karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Hasta ve kontrol grubunun düşük çözünürlüklü HLA DQB1 ve DQA1 sonuçları karşılaştırıldığında DQB1\*02 ve DQA1\*05 hastalarda kontrollerden istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksekti ( $p<0,05$ ). IL-17 genindeki rs2275913



polimorfizmi araştırıldığında hasta ve kontrol arasında GA, GG genotipi anlamlı derecede farklıydı ( $p<0,05$ ). Bu genotiplerde relatif risk de yüksek bulundu. Yani hastalık açısından hastalarda G ve A allellerinin bulunması risk oluşturmaktadır. Ayrıca HLA DQ analizinde ise hasta grubunda en fazla bulunan HLA DQB1\*02'nin alt allelerinden de DQB1\*02:01 en yüksek frekansa sahipti. Kontrol grubunda ise DQB1\*03:01 yüksek frekansa sahipti. Böylece hasta ve kontrol gruplarındaki frekanslarının istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Ülkemizde çölyak hastalığı sıklığı bölgesel olarak farklılık göstermektedir. Bu tez çalışmasında İzmir bölgesindeki çocuk çölyak hastalarının düşük çözünürlüklü HLA DQB1 - DQA1 ve yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 polimorfizmleri araştırılmıştır. Her iki grupta da hastalarda risk alleller önemli oranda yüksek frekanstaydı. IL-17A polimorfizm çalışmamızda ise hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olan genotipler saptandı. Bu tez çalışmasında elde edilen veriler, hücresel otoimmün hastalıklarda rol oynayan T hücre sitokinlerinden birisi olan IL-17A'nın çölyak hastalığının patogeneğinde rol alabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Çölyak Hastalığı, Gluten, HLA DQ polimorfizm, IL-17A Polimorfizm

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF HLA DQB1 AND IL-17 POLYMORPHISMS IN CHILDREN CELIAC PATIENTS

ELDEM ASLI

MSc in Medical Biology and Genetic

İzmir, 2019

**Introduction and Purpose:** Celiac disease is enteropathy, which is associated with gluten uptake and genetic predisposition and leads to damage to the small intestine. Clinically, the only treatment method is known as gluten diet. Biopsy from the intestinal mucosa is significant in the diagnosis of increase lymphocyte and the proliferation of vesicles embedded in the villi (crypt hyperplasia).

In addition, serological tests and HLA typing test support the diagnosis. It is known that HLA DQ2 and DQB \* 03: 02 genes are very common in patients. In addition, when the intestinal mucosa of celiac patients is exposed to gluten, some cytokines (such as interleukin, interferon) that occur during the immune response increase in cell surface expression of class II molecules. The aim of this study was to investigate the relationship between celiac disease and HLA DQ and IL-17 polymorphisms in patients and healthy controls.

**Materials and Methods:** The single nucleotide polymorphisms in IL-17(IL-17A) gene were investigated by polymerase chain reaction restriction polymorphism (PCR-RFLP) method in 125 pediatric celiac patients and 100 healthy controls with known low resolution HLA DQB1 and DQA1 polymorphisms.

In addition, high resolution HLA DQB1 polymorphism of 25 patients in the study group was determined by Sanger sequencing method and results were compared with the controls.

**Findings:** When the low resolution HLA DQB1 and DQA1 results of patient and control groups compared the DQB1\*02 and DQA1\*05 patients were statistically significantly, higher than the controls. When the polymorphism of rs2275913 in the IL-17A gene was investigated, the GA, GG genotype was significantly different between the patient and control ( $p < 0.05$ ). In other words, the presence of G and A alleles poses a risk for the disease. These genotypes were found to be high at relative risk.

In our HLA DQ analysis, DQB1 \* 02: 01 had the highest frequency of the lower alleles of the HLA DQB1 \* 02 which was the most common in the patient group. In the control group, DQB1 \* 03: 01 had a high frequency. Thus, it was determined that the frequencies of the patients and control groups were statistically significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Result:** The prevalence of celiac disease in our country varies regionally. In this study low-resolution HLA DQB1-DQA1 and high-resolution HLA DQB1 polymorphisms of pediatric celiac patients were investigated in İzmir region. The risk alleles were significantly higher in both groups. In our IL-17A polymorphism study, genotypes were found to be statistically significant compared to the control group. The data obtained in this thesis suggest that IL-17A, one of the T cell cytokines involved in cellular autoimmune diseases, may play a role in the pathogenesis of celiac disease.

**Keywords:** Celiac Disease, Gluten, HLA DQ polymorphism, IL-17 polymorphism

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay Sayfası.....	i
Yayımlama ve Fikri Mülkiyet Hakları Beyanı.....	ii
Etik Beyan.....	iii
Teşekkür.....	iv
Özet.....	v
Abstract.....	vii
İçindekiler.....	ix
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	xi
Şekiller Dizini.....	xiii
Tablolar Dizini.....	xv
<b>1.GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİ.....</b>	<b>3</b>
2.1.Çölyak Hastalığı.....	3
2.1.1.Tarihçe.....	3
2.1.2.Çölyak Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3.Etyopatogenez:.....	4
2.1.3.1.Yaş ve Cinsiyet:.....	4
2.1.3.2.Çevresel Faktörler:.....	4
2.1.3.2.1.Anne Sütü:.....	4
2.1.3.2.2.Gluten.....	4
2.1.3.3.Enfeksiyöz Faktörler.....	6
2.1.4.Mukozal Histoloji.....	6
2.1.5.Ekstrasellüler Matrix.....	7
2.1.6.Çölyak Hastalığının Çeşitleri.....	7
2.1.6.1. Klasik Form:.....	7
2.1.6.2.Atipik Form:.....	8
2.1.6.3.Sessiz Form (Asemptomatik):.....	8
2.1.6.4.Refrakter Form:.....	8
2.1.6.5. Latent Form:.....	8
2.1.7. Çölyak Hastalığının Tanısındaki Testler.....	8
2.2 Çölyak ve Genetik.....	9
2.2.1.İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigen -HLA).....	9
2.2.1.1.İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigen -HLA) İsimlendirme	10
2.2.2. HLA DQ ve Çölyak Hastalığı.....	11
2.2.3.Non -HLA Genler.....	16
2.3.Çölyak Hastalığı ve İmmün Sistem.....	16
2.3.1.Sitokinler.....	20
2.3.1.1.İnterlökin (IL) -17.....	21
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>25</b>

3.1.Araştırmanın Tipi .....	25
3.2.Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	25
3.3.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi .....	25
3.4.Çalışma Materyali .....	25
3.5. Araştırmanın Değişkenleri .....	25
3.6. Veri Toplama Araçları .....	26
3.6.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler .....	26
3.6.2. Deneysel Çalışmalar .....	26
3.6.2.1. DNA İzolasyonu.....	27
3.6.2.2.Nanodropta Ölçüm.....	28
3.6.2.3.Sekansa Spesifik Oligonükleotit Prob (SSOP) .....	28
3.6.2.4.Polimeraz Zincir Reaksiyon Tabanlı Yüksek Çözünürlüklü Sekans Bazlı Tipleme – SBT .....	28
3.6.2.4.1 HLA DQB1 Lokusunun Amplifikasyonu .....	29
3.6.2.4.2. Exo-Sap Aşaması .....	30
3.6.2.4.3. Sekans Aşaması.....	30
3.6.2.4.4. Sephadex İle Süzdürme.....	31
3.6.2.4.5. Sekans Analizi.....	32
3.6.2.5.Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi) .....	33
3.6.2.5.1. Primer Tasarımı:.....	34
3.6.2.5.2. PCR Şartları .....	34
3.6.2.5.3. Kesim Reaksiyonu: .....	34
3.6.2.5.4 Jel Görüntüsünü Değerlendirme .....	34
3.7. Araştırma Planı ve Takvimi .....	35
3.8.İstatistiksel Analiz.....	36
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları .....	36
3.10. Etik Kurul Onayı .....	36
<b>4.BULGULAR</b> .....	<b>37</b>
<b>5.TARTIŞMA</b> .....	<b>50</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>59</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>68</b>

## **Simgeler ve Kısaltmalar Dizini**

ÇH: Çölyak Hastalığı

NK: Doğal Öldürücü

Th: T Helper

HLA: İnsan Lökosit Antijenleri

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SSO: Sekansa Spesifik Oligonükleotit

RFLP: Sınırlama Parçası Uzunluk Polimorfizmi

MMP: Matris Metalloproteinazlar

IL: İnterlökin

ECM: Hücre Dışı Matriks

ELISA : Enzim ile ilişkili immünolojik test

tTG: Doku transglutaminaz

AGA: Anti-gliadin antikor

AGA IgA: Anti-gliadin antikor IgA

AGG IgG: Anti gliadin antikor IgG

$\alpha$ : Alfa

$\beta$ : Beta

GWAS: Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi

CTLA: Sitotoksik T Lenfosit İle İlişkili Protein

MHC: Büyük Doku Uyumluluk Kompleksi

TAGAP: T hücre aktivasyonu RhoGTPaz aktive edici protein

LPP: Lipoma Preferred Partner

LNK: Lenfosit Spesifik Adapter Protein

IGM ve IGD: İmmüoglobulin M ve İmmüoglobulin D

TEER: Transepitelyal Elektriksel Rezistans

IEL: İntraepitelyal lenfosit

M hücre: Membranöz epitel hücre

CXCR: C-X-C Motif Kemokin Reseptörü

MS: Multiple sclerosis

EAE: Deneysel Otoimmün Ensefalomili

GCSF: Granülosit koloni tetikleyici faktör

ICAM: İntrasellüler Adezyon Molekül

NFAT: Aktif T Hücrelerinin Nükleer Faktörü

TGF-  $\beta$ : Transforme edici büyüme faktörü  $\beta$

Foxp3: Forkhead box p3

$\gamma$ : Gama

CNS: Kodlayıcı Olmayan Sekans

Treg: Regülatör T hücre

TCR: T hücre Reseptörü

BCR: B hücre Reseptörü

ROR: Related Orphan Receptor

SBT: Sekans Temelli Tiplendirme

İBH: İnflamatuvar bağırsak hastalıkları

aa: Aminoasit

ESPGHAN: European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition –Çocuk Gastroenteroloji Hepatoloji ve Beslenme Derneği

UTR: untranslated region

bp: base pair

Da: Dalton

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1:</b> HLA DQ adlandırması .....	11
<b>Şekil 2:</b> Çölyak hastalığında DQ2 ve DQ8 geçişleri ve riskleri.....	12
<b>Şekil 3:</b> DQA1 ve DQB1 allellerinin farklı kombinasyonları tarafından kodlanan DQ heterodimerlerinde çölyak hastalığı riski .....	13
<b>Şekil 4:</b> DQ2.2 DQ2.5 DQ8 allellerinin gluten motiflerine bağlanması .....	15
<b>Şekil 5:</b> Mukozal bağışıklık sistemi hücreleri .....	17
<b>Şekil 6:</b> MHC Class II antijen sunumu .....	19
<b>Şekil 7:</b> T Hücre Farklılaşması .....	20
<b>Şekil 8:</b> IL-17A geninin kromozom üzerinde gösterimi.....	21
<b>Şekil 9:</b> IL-17 Geni .....	22
<b>Şekil 10:</b> XmnI enziminin kesimi.....	24
<b>Şekil 11:</b> Yüksek çözünürlüklü sekans çalışması akış şeması.....	27
<b>Şekil 12:</b> IL-17 Polimorfizmi Çalışması akış şeması .....	27
<b>Şekil 13:</b> IUPAC-IUB Kod.....	32
<b>Şekil 14:</b> Yüksek çözünürlüklü sekans çalışmamızda homozigot çıkan bir hastanın HLA DQB1 analizi.....	33
<b>Şekil.15 a)</b> XmnI enzimi ile kesilmiş kontrol grubu IL17A geni jel görüntüsü .....	35
<b>Şekil.15 b)</b> XmnI enzimi ile kesilmiş hasta grubu IL17A geni jel görüntüsü.....	35
<b>Şekil.16</b> Hasta grubu yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 allel frekansı.....	39
<b>Şekil.17</b> Kontrol grubu yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 allel frekansı.....	39
<b>Şekil.18</b> Hasta ve kontrol grubunda HLA DQB1*02 ve DQB1*03'ün alt allelleri.....	40
<b>Şekil.19</b> Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet frekansları .....	41



<b>Şekil.20</b> Hastaların marsh evreleri.....	41
<b>Şekil.21</b> Hasta ve kontrol gruplarındaki HLA DQB1 allel frekansları.....	42
<b>Şekil.22</b> Hasta ve Kontrol gruplarındaki HLA DQA1 düşük çözünürlüklü allel frekansları.....	42
<b>Şekil.23</b> Çölyak hastalarında bulunan diğer hastalıklar.....	44
<b>Şekil.24</b> Hasta ve kontrol grubunda en çok görülen HLA DQB1-DQA1-DRB1 haplotip frekansları.....	44
<b>Şekil.25</b> Hastaların marsh evrelerine göre genotip frekansları.....	48

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> IL-17 reseptör ailesi .....	22
<b>Tablo 2:</b> Çalışmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler .....	26
<b>Tablo 3:</b> Amplifikasyon basamağında kullanılan malzemeler ve miktarlar. ....	29
<b>Tablo 4:</b> Amplifikasyon basamağı PCR protokolü.....	29
<b>Tablo 5:</b> EXO-SAP basamağında kullanılan malzemeler ve miktarlar .....	30
<b>Tablo 6:</b> EXO-SAP basamağı PCR protokolü. ....	30
<b>Tablo 7:</b> Sekans basamağında kullanılan malzemeler ve miktarları.....	31
<b>Tablo 8:</b> Sekans basamağı PCR protokolü.....	31
<b>Tablo 9:</b> IUPAC adlandırma ve anlamları. ....	32
<b>Tablo 10:</b> IL-17 için kullanılan primer dizisi .....	33
<b>Tablo 11:</b> İlk PCR reaksiyonunda kullanılan malzemeler ve miktarları.....	34
<b>Tablo 12:</b> Kesim reaksiyonunda kullanılan malzemeler ve miktarları.....	34
<b>Tablo 13:</b> İş akış şeması .....	35
<b>Tablo 14:</b> HLA DQB1 alt allel çalışmasındaki çölyak hastalarının demografik bilgileri, klinik bulguları.....	38
<b>Tablo 15:</b> IL-17A polimorfizmi araştırılan kontrol ve hasta grubu arasındaki cinsiyet ve yaş dağılımının karşılaştırılması.....	40
<b>Tablo 16:</b> Enzim seviyelerinin DQ2.2 homozigot olan-olmayan ve DQ2.5 homozigot olan-olmayan ilişkisinin incelenmesi.....	42
<b>Tablo 17:</b> Hasta ve kontrol grubunda HLA DQB1-DQA1-DRB1 haplotiplerinin frekanslarının değerlendirilmesi.....	45
<b>Tablo 18:</b> DQB1*02/B1*02 homozigotluğu ve DQB1*02/A1*05 ile hastalık evrelerinin ilişkisinin değerlendirilmesi.....	45

<b>Tablo 19:</b> Hasta ve kontrol grubunun IL-17 polimorfizm sonuçlarının karşılaştırılması.....	46
<b>Tablo 20:</b> Hasta ve kontrol gruplarının A ve G alel frekansı.....	46
<b>Tablo 21:</b> Enzime spesifik antikor seviyeleri ve IL-17 polimorfizm ilişkisinin incelenmesi.....	47
<b>Tablo 22:</b> Marsh evrelerine göre A ve G alel frekansı.....	48
<b>Tablo 23:</b> Sadece çölyak ve diğer hastalığı olanların genotip ve alel frekansı.....	49

## 1.GİRİŞ

Gluten alımına bağlı olarak ortaya çıkan ölyak hastalığının (H) tam olarak tanımlanması 19. yüzyılın sonunda Samuel Gee tarafından yapılmıştır. Hastalarda genellikle karın ağrısı, ishal, kabızlık ve büyüme geriliği gibi şikâyetler görülür. Çölyak, çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucunda ortaya çıkan multifaktöriyel hastalıktır.

Hastalık ile en güçlü genetik bağlantı Human Lökosit Antijen (HLA) gen bölgesidir. H ile HLA ilişkisini gösteren ilk alışma Falchuk ve Stokes tarafından 1972 de gösterilmiştir. HLA genleri oldukça polimorfiktir. Bu gen bölgesinden kodlanan sınıf II molekülleri antijen sunan hücrelerde (APC), endotel hücrelerde bulunmakta ve hücre dışı kaynaklı peptitlerin CD4<sup>+</sup> yardımcı T hücrelerine (Th) sunumlarında rol oynamaktadır. H'nda bağırsak endotel hücrelerinde de bulunan HLA sınıf II molekülleri tarafından gliadin CD4<sup>+</sup> T hücrelerine sunulmasıyla immün sistem aktivasyonu başlar. Diğer immün sistem hücrelerinin bu bölgeye gelmesiyle endotel hücrelerin haraplanması ve B hücrelerin aktivasyonu ile antikor sentezlenmesi söz konusudur.

Çölyak hastalarında HLA sınıf II moleküllerinden en çok DQB1\*02 DQB1\*03:01 (DQ8 olarak da bilinir) ve DQA1\*05 allellerinin olduğu görülmektedir. Naif CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin aktivasyonu ile mikroçevrenin sitokin, kemokin özelliği veya diğer hücrelerden alınan uyarılarında etkisiyle farklı tipte T hücreleri gelişebilmektedir. CD4<sup>+</sup> Th17 hücrelerinden salgılanan sitokin olan IL'17'nin de H ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Tez alışmamızda İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi ocuk kliniğinde H tanısı almış ve HLA sınıf II tiplene için Doku Tiplene Laboratuvarına başvuran ölyak hastalarının periferik kanından DNA elde edilmiştir.

Yüksek çözünürlüklü sekans analizi (Sequence based typing-SBT) ile HLA DQB1 alt alleleri ve sekansa spesifik oligonükleotit primer (Sequence Specific Primers) (SSOP) yöntemi ile de DQA1 allelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bununla birlikte hastaların IL-17A genindeki tek nükleotit polimorfizmlerinin (SNP) saptanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİ

### 2.1.Çölyak Hastalığı

#### 2.1.1.Tarihçe

ÇH, ince bağırsakta gluten alımıyla ilişkili histopatolojik anormallikler ile karakterize, emilim bozukluğuna sebep olan bir hastalıktır (1,2). Antik Yunan'da Aretaeus tarafından emilim yetersizliği olarak tanımlanmış ancak tam ifadesi İkinci Dünya Savaşı zamanında 19. yüzyılın sonlarına doğru Samuel Gee tarafından belirtilmiştir (3). Hollandalı pediatrist Dicke hastalık belirtilerinin giderek azaldığını fakat savaş bittikten sonra bu belirtilerin yine arttığını gözlemlemiş ve bu durumu savaş döneminde tahıl tüketiminin azalmasıyla ilişkili olduğunu belirtmiştir (3). Paulley, hastalığın intestinal hasarlarını 1954 yılında tanımlamıştır (4). Ferguson tarafından 1975 yılında gliadine karşı ince bağırsakta hücre sel immün yanıt gösterilmiştir (5). 1980'lerden sonra ÇH'nın patogeneziindeki temel genetik, immün ve moleküler mekanizmalar daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır. 1992 yılında MARSH histolojik sınıflaması geliştirilmiştir. Doku transglutaminazın (tTG) enziminin otoantijen olduğu Dietrich tarafından 1997 yılında gösterilmiştir (6).

#### 2.1.2.Çölyak Epidemiyolojisi

Hastalığın epidemiyolojisine bakılacak olursa coğrafi farklılıklar göstermektedir. Batı Avrupa hastalığın en çok görüldüğü bölgedir. Hastalığın görülme sıklığı İskandinav ülkelerinde en yüksek olmak üzere güneye doğru inildikçe azalmaktadır. ÇH'nın Amerika'da görülme sıklığı yaklaşık olarak %1'dir (7). Bu hastaların 60 yaşından sonra tanı alanları %20'sini, çocukluk döneminde tanı alanlar %6'sını oluşturmaktadır. Birinci derece yakınlarında ÇH bulunanlarda hastalığın %10 oranında görülme sıklığı vardır. Akrabalarında hastalığa sahip olanlarda hastalığın görülme sıklığı genel popülasyona oranla daha yüksek olup %2,6-%5,5 arasındadır (8).

### **2.1.3.Etyopatogenez:**

Çölyak hastalığında yaş, cinsiyet, çevresel faktörler, infeksiyöz etkenler ve genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir.

#### **2.1.3.1.Yaş ve Cinsiyet:**

2008 yılında Türkiye’de 1000 çocukta yapılan çalışmada hastalığın 1-18 yaş arasında görülme sıklığı %0,9 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada kadın popülasyonunda hastalığın daha yaygın olduğu görülmüştür (9). Başka bir çalışma, kızlarda erkeklere oranla DQ2/DQ8 (DQB\*02/DQB\*03:01) alellerinin daha sık bulunması nedeniyle ÇH’na kızların daha yatkın olabilecekleri gösterilmiştir (10).

#### **2.1.3.2.Çevresel Faktörler:**

Bebeklik döneminde anne sütünün kısa süreli alımı, glutenli beslenmeye başlanılan yaş ve günlük beslenme alışkanlıkları gluten tüketim miktarı gibi çevresel etmenler genetik faktörlerle bir araya gelince çölyak hastalığını ortaya çıkartmaktadır (11).

##### **2.1.3.2.1.Anne Sütü:**

İlk 4-6 ayda yalnızca anne sütünün kullanımı ve anne sütüne devam ederken ek besinlerin de 4-6 aylarda başlanmasıyla hastalığın sıklığı arasında ters orantılı ilişki bildirilmektedir (12).

##### **2.1.3.2.2.Gluten**

Depo proteinleri polimerik gluteninler ve prolaminler olarak iki kategoride incelenmektedir. Prolaminler yulafta aveninler olarak, buğdayda gliadinler olarak, arpada hordeinler olarak, çavdarda sekalinler olarak ve çölyak hastalarına karşı zararlı olmayan mısırdaki ise zeinler olarak adlandırılmaktadırlar (13). Buğdayda yaklaşık 30 farklı protein türü bulunur fakat bunlardan sadece glutenin ve gliadin, suyla bir araya geldiğinde gluten olarak bilinen sakıza benzeyen hem sert hem esnek olan maddeyi oluşturur. Buğdayda depo proteinlerinin %80 – 85’ini gluten oluşturmaktadır. Nişasta granüllerinin etrafında sürekli bir matriks oluşturan gluten proteinleri endospermde bulunur. Tuzlu su veya suyla gluten proteinleri çözünmemektedir (14).

Çölyak hastalarında gluten ince bağırsak üzerinde etkilidir. Gluten ile beslenen hastalarda villi adı verilen emilimi sağlayan ince bağırsağın iç yüzeyinde bulunan çıkıntılar giderek kısalır, ileri dönemlerinde çıkıntılar tamamıyla ortadan kalkar, bağırsağın iç yüzeyi düzleşir. Villusların yüzeyinde bulunan "kripta" hücreleri ise kalınlaşır. Emilim yapılan yüzey azalarak besin alımını zorlaştırmaktadır. ÇH; buğday gluteni ve diğer tahıllarda bulunan benzer proteinlerin tüketilmesi sonucunda meydana gelen "glutene hassas bağırsak sistemi" adıyla bilinmektedir (15).

Glutenin sindirim sistemine alınmasıyla gastrik ve pankreatik enzimler tarafından sindirime dirençli olan peptitler hücre içi bağlantı noktalarında değişiklik yapıldıktan sonra bağırsak permeabilitesindeki artış sonrasında lamina propiaya (LP) doğru yol alırlar. İntestinal epitel, normal koşullarda, hücrelerarası sıkı bağlantılarıyla, gluten proteinleri gibi makromoleküllerin geçişinin önündeki temel koruyucu bariyerdir. Çölyak hastalarında, parasellüler geçirgenlik artmakta ve hücreler arası sıkı bağlantılarda (tight junction) çözülme olmaktadır. Zonulin bir intestinal peptit olup, ÇH'daki artmış geçirgenlikten sorumlu olduğu düşünülmektedir (16). Glutenin parçalanmasıyla gliadin ve glutenin açığa çıkar. Gliadin, CXCR3 kemokin reseptörüne bağlandığında zonulin intestinal epitelden salınır (17). Protein yapıda olan zonulin 'tight junction' geçirgenliğinden sorumlu olup hastalığın akut döneminde yapısının bozulmasıyla birlikte geçirgenlikteki artışa neden olduğu belirtilmektedir (18). Artan geçirgenlik ile gluten submukozaya geçer. Lümene salınan zonulin yüzey reseptörüne bağlanması sonucunda protein kinaz C'nin aktifleştiği ve 'tight junction'ın yapısal proteinleri ile bağlantılı olan, epitelyal geçirgenliği düzenleyen hücre içi aktin filamentlerinin polimerizasyonun arttığı gösterilmiştir. Bağırsak epitel geçirgenliğindeki artış olması çölyak hastalığının diğer otoimmün hastalıklarla birlikte görülme ihtimalinin yüksek olduğunu düşündürmektedir (19). Glutene karşı duyarlı olan hastalar glutensiz diyet yaptığında %90 oranında iyileşme görülmektedir. İyileşmenin tam olarak görülmesi 2 yılı bulabilmektedir. Yaklaşık %10'luk kısım için emilimi diğer şekerlere oranla zor olan fruktoz ve laktoz intoleransları ve gıda alerjileri de düzelmeye engel olduğu söylenebilir.



Aynı zamanda ince bağırsaklarda bakteriyel çoğalma (bacterial overgrowth) veya pankreatik enzim yetersizliği de düzelmeye engel oluşturabilmektedir (20).

### **2.1.3.3.Enfeksiyöz Faktörler**

Enfeksiyonların, konağın immün toleransını farklı mekanizmalarla etkilediği görülmüştür. Bu mekanizmalar poliklonal lenfosit aktivasyonu, enfeksiyon aracılı inflamasyona sekonder organ otoantijenlerinin artmış immünojenitesi veya antijen taklit moleküler mekanizmalardır.

Son dönemde yapılan mikrobiyota çalışmalarında, diyet altındaki çölyak hastaları ve kontrol grubunun, gaita ve duodenal biyopsi örneklerinde intestinal floraları karşılaştırılmış, özellikle, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, ve *Escherichia coli* suşlarının, normal popülasyondan farklı dağılımlar gösterdiği görülmüştür. Bu da intestinal mikrobiyotanın, hastalık oluşumunda etkili olabileceğini düşündürmüştür (21). Ayrıca 2006 yılında, ÇH ile ilişkili HLA risk alellerini taşıyan çocuklar ile yapılan bir çalışmada, rotavirüs antikoru arttıkça ÇH otoimmünitesi gelişimi araştırılmış ve hastalığa ciddi risk oluşturduğu görülmüştür (22). Adenovirüs tip12 ile gliadinin yapısındaki aminoasit diziliminin benzer olması, bu virüse maruz kalan ve genetik yatkınlığı olan kişilerde otoimmüniteyi arttığı görülmüştür (23).

### **2.1.4.Mukozal Histoloji**

Duodenal biyopsi, ÇH için önem taşımak ile birlikte kesin tanı konulmasında tek başına yeterli değildir. İnce bağırsaktaki mukozal değişiklikler, intraepitelyal lenfosit (IEL) artışı, kript hiperplazisi ve villus atrofi hastalığın tanı kriterlerinde yer almaktadır. Biyopsi, serolojik testleri pozitif olan hastalarda yapılmalıdır. Histolojik bulgular, IEL artışı görülen hastalarda, total mukozal atrofi, komplet villus kaybı ve kript hiperplazisi olan ileri evre olgulara kadar değişebilir. Histolojik bulgular, Marsh-Oberhuber sınıflandırmasına göre tanımlanabilir.

• **Marsh 0 (Ön süzülme-preinfiltratif):** Her 100 bağırsak mukozasındaki emme hücrelerinde (enterosit), 30'dan az IEL saptanır, kript ve villus normaldir (Histolojik bulguları normaldir).

- **Marsh 1 (Süzülme-infiltratif):** Her 100 emme hücresinde, 30'dan çok IEL saptanır, kript ve villus normaldir. Belirtiler spesifik olmayıp erken evre ÇH, Crohn hastalığı, *Helicobacter pylori* olması ya da bakteriyel aşırı büyüme (overgrowth) gibi durumlarda da görülebilir.
- **Marsh 2 (Aşırı süzülme-hiperplastik-infiltratif):** Her 100 emme hücresinde, 30'dan çok IEL saptanır, normal villus ve normal kript hiperplazisi görülür.
- **Marsh 3a (Yıkıcı-düz destrüktif):** Her 100 emme hücresinde, 30'dan çok IEL saptanır, başlangıç kript hiperplazisi ve villus atrofi görülmeye başlar.
- **Marsh 3b (Yıkıcı-düz destrüktif):** Her 100 emme hücresinde, 30'dan çok IEL saptanır, orta derecede kript hiperplazisi ve villus atrofi görülür.
- **Marsh 3c (Yıkıcı-düz destrüktif):** Her 100 emme hücresinde, 30'dan çok IEL saptanır, total villus atrofi ve kript hiperplazisi görülür.
- **Marsh 4 (Tamamen düzleşme-hipoplastik-atrofik):** Her 100 emme hücresinde, 30'dan çok IEL saptanır, total villus atrofi ve kript hipoplazisi görülür (24).

### 2.1.5. Ekstrasellüler Matrix

Sağlıklı bireylerde ince bağırsak hücre dışı matris metalloproteinazları (MMPs) tarafından bozulurken, stromal hücreler sayesinde ince bağırsak Ekstrasellüler Matrix (ECM) dengeler. Artan ECM yıkımının, ÇH'nın villöz atrofisinde rol oynadığı öne sürülmüştür.

### 2.1.6. Çölyak Hastalığının Çeşitleri

ÇH atipik form, latent form, klasik form, sessiz veya asemptomatik form ve refrakter form olmak üzere 5 gruptan oluşur (25).

#### 2.1.6.1. Klasik Form:

En önemli belirtiler arasında kilo kaybı, kronik ishal ile birlikte, yağlı dışkı (steatore), şişkinlik, bazı vitamin ve besinlerin eksiklikleri görülmektedir. Bu formun görüldüğü çocuk hastalarda klinik bulgular genellikle 6-18 aylarda ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda çok büyüme ve gelişim geriliği, kusma, gaitada farklılık, kas güçsüzlüğü, kas kaybı, iştah azlığı görülmektedir. 1-2 yaş arası hastalarda, hayatı

tehdit edici ciddi vücudun besinlerden aldığı proteini tam sindirememesiyle birlikte olan ödemle seyreden çölyak krizi görülebilir (27,28). Yetişkin dönem hastalarda ishal, şişkinlik ve karın şişliği gibi belirtilerde görülmektedir. İshal, ani başlangıçlı olup uzun süreli olarak devam eder. Anormal gaita ise yetişkin hasta grubunda daha nadir olarak görülmüştür.

#### **2.1.6.2. Atipik Form:**

Gastrointestinal belirtiler görülmez. Yaygın olarak yetişkinlerde görülen bu tip, yetişkin hastalarda neredeyse yarısında gastrointestinal belirtiler görülmez (1). Atipik formda intestinal bulgularla etkileşim halinde olan romatolojik, hematolojik, böbrek, nörolojik, endokrin belirtiler görülmüştür.

#### **2.1.6.3. Sessiz Form (Asemptomatik):**

ÇH'nın en yaygın görülen çeşididir. Asemptomatik formda, klinik açıdan herhangi bir bulgu olmadığından tanı koymak zor olduğu için genellikle hastalık belirlenemez (27).

#### **2.1.6.4. Refrakter Form:**

1 seneden daha fazla sürede gluten kullanmadan beslenmesine rağmen hastaların klinik bulgularının ve şikâyetlerinin azalmadığı hasta grubudur (28). Toplumda bulunan bütün hastaların yaklaşık %7-8'ini oluşturmakla birlikte mortalite oranında yüksektir (15).

#### **2.1.6.5. Latent Form:**

Bazı hastalarda glutenli diyetle rağmen jejunal mukoza normaldir. Ya az belirti vardır ya da hiç belirtisi gözlenmez. Genellikle çocukluk çağında ÇH tanısı vardır. Fakat, ilerleyen dönem içerisinde glutensiz diyet ile tamamen düzelme gözlenmiştir. Diyetle beslenirken intestinal mukoza normal olabilir, fakat ilerleyen dönemde tekrardan ÇH gelişebilir (16).

#### **2.1.7. Çölyak Hastalığının Tanısındaki Testler**

Çölyak hastalarında anti-gliadin antikorlar haricinde iki tür antikor daha bulunur. Bu antikorlar bireyin kendi dokularına karşı oluşan antikorlardır. Bunların

ilki, ince barsağın iç yüzeyini döşeyen emici hücrelerin (enterositler) yapısında bulunan maddeye karşı oluşan ‘anti-endomisyal antikorlar’, ikincisi ise hücrede bulunan bir enzime karşı oluşan ‘anti-transglutaminaz antikorlar’ dır. Bu iki antikorun var olması, ÇH’nın oluşmasında otoimmunitenin katkı sağladığını göstermektedir. Tanı için yapılan testlerden ilki anti gliadin antikorların (AGA), 1958’de gluten gliadin ve onun metabolik ürünlerine karşı antikorların dolaşımında bulunduğu ilk kez, Berger tarafından bulunmuştur. Enzim ile ilişkili immünolojik test (enzym-linked immunoassay-ELISA) yöntemiyle hasta serumunda gliadine karşı antikorlar araştırılır (29). İkincisi doku transglutaminaz enzimi (tTG), enflamasyona yanıt olarak fibroblastlardan ve endotelial hücrelerden hücre içi enzim olarak salgılanır.

Gluten peptitlerini deamidasyona uğratarak, nötr olan glutamin aminoasidini negatif yüklü glutamik asite çevirir. Deamide olan peptidler doğal gluten peptidlerinden daha antijeniktir ve yüksek bir afinite ile HLA DQ2 ve HLA DQ8’in bağlanma kısımlarına tutunurlar (30).

## **2.2 Çölyak ve Genetik**

Çölyak hastalığının pek çok nedeni vardır. Bunlardan genetik olarak hastalık ile en güçlü bağlantısı olan insan lökosit antijenleri (Human Leukocyte Antigen-HLA) dir.

### **2.2.1.İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigen -HLA)**

HLA genleri 6. kromozomun kısa kolunda (6p21.3) yer alır ve hücre yüzeyi sınıf I ve sınıf II glikoproteinlerini kodlar. Bağışıklık hücrelerine antijen sunumunda ve bu hücrelerin konağı tanınmasında önemli rolleri vardır (31). HLA molekülleri, antijenik peptidleri bağlar ve onları T lenfositlerine sunar. HLA lokusunda sınıf I bölgesinden kodlanan **HLA sınıf I** molekülleri endojen antijenleri (iç kaynaklı), CD8<sup>+</sup> T hücrelerine sunarak özellikle sitotoksik bir yanıtı aktive eder. HLA lokusundaki sınıf II bölgesinden kodlanan **HLA sınıf II** heterodimerleri ise HLA DR, DQ, DP moleküllerdır ve eksojen (dış kaynaklı) antijenleri sunar. Makrofaj, B lenfositleri, dentritik hücre, Langerhans hücreleri, endotel hücreleri ve aktif T hücrelerde bulunurlar (32). Antijeni CD4<sup>+</sup> T hücrelerine sunar. CD4<sup>+</sup> T hücreler hücrel ve humoral reaksiyonları yönetir (33). Tüm sınıf II yüzey

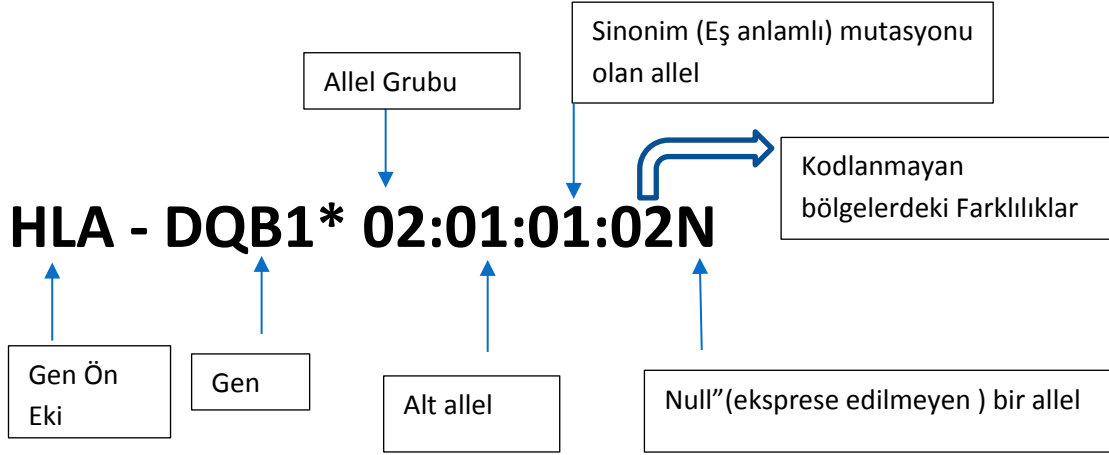
molekülleri, birbirlerine non-kovalent bağlarla bağlı,  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki adet polipeptid zincirinden oluşmuşlardır. Her iki zincirin ekstraselüler bölgesinde sırasıyla  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$  ve  $\alpha 2$ ,  $\beta 2$  olmak üzere iki domain bulunur. Membranın distalinde yer alan ve polimorfizm gösteren  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$  zincirleri antijenlere ait peptidlerin yerleşebileceği oluk benzeri yapı oluştururlar. Molekülün ikinci bölgesinde non-polimorfik olan  $\alpha 2$  ve  $\beta 2$  zincirleri bulunur. Molekülün üçüncü bölgesi, hücre membranına tutunmayı sağlayan hidrofobik transmembran kısmıdır. Dördüncü bölgesi, hidrofilik özellikte olan sitoplazmik bölgedir.  $\alpha$  polipeptid zincirini kodlayan gen DQA ve  $\beta$  polipeptid zincirini kodlayan gen ise DQB lokusudur.

HLA sınıf II molekülleri daha öncede belirtildiği gibi APC'ler tarafından hücre dışı mikroplardan ve proteinden kaynaklı peptitlerin CD<sup>4</sup> T hücrelere sunumunda rol oynar (32,34). Aktive ve proliferen olan Th klonu fonksiyonunu yerine getirmek için antijenin bulunduğu yere giderek aynı antijeni HLA sınıf II molekülleriyle sunan diğer APC'lere yardımda bulunur. APC makrofaj ise, CD<sup>4</sup> Th onu, antijeni fagosite için etkin bir hale getirir, B hücresi ise antikör üretmesi için uyarıda bulunur (35,36). HLA sınıf II ile ilişkili peptitler, T hücresi reseptörü (T cell receptor-TCR) taşıyan CD<sup>4</sup> Th lenfositleri tarafından tanınır, CD<sup>8</sup> lenfositlerdeki TCR tarafından tanınmaz. Bunun nedeni CD<sup>4</sup> koreseptörünün HLA sınıf II moleküllerinin  $\beta 2$  alanına bağlanması, CD<sup>8</sup> koreseptörünün ise HLA sınıf I ağır zincirinin  $\alpha 3$  alanına bağlanmasıdır.

### **2.2.1.1. İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigen-HLA) İsimlendirme**

HLA isimlendirme eskiden serolojik yöntem kullanılarak yapılmaktayken günümüzde moleküler düzeyde yapılmaktadır. Dolayısıyla HLA'nın isimlendirmesinde serolojik yöntemlerin sonuçları moleküler yöntemlerin sonuçlarından farklı şekilde ifade edilmektedir. Birçok yayında karşımıza çıkan DQ2 /DQ8 tipleme sonuçları serolojik sonuçları yansıtmaktadır. HLA isimlendirme komisyonunun Nisan 2010'da yayınladığı isimlendirme sistemi halen kullanılan HLA tipleme sonuçlarının ifade şeklidir. Buna göre düşük çözünürlük moleküler çalışmalarda lokustan sonra asteriks ve iki basamaklı allel grubu yazılır. Yüksek çözünürlük tiplemede ise lokustan sonra en az 4 basamak olacak şekilde yazılır

(Şekil 1) (37). HLA Sınıf II lokusundaki en polimorfik kısım ekzon 2 'de bulunur. Burada peptid bağlanma bölgeleri olan  $\alpha_1$  ve  $\beta_1$  kodlanır (38).



Şekil 1. HLA DQB1 adlandırılması. (39)

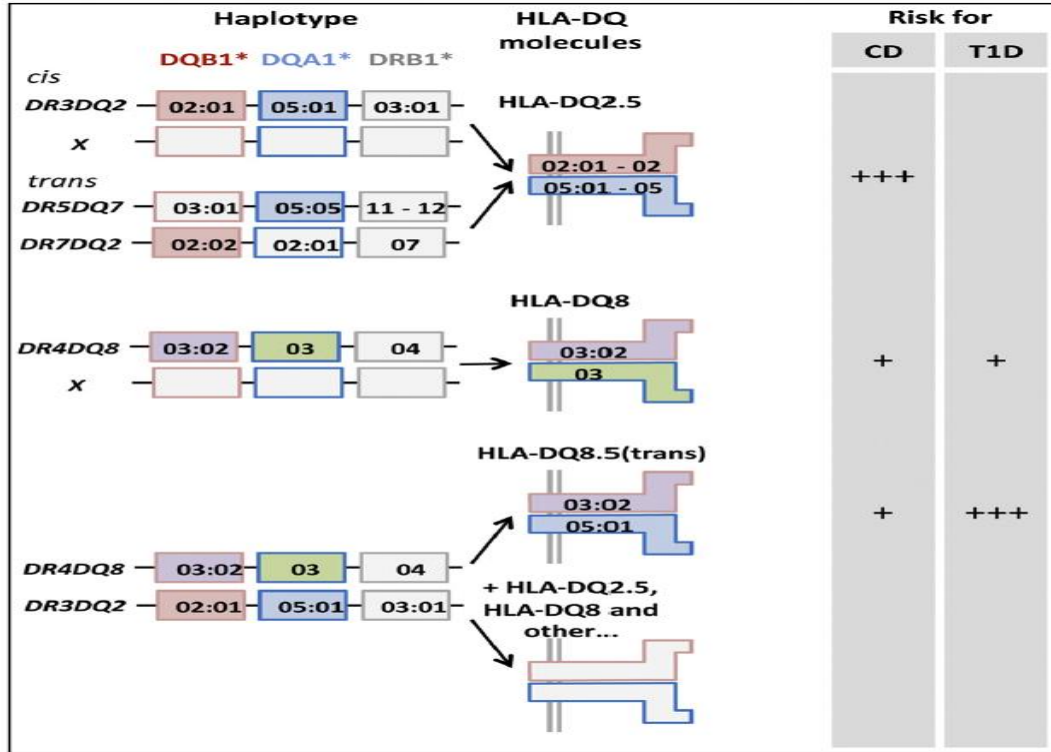
### 2.2.2. HLA DQ ve Çölyak Hastalığı

HLA sınıf I ve II genleri oldukça polimorfiktir. CELIAC1 lokusu HLA ile ilişkili gen bölgesi iken, CELIAC2-13 ise HLA ile ilişkisi olmayan lokuslardır. HLA bölgesi yaklaşık 200 gen içerir. IMGT/HLA Kasım 2018 verilerine göre HLA DQA1:100 DQB1:1316 farklı allel içermektedir. Belirli DRB1 allellerinin bazı DQ allelleri ile birlikte kalıtılma ihtimali yüksektir. Bu dengesiz bağlantı (linkage disequilibrium) olarak bilinir. Yine bu veritabanına göre DRB1'in 2300 alleli olduğu saptanmıştır (40). 2012 yılında, European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) tarafından çölyak tanı kriteri olarak HLA'da kabul edilmiştir (41). Çölyak hastalarının %90'ından fazlasında görülen majör HLA DQB1\*02'dir, hastaların bir kısmı ise DQB1 \* 03:02 saptanmıştır (42).

HLA antijenini kodlayan genler hem anneden hem de babadan eşbaskın kalıtılır. Babadan gelen DQA ve DQB hücre yüzeyinde birlikte eksprese edilirken, anneden gelen DQA ve DQB'de birlikte eksprese edilir. Böyle gerçekleşen durum cis ekspresyon olarak adlandırılır. Eğer bireye, gen ürününün birisi anneden (Örn:DQA) diğeri babadan (Örn:DQB) kalıtılıyorsa bu durumda trans ekspresyon olarak adlandırılır.

Genel olarak DQA1\* 05 ve DQB1\*02, DR3 haplotipi (DQA1\*05:01-DQB1\*02:01-DRB1\*03:01) üzerinde cis formunda DR5/DR7 haplotipinde DQA1\*02:01-DQB1\*02: 02 (DQA1\*05:05-DQB1\*03: 01- DRB1\*11/12;DQA1\*02: 01-DQB1\*02:02- DRB1\*07) trans formunda bulunur. Yapılan birçok çalışmada, DQB1\*02 homozigositesinin ÇH'nın riski ve daha agresif formlarıyla ilişkili olduğunu doğrulamıştır (Şekil 2) (10,43,44).

Ayrıca Şekil 2'ye bakıldığında ÇH olan hastalarda DQB1\*02:01 ve DQA1\*05:01, Tip1 Diyabetlilerde ise DQA1\*05 ve DQ8 (DQA1\*05:01-DQB1\*03:02- DRB1\*04) trans geçişin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (45).

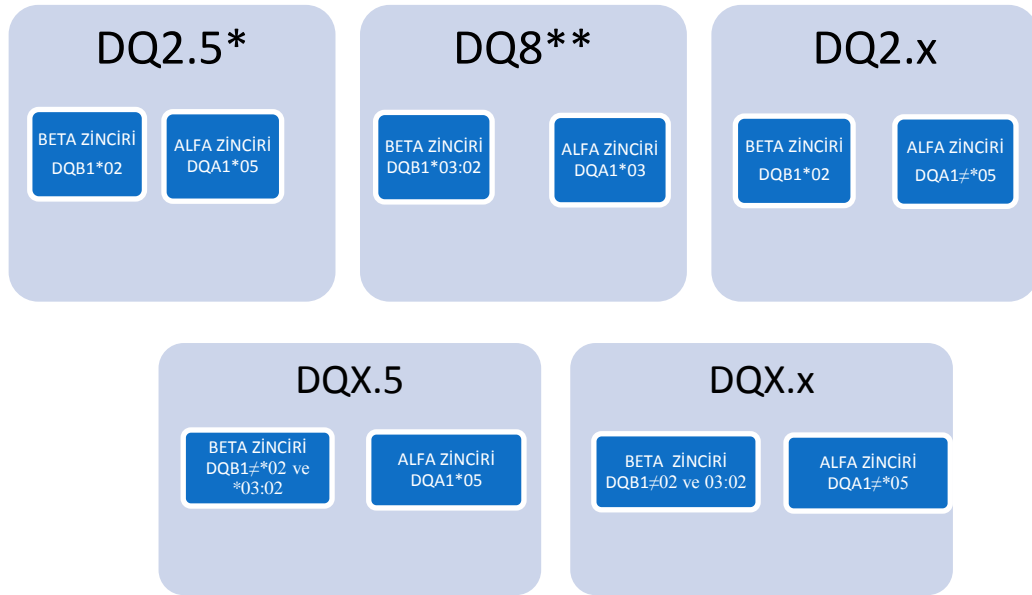


Şekil 2. Çölyak hastalığında DQ2 ve DQ8 geçişleri ve riskleri. (45)

Çölyak hastalarının çoğunluğu,  $\alpha$ -zincirinden HLA DQA1\* 05 ve  $\beta$ -zincirinden HLA DQB1\* 02 allelleri tarafından kodlanan HLA DQ2.5 heterodimeri ifade etmektedir. DQ2.5 genleri, homozigot veya heterozigot özelliği hastalığın başlangıç yaşı ve agresifliğini belirler (46). 2018 yılında İspanya da çölyak

hastalarında yapılan çalışmada DQ2.2 (DQA1\*02 DQB1\*02) ve DQ2.5 cis formunun anlamlı derecede DQ2.5 trans formundan daha fazla görüldüğü gösterilmiştir (47). Nadiren de olsa çölyak hastaları farklı DQ moleküllerini taşırlar. DQX.5 molekülleri,  $\alpha$  zincirinde DQA1\*05  $\beta$  zincirinde ise DQB1\*02 veya \*03:02 den farklı bir allel içerirken DQ X.x molekülleri  $\alpha$  zincirinde DQA1\*05'den farklı,  $\beta$  zincirinde DQB1\*02 veya \*03:02'den farklı alelleri kapsar (10,44).

Aşağıdaki şekilde ÇH'ına yatkın alellikler açısından farklı DQ glikoproteinleri gösterilmiştir.



**Şekil 3.** DQA1 ve DQB1 allellerinin farklı kombinasyonları tarafından kodlanan DQ heterodimerlerinde çölyak hastalığı riski. (48)

\* DQ2.5: 2  $\beta$  allelini ifade ederken, 5  $\alpha$  allelini ifade eder.

\*\* DQ8:  $\beta$  allelini ifade eder, moleküler teknik sonuçlarında DQB1\*03:02 olarak ifade edilir.

Çölyak hastası olmayan popülasyona bakıldığında da %30-40 oranında HLA DQ2 heterodimer yapı bulunmaktadır. Bu durum çok önemli olmasına rağmen hastalığın gelişimi için yeterli olmadığını ortaya koymaktadır. HLA DQ2 taşımayan hastalarda %3-8 oranında HLA DQ8 bulunmaktadır (49). ÇH'nin DQ2 molekülleriyle ilişkisi tüm popülasyonlar da oldukça güçlüdür. ÇH'si olan 1008 Avrupalı hastadan oluşan gruptan sadece 4'ünde DQ2 veya DQ8 heterodimerin tam veya bir kısmının olmadığı görülmüştür. DQA1 \*03:01 veya DQB1 \*03:02 içeren

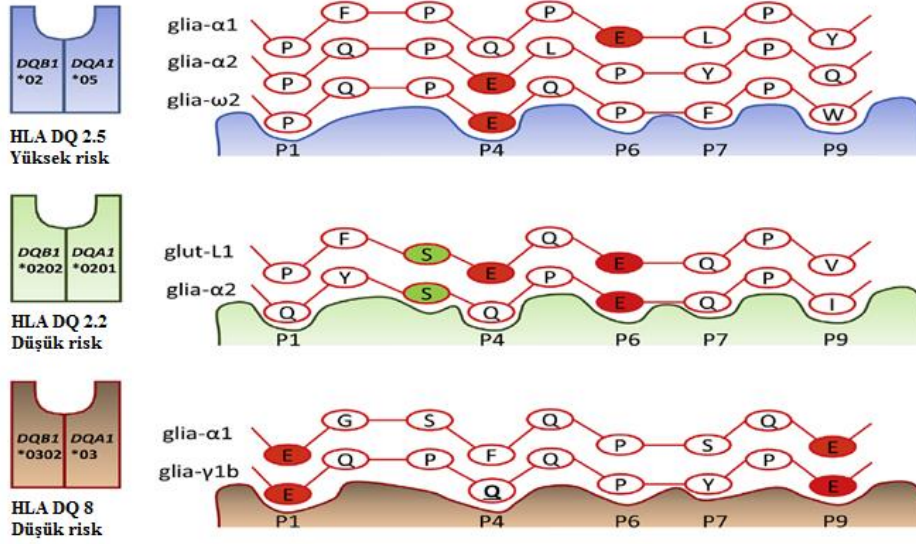


haplotipin en az bir kopyası vardır. Çölyak tanısı konulmuş bir kısım hastanın DQA1\*05 (Şekil 2'deki DQX.5) veya DQB1\*02 (Şekil 2'deki DQ2.x) taşıdıkları gözlemlenmiştir (44). HLA DQ2'nin DR3 (DRB1\*03) ve DQ8'ün DR4 (DRB1\*04) birlikte kalıtıldığından (linkage disequilibrium) DRB1\*03 ve DRB1\*04 allelleri de çölyak hastalarında kontrollerden yüksek frekanstadır (50). HLA DQ2.5 heterodimeri (DQB1\*02:01 ve DQA1\*05:01) DR3-DQ2'deki gibi birçok haplotipte aynı kromozomda bulunursa cis olarak kodlanır. DR5-DQ7 ve DR7-DQ2 haplotiplerini taşıyan heterozigot bireylerde, farklı kromozomlarda bulunduğu için heterodimere dâhil olan iki molekül trans olarak kodlanır (42). HLA DQB1\*02'de gen dozaj etkisi vardır. Yani çocuk hem anneden hemde babadan bu geni aldığı anda tek birisinden aldığına göre hasta olma olasılığı daha yüksektir (51). Bu durum HLA DQA1\*05 alelinin en az bir kopyasının bulunmasına bağlıdır. Geri kalan hastaların çoğunda (HLA DQ2.5 olmadan) DQB1\*03: 02 ve DQA1\*03 allelleri tarafından kodlanan HLA DQ8 bulunur. HLA DQ2.5 ya da HLA DQ8 taşımayan hemen hemen tüm çölyak hastalarında, HLA DQ2.5'i kodlayan iki allelden biri mevcut: en yaygın olarak DQB1\*02 (HLA DQ2.2) veya çok az hasta bireyde, DQA1\*05 DQB1\*03:01 (HLA DQ7.5) görülmektedir (44).

HLA moleküllerinin gluten gliadin ve benzeri peptit parçalarının bağlanması için bu peptitlerin belirli bağlama motiflerine uyması gerekmektedir. HLA DQ2.2, HLA DQ2.5 ve HLA DQ8 moleküllerinin tümü, deamidasyon yoluyla gluten peptitlerine sokulan negatif yüklü aminoasitleri (bu genellikle glutenin deamide olması ile oluşan negatif yüklü glutamik asit) tercih etmektedirler. 9-15 aminoasitlik deamide olan aminoasidin yeri DQ moleküllerine bağlanma açısından önemlidir.

Şekil 4'de görüldüğü gibi DQ8'de  $\beta_1$  antijen bağlama bölgesinde, P1 ve P9 ceplerinde bulunan pozitif yüklü aminoasitler peptitlerin bağlanmasında önemlidir. HLA DQ8'in  $\beta$ -zincirinin 57. pozisyonundaki aminoasitin P9'daki cebini oluşturmada önemli olduğu saptanmıştır. DQ2 (DQB1\*02:01)'nin ise P4 ve P6 ceplerinde bulunan pozitif yüklü aminoasitlerin peptit fragmanlarının bağlanmasına katkı sağladığı, özellikle  $\beta$ -zincirinin 71 pozisyonundaki lizin aminoasitinin bu bağlanmada önemli olduğu belirlenmiştir. DQB1\*02:02'de ise, P3 cebinde olan serin

amino asidi bağlanma açısından önemlidir. O nedenle DQB1\*02:01 olmaksızın DQB1\*02:02 allelini taşıyan kişilerde ÇH riski daha düşüktür (17).



Şekil 4. DQ2.2 DQ2.5 DQ8 allelerinin gluten motiflerine bağlanması. (5)

T: Treonin S: Serin P: Prolin E: Glutamik Asit Q: TG2 Tarafından hedeflenen glutamin kalıntısı L: Lösin Y: Tirozin W: Triptofan F: Fenilalanin V: Valin I: İzolösin Temel aa olanlar: I, L, W, V, F Temel olmayan aa: S, P, E, Q, Y

Deamide aminoasit içeren, tercih edildiği peptid bağlama oluşu boyunca konum, sadece HLA DQ2.5 ve HLA DQ8 arasında farklılık göstermektedir. HLA DQ8'in  $\beta$ -zincirinin (57) pozisyonunda bir aspartat artığı yoktur (Asp-57). Asp $\beta$ 57 eksikliği peptid bağlama oluşunda büyük, pozitif yüklü bir P9 cebi oluşturmaktadır. DQ8'in bu oluşa bağlanmasını sağlar. DQ2 de (DQB1\*02:01) ise  $\beta$ -zincirinin (71) pozisyonunda bir lizin peptid bağlamada önemlidir (52).

HLA DP allellerinde çölyak hastalarında riskli görülmesi 1989 yılında gösterilmiştir. HLA DPB1\*04:01'in DR3-DQ2 çocukları arasında anti-TG2 antikorları geliştirme riskini azalttığı öne sürülmüştür.

Ancak yine de HLA DPB1\* 04:01 alleli, HLA DQ genleri ile ilişki sınırlı olduğu için başka çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur (53).

### 2.2.3.Non -HLA Genler

HLA ile ilişkisi bilinen CELIAC 1 geni dışında ayrıca non-HLA olarak adlandırılan CELIAC 2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13 genleri de bulunmaktadır. Bu genler kromozom üzerinde farklı konuma sahiptirler. Ayrıca her biri farklı sitokinler ile etkileşim halinde olup her biri hastalık gelişimine az miktarda da olsa katkıda bulunmaktadır (54).

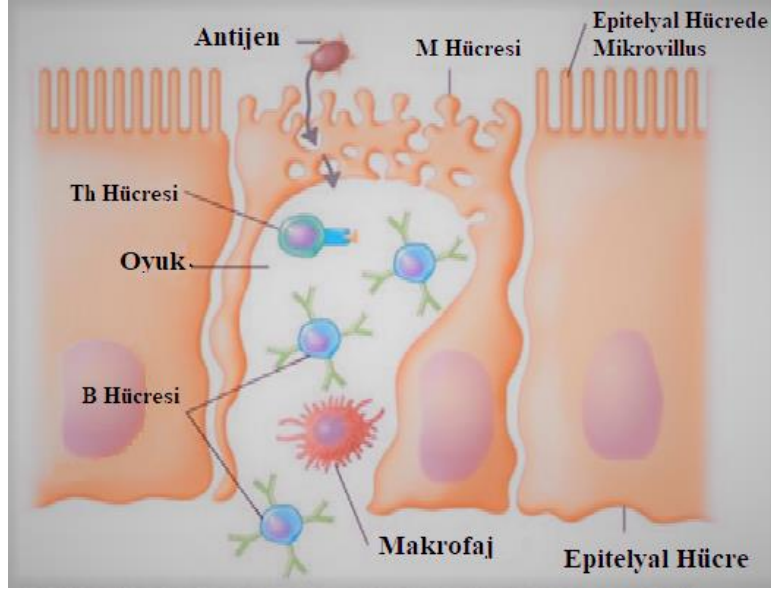
### 2.3.Çölyak Hastalığı ve İmmün Sistem

Gastrointestinal sistemin bir bölümü olan ince bağırsağın otoimmün hastalıklar üzerinde etkisi oldukça fazladır. Bu ince bağırsakta sekonder lenfoid organlardan olan peyer plaklarının (patch-yama) varlığı çok sayıda lenf nodu içeren mezenter ile açıklanır. Doğal ve edinsel immün yanıt hücreleri bağırsakta oldukça yoğundur.

Bağırsaktaki epitelyal bağışıklık sistemi hücreleri; mukozal yüzeydeki antijen ile mukoza altında bulunan lenfoid doku arasında bağlantıyı sağlar (1). Antijenin tanınıp bağışıklık sistemine sunumunda görevlidirler (41). Epitel hücrelerin arasında emilimi gerçekleştiren enterositler ve mukus salgılayan goblet hücreleri, anti mikrobiyal proteinler üreten banet hücreleri bulunmaktadır. Epitel hücreleri doğal bağışıklık sisteminin önemli hücreleri olarak da değerlendirilmektedir.

Peyer plakları; Parafoliküler kısım, folikül ilişkili epitel ve foliküler kısım olmak üzere üç bölgeden oluşmaktadır. Foliküler kısım, makrofaj içeren oluşum merkezi, foliküler dendritik hücre ve ortada B lenfosit, çevre kısmında immünoglobulin M (IgM) ve IgD meydana getiren ufak lenfositlerden oluşan korona bölgesi, üst kısmında ise T ve B lenfosit, dendritik hücre ve makrofaj içeren dom kısmından meydana gelmektedir. Foliküllerin uç kısımları arasında kalan küçük üçgenimsi alanlar parafoliküler bölge olarak adlandırılır. Dendritik hücreler, küçük lenfositler ve plazma hücrelerini bulundurmaktadır.

B hücre germinal matrikste folliküler dendritik hücelere, T hücre parakortikal zonunda birbirine bağlanan hücelere antijen sunmaktadır.



**Şekil 5.** Mukozal bağışıklık sistemi hücreleri. (55)

Folikül ilişkili epitel enterosit ve özelleşmiş epitel hücreleri olan membranöz epitel hücrelerden (M hücreler) oluşan tek sıra tabaka halinde bulunmaktadır. Bağırsak ilişkili lenfoid doku ve bağırsak boşluğu arasında bulunmaktadır. M hücreleri, makromolekül düzeyinde antijenleri veziküller (kesecikler) halinde alıp sitoplazmalarından geçirerek lenfositlere ve makrofajlara sunarlar. M hücresi alt kısmında bulunan bağışıklık dokuya antijen sunumu sağlar. Böylece mukozal ve sistemik bağışıklık yanıtın gelişimini başlatmaktadır (56). M hücresinin üst-zarındaki fırça-kenar yapı bozulduğunda ve hücrenin enzimatik işleyişinde değişiklik olduğunda enterositlerden farklı olarak sindirim ve emilimde görev yapmadığını göstermektedir (1). Ayrıca M hücresinin bir görevi daha vardır. Antijen aktarımı sırasında hem T hem de B hücrelerini uyaran etmenleri salgılamaktadırlar. Yani böylelikle mukozal yanıtı desteklediği görülmektedir (7).

Edinilmiş bağışıklık sistemi iki önemli hücre grubundan oluşmaktadır. Birincisi antijenlere karşı antikor sentezleyerek bu antijeni taşıyan yabancıları belirleyen B hücreleridir. B hücresi timus veya T lenfositten farklı olarak antijenleri tanır.

İmmüoglobulinin membrana bağlı şekli olan yüzey immüoglobulin molekülü B hücre reseptörü aracılığıyla (B cell receptor, BCR) antijeni

bağlamaktadır. Meydana gelen antijen ile reseptör birlikteliği hücre içine endositoz yoluyla alınmaktadır. Böylelikle B hücrelerinin aktivasyonu başlamış olur.

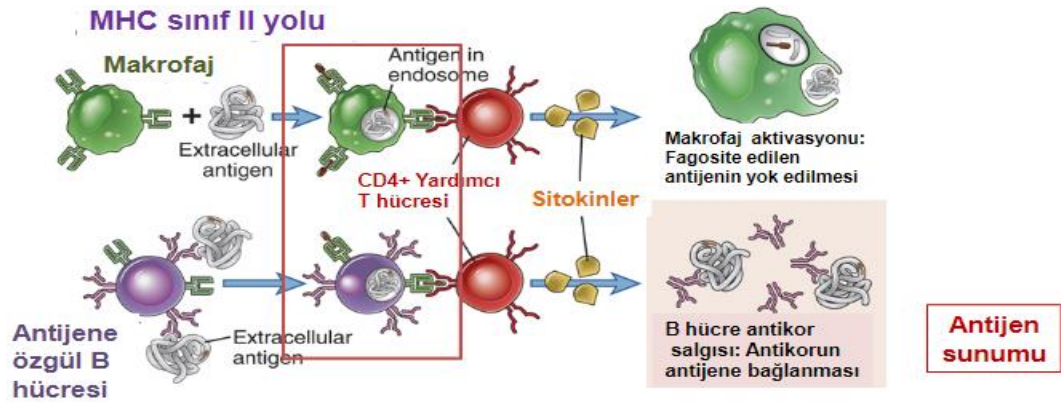
Antikorlar tarafından işaretlenen antijenler ya fagositler tarafından fagosite edilir ya da plazmada serbest halde bulunan kompleman proteinleri tarafından tanınır ve bu proteinlerin aktifleşmesi ile hedef hücrenin zarında oyuk açılır ve hedef hücre etkisiz hale getirilir. Edinilmiş bağışıklık sisteminin bu kısmı kanda ve vücut sıvılarında bulunan antikorlar aracılığı ile etki göstermesi nedeniyle “humoral immün sistem” olarak isimlendirilir. Bu sistem, özellikle hücre dışında bulunan patojenlere (hastalık yapıcılara) karşı etkilidir (57). T lenfositler ya da timustan bağımsız olan antijenler (lipopolisakkarid, polisakkarid, lipid) HLA moleküllerine bağlanmadıkları için T hücre tarafından tanınmıyorlar bu yüzden de T hücre yardımına ihtiyaç duymamaktadırlar.

B lenfositler, APC görevi yapmaktadırlar. İşlenen antijeni sınıf II ile birlikte Th hücrelere sunarak onları aktif hale getirirler. Makrofajlar B hücreleriyle karşılaştırıldığında bazı sitokinleri fazla salgılayarak Th'lere sunarak onları kısa sürede aktif hale getirirler. B lenfositler, makrofajlardan daha az antijen miktarı ile hafıza T hücrelerini uyarabilmektedir. B lenfositler Th hücrelere antijen sunarken, Th'ler de B hücre proliferasyonu ve farklılaşması için gereken sitokinleri salgılamaktadırlar. B lenfositler antikor üretimini plazma hücrelerine dönüşerek yaparlar. B lenfositlerin bir miktarı hafıza hücresi olarak kalır ya da yok edilirler.

Bağışıklık sisteminin yönetiminden sorumlu olan ikincisi ise T hücreleridir. T hücreler ortamda serbest bulunan antijenlere bağlanmazlar. Bağlanması için bir hücre tarafından işlenip HLA molekülü üzerinde sunulması gerekir. Sunulan antijen kendi TCR bağlanacak özellikte ise aktive olup, o antijene karşı oluşacak bağışıklık yanıtını yönetirler. Bu bağlanma için HLA molekülünü oluşturan polipeptid zincirlerinde antijen bağlama bölgelerinin bazı kısımlarındaki amino asitlerin (aa) özelliklerinin uygun olması gerekir. CD4<sup>+</sup> T hücreleri, yardımcı T hücreleri (Th, T helper cells) ve regülör T hücreleri (Treg) olmak üzere iki gurup altında incelenmektedirler.

İmmün yanıtın nasıl gerçekleşeceğini bu hücreler belirler. HLA II ile sunulan antijen o hücrenin TCR'ı ile etkileşime girerse o T hücresi aktifleşir. Hem kendisi çoğalır hem de bağışıklık sisteminin diğer hücrelerini yönetirler (57). CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>

T hücreler enfeksiyona karşı edinsel immün cevapta farklı roller oynasalarda fonksiyonel olarak belirli bir olgunluğa gelmek için farklılaşma sürecine girerler. Ancak her ikisinde naif hücreleri, peptid MHC ve TCR birlikteliği ile aktifleşmektedir. Farklılaşma, etkileşen ligandların antijenle karşılaşması, uyarım sırasında sitokin ortamı, TCR'ün sinyal gücü, diğer T hücre yüzey reseptörleri vb. koşullardan etkilenmektedir (59).



**Şekil 6.** MHC Class II antijen sunumu. (60)

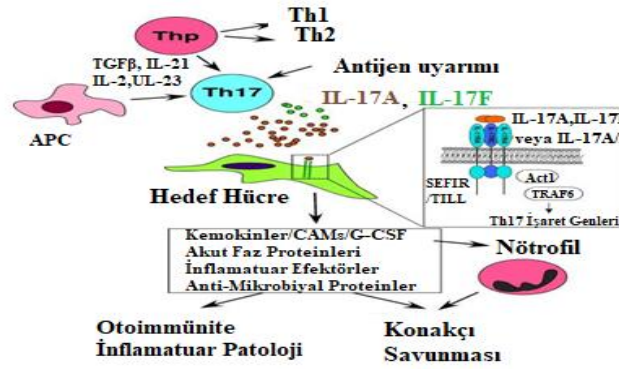
T hücreleri de yönettikleri immün yanıt tipi ve marker transkripsiyon faktörlerine göre 3 grupta incelenirler.

Th1 hücreleri daha çok intrasellüler patojenlere karşı bağışıklık yanıtının oluşmasında görev alırlar ve salgıladıkları sitokinlerle özellikle makrofajları aktive ederek, proinflamatuvar bir bağışıklık yanıtı oluştururlar. Bu inflamasyonu artırıcı etkileri ile birçok otoimmün ve otoinflamatuvar hastalığın patogeneğinde bu hücrelerin önemli oldukları gösterilmiştir.

Th2 hücreleri ise daha çok ekstrasellüler patojenlere yönelik immün yanıtın gelişmesinden sorumludurlar, salgıladıkları sitokinlerle B hücrelerinin antikor üretimini ve eozinofillerin aktivasyonunu uyarırlar. Bu hücrelerin aşırı aktivasyonları da astım ve allerjik rinit gibi allerjik hastalıkların gelişiminde rol oynamaktadır (61).

Th17 hücreleri ise salgıladıkları interlökin 17 molekülü nedeniyle bu şekilde adlandırılmışlardır. Bu hücreler ilk olarak 1993 yılında fare deneylerinde keşfedilmiştir (62). Th17 hücreleri, hücre dışı patojenlere karşı korunmak için genellikle mukozal yüzeylerde işlev gören ve nötrofillerin ve otoimmün hastalıkların

ortaya çıkmasıyla enflamatuvar süreçte yer alan bir CD4<sup>+</sup> lenfosit alt grubudur (63). Oluşturdukları güçlü proinflamatuvar yanıt ile bilinirler. Bu hücrelerin aşırı aktivasyonunun Multiple sclerosis (MS) hayvan modeli experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), romatoid artrit gibi birçok otoimmün hastalıkta oldukça önemli olduğu gösterilmiştir (64).



**Şekil 7.** T hücre farklılaşması. (65)

Bağışıklık sisteminin hücreleri hakkındaki genel bilgiden sonra, IEL bağırsaktaki enterositlerin bazolateral bölgesinde yer alır ve bağırsak boyunca heterojen dağılım gösteren bir popülasyon oluştururlar. Enfeksiyöz ajanlara karşı koruma sağlamak epitel bütünlüğünü korumak ve bellek edinimi yapmak için zararsız faktörlere karşı tepkileri kontrol etmektedirler (66).

### 2.3.1. Sitokinler

Sitokinler, protein yapıda hücrelerin arasında iletişimi sağlayan moleküllerdir. İmmün sistem hücrelerinin farklılaşması, gelişmesi, aktivasyonunda ve antijen sunumu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu, gibi immün yanıtın ve inflamasyonun her basamakta, pek çok biyolojik reaksiyonda hücreler arasındaki ilişkileri düzenleyen çözümlü yapıda bulunan proteinlerdir.

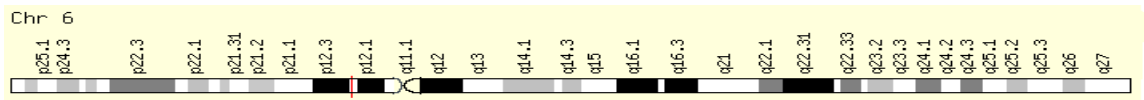
İmmün yanıt sırasında meydana gelen bazı sitokinler (interlökin, interferon gibi) sınıf II moleküllerin hücre yüzeyindeki ekspresyonunu artırır (58).

Otoimmün hastalıkların temel patogenezi, immün yanıtın polarizasyonu ve sitokinler tarafından kontrol edilen Treg hücrelerin üretilmemesidir. Th1 yanıtı, IL-2 ve IFN $\gamma$  'nin otoimmün hastalıklarda ve allogreft reddinde sitotoksik T hücrelerinin büyümesinde egemendir. Th2 yanıtı ise, IL-4 ve IL-13 ve olası IL-33 işlevsel hale getirmek için baskın olarak antikor üretimi sağlar. T0'ın IL-17 üreten T-hücrelerine farklılaşması, IFN $\gamma$  veya IL-12 üreten Th1 T hücreleriyle karşılaştırıldığında otoimmün hastalıklarda daha büyük bir patojenik rol oynar (44).

Literatüre baktığımızda Lahdenpera ve ark. Monteleone ve ark. çölyak hastalarında IL-17A'nın bağırsak mukozasında tepkiye yol açtığı göstermişlerdir. Ayrıca araştırmacılar IL-17'nin villöz atrofının belirlenmesinde biyobelirteç olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (67,68).

### 2.3.1.1.İnterlökin (IL) -17

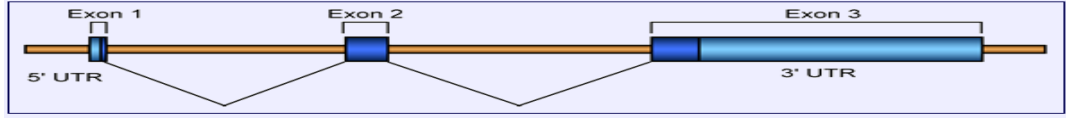
1995'de tanımlanan IL-17, bilinen diğer sitokinlerle sekans benzerliği taşımadığı için yeni bir sitokin ailesi olarak sınıflandırılmıştır. IL-17 ailesi 17A'dan 17F'ye 6 üye içerir. Bunların arasında IL-17A ve IL-17F iyi karakterize edilmiştir. IL-17 aile üyeleri, homodimerler veya heterodimerler olarak işlev görür (69). 6 kromozomun kısa kolunun 12.2 (6p12.2) bölgesinde bulunmaktadır.



**Şekil 8.** IL-17A geninin kromozom üzerinde gösterimi. (70)

Konağın savunmasında ve otoimmünitede rol aldığı gösterilmiştir. IL-17, yaklaşık 155 aminoasit uzunluğunda bir proenflamatuar sitokindir (71). 23 aminoasit (aa) sinyal peptidiyken 132 tane aa olgun peptit taşımaktadır. Moleküler ağırlığı 17504 dalton (Da) 'dur. Şekil 9 gösterilen exon-1 72 baz çifti (bp- base pair). Exon-2 203 bp exon-3 1584 bp dir. Sırasıyla 1144 bp ve 1249 bp 2 intron bölgesine sahiptir. 5' (untranslated region) UTR 45 bp 468 bp kodlama dizisi 1346 bp 3'UTR toplamda 1859 bp transkripyona sahiptir. Toplamda 4252 bp'lik bir alanı kaplamaktadır (72).





**Şekil 9.** IL-17 geni. (72)

CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin alt gruplarından olan Th-17 hücrelerden salınan başta IL-17 olmak üzere pek çok sitokin, intestinal mukozada ve sinoviyal membranda hasara yol açmaktadır.

IL-17 ağırlıklı olarak proenflamatuar ve hematopoietik cevaplara aracılık eder. IL-17A, fibroblast, endotel, epitelyal ve makrofaj hücrelerinden IL-8, G-CSF, IL-6, IL-1 $\beta$ , PGE2, TNF-a, ICAM-1 ve salınmasını uyarır (73).

Genel olarak proenflamatuar sitokin olmasına rağmen IL-17A'nın koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Astımda, IL-17A, antijen duyarlılığı için gerekli olmasına rağmen, hastalığın efektör fazında koruyucu bir rol oynar (74). IL-17B, gastrointestinal sistem, pankreas ve nöronların hücreleri tarafından üretilir.

IL-17C, prostat ve fetal böbreğin hücreleri tarafından üretilir ve IL-17D, beyin, kas, kalp, akciğer, yağ dokuları ve pankreas hücreleri tarafından salgılanır (75,76). IL-17E ayrıca IL-25 olarak da bilinir. NK; T hücreleri, lenfositler, bazofiller, akciğer epitel hücreleri, eozinofiller, alveolar makrofajlar, Th2 hücreleri ve mast hücreleri tarafından üretilir (77,78). IL-17E, Th-17 hücre farklılaşmasını baskılayan bir Th2 yanıtını başlatabilir.

**Tablo 1.** IL-17 reseptör ailesi. (79)

IL-17 ALT GRUPLARI	BOYUT	UZUNLUK (aa)	KROMOZOMAL LOKASYONU	İNSAN İÇİN MURİNE HOMOLOJİSİ
A	35	155	6p12	62
B	41	180	5q32-34	88
C	40	197	16q24	83
D	52	202	13q12.11	78
E	34	161	14q11.2	81
F	44	153	6p12	77

Th hücre alt tiplerine benzer şekilde, Th17 farklılaşması ve aktivasyonunun ilk basamağı TCR basamağıdır. TCR'nin etkileşiminden sonraki ilk olaylardan biri, hücre içi kalsiyum üretimi ve NFAT'ün aktivasyonudur (80).

İnsan IL-17 promotörünün, NFATc1 ve NFATc2'ye bağlanan NFAT bağlanma bölgesi vardır (81). TCR aracılığıyla sinyalleme, Th17 sitokinlerinin ekspresyonunu farklı şekilde kontrol eder. Sadece, IL-17A'nın soylara spesifik bir sitokin olduğu keşfedildiğinde, bu transkripsiyon faktörü Th17 gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Th17 gelişimini kontrol eden diğer faktörler arasında interferon düzenleyici faktör-4 (IRF-4) bulunmaktadır (82). IL-6 tarafından transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) aracılı forkhead box p3 (FoxP3) gibi düzenleyici T hücre indüksiyonu inhibe edilir (83,84). Th17 hücreleri tarafından üretilen çeşitli sitokinlerin konakçı savunmasında spesifik rolleri olduğu bildirilmiştir.

IL-17A'nın belgelenmiş ilk etkilerinden biri, IL-6, IL-8, G-CSF ve PGE2 gibi sitokinlerin indüksiyonu CD34<sup>+</sup> öncü hücreler tarafından nötrofil farklılaşmasının teşvik edilmesidir. Ayrıca CD<sup>+</sup>4 T hücre kaynaklı IL-17'nin, *Staphylococcus aureus* ve *Bacteroides fragilis* gibi bakterilere yanıt olarak intra-abdominal iltihaplanma oluşumu için önemli olduğu gösterilmiştir (85).

2018 de yapılan bir derlemede IL-17'nin proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri indükleyerek, T ve B hücrelerini aktive ettiği böylece bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı konak savunmasında önemli bir rol oynadığı açıklanmıştır (44).

IL-17A ve IL-17F'nin yanı sıra başka bir Th17 sitokin olan IL-22'nin mukozal bağışıklıkta önemli rol oynadığı bildirilmiştir. IL-22, konak epitel hücreleri tarafından RegIII ve RegIII gibi antimikrobiyal peptidlerin, defensinlerin ve kemokinlerin üretilmesini sağlar ve çoğalmasını ve yaralanmaya karşı direncini artırır. Mukozal patojenlere karşı savunmada Th17 kaynaklı sitokinler öneme sahiptir (86).

Çölyak hastalarında IL-17A geni promotör bölgesi -197 pozisyonunda tek nükleotit polimorfizmi bulunmaktadır. Bu pozisyonda guanin-adenin (G/A) değişikliği söz konusudur (-197 A/G). Sitokin salınımının düzenlenmesi genetik olarak sitokinin kodlandığı ve promotör bölgesindeki gen dizisi ile kontrol altındadır.

Her tek nükleotit polimorfizmi gen ürünü ekspresyonunda değişikliğe neden olmazken literatür de IL-17A ekspresyonu ile çölyak hastalığının etkileşim içerisinde olduğu gösterilmiştir.

Tedavi edilmiş-edilmemiş çocuk çölyak hastası ve kontrol grubundan oluşan 3 ayrı grupta real-time PCR yöntemi ile IL-17A'nin gen ekspresyon seviyesine bakılmış ve tedavi edilmeyen grup ile kontrol grubu arasındaki IL-17A ekspresyon seviyesi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Tedavi edilen grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır (87).



**Şekil.10** XmnI enziminin kesimi. (88)

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1.Araştırmanın Tipi**

Araştırma deneysel bir çalışmadır.

#### **3.2.Araştırmanın Yeri ve Zamanı**

Haziran 2017- Ocak 2018 tarihleri arasında, tez önerisi ve etik kurul başvuruları yapıldı. Kabul alındıktan sonra, BAP proje başvurusu tamamlandı. Deneysel çalışmalar, Haziran 2018 – Ekim 2018 tarihleri arasında Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doku Tiplendirme Laboratuvarında yapıldı.

#### **3.3.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi**

Araştırma evreni; Avrupa Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Topluluğu'nun (ESPGHAN) tarafından belirlenen kriterler dâhilinde İzmir Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Gastroenteroloji birimince kesin tanı konulmuş 18 yaşından küçük 125 çocuk hastadan oluşturuldu.

#### **3.4.Çalışma Materyali**

Çalışmamızda, 125 hastanın kesin tanısı konulduktan sonra, periferik kanları alınan ve bu kanlardan izole edilmiş olan DNA'ları kullanıldı.

#### **3.5. Araştırmanın Değişkenleri**

Araştırmanın bağımlı değişkenleri; Sanger Sekanslama sonucunda HLA DQB1 polimorfizmler (alt allerindeki farklılıklar) ve IL-17 polimorfizmdeki değişimleridir. Araştırmanın bağımsız değişkenleri; hastaların demografik özelliklerindeki değişimlerdir.

### 3.6. Veri Toplama Araçları

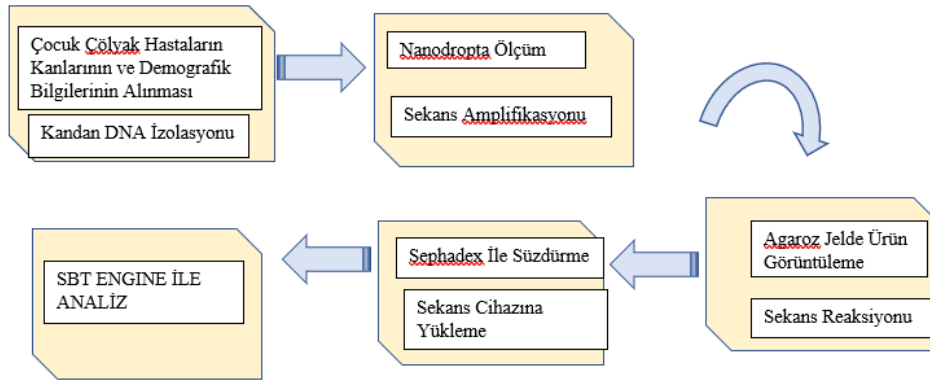
#### 3.6.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve cihazlar.

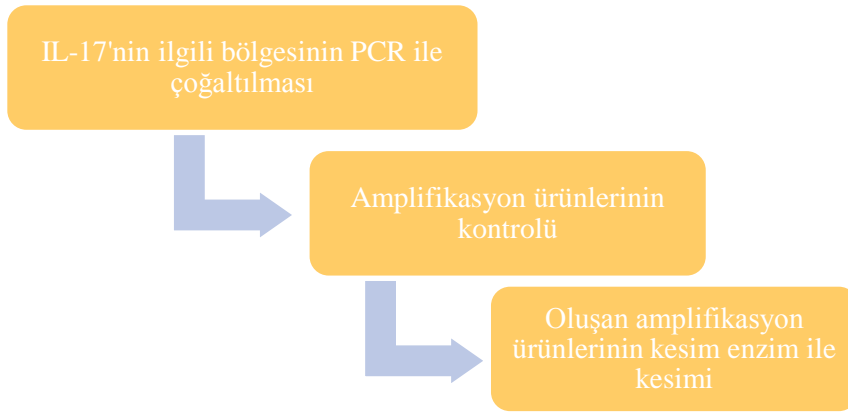
Malzeme Adı	Marka/Kod	Kullanım Amacı
Qiagen EZ1 DNA Blood 200 µl Kit	Geno M-6 Genevision DNA İzolasyon	DNA izolasyonu
Nanodrop	Thermo Nanodrop2000	DNA konsantrasyonunun ölçülmesi
0,2ml Thin-Walled 8 Tube And Flat Cap Strips (AB-1182)	Thermo Fisher Scientific	Sekans amplifikasyon Reaksiyonu hazırlama
Long Range PCR Kit	Qiagen	Amplifikasyon reaksiyon ürünleri
Thermal Cycler	Sensoquest	Sekans basamaklarının tümü
Agaroz	Lonza	Agaroz jel hazırlama
Elektroforez	Thermo Fisher	Ürünlerin yürütülmesi
Uv Transsimilatör	Major Science	Jelde yürütülen ürünlerin Görüntülenmesi
Exo-Sap	Gendx	dNTP ve kalan primerleri temizler
SBT Excellerator Core Kit	Gendx	Sekans reaksiyon ürünleri
Vorteks	Biosan	Primerleri vortekleme
96 Multiply PCR Plate	Sarstedt	Sekans reaksiyonu mix hazırlama
Column Loader	Millipore –Brand	Sephadex dökme aparatı
Sephadex	G-50 Fine DNA Grade	Pürifikasyon aşaması
96 Wellplate	Millipore	Sephadex filtre
Santrifüj	Hermle-Z306	Sephadex Süzdürme-Spin Atma
Mikroamp Optical 96 Reaksiyon Barkodlu Plate	ThermoFisher Scientific	Sekans cihazında okutma aşaması
Sekans Cihazı	ABI 3500	Sekans ürünlerinin okutulması
İnkübatör	NÜVE EN050	PCR ürünlerinin kesilmesi

#### 3.6.2. Deneysel Çalışmalar

Çölyak hastalarında HLA DQB1 ve IL-17 polimorfizmlerinin incelenmesi amacıyla yapılan sekans çalışmamızın akış şeması aşağıda Şekil 11’de, polimorfizm çalışmamızın akış şeması Şekil 12’de verilmiştir.



**Şekil 11.** Yüksek çözünürlüklü sekans bazlı HLA DQB1 tipleme çalışması akış şeması.



**Şekil 12.** IL-17 polimorfizmi çalışması akış şeması.

### 3.6.2.1. DNA İzolasyonu

1. QIAGEN EZ1 DNA Blood 200µL Kit ve Geno M-6 Genevision DNA izolasyon cihazı kullanılarak 200µl EDTA'lı kandan 50µl DNA elde edildi.
2. Kitin protokolüne göre, örnekler iyice süspansede edilerek 2 ml'lik örnek tüpleri içine eklendi. Uygun EZ1 DNA Kan Kartuşları, DNA izolasyon kart yuvasına yerleştirildi. 1,5 ml'lik DNA elüsyon tüpleri kapakları açılarak cihazda bulunan uygun yerlerine konuldu. Filtre uçlarını içeren uç tutucular uygun yerine yerleştirildi.
3. EZ1 izolasyon cihazı çalıştırılarak "Protocols" menüsünden uygun protokol seçilerek "START" tuşuna basılır. DNA izolasyonu yaklaşık 15-18 dakika sürmektedir. DNA tüpleri, HLA çalışması yapılana kadar -20° C derecede saklandı.

### **3.6.2.2.Nanodropta Ölçüm**

1.Thermo Scientific™ 2000 marka/modelli Nanodropta DNA konsantasyonları ölçüldü. Yaklaşık 150-200 µl/ng olacak şekilde çıkan yoğunlukla çarpılarak DNA eklendi.

### **3.6.2.3.Sekansa Spesifik Oligonükleotit Prob (SSOP)**

Hastanemize başvuran çölyak hastaları için düşük çözünürlüklü sekansa spesifik oligonükleotit prob (SSOP) yöntemi olan HLA DR-DQ tiplene yapılmaktadır. Ayrıca, sağlıklı hematopoietik kök hücre vericilerinde uyumu için bu yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntem her bir lokusa özgü olan prob temelli çalışmadır. 2 PCR aşamalı olan bu çalışma, ilk PCR’da amplifikasyon yaparak çift iplikli ürünler gibi ekstradan tek iplikli üründe oluşturmaktadır. Tedarikçi firmanın temin ettiği bu kitin içerisinde bulunan prob mix’ler 2. PCR olan hibridizasyonda kullanılır. Daha sonra ürünler coster plate ‘e konularak üzerine boya özelliği olan SAPE eklenir. Luminex cihazında okutulur. Match IT analiz programında analiz edilir.

### **3.6.2.4.Polimeraz zincir Reaksiyon Tabanlı Yüksek Çözünürlüklü Sekans Bazlı Tipleme – SBT**

DNA dizi analizi yöntemi ya da sekanslama olarak adlandırılan yöntem nükleotid baz diziliminin belirlenmesine dayalı yöntemdir. Öncelikle, HLA DQB1 bölgesi amplifikasyon aşamasıyla çoğaltıldı. Jelde yürütülüp istenilen ürünler oluştuğunda, bu lokuslar içinde istenilen bölgelerin çoğalması için primerler kullanıldı. PCR ürünleri, sephadex içerisinden süzdürülerek oluşan ürünler cihaza verildi. Cihaz katot ile anot arasındaki kapiller POP7 polimeri ile doldurulduktan sonra, negatif yüklü PCR ürününü çekerek katottan pozitif yüklü anoda doğru aynı elektroforez sistemi gibi yürüttü. Kapillerin, anota yakın bulunan lazerden gelen ışık ile uyarılan floresan boya ların geri yansıttığı ışık, dedektör tarafından kaydedilip ham sonuçlar SBT Engine software programına aktarıldı.

SBT yönteminde amplifikasyon aşaması için; Qiagen Long Range PCR Kit, Amplikonların ekzonlar şeklinde çoğaltıldığı aşama için; SBT excellerator Core Kit (GenDx), GSSP için; SBT excellerator Extended Kit (GenDx) kullanıldı.

### 3.6.2.4.1 HLA DQB1 Lokusunun Amplifikasyonu

**Tablo 3.** Amplifikasyonda kullanılacak malzemeler ve miktarları.

Amplifikasyon Reaksiyon Mix*	
Buffer	2,5 µl
dNTP	1,5 µl
Enzim	0,4 µl
Q Solüsyonu	5 µl
Primer	1µl
Su (RNAaz free)	DNA miktarına göre
Total	25 µl

\*1X'lik mix için miktarlar

- Primeri ilk sulandırma aşamasında yaklaşık 15-20 dakika spin atırılmalıdır. Nükleaz free ile sulandırıp tekrar vorteks spin atırıldı. Bu işlem 2 defa tekrarlandı.
- DNA= Az olan ölçüme göre ayarlanır, 1-5 µl arasında olmalıdır. PCR tüplerinin kapağı kapatılır. Vorteks ve spin yapıldı. PCR cihazındaki "SBT/PCR" programı seçildi.

**Tablo 4.** Amplifikasyon protokolü.

Basamak	Sıcaklık	Süre
Başlama Denatürasyonu	95 °C	3dk
		15 sn
	Denatürasyon	95 °C
Bağlanma	65 °C	
Uzama	68 °C	6 dk
Final Uzama	68 °C	10dk →X 35
Bitiş	4°C	∞

X 3

- PCR işlemi sona erdikten sonra Tris-Boric asit EDTA tampon (TBE) ile %1'lik agaroz hazırlandı. Yaklaşık 15 dk sonra jel donduğunda 3µl ampikon ve 2 µl loading dye karıştırılarak jele yüklendi.



- 140V'ta 20 dakika yürütüldü. Jel elektroforezi tamamlandıktan sonra bantların fotoğrafları çekildi.
- Amplikonlar düzgün gözlenebildiği için, işleme devam edildi. (Sorunlu amplikonlar için elektroforez veya ilk PCR işlemi tekrarlanır.)

#### 3.6.2.4.2. EXO-SAP Aşaması

- Agaroz jelde gözlenen bantlar düzgün ise, EXO/SAP basamağına geçildi.
- Exonuclease I: Kalan primerleri parçalar
- Shrimp Alkaline Phosphatase: Kalan dNTP leri parçalar.

**Tablo 5.** EXO-SAP Basamağında kullanılacak malzemeler ve miktarları.

EXO-SAP Mix*	
EXO I	1 µl
SAP	1 µl
Total	2 µl

\* 1X'lik mix için miktarlar

- Vorteks ve spin yapıldıktan sonra yaklaşık 1,5'ar µl amplikonların üzerine paylaştırıldı.
- PCR tüpleri vorteks+spin yapıldıktan sonra Thermal Cyclera yerleştirildi. EXO/SAP protokolü seçildi.

**Tablo 6.** EXO-SAP PCR Protokolü.

Basamak	Sıcaklık	Süre
Enzim Aktivasyon	37 °C	30dk
Enzim Deaktivasyon	80 °C	20dk
Soğutma	15°C	∞

#### 3.6.2.4.3. Sekans Aşaması

- Bu aşamada sekans reaksiyon plateleri kullanıldı.

**Tablo 7.** Sekans Reaksiyonu için kullanılan malzemeler ve miktarları.

<b>Sekans Reaksiyon Mix*</b>	
Su	5,5 µl
Buffer	1,5 µl
Reaksiyon mix	1 µl
Sekans Primeri	1 µl
Amplikon	1 µl
Total	10 µl

\*1X'lik mix için miktarlar

**Tablo 8.** Sekans PCR Protokol.

<b>Basamak</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>
Başlama Denatürasyonu Denatürasyon Bağlanma	95 °C	10sn
	95 °C	10 sn
	65 °C	10 sn
Uzama	68 °C	6 dk → X 25
Bitiş	4°C	∞

X3

- Tüm bileşenler karıştırıldı. 8 µl her bir kuyuya dağıtıldı. 1 µl sekans primeri, 1 µl amplikon olacak şekilde paylaştırıldı.
- Plate'in üzeri PCR tüpleri için kullanılan kapaklarla kapatıldı. Thermal Cycler cihazına plate konur ve "SEQ-PCR" protokolü seçildi.
- Çalışılan kuyu kadar sephadex yükleme plate'i işaretlendi.

#### 3.6.2.4.4. Sephadex ile Süzdürme

- Sephadex, filtreli plağa kuyu başına 45g olacak şekilde dökülür ve her kuyunun üzerine 300 µl su eklendi. Sephadex'in şişmesi için en az 3 saat beklenildi.
- Örnekleri yüklemenden önce plate 1000 rcf'de 5 dk santrifüjlenip suyu tamamen süzdürüldü.

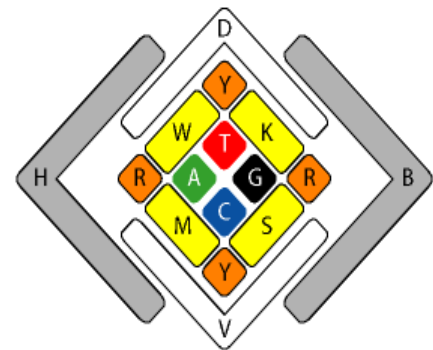
- Thermal Cycler cihazından alınan plateteki her bir kuyuya 15 µl distile su konuldu.
- Kuyulardaki sıvının tamamı alınarak sephadexli kuyuların tam ortasına gelecek şekilde pipetlendi.
- Sephadexli plate'in altına barkodlu plate konur ve 1000 rcf'de 5 dk santrifüjlendi. Barkodlu Plate "Thermal Cycler" cihazına yerleştirilerek 'Denatürasyon' basamağı seçildi.
- Yaklaşık 5 dakika süren bu protokol bittiğinde plate buz üzerine alındı. Cihaza çalışılan hasta listesinin plate düzeni aynen yazılıp ve tanıtıldı. Plate cihaza yüklendi.

#### 3.6.2.4.5. Sekans Analizi

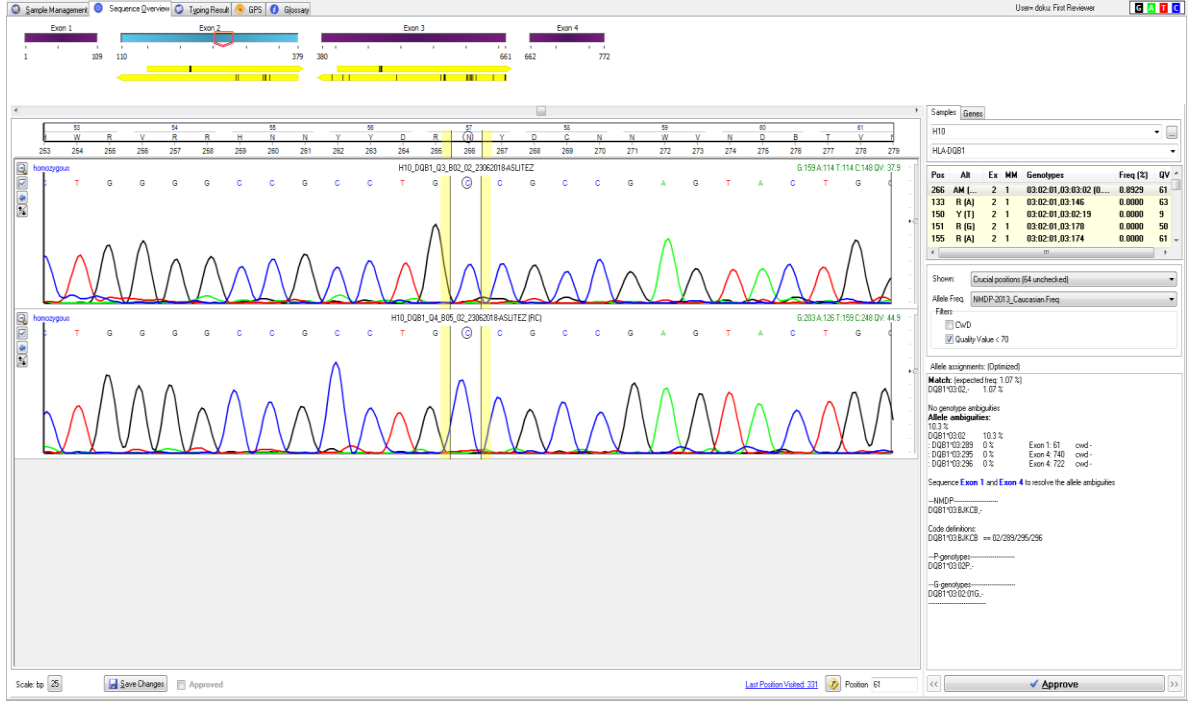
- Analiz aşamasına geçildiğinde cihaz açılıp, Anot, Katot, POP7 kontrol edilip takıldı. Bobble giderildi. Kapiller kontrol edilir. Sekans analizi ABI3500 markalı cihaz ile SBT Engine analiz programı kullanılarak yapıldı.
- Sonuçlar bilgisayar programında değerlendirildi. International Union of Biochemistry Nomenclature Committee (IUB) kodlarına göre kodlandı.

**Tablo 9.** IUPAC Adlandırma ve Kodları.

IUPAC Adlandırmaya Göre Kodların Anlamları		
W	T-A	Weak
S	G-C	Strong
M	C-A	Amino
K	T-G	Keto
R	A-G	PuRine
Y	C-T	PYrimidine
N	-	ANy
A	-	Adenin
T	-	Timin
G	-	Guanin
C	-	Cytosin



**Şekil 13.** Iupac-Iub Kod (89).



**Şekil 14.** Yüksek çözünürlüklü sekans çalışmamızda homozigot çıkan bir hastanın HLA DQB1 analizi.

### 3.6.2.5. Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi)

Polimeraz zincir reaksiyonlu restriksiyon fragment (parça) polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi polimorfizm çalışmalarında kullanılan yöntemlerden birisidir. Tez çalışmasında ilk olarak IL-17A genindeki rs2275913 polimorfizmi için gerekli literatür taranarak Tablo 10'daki gibi uygun primer tasarımı yapıldı. Çalışma için toplanan DNA'larımızın konsantrasyonları ortalama 35-40 ng/µl olacak şekilde ayarlandı.

#### 3.6.2.5.1. Primer Tasarımı:

**Tablo 10.** IL-17 için Kullanılan Primer: IL17A rs:2275913 için kullanılan primer dizisi (L.-J. Yang ve ark.2016) (90).

IL-17A	F:5'-AAGAAAGATCAAATGGAA-3'	18 bp
	R:5'-TCTCTCTTTTATAGGGC-3'	18 bp

Gerekli PCR reaksiyonuna konulacak malzemelerin miktarı için PCR protokolü için deneme çalışması yapıldı. Uygun koşullar sağlandığında çalışmaya başlandı.

### 3.6.2.5.2. PCR Şartları

**Tablo 11.** İlk PCR reaksiyonu için kullanılan malzemeler ve miktarları.

<b>Polimorfizm İçin İlk PCR reaksiyonu*</b>	
Mg	0,5 µl
Primer forward	1,5 µl
Primer Reverse	1,5 µl
dNTP	2 µl
Taq Polimeraz	0,25 µl
DNA	50 µl /ng olacak şekilde ayarlandı.
Su	Total hacim 25 µl olacak şekilde ayarlandı.

\*35 döngü

Çalışma iki aşamalı idi. İlk PCR çalışmasında, çoğaltılan ürünlerden 3µl'si 1 X'lik TBE ile hazırlanmış %1,5 agaroz jel de görüntülendi. Ürün varsa geriye kalan 22 µl ile kesim reaksiyonu kuruldu (Tablo 12). 1 gece kesim enzimiyle birlikte 37° C 'de bekletildi.

### 3.6.2.5.3. Kesim Reaksiyonu:

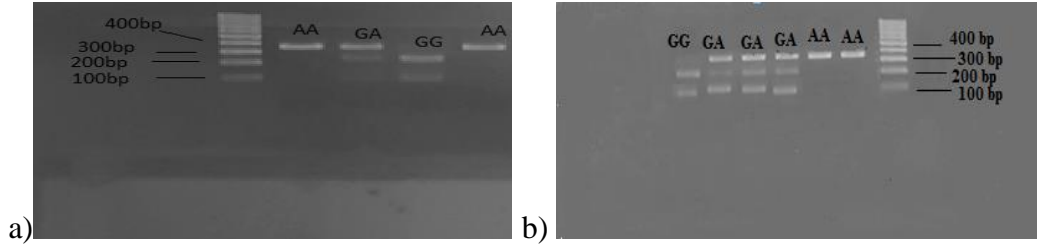
**Tablo 12.** Kesim reaksiyonu için kullanılan malzemeler ve miktarları.

<b>Kesim Reaksiyonu*</b>	
Su	9 µl
Buffer	2 µl
Enzim (XmnI)	0,2 µl

\* 1X'lik mix için miktarlar

### 3.6.2.5.4 Jel Görüntüsünü Değerlendirme

PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde yürütülerek değerlendirme yapıldı (Şekil 15,16). 368 bp olanlar tek bant olarak AA, 246 bp ve 122 bp olmak üzere 2 bant bulunanlar GG, 368 bp, 246 bp ve 122 bp olanlar GA olarak isimlendirildi.



**Şekil 15.** a) XmnI enzimi ile kesilmiş kontrol grubu IL17A geni örnek jel görüntüsü rs:2275913. b) XmnI enzimi ile kesilmiş hasta grubu IL-17A geni örnek jel görüntüsü rs:2275913

### 3.7. Araştırma Planı Ve Takvimi

**Tablo13.** İş Akış Şeması.

İş Paketinin Adı/Tanımı	2017 Eylül	2017 Ekim	2017 Kasım	2017 Aralık	2018 Ocak	2018 Şubat	2018 Mart	2018 Nisan	2018 Mayıs	2018 Haziran	2018 Temmuz	2018 Ağustos	2018 Eylül	2018 Ekim	2018 Kasım	2018 Aralık	2019 Ocak
Örneklerin Toplanması	X	X	X	X	X												
DNA İzolasyonu ve DNA'ların Saklanması						X	X										
Hasta Bilgilerinin Düzenlenmesi								X	X								
Yüksek Çözünürlüklü Sekans Bazlı HLA DQB1 çalışma										X	X						
Kontrol Grubunun Belirlenmesi ve Onay Alınması												X	X				
IL-17 polimorfizminin incelenmesi													X	X			
İstatistiksel analiz ve Tez Yazımı															X	X	X

### **3.8.İstatistiksel Analiz**

Sekans analizi yapılan çalışma grubunun allel ve haplotip frekansları Hardy-Weinberg Dengesi ve Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) çerçevesinde Arlequin programında kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Maximum-likelihood haplotype" frekansları "expectation-maximization" algoritması kullanılarak haplotip frekansları hesaplandı. Çalışmamızdaki yaş cinsiyet dağılımları için Statistical Package for Social Sciences for Windows Version 25.0 (SPSS 25.0 Inc, Chicago, USA) programında öncelikle verilerin normallik dağılımına bakıldı. Daha sonra Mann-Whitney U testi yapılmıştır.

Polimorfizm çalışması için örneklem büyüklüğü NCSS/PASS programında hesaplanmıştır. %80 güç, %5 hata düzeyi ile daha önce yapılan bir çalışmada IL-17A polimorfizminde çölyak hastalığı varlığına göre gruplar arası için sıklık farkının %11 olduğu bildirilmiş olup, örneklem büyüklüğü en az 212 kişi olarak hesaplanmıştır. Sayısal parametrelerin değerlendirilmesi için Mann-Whitney U testi yapılmıştır.  $p^2+2pq+q^2=1$  genotip ve alel frekansının değerlendirilmesi için Pearson ki kare testi yapılmıştır.

### **3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları**

Araştırmamızın sekans bazlı tipleme kısmında az hasta sayısı ile çalışılmıştır.

### **3.10. Etik Kurul Onayı**

Tez çalışması için etik kurul onayı, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 14.09.2017 tarihli ve 113 karar numarası izni ile alınmıştır.

#### 4.BULGULAR

Çalışmamıza T.C Sağlık Bakanlığı İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Gastroenteroloji bölümünde ÇH tanısı konulmuş ve Eylül 2017- Ocak 2018 tarihleri arasında HLA DQ tiplene testi için TEAH Doku Tiplene Laboratuvarına gönderilmiş 125 hasta dâhil edilmiştir. Bu hastalara standart çalışma prosedürümüz olan düşük çözünürlüklü HLA DQ tiplene yapılmıştır. Tez projesi kapsamında bu hastaların IL-17 genindeki SNP'ler araştırılmıştır. Yine bu tez projesi kapsamında hasta grubundan 25'inin DQB1 alelleri SBT yöntemi ile test edilerek yüksek çözünürlüklü alt alelleri saptanmıştır.

Çalışmamızda kontrol grubu olarak hematopoietik kök hücre ve organ nakli vericilerinin HLA DQB1 tiplene sonuçları kullanılmıştır. IL-17 için 100 sağlıklı kontrol, yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 tiplene içinde 25 sağlıklı kontrol kullanılmıştır.

Tablo 14'de ÇH tanısı alan ve sekans temelli HLA DQB1 tiplene çalışması yapılan hastaların demografik bilgileri, hastalık evresi ve klinik bulguları görülmektedir. Hastaların %32'si (n:8) erkek %68'i (n:17) kadındır. Erkeklerin yaş ortalaması 9 kadın hastaların yaş ortalaması 7 olarak bulunmuştur. Kontrol grubumuz ise 1-18 yaş arası %40 (n:10) erkek %60 (n:15) kadından oluşmaktadır. Erkeklerin yaş ortalaması 10,1 kadınların yaş ortalaması 16'dır.

4 hastanın 1.derece akrabalarında (anne-baba-kardeş) ÇH vardı. 3 hastanın ise anne-babası arasında akraba evliliği olduğu öğrenildi.

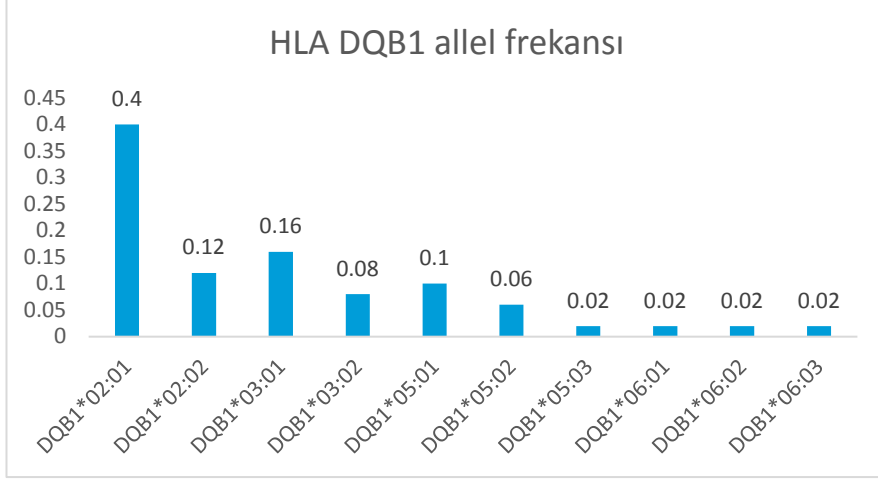
Tablo 14'te demografik bilgileri gösterilen 25 hastadan 8 kişi tip 3A 15 kişi tip 3B 2 kişi tip 3C hastalık evresine sahiptir.



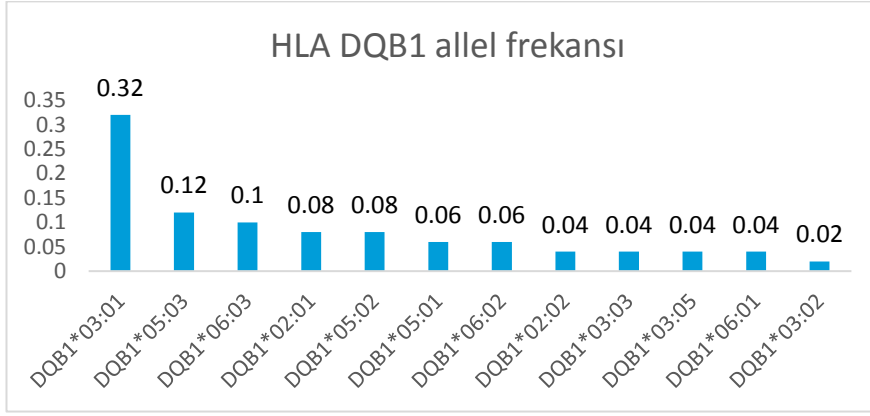
**Tablo 14.** HLA DQB1 alt allel çalışmasındaki çölyak hastalarının demografik bilgileri, klinik bulguları.

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	Ailede Çölyak Hastalık Öyküsü	Anne-baba akrabalık	KLİNİK BULGULAR										Marsh Evre
					K.Ağrısı	İshal	Kilo alamama	İştahsızlık	Büyüme geriliği	Boy kısalığı	Karında Şişkinlik	Kabızlık	Tarama Sonucu	Diyete Uyum	
H1	10	E	Yok	Var	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3A
H2	4	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Var	3A
H3	11	K	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3A
H4	11	K	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H5	15	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3C
H6	16	E	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Var	3C
H7	7	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	3B
H8	3	K	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var	3B
H9	9	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H10	13	E	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var	3A
H11	8	E	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	3B
H12	10	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H13	13	K	Var	Yok	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H14	14	K	Yok	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Var	3A
H15	6	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H16	2	E	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	3B
H17	17	E	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3A
H18	6	E	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3A
H19	6	E	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	3A
H20	5	K	Var	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Var	3B
H21	6	K	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H22	7	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H23	14	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H24	2	K	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	3B
H25	2	K	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	3B

Şekil 16 ve 17’de yüksek rezolüsyon çalışması ile saptanan hasta ve kontrol grubunun HLA DQB1 alt allellerinin frekansı görülmektedir.

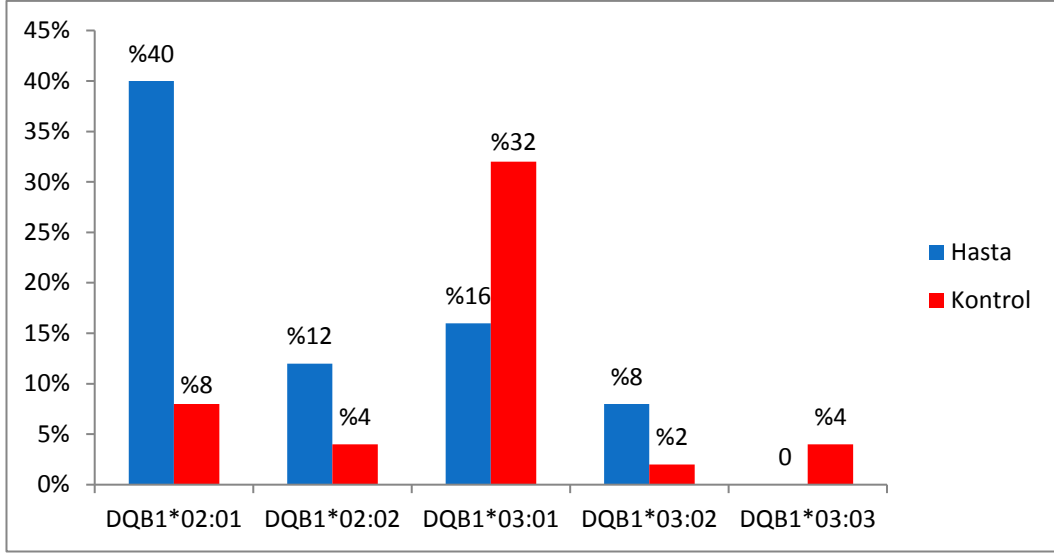


**Şekil 16.** Hasta grubu yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 allel frekansı.



**Şekil 17.** Kontrol grubu yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 allel frekansı.

ÇH ile bağlantılı olan HLA DQB1 alt allelleri açısından hastalar değerlendirildiğinde hastaların %40'ında (n:20) HLA DQB1\*02:01 (1 hastada DQB1\*02 heterozigot DQB1\*02:01 ve DQB1\*02:02 allellere sahip), %12'sinde (n:6) DQB1\*02:02 ve %8'inde (n:4) DQB1\*03:02 alleli (2 hastada, HLA DQB1\*02:01 ile birlikte) vardı. Bu alleller açısından kontrol grubu değerlendirildiğinde, %8'inde (n:4) DQB1\*02:01, %4'inde (n:2) DQB1\*02:02, %2'ünde (n:1) DQB1\*03:02 alleli bulunmakta idi. Hasta ve kontrol grubunda HLA DQB1\*02 ve DQB1\*03'ün alt allellerinin frekansı analiz programının frekans hesaplama özelliği ile hesaplandı ve gruplar karşılaştırıldığında anlamlı sonuçlar elde edildi.



**Şekil 18.** Hasta ve kontrol grubunda HLA DQB1\*02 ve DQB1\*03'ün alt allelleri.

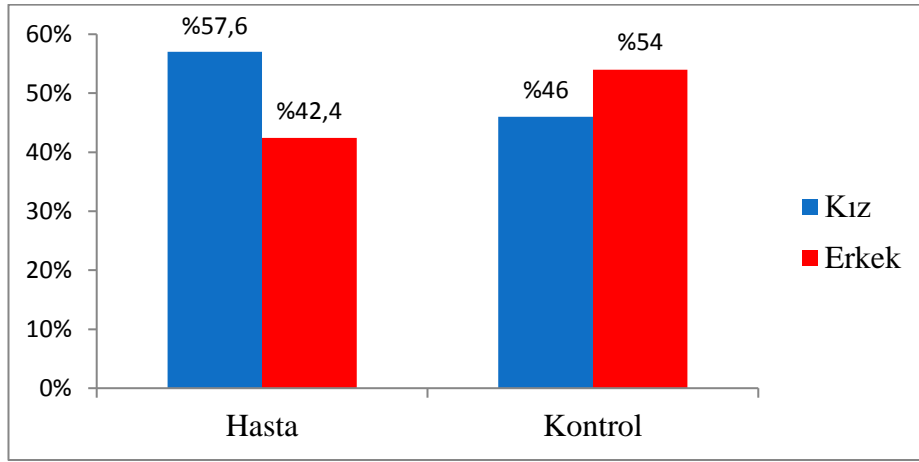
İki hastada DQB1\*02 homozigot idi (2,25) (Şekil 18). Bu hastaların yaş ortalaması 3 iken, DQB1\*02 homozigot olmayan hastaların yaş ortalaması 9 idi. Kontrol grubunda DQB1\*02 homozigotluğu saptanmadı. Ayrıca HLA DQB1\*02:01, DQB1\*02:02, DQB1\*03:01, DQB1\*03:02, DQB1\*03:03 alt allelleri ile hastalık evresini istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda bir ilişki bulunamadı ( $p>0,05$ ).

IL-17 polimorfizm çalışması için 125 hasta ve 100 sağlıklı birey seçilmiştir. Çölyak hasta grup ile kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı arasında farkın olup olmadığına bakmak için normallik testi yapılmıştır. Sonuçlar doğrultusunda non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Analiz sonucunda cinsiyet ve yaş  $p>0,05$  olduğu için hasta ve kontrol grubu arasında yaş dağılımı ve cinsiyet açısından farklılık bulunmamıştır.

**Tablo 15.** IL-17A polimorfizmi araştırılan kontrol ve hasta grubu arasındaki cinsiyet ve yaş dağılımının karşılaştırılması.

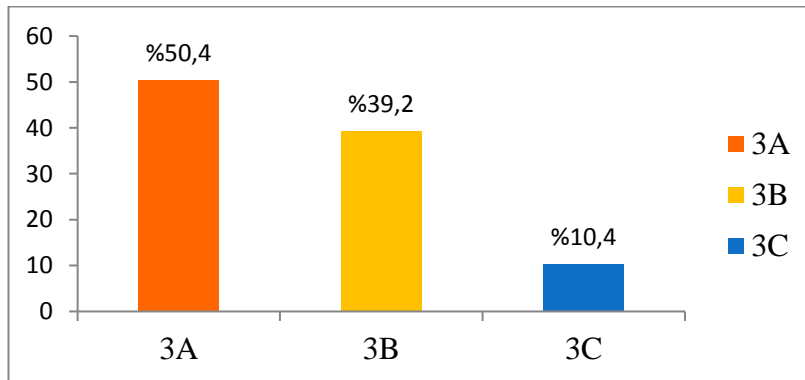
		Gruplar		<i>P</i>
		Hasta( <i>n</i> :125)	Kontrol( <i>n</i> :100)	
Cinsiyet	Kadın	%57,6 ( <i>n</i> :72)	%46 ( <i>n</i> :46)	0.084
	Erkek	%42,4 ( <i>n</i> :53)	%54 ( <i>n</i> :54)	
Yaş		9 (6-13)	10 (4.25-16)	0.186

Şekil 19'daki çalışmamızdaki çölyak hastalarında cinsiyet frekansına bakıldığında kadın hastaların %57,6(n:72) erkek hastalara %42,4(n:53) oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise erkek bireylerin %54(n:54) frekansı kadınlara %46(n:46) göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile polimorfizm arasında anlamlı farkın olup olmadığına bakıldığında ise hasta grubunda  $p=0,05$  olduğu için sınırda anlamlılık bulunmuş olup kontrol grubunda ise  $p>0,05$  olduğu için anlam bulunmamıştır.



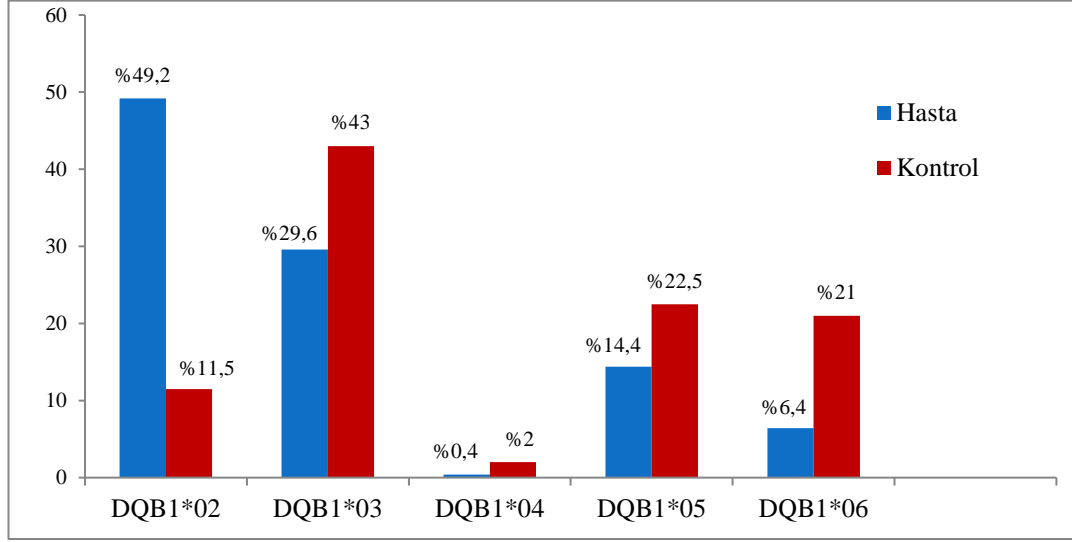
Şekil 19. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet frekansları.

Şekil 20'te gösterilen 125 hastanın analiz programında frekansına bakılarak %50,4(n:63) tip 3A, %39,2(n:49) tip 3B, %10,4(n:13) tip 3C hastalık evresine sahip olduğu görülmüştür.



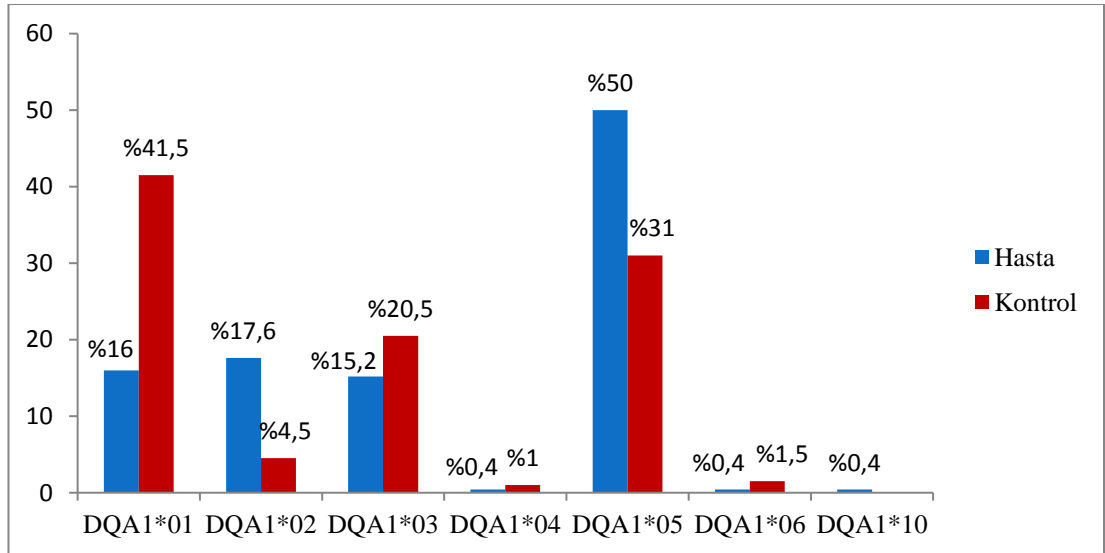
Şekil 20. Hastaların Marsh evreleri.

IL-17 çalışmasına dâhil olan hasta ve kontrol gruplarının düşük çözünürlüklü HLA DQB1-DQA1-DRB1 allelleri PCR-SSOP yöntemi ile belirlenmiştir. 125 hasta ve 100 kontrol grubunda en çok görülen düşük çözünürlüklü HLA DQB (Şekil 21) ve HLA DQA (Şekil 22) sonuçları gösterilmektedir. HLA DQB1-DQA1 sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 21.** Hasta ve Kontrol grubu HLA DQB1 düşük çözünürlüklü allel frekansları

Şekil 21 'de düşük çözünürlüklü HLA DQB1 sonuçlarında hasta grubunda en çok DQB1\*02 (%49,2) kontrol grubunda ise en çok DQB1\*03 (%43) görülmüştür.



**Şekil 22.** Hasta ve Kontrol gruplarındaki HLA DQA1 düşük çözünürlüklü allel frekansları

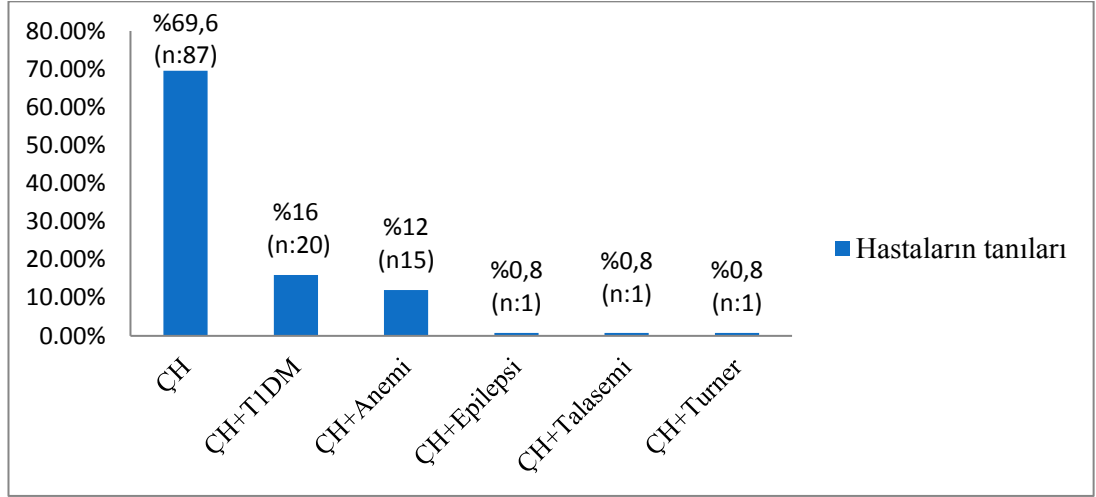
Şekil 22’de düşük çözünürlüklü HLA DQA1 sonuçlarında hasta grubunda en çok %50 oranında DQA1\*05 kontrol grubunda ise en çok %41,5 DQA1\*01 görülmüştür.

**Tablo 16.** Enzime spesifik antikor düzeylerinin DQB1\*02/02 homozigot (DQ2.2) olan-olmayan ve DQB1\*02/DQA1\*05 (DQ2.5) homozigot olan-olmayan ilişkisinin incelenmesi.

Enzime Spesifik Antikor Düzeyleri	DQ2.2 homozigot olan %(n)	DQ2.2 homozigot olmayan %(n)	DQ2.5 homozigot olan %(n)	DQ 2.5 homozigot olmayan %(n)
AGA IgA 1/10	-	%2,2(n:2)	%1,2(n:1)	%2,4(n:1)
AGA IgG 1/10	-	%1,1(n:1)	%1,2(n:1)	-
AGA IgG 1/50	%2,9(n:1)	-	-	%2,4(n:1)
AGA IgG>1/100	%11,4(n:4)	%3,3(n:3)	%2,4(n:2)	%11,9(n:5)
tTG IgA <1/100	%11,4(n:4)	%4,4(n:4)	%6(n:5)	%7,1(n:3)
tTG IgA >1/100	%65,7(n:23)	%80(n:72)	%80,7(n:67)	%66,7(n:28)
Normal antikor seviyesi	%8,6(n:3)	%8,9(n:8)	%8,4(n:7)	%9,5(n:4)
Toplam	%100(n:35)	%100(n:90)	%100(n:83)	%100(n:42)
<i>P</i>	0,158		0,236	

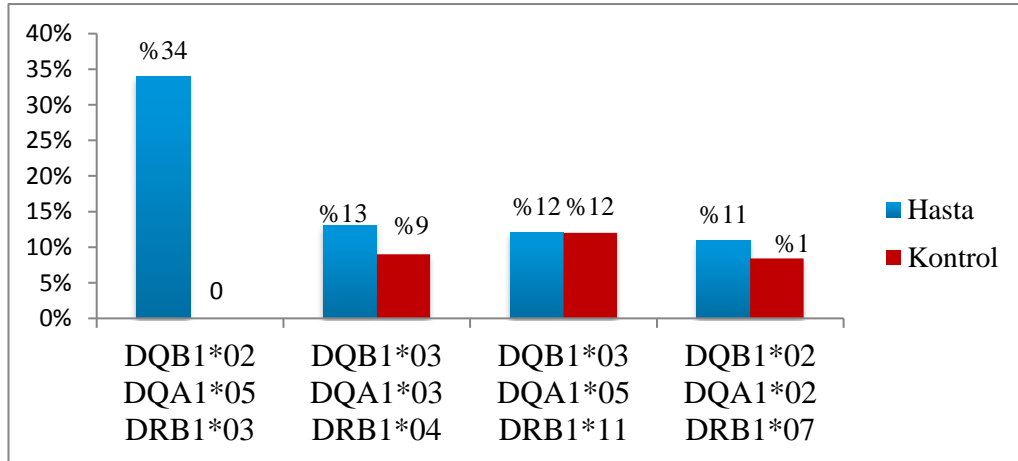
Tablo 16 da gösterildiği gibi en fazla %8,9 (n:72) tTG IgA 1/100 antikor düzeyinden fazla olan hastalar DQ2.2 homozigot olmayan grupta bulunmaktadır. Antikor seviyeleri DQ 2.2 (homozigot olan-olmayan), DQ 2.5 (homozigot olan-olmayan) doku gruplarıyla karşılaştırıldığında *p* değeri DQ2.2 ve DQ2.5 için istatistiksel olarak anlamlı değildi. DQ2.2 homozigot olmayan hastalarda tTG IgA>1/100 fazla sayıda olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsız bulundu ( $p>0,05$ ).

125 hastadan %69,6 (n:87)'sı sadece çölyak tanısı almışken %16 (n:20) 'si T1DM, %12 (n:15) anemi, %0,8 (n:1)'i turner sendromlu, %0,8 (n:1) talasemi, %0,8 (n:1) hasta ise epilepsi tanısı almıştı (Şekil 23).



**Şekil 23.** Çölyak hastalarında bulunan diğer hastalıklar.

HLA DQB-DQA-DRB1 haplotip yüzdeleri Arlequin programı ile analiz edilmiştir (Şekil 24).



**Şekil 24.** Hasta ve kontrol grubunda en çok görülen HLA DQB1-DQA1-DRB1 haplotip frekansları.

Şekil 24'de Arlequin analiz programı ile hasta grubu için 124 olası haplotip belirlendi. Bunların arasından en sık görülen 35 tanesi değerlendirilerek frekansı en yüksek olanlar seçildi. Kontrol grubu için 147 olası haplotip içerisinde 65 en sık görülen haplotip frekansları belirlenerek en yüksek frekanslar seçildi. Ayrıca

çalışmamızda sadece çölyak ve hem diyabetli hem çölyak hastalarının düşük çözünürlüklü HLA DQB1 sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 17.** Hasta ve kontrol grubunda HLA DQB1-DQA1-DRB1 haplotip frekanslarının değerlendirilmesi.

	Hasta (n:125)	Kontrol (n:100)	Relatif Risk
DQB1*02 DQA1*05 DRB1*03	0,34	-	42,5
DQB1*03 DQA1*03 DRB1*04	0,13	0,12	1,08
DQB1*03 DQA1*05 DRB1*11	0,12	0,20	0,6
DQB1*02 DQA1*02 DRB1*07	0,11	0,08	1,37

HLA DQB1\*02 homozigot olan-olmayan ve DQB1\*02-DQA1\*05 olan-olmayan hastalar ile hastalığın evreleriyle ilişkisinin olup olmadığı Tablo 18’de değerlendirildi. Sonuçlar tek örneklem t testi yapılarak bulundu.

**Tablo 18.** DQB1\*02/B1\*02 homozigotluğu ve DQB1\*02/A1\*05 ile hastalık evrelerinin ilişkisinin değerlendirilmesi.

	Hastalığın evreleri		
	3A	3B	3C
DQB1*02/B1*02 homozigot hastalar (n:28)	%9,6 (n:12)	%9,6 (n:12)	%3,2 (n:4)
DQB1*02/B1*02 homozigot olmayan hastalar (n:97)	%41,6 (n:52)	%28,8 (n:36)	%7,2 (n:9)
Toplam(n:125)	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
DQB1*02-DQA1*05 olan hastalar (n:84)	%32,8 (n:41)	%27,2 (n:34)	%7,2 (n:9)
DQB1*02-DQA1*05 olmayan hastalar (n:41)	%18,4 (n:23)	%11,2 (n:14)	%3,2 (n:4)
Toplam (n:125)	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$



Tablo 18’de gösterilen doku tipleri ile marsh evreleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

IL-17A geninde rs2275913 polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubunun karşılaştırması Tablo 19’de görülmektedir. Hasta grubu ile kontrol grubu AA, GA, GG genotipleri Kikare testi yapılarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Ayrıca genotipleri relatif risk açısından değerlendirecek olursak; hastalardaki GG ve GA grubunda RR>1 olarak saptanmıştır.

**Tablo 19.** Hasta ve kontrol grubunun IL-17 polimorfizm sonuçlarının karşılaştırılması.

	Genotip Frekansı			<i>P</i>
	AA %( <i>n</i> )	GG % ( <i>n</i> )	GA % ( <i>n</i> )	
Hasta	%35,2(n:44)	%16(n:20)	%48,8(n:61)	0,029
Kontrol	%51(n:51)	%17(n:17)	%32(n: 32)	
Relatif Risk	0,86	1,17	1,90	

Hasta ve kontrol grubunun A ve G allel frekansı Tablo 20’de gösterilmektedir. Gruplar arasındaki allel frekansı Kikare testi yapılarak bulunmuştur.

**Tablo 20.** Hasta ve kontrol gruplarının A ve G allel frekansı.

	G Allel Frekansı	A Allel Frekansı	<i>P</i>
Hasta Grubu (n:125)	%22,4(n:101)	%33,1(n:149)	0,106
Kontrol Grubu (n:100)	%14,7(n:66)	%29,8(n:134)	
Relatif Risk	1,21	0,88	

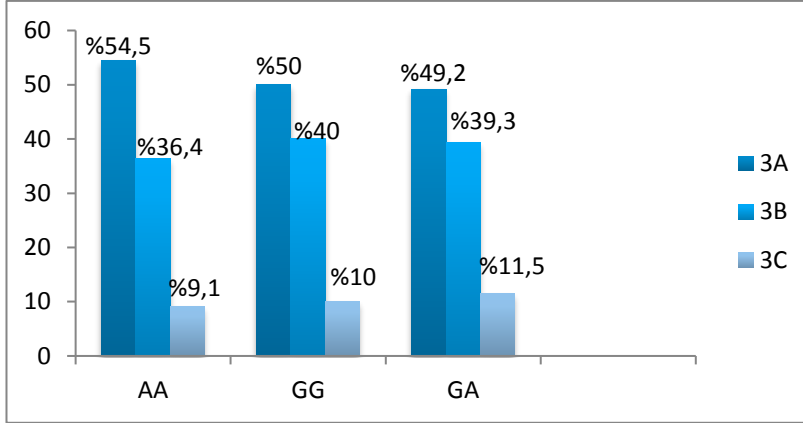
Hastalarda G alleli %22,4(n:101) iken A alleli %33,1(n:149) dur. Kontrol grubundaki G alleli %14,6(n:66) A alleli %29,7(n:134) olarak bulunmuştur. Hasta grubunda kontrol grubuna oranla G allel frekansının ve A allel frekansının yüksek olduğu görülmüştür. Buna rağmen  $p>0,05$  olduğu için alleller arası fark bulunamamıştır.

**Tablo.21** Enzime spesifik antikor düzeyleri ve IL-17 polimorfizm ilişkisinin incelenmesi.

Enzime spesifik antikor düzeyleri	Polimorfizm			<i>p</i>
	AA	GG	GA	
AGA IgA 1/10	%2,2(n:1)	%5(n:1)	-	0,78
AGA IgG 1/10	-	-	%1,7(n:1)	
AGA IgG 1/50	-	-	%1,7(n:1)	
AGA IgG>1/100	%6,7(n:3)	%10(n:2)	%3,3(n:2)	
tTG IgA<1/100	%6,7(n:3)	-	%8,3(n:5)	
tTG IgA>1/100	%77,8(n:35)	%75(n:15)	%75(n:45)	
Normal enzim seviyesi	%6,7(n:3)	%10(n:2)	%10(n:6)	
Toplam	%100(n:48)	%100(n:20)	%100(n:60)	-

ÇH tanısı konulmuş 125 hastanın, tanı konulmadan önceki yapılan enzime karşı oluşmuş antikor tarama testi sonuçları ve polimorfizm karşılaştırılması Tablo 21’de yapılmıştır. Çalışmadaki hastalar arasında sayıca fazla olan tTG IgA antikor seviyesi 1>100 olan grupta en çok GA polimorfizmi görülmektedir. *p* değeri Kikare testi sonucunda istatistiksel açıdan anlamsız bulunmuştur.

Marsh evreleri ile genotip frekansı arasındaki ilişkiye bakılacak olursa (Şekil 25) 3A evresine sahip %54,5 (n:24) hasta AA, %48,2(n:30) hasta GA, %50 (n:10) hasta GG’dir. 3B evresine sahip %36,4 (n:16) hasta AA, %39,3(n:24) hasta GA, %40(n:8) hasta GG’dir. 3C evresine sahip %9,1(n:4) hasta AA, %11,5(n:7) hasta GA, %10(n:2) GG’ye sahiptir. *p*>0,05 olduğu için marsh evresi ve polimorfizm sınıflaması açısından anlamlılık bulunmamıştır.



**Şekil 25.** Hastaların marsh evrelerine göre genotip frekansları.

Ayrıca 3A evresine sahip hastalarda %57,0(n:73) A alleli %43,0(n:55) G alleli bulunmaktadır. 3B evresindeki hastalarda %61,5(n:59) A alleli %38,5(n:37) G alleli bulunmaktadır. 3C evresindeki hastalarda ise %65,4(n:17) A alleli %34,6(n:9) G alleli bulunmaktadır (Tablo 22). Pearson Kikare testi yapılarak anlamlılık düzeyinde fark bulunamamıştır.

**Tablo 22.** Marsh evrelerine göre A ve G allel frekansı.

	3A	3B	3C	<i>p</i>
A allel	%57,0 (n:73)	%61,5 (n:59)	%65,4 (n:17)	<i>p</i> >0,05
G allel	%43,0 (n:55)	%38,5 (n:37)	%34,6 (n:9)	

Sadece ÇH bulunan hastaların genotip frekansı açısından karşılaştırılacak olursak %72,1 (n:31) AA %63,5 (n:40) GA %84,5 (n:16) GG dir. T1DM hasta grubunda %16,3 (n:7) AA %19 (n:12) GA %5,3 (n:1) GG'dir. Anemili hastaların ise %11,6 (n:5) AA %12,7 (n:8) GA %10,5 (n:2) GG'dir. Çölyak ve diğer hastalığı bulunan hastalarda ise GA alleli %4,8 (n:5)'dir.

Tablo 23'te çölyak ve sekonder hastalığı olan hastaların genotip ve allel frekansı gösterilmiştir.

**Tablo 23.** Sadece çölyak ve diğer hastalığı olanların genotip ve allel frekansı.

Hastalık	Genotip			Allel	
	AA %(n)	GG %(n)	GA %(n)	A Allel Frekans	G Allel Frekans
Sadece Çölyak Hastası	%72,1 (n:31)	%84,5 (n:16)	%63,5 (n:40)	%67,5 (n:102)	%70 (n:72)
ÇH + T1DM	%16,3 (n:7)	%5,3 (n:1)	%19 (n:12)	%17,2 (n:26)	%13,5 (n:14)
ÇH + Anemi	%11,6 (n:5)	%10,5 (n:2)	%12,7 (n:8)	%12 (n:18)	%11,6 (n:12)
ÇH + Diğer Hastalığı Olanlar	-	-	%4,8 (n:5)	%3,3 (n:5)	%4,9 (n:5)
Toplam	%100 (n:43)	%100 (n:19)	%100 (n:63)	%100 (n:151)	%100 (n:103)
<i>p</i>	>0,05			>0,05	

Tablo 23'e bakıldığında A allelinin anemilere göre T1DM'li hastalarda G allelinin de anemilere göre T1DM'li daha fazla olduğu görülmektedir.

## 6.TARTIŞMA

Çölyak hastalığı çevresel etmenler, genetik yatkınlık gibi nedenlerle bağırsaklardaki villus yapısının bozulmasına ve besinlerin emiliminin yetersizliğine sebep olan bir hastalıktır. Hastalığın sıklığı coğrafi farklılıklar göstermektedir. Avrupa’da hastalığın görülme oranı 1/350 ile 1/2000 arasında değişirken Avusturya ile İrlanda da hastalığın görülme sıklığı daha fazladır (91). En yüksek görülme sıklığı Güney Amerika’da (%4) Avrupalıların göç ettikleri Kuzey Amerika, Avustralya gibi bölgelerdir (%1). Bunların yanı sıra Güney Asya (Hindistan, Pakistanlılarda vb.) (%0,6), Afrika (%0,5)’da da sık rastlanmaktadır (92). Ülkemizde ÇH görülme sıklığı %0,3 ile %1 arasında değişmekte olup Sağlık Bakanlığı verilerine göre Ege bölgesi hastalığın sıklığı açısından 5.bölge olarak değerlendirilmektedir (91).

Yunanistan’da 2014 yılında 1136 çocukta yapılan çalışma ÇH görülme sıklığı 1:154 (93), 2015-2016 yılları arasında ise Kıbrıs’ta yapılmış olan çalışmada hastalığın görülme sıklığı 6-10 yaş arası 3792 çocukta 1:256 olarak bulunmuştur (94).

ÇH tanı koyma yaşı 2000 yılında Demir ve ark (95) tarafından 5.2, 2010 yılında Balamtekin ve ark.(96) tarafından 7.2, 2015 yılında Akay ve ark (97) tarafından 6.7, olarak bulunmuştur. Çalışmamızda hastalığın başlangıç yaşı açısından değerlendirdiğimizde ise kadınların 8 erkeklerin 7 tüm hastalarda ortalama olarak 7.5 bulunmuştur. Ayrıca çocuk hastalarda yetişkin bireylere göre hastalığın görülme sıklığı daha yüksek bulunmuş (92). Megiorni F.ve ark (10) DQ2 ve DQ8 allellerinin kızlarda erkeklere oranla daha fazla görüldüğünü belirtmesi üzerine bizim çalışmamıza bakıldığında DQB1\*02 homozigot %9,6 (n:12) erkek %11,2 (n:14) kız hasta vardı. DQ2 sahip olan ise %30,4 (n:38) erkek %45,6 (n:57) kız hasta olduğu bulunmuştur (10).

Çocuk çölyak hastalarına tanı konulurken anti-tTG, anti EMA ve AGA antikor seviyelerine bakılmaktadır. 20 U/L üzerindeki antikor düzeylerinin pozitif olarak kabul eden yaygın olduğu gibi (98) bazı literatür de ise tTG IgA antikoru >200 RU/ml, EMA IgA 1/100 ve >1/100 ise pozitif kabul edilmiştir (99). Pratikte ise

kullanılan kitin maksimum titresinin 10 U/mL üzerindeki değerlerin genel olarak pozitif kabul edildiği belirtilmektedir (100).

Bao ve ark.(101) DQ2 ve DQ8 bulunan diyabetli hastalarda tTG enzim seviyesi daha yüksek bulunmuştur.

T1DM'li çocuk çölyak hastalarında 2002 yılında Barera ve ark.(102) yüksek oranda antikor pozitifliği bulmuştur. Çalışmamızda ise çölyak ile birlikte diyabet hastası olan 20 hastanın tTG enzim seviyesi >1/100 olarak bulunmuştur.

Genetik yatkınlığında etkili olduğu bu hastalıkta ESPGHAN, tanı koymada HLA kriterini de kabul etmiştir. Hastalık ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda HLA sınıf I etkisinin olduğu bulunmuş olsa da güncel çalışmalar yüksek oranda HLA sınıf II'nin etkili olduğunu göstermektedir. Birçok çalışmada DQB1\*02'nin hasta popülasyon da çok olduğu görülmektedir.

2012 yılında Mokhtari'nin (103) çölyaklı bireylerde yapmış olduğu çalışmada hastaların %77,5' ünde HLA DQ2 %22,4' ünde ise HLA DQ8 (DQB1\*03:01) alleli saptanmıştır.

2014 yılında 6403 çocuk hastada tarama yapıp, 1374 hastada HLA DR3-DQ2 haplotipi bulunmuş ve bu hastalarda enzim seviyelerinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda tüm hastalar ÇH tanısı almıştı ve DQ2.2 ve DQ2.5 homozigot olan ve olmayan hastaların antikor düzeyleri arasında fark bulunmadı (104).

Tüysüz ve ark. çölyak hastalarında HLA DQA1\*0501 DQB1\*02 haplotip sıklığını hasta grubunda %83,6 kontrol grubunda %24 bulmuş olup hastalarda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğunu saptamışlardır (105).

2017'de Fasta çölyaklı hastalarda yapılan hasta sonuçlarında DQ2.2 heterodimer ve DQ2.5 homozigot anlamlı DQ2.5 heterozigot ve DQ8 kontrol grubuna göre anlamsız çıkmıştır. Haplotip geçiş en yüksek frekansta HLA DRB1\*03-DQA1\*05-DQB1\*02 bulunmuştur (106).

2017 yılında Antalya’da Baştürk ve ark. (107) 102 çocuk çölyak hastasının dâhil edildiği çalışmada %76’sı DQ2 ve DQ8, % 67’si HLA DQ2, % 25’i HLA DQ8 çıkmıştır. Hasta grubunun sonucu kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak daha anlamlı çıkmıştır.

2018 yılında Appak ve ark. (99) 2010-2017 yılları arasında hastaneye başvuran çocuk çölyak hastaları ile yapmış oldukları çalışmada 151 çölyak hastasının %5,96 (n:9) kardeşlerinde çölyak hastası olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmaya dâhil edilen tüm hasta ve kardeşlerin doku tiplerinin DQB1\*02 DQA1\*05 olduğu görülmüştür.

Çalışmada seçtiğimiz hasta popülasyonunun düşük çözünürlüklü tiplere sonuçlarında da kontrol grubuna göre HLA DQB1\*02’nin frekansının yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca düşük çözünürlüklü haplotip geçişleri açısından değerlendirildiğinde en sık görülen DQB1\*02-DQA1\*05-DRB1\*03 olmuştur.

Çölyak hastalığı gibi T1DM’de HLA DQ2 ve DQ8 önemli risk oluşturmaktadır. 2016 yılında Slovenyalı çocuk hastalarda yapılan çalışmada çölyak hastalarının %55,88’inde, diyabetlilerde ise %16,42 ‘sinde DR3-DQ2 görülmüştür. DR4-DQ8 ise çölyaklılarda %4,41 diyabetlilerde %40,30 olarak görülmüştür (108). Çalışmamızda HLA DQ\*02-DR3 haplotipi sadece çölyaklı ve çölyak ve diyabetli hastalarda düşük çözünürlüklü sonuçları sırasıyla %62,1 ve %57,9’dır. DQ8-DR4 çölyaklılarda %14,9diyabet ve çölyaklı grupta ise %42,1olarak bulunmuştur.

Jores ve ark.(109) HLA DQB1\*0201 alleli için homozigot olan hastalarda histopatolojik zedelenmenin daha şiddetli olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda yüksek çözünürlüklü tiplere yaptığımız tüm hastalarda HLA DQB1\*02:01 alleli homozigot olan sadece bir hasta vardı. Bir hasta ise DQB1\*02:01 DQB1\*02:02 heterozigot alleleline sahipti. Hastalık evresi açısından HLA DQ2 homozigot olanlarla, heterozigotlar arasında hastalık evreleri açısından anlamlı bir ilişki yokken, iki grup arasında hastalığın başlangıç yaşı açısından fark vardı. Çalışmamızın aksine 2007 yılında Murray ve ark.(110) DQ2 homozigot hastaların hastalık riskini arttırdığını ancak hastalığa başlangıç yaşı ve hastalığın şiddeti açısından fark olmadığını söylemiştir. Yüksek çözünürlüklü tiplere sonuçlarımıza göre HLA DQB1\*02

homozigot olan 2 hastada hastalığın başlangıç yaşı 3 iken, homozigot olmayanlarda 7 olarak bulunmuştur.

Tack (111), 2010 yılında yazmış olduğu derlemede, hastalığın kızlarda erkeklere oranla 2-3 kat daha fazla görüldüğünü söylemiştir. Çalışmamızda ise hasta popülasyon da kadın hastalar erkek hastalardan daha yüksekti.

2010 yılında Ürdün de yapılan çalışmada 44 çölyak hastası, 47 kişi bu hastaların 1. derece yakınları, 53 sağlıklı birey incelenmiş. Hastalarda DQ2 %80 iken 1.derece yakınlarında %66 kontrol grubunda ise %36'dır. Bütün hastalarda DQB1\*02:01 gözlenirken 1.derece yakınlarında %79, sağlıklı kontrollerde ise %36 olarak bulunmuş. DQA1\*05:01 ise hastalarda %80 1.derece yakınlarında %70 kontrolde ise %50 olarak bulunmuştur (112).

Krini ve ark. (113) 2012 yılında Yunanistan da 118 çocuk çölyak hastasında yüksek rezülosyonlu tipleme çalışması yapmışlar. Allel bazında yapılan analizde hasta grubunda en yüksek frekanslar sırasıyla 95 (%40,3) HLA DQB1\*02:01, 48 (%20,3) DQB1\*02:02, 95 (%40,3) DQA1\*05:01, 49 (%20,8) DQA1\*02:01 olarak görülmüştür. Bu çalışmanın haplotip geçişine bakılacak olursa ilk sırada 95 (%40,3) DRB1\*03-DQB1\*02:01-DQA1\*05:01 2.sırada 48 (%20,3) DRB1\*07-DQB1\*02:02-DQA1\*02:01 olarak bulunmuştur.

2015 yılında Rusya'da çölyak hastalarında DR-DQ birlikteliğini incelemiş ve %30 DRB1\*04 DQA1\*03:01 DQB1\*03:02, %30 DRB1\*03 DQA1\*05:01 DQB1\*02:01 %25 DRB1\*07 DQA1\*02:01 DQB1\*02:02, %15 DRB1\*11 DQA1\*05:05 DQB1\*03:01 olarak bulunmuştur (114).

2017 İspanya da 196 hasta ile yapılan bir çalışmada %83,67 DQ2.5 cis formda yani DQB1\*02:01 DQA1\*05:01, %9,18 trans formda DQ7-DQ2.2 yani DQB1\*03:01 DQA1\*05:05 ve DQB1\*02:02 DQA1\*02:01 çıkmıştır. Çalışmada DQ8 açısından hasta ve kontrolde fark bulunmamıştır (47).



Murad ve ark. (115) 2018 yılında Suriye’de sekans spesifik primer (SSP-PCR) 49 çölyak hastası çocuk ve 58 kontrol grubuyla yaptığı çalışmada %77,6 DQB1\*02:01, %10,2 DQB1\*03:02 olarak bulunmuştur.

Yüksek çözünürlüklü HLA DQB1 tiplemesi yapılan çalışma grubumuzda DQB1\*02 ve DQB1\*03 allelleri yaygın olarak görülmektedir. Hastalarda DQB1\*02:01 ve 02:02 frekansları kontrollerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda en yaygın olarak DQB1\*03’ün üç alt alleli saptanmıştır. HLA DQB1\*03:01 ve 03:03 kontrollerde hastalardan daha yaygın iken ’03:02 alleli hasta grubundan daha düşük frekanstaydı. Ayrıca yüksek çözünürlüklü tipleme sonuçları ile marsh evrelerinin ilişkisini incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

IL-17’nin proenflamatuvar immün yanıtlarda rol oynadığından otoimmün hastalıklarda rolünü anlamak için yapılan pek çok çalışma vardır (116). 2002 yılında Hamzaoui ve ark.(117) aktif Behçet hastası olan kişilerde IL-17 seviyesini inaktif dönemde olanlara göre daha anlamlı bulmuşlardır. 2009 yılında yetişkin Behçet hastalarında yapılan çalışmada IL-17 seviyesi hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur (118). 2018 yılında Ankilozan spondilitli hastalarda IL-17 seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırılmış. Serum düzeyinde yapılan bu çalışmada hasta grubunda anlamlı derecede fark saptanmıştır (119).

Otoimmün hastalıklardan birisi de çölyak hastalığıdır. Monteleone ve ark. (67) 2010 yılında 27 yetişkin aktif ÇH, tedavi edilen 19 çölyak hastası ve 26 sağlıklı kontrolden biyopsi örnekleri alınarak çalışılmış. IL-17A RNA ekspresyonu aktif çölyak hastalarında tedavi edilen hastalara ve kontrol grubuna göre daha anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Ayrıca ELISA yöntemiyle IL17A’nın protein ekspresyonlarının da aktif hasta grupta anlamlı olduğu görülmüştür.

2012 yılında Finlandiya ve İsveç’teki çalışmada ÇH’nin farklı evrelerinde doku transglutaminaz antikoru (tTG), potansiyel ÇH’li pozitif çocuklar, tedavi edilmemiş ve glutensiz diyetle tedavi edilmiş ÇH’li çocuklar ve T1DM’li çocuklarda dâhil olmak üzere mukozal IL-17 araştırılmış. Bu araştırmayı hastalardan biyopsi örneği alarak CaCo-2 epitelyal hücrelerinde yapmışlar. IL-17 ve Foxp3 mukozal ekspresyonu tedavi edilmemiş hastalarda yüksek olarak bulunmuştur. Th17

hücrelerinin sayısı çölyaklı çocuklarda T1DM'li çocuklardan daha fazla olduğu bulunmuştur. IL-17'nin up regülasyonu, villöz atrofi ve aktif ÇH'nin geliştirilmesi için bir biyo-belirteç olarak kullanılabilir sonucu çıkartılmıştır (68).

2013 yılında Leeuwen V. (120) çocuk çölyak hastalarından alınan biyopsi örnekleriyle real time çalışması yaparak IL-21 kontrol grubuna göre hastalarda anlamlı fark bulunmuş ancak IL-17 için fark gözlenmemiştir. Ekspresyon çalışmalarındaki bu sonuçları etkileyen çeşitli faktörler olabilir. IL-17 genindeki SNP'lerin de ekspresyon düzeylerini etkileyen faktörlerden olabileceğinden tez çalışmasında SNP araştırması yapıldı. Sonuç olarak GA ve GG genotipinin çölyak hastalarında yüksek olduğu belirlendi. Bu genotiplere sahip olan kişilerin hastalığa yakalanma ihtimalinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak, hastalık evresi ÇH ve sekonder hastalığı da olanlarda ve enzimlere spesifik antikor düzeyinde istatistiksel açıdan farklılık saptanmamıştır.

Lahdenpera ve ark. (121) 2014 yılında pediatrik tedavi görmemiş çölyak hastalarında mukozal IL17A ekspresyon seviyesinin kontrol grubu ve tedavi edilen gruba göre daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Çinde 2014 yılında 622 Multiple sklerosis hastası 743 kontrol ile yapılan polimorfizm çalışmasında IL-17A anlamlı fark bulunmazken IL-17F anlamlı bulunmuştur (122).

Tunusta 171 astımlı çocuk ve sağlıklı kontrolle yapılan IL-17A ve IL-17F polimorfizm çalışmasında IL-17A ve IL-17F kontrol grubuna kıyasla çalışma grubunda daha anlamlı bulunmuştur (123).

2016 yılında Ankara'da 18 yaşından büyük 142 Behçet hastasında 140 kontrolde IL-17 (rs2275913 ve rs 763780 SNP) 2 farklı SNP seviyelerine bakılmış. Hasta ve kontrol grubundan oluşan 2 grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (124).

Borelli ve ark. (125) 2016 yılında İtalya'da 76 aktif çocuk ÇH, 90 potansiyel çocuk ÇH, 58 kontrol grubundan (toplam 224) biyopsi örnekleri alınarak IL-17 ve IL-21 RNA ve protein ekspresyonlarına bakılmış. IL-21'in RNA ekspresyonu

potansiyel hastalar ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aktif ÇH anlamlı derecede düşük seviyede bulunmuştur. IL-17A RNA ekspresyonu aktif ÇH, potansiyel hasta grubu ve kontrol grubuna oranla anlamlı derece düşük bulunmuş. İmmünohistokimyası potansiyel ÇH'larının lamina proprialarında IL-17A üreten hücrelerin yoğunluğunun, aktif ÇH'dan anlamlı derecede düşük olduğunu ancak kontrollere benzer olduğunu göstermiştir.

Çölyak hastalığı ile ilgili olarak ülkemizde IL-17 polimorfiziminin bakıldığı tek çalışma Akbulut ve ark. yapmış olduğu çalışmadır. Dünya'da ise az sayıda yapılmış olması çalışmanın detaylı olarak tartışılmasını sınırlandırmıştır. Ancak pek çok otoimmün hastalığında etkili olduğu gerekli literatür taramalarıyla gösterilmiştir.

Akbulut ve ark. (126) 2017 de çocuk çölyak hastalarında yaptığı çalışmada IL-6 ve IL-17 polimorfizm çalışmasında 83 hasta ve kontrol arasında IL-6'yı anlamlı derece farklı bulup IL-17 de bizim sonuçlarımızın aksine fark bulamamışlardır. Ayrıca hasta grubunda 20 marsh 3A, 20 marsh 3B, 44'ü marsh 3C evresinde hastalar ile çalışılmıştır. Bizim çalışmamız ise bunun aksine en çok 63 marsh 3A, 49 marsh 3B, 13 marsh 3C evresine sahip hastalardan oluştu. Akbulut ve ark. yaptığı çalışma sonucunda da bizim çalışmamızda olduğu gibi marsh evreleri ile IL-6 ve IL-17 polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır.

## 7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çölyak hastalığında en önemli genetik risk faktörü olan HLA DQB1 alt alleller açısından çalışmamızı değerlendirdiğimizde SBT ile yapılan yüksek çözünürlüklü tiplerede hastalarda en çok DQB1\*02:01 görüldüğü saptanmıştır. Ayrıca bununla birlikte hastalarımızın düşük rezolüsyonlu sonuçlarında HLA DQB1\*02 yanısıra DQA1\*05, DRB1\*03 allellerinin de yaygın olduğu görülmüştür. DQ2'nin genel popülasyonda çok görülmesi bireylerin farkında olmadan asemptomatik hasta olabileceğini ve ailesinde ÇH olan varsa kesinlikle taramadan geçmesi gerektiğini göstermektedir. Çölyak hastalarında en riskli allel olarak kabul edilen DQB1\*02/02 ve DQB1\*02/DQA1\*05 homozigotlarda AGA anti-tTG antikor düzeyleri açısından ve hastalığın evresi açısından istatistiksel anlamlı fark olmadığını saptadık.

HLA lokusu ile birlikte çölyak hastalığına yatkınlığa neden olan 43 lokus bulunduğu bildirilmiştir. Bu lokusların büyük bölümü diğer otoimmün hastalıklar ile de ilişkili bulunmuştur. ÇH'nda, HAPMap (İnsan genomunun haplotip haritası) ve GWAS (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) çalışmaları ile genetik varyasyonların rol oynadıkları ortaya konulmuştur. Bu çalışmalarda ÇH ile ilişkili genlerde SNP'lerden kaynaklanan polimorfizmler saptanmıştır (12). Bizde çalışmamızda otoimmün hastalıklarda önemli bir sitokin olan Th17'den üretilen IL-17 genindeki SNP'lerini araştırdık. Çölyak hastalarında IL-17A rs2275913'deki SNP polimorfizminin anlamsız olduğunu saptayan çalışmalar mevcutken (126), bizim çalışmamızda rs2275913'deki genotip frekansı kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı çıkmasının nedeninin, hasta sayısı, popülasyon farklılıklar ve etnik yapıdan kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Çölyak hastalarında biyopsi örnekleri ve aktif çölyak hastalarının kanlarıyla yapılan mRNA ekspresyon çalışmalarında ve IL-17 protein düzeyindeki çalışmalarda anlamlı sonuçların olduğu görülmektedir. IL-17 genindeki bu polimorfizmin gen ve protein ekspresyonlarını etkilemesi muhtemeldir. Bu amaçla IL-17 sitokin seviyeleri de ölçülerek değerlendirme yapılabilir. Elde edilen sonuçlar tez çalışmasına da katkı sağlayacaktır.

Bu durum çölyak hastalığının tanısının konulmasına yardımcı olarak IL-17 'ye de bakılabileceğini düşündürmektedir. Ancak konu ile ilgili doğru yorumu yapabilmek için yeterince yayın bulunamamıştır. Bu yüzden daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Tez çalışmasına dâhil edilen hastalar cinsiyet özelliği açısından değerlendirildiğinde ise, istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte kadın hastaların sayısı erkeklerden daha fazla idi. Sonuçlarımızın bu açıdan literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir (106).

## KAYNAKLAR

- 1). Farrel RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002 Jan 17; 346(3):180-8.
- 2). Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med* 2007 Oct 25;357(17):1731-43
- 3) Cataldo F, Montalto G, Celiac disease in developing countries: A new and challenging public health problem. *World Journal of Gastroenterology* 2007; 13(5):2153-2159
- 4) Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60
- 5) Sollid M.L. ve ark T-cell and B-cell immunity in celiac disease *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 29 (2015) 413e423
- 6) West J, Logan RF, Hill PG, et al. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut*. 2003;52(7):960-5. 49
- 7) Gren PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, et al. Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey. *The American Journal of Gastroenterology*. 2001; 96 (1):126-131
- 8) Rodrigo L. Celiac disease. *World journal of gastroenterology* 2006;12(41):6585-6593
- 9) Demirçeken FG, Kansu A, Kuloğlu Z, et al. Human tissue transglutaminase antibody screening by immunochromatographic line immunoassay for early diagnosis of celiac disease in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2008Mar;19(1):14-21.
- 10) Megiorni F, Mora B, Bonamico M, HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: evidence for gender differences and parent-of-origin effects. *The American Journal of Gastroenterology*, 2008;103(4), 997-1003
- 11) Nordyke K, Olsson C, Hernell O, et al. Epidemiological Research Drives a Paradigm Shift in Complementary Feeding - The Celiac Disease Story and Lessons Learnt. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program*. 2010;66:65-79.
- 12) Malekzadeh R, Sachdev A, Ali A. F. 2005. Coeliac disease in developing countries: Middle East, India and North Africa. *Best Practice&Research Clinical Gastroenterology*, 19 (3) 351-358.
- 13) Ciclitira P. J, Ellis H. J, Lundin K. E. A. 2005. Gluten-free diet—what is toxic? *Practice&Research Clinical Gastroenterology*, 19 (3) 359-371.
- 14) Goesaert H, Brijs K, Veraverbeke W. S, Wheat flour constituents: how they impact bread quality and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 12-30
- 15) Ryan BM, Kelleher D. Refracter celiac disease. *Gastroenterology*. 2000; 119:243-251

- 16) Matsiak-Budnik T, Malamut G, de Serre NP, et al. Long-term follow-up of 61 celiac patients diagnosed in childhood: evolution toward latency is possible on a normal diet. *Gut* 2007; 56: 1379-86
- 17) Lionetti E, Catassi C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *Int Rev Immunol* 2011; 30: 219-31.
- 18) Fasano A, Not T, Wang W, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000;355:1518-9.
- 19) [www.guncelpediatri.com/makale\\_19/Colyak-Hastaligi-Derleme.html](http://www.guncelpediatri.com/makale_19/Colyak-Hastaligi-Derleme.html)(01.09.2018)
- 20) [www.semaaydogdu.com/static/upload/akademik/filesrefraktor-colyak\\_has\\_130310013223.pdf](http://www.semaaydogdu.com/static/upload/akademik/filesrefraktor-colyak_has_130310013223.pdf) (19.04.2018)
- 21) De Sousa Moraes LF, Grzeskowiak LM, De Sales Teixeira TF, et al. Intestinal Microbiota and Probiotics in Celiac Disease, *Clinical Microbiology Reviews* 2014;27: 482-89.
- 22) Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, et al. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(10):2333–40.
- 23) Bodis G. Toth V. Schwarting A: Role of Human Leukocyte Antigens (HLA) in Autoimmune Diseases *Rheumatol Ther.* 2018 Jun;5(1):5-20
- 24) Pais WP, Duerksen DR, Pettigrew NM, et al. Howmany duodenal biopsy specimens are required to make a diagnosis of celiac disease? *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 1082-7.
- 25) Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology.* 2006; 131:1981-2002
- 26) Hopper AD, Hadjivassiliou M, Butt S, et al. Adult coeliac disease. *BMJ* 2007; 335:558-562
- 27) Chand N, Mihas AA. Celiac Disease Current Concepts in Diagnosis and Treatment. *Journal Clinical Gastroenterology* 2006; 40(1):3-14
- 28) Al-toma A, Verbeek WHM, Mulder CJJ. Update on the Management of Refractory Coeliac Disease. *J Gastrointestinal Liver Disease.*2007; 16(1):57-63
- 29) Prause C, Probst C, Daehnrich C, et al. Deamidated gliadin peptides are superior to native gliadin in elisa for diagnosis of childhood coeliac disease. Scientific presentation at the 8th Dresden Symposium on autoantibodies (Drosden, Germany, September 2007)
- 30) Wijmenga C, Gutierrez-Achury J. Celiac Disease Genetics: Past, Present and Future Challenges. *JPGN* 2014;59: 4-7.
- 31) Thorsby E: On the future of HLA. *Tissue Antigens* 2011, 78:229–240.

- 32) Etiz P. Bölgemizde HLA (Human Lökosit Antijenleri) dağılımı. Uzmanlık Tezi 2009, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana
- 33) Shiina T, Hosomichi K, Inoko H, et al. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *J Hum Genet* 2009, 54:15–39
- 34) Klein J, Sato A, HLA System First of Two Parts. *N Eng J Med* 2000; 343(10): 702- 709.
- 35) Campbell EC, Antoniou AN, Powis SJ: The multi-faceted nature of HLA class I dimer molecules. *Immunol* 2012;136:380-4.
- 36) De Almeida DE, Holoshitz J: MHC molecules in health and disease: At the cusp of a paradigm shift. *Self Nonself* 2011;2:43-8
- 37) Yılmaz M. 2014 Doku Uygunluk Antijenleri Archives Medical Review 2014;23(1):8-13
- 38) Çerçi G.B. Gebelik Sürecinde Paternal Anti-HLA Antikorlarının Araştırılması, 2016
- 39) Marsh S.G.E. et al. Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens* 2010; 75: 291–295.
- 40) <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html> (19.11.2018)
- 41) Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo I.R. et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *JPGN*. 2012;Jan 54.
- 42) Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2: 647-55.
- 43) Kagnoff MF: Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest* 2007, 117:41–49
- 44) Karell K, Louka AS, Moodie SJ, et al: HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1\*05–DQB1\*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol* 2003, 64:469–477
- 45) Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N Celiac Disease: An Immunological Jigsaw *Immunity* 36, June 29, 2012
- 46) Pisapia L, Camarca A, Picascia S, et al. HLA DQ2.5 genes associated with celiac disease risk are preferentially expressed with respect to non predisposing HLA genes: implication for anti gluten T cell response *J Autoimmun*. 2016 Apr. 12
- 47) Cabrera M.C, Isabel M. Méndez-López & Caballero A: Risk variation in celiac disease in a population from Southern Spain: evaluating the influence of the DQB1\*02:02 allele frequency *Scand J Gastroenterol* 2018 Mar;53(3):266-272
- 48) Megiorni F, Pizzuti A, HLA-DQA1 and HLA-DQB1 in Celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing *J Biomed Sci* 2012 Oct 11; 19:88



- 49) Kurtoğlu L.E, Tekedereli İ:Çölyak hastalığı ön tanısı almış bireylerde HLA-DQ2 ve HLA- DQ8 genotip sıklıkları. J of Contem Med 2018;8(2):94-97
- 50) Sollid LM, Markussen G, Ek J, et al. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. J Exp Med. 1989; 169: 345-50.
- 51) Louka A.S, Nilsson S, Olsson M, et al. HLA in coeliac disease families: a novel test of risk modification by the ‘other’ haplotyp when at least one DQA1\*05-DQB1\*02 haplotype is carried Tissue Antigens 2002 Aug;60(2):147-54
- 52) Jabri B, Sollid L.M; Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease Nat.rev.immunolgy 2009 Dec;9(12):858-870
- 53) Hadley D, Hagopian W, Liu E, et al. HLA-DPB1\*04:01 protects genetically susceptible children from celiac disease autoimmunity in the TEDDY Study, Am. J. Gastroenterol. 2015Jun;110(6):915-920
- 54) S.Seçkin, Ün C. Çölyak hastalığındaki moleküler ve genetik gelişmeler; Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2014; 57: 274-282
- 55) [www.artibiotik.com.tr/blog/icerik/peyer-plakları-ve-m-hucresi](http://www.artibiotik.com.tr/blog/icerik/peyer-plakları-ve-m-hucresi) (20.08.2018)
- 56) Sollid L. M, Jabri B. Is celiac disease an autoimmune disorder? Current Opinion in Immunology, 17 (6) 595-600.
- 57) Abbas AK, Lichtman AH: Effector mechanisms of humoral immunity, Cellular and Molecular Immunology, fifth edition, Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005; 318-345
- 58) <http://ichastaliklariromatoloji.medicine.ankara.edu.tr> Düzgün N. İmmün Sistemin Tanıtımı (02.10.2018)
- 59) Başkan B.E. T hücre immunitesi Turkderm 2013; 47: Özel Sayı 1: 18-23
- 60) Direskeneli S.G. <https://studylibtr.com/doc/2419439> T Hücre Aktivasyonu İçin Antijen Sunumu; 2018 Ekim 2
- 61) Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature. 1996; 383:787–793
- 62) Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, et al. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. J Biol Chem. 2003; 278:1910–4. [PubMed: 12417590]
- 63) Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic t cell population that induces autoimmune inflammation. J Exp Med. 2005; 201:233–40. [PubMed: 15657292]
- 64) Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, et al. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. Immunity. 24:677-88 (2006)
- 65) Gaffen SL An overview of IL-17 function and signaling. Cytokine\_2008 Sep;43(3):402-7.

- 66) Hernández E.C, Garrote A.J, Arranz E, Pathogenesis of Celiac Disease OmniaScience; 2015. p. 163-191.
- 67) Monteleone I, Sarra M, Del Vecchio Blanco G, et al. Characterization of IL-17A-producing cells in celiac disease mucosa. *J Immunol* 2010;184:2211–2218
- 68) Lahdenpera A. I. Holtta V. Ruohtula T, et al. Up-regulation of small intestinal interleukin-17 immunity in untreated coeliac disease but not in potential coeliac disease or in type 1 diabetes 2012; *Clinical and Experimental Immunology*, 167: 226–234
- 69) Chang SH, Dong C. A novel heterodimeric cytokine consisting of il-17 and il-17f regulates inflammatory responses. *Cell Res.* 2007; 17:435–40. [PubMed: 17452998]
- 70) <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL17A> (14.11.2018)
- 71) Mittal, Gayatri Arvind ‘Development of a latent IL-17 antagonist for targeted therapy of rheumatoid arthritis.’ Nov.2012;31
- 72) [http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\\_IL17A.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_IL17A.html) (14.11.2018)
- 73) Murakami M, Okuyama Y, Ogura H, et al. Local microbleeding facilitates IL-6 and IL-17 dependent arthritis in the absence of tissue antigen recognition by activated T cells. *J Exp Med* 2011 Jan 10.
- 74) Bodman-Smith MD, Corrigan VM, Berglin E, et al. Antibody response to the human stress protein BiP in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2004 Oct 1;43(10):1283-7.
- 75) Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: Prototype member of an emerging cytokine family. *J Leukoc Biol.* 2002; 71:1–8. [PubMed: 11781375]
- 76) Li H, Chen J, Huang A, et al. Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97:773–8. [PubMed: 10639155]
- 77) Fort MM, Cheung J, Yen D, et al. Il-25 induces il-4, il-5, and il-13 and th2-associated pathologies in vivo. *Immunity.* 2001; 15:985–95. [PubMed: 11754819]
- 78) Ikeda K, Nakajima H, Suzuki K, et al. Mast cells produce interleukin-25 upon fc epsilon r1 mediated activation. *Blood.* 2003; 101:3594–6. [PubMed: 12511410]
- 79) Jay K. Kolls, Anders L. Interleukin-17 Family Members Review and Inflammation *Immunity*, Vol. 21, 467–476, October, 2004
- 80) Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T Cell Activation. *Annu Rev Immunol* 2009 Apr 1;27(1):591-619
- 81) Liu XK, Lin X, Gaffen SL. Crucial Role for Nuclear Factor of Activated T Cells in T Cell Receptor-mediated Regulation of Human Interleukin-17. *J Biol Chem* 2004 Dec 10;279(50):52762-71.
- 82) Brustle A, Heink S, Huber M, et al. The development of inflammatory Th-17 cells requires interferon-regulatory factor 4. *Nat Immunol* 2007 Sep;8(9):958-66.

- 83) Zhou L, Lopes JE, Chong MMW, et al. TGF- $\beta$ -induced Foxp3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing ROR $\gamma$ t function. *Nature* 2008 May 8;453(7192):236-40.
- 84) Zhang F, Meng G, Strober W. Interactions among the transcription factors Runx1, ROR[ $\gamma$ ]t and Foxp3 regulate the differentiation of interleukin 17-producing T cells. *Nat Immunol* 2008 Nov;9(11):1297-306.
- 85) Freitas A, Alves-Filho JC, Victoni T, et al. IL-17 Receptor Signaling Is Required to Control Polymicrobial Sepsis. *J Immunol* 2009 Jun 15;182(12):7846-54
- 86) Zheng Y, Valdez PA, Danilenko DM, et al. Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat Med* 2008 Mar;14(3):282-9.
- 87) Faghih M, Rostami-Nejad M, Amani D, et al. Analysis of IL17A and IL21 Expression in the Small Intestine of Celiac Disease Patients and Correlation with Circulating Thioredoxin Level *Genet Test Mol Biomarkers* 2018 Sep;(22(9):518-525
- 88)<https://www.neb.com/products/r0194-xmni#Protocols%20&%20Manuals> (10.01.2019)
- 89) SBT engine analiz software
- 90) Yang J.L.Gao W. Bai J.Y.et al. Correlation between interleukin-17 gene polymorphism and gastric cancer susceptibility in han chinese population
- 91) [www.hsgm.saglik.gov.tr/tr/metabolizma-ve-colyak/colyak-ve-gorulme-sikligi.html](http://www.hsgm.saglik.gov.tr/tr/metabolizma-ve-colyak/colyak-ve-gorulme-sikligi.html) (12.02.2019 tarihinde alındı)
- 92) [www.celiac.org/about-the-foundation/featured-news/2018/08/global-prevalence-of-celiac-disease/](http://www.celiac.org/about-the-foundation/featured-news/2018/08/global-prevalence-of-celiac-disease/) (19.02.2019 tarihinde alındı)
- 93) Lampoudi K.T, Zellos A,Vlahavas G, et al. Screening for coeliac disease n preschool Greek children:the feasibility study of a community-based project.*Acta Paediatrica* 2012;102(7),749-754.
- 94) Beser F.Ö,Gulluelli E,Cokugras C.F, et al. Prevalence and clinical features of celiac disease in healthy school-aged children *Dig. Dis.Science* 2018
- 95) Demir H. Yüce A. Koçak N. et al. Celiac disease in Turkish children: presantation of 104 cases. *Pediatr Int* 2000;42:483-487
- 96)Balamtekin N.Uslu N.Baysoy G. et al. The presentation of celiac disease in 220 Turkish children *Turk J Pediatr.*2010 May-Jun;52(3):239-44.
- 97) Akay Hacı İ.Kuyum P.Çakar S.ve ark. Çölyak hastalığı tanısı konulan çocukların başvuru bulguları *Abant Med J* 2015;4(2):146-150
- 98) Güleç S.G,Urgancı N,Gül F. ve ark. Çocuklarda çölyak hastalığının tanı ve takibinde doku transglutaminaz IgA antikorunun yeri *Şişli Etfal Tıp Bülteni* Cilt:45 Sayı:4

- 99) Appak Ç.Y, Karakoyun M, Güneş S, ve ark. Çölyak hastalığında kardeş birlikteliği ve doku tiplerinin değerlendirilmesi İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi 2018;8(2):127-131
- 100) Mubarak A,Wolters M V, Gmelig-Meyling HJ F, et al. Tissue transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: A prospective study World J Gastroenterol 2012 August 28; 18(32): 4399-4403
- 101) Bao F. Yu L. Babu S. et al. One Third of HLA DQ2 Homozygous Patients with Type 1 Diabetes Express Celiac Disease-Associated Transglutaminase Autoantibodies Journal of Autoimmunity (1999) 13, 143–148
- 102) Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, et al. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study. Pediatrics. 2002;109(5):833-838.
- 103) Mokhtari H.Çölyak hastalığı tanısı alan çocuklarda şişmanlık sıklığı ve glutensiz diyetin vücut kitle indeksine etkisi Uzmanlık Tezi 2012 P:61
- 104) Liu, E, Lee H.S, Aronsson C,et al. Risk of Pediatric Celiac Disease According to HLA Haplotype and Country N Engl J Med. 2014 July 3; 371(1): 42–49.
- 105) Tüysüz B, Dursun A, Kutlu T, et al. HLA-DQ alleles in patients with celiac disease in Turkey. Tissue Antigens. 2001;57:540-2
- 106) Piancatelli D, Ben El Barhdadi I, Oumhani K, et al. HLA Typing and Celiac Disease in Moroccans Med. Sci. 2017, 5, 2
- 107) Baştürk A. Artan R. Yılmaz A. The incidence of HLA-DQ2/DQ8 in Turkish children with celiac disease and a comparison of the geographical distribution of HLA-DQ Gastroenterology Rev 2017; 12 (4): 256–261
- 108) Smigoc Schweiger D, Mendez A, Kunilo Jamnik S et al. High-risk genotypes HLADR3-DQ2/DR3-DQ2 and DR3-DQ2/DR4-DQ8 in co-occurrence of type 1 diabetes and celiac disease. Autoimmunity. 2016; 49: 240-7
- 109) Jores RD, Frau F, Cucca F, et al. HLA-DQB1\*0201 homozygosis predisposes to severe intestinal damage in celiac disease. Scand J Gastroenterol. 2007;42:48-53
- 110) Murray JA. Moore SB. Van Dyke CT et al. HLA DQ gene dosage and risk and severity of celiac disease Clin gastroentereol Hepaol.2007 Dec;5(12):1406-12
- 111) Tack GJ, Verbeek WH, Schreurs MW. et al. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2010; 7: 204-13
- 112) El-Akawi Z. J, Al-Hattab D. M, Mıgdady M, Frequency of HLA-DQA1\*0501 and DQB1\*0201 Alleles İn Patients With Coeliac Disease, Their First-Degree Relatives And Controls in Jordan Annals of Tropical Pediatrics(2010)30,305-309

- 113) Krini M. Chouliaras G. M Kanariou, et al. HLA class II high-resolution genotyping in Greek children with celiac disease and impact on disease susceptibility *Pediatr Res.* 2012 Dec;72(6):625-30
- 114) Kurtanov H.A,Danilova A.L,Yakovleva A,et al. Genetic research of HLA genes I and II class DRB1,DQA1,DQB1,in patients with celiac disease. *The bulletin of hematology.* 2015;11:44-47
- 115) Murad H. Jazairi B. Khansaa I.et al. HLA-DQ2 and -DQ8 genotype frequency in Syrian celiac disease children: HLA-DQ relative risks evaluation *BMC Gastroenterology* (2018) 18:70
- 116) Arisawa T.Tahara T. Shibata T.et al The influence of polymorphisms of interkleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis *J Clin Immunol.*2008 Jan;28(1):44-9
- 117) Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, et al. Cytokine profile in Behcet's disease patients: relationship with disease activity *J.Rheumatol.* 2002;31:205-210.
- 118) Ekinci S.N Behçet hastalığında IL-17'nin rolü yüksek lisans tezi Antalya;2009
- 119) Aydemir G.N. Ankilozan spondilit hastalarında serum IL-17 TNF-Alfa düzeyi ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişki *Uzmanlık tezi Antalya;* 2018
- 120) Leeuwen V, Lindenbergh-Kortleve DJ, Raatgeep HC, et al. Increased production of interleukin-21, but not interleukin-17A, in the small intestine characterizes pediatric celiac disease. *Mucosal Immunology*, 6(6), 1202–1213
- 121) Lahdenpera AI, Falth-Magnusson K, Hogberg L, et al. Expression pattern of T-helper 17 cell signaling pathway and mucosal inflammation in celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2014;49:145–156
- 122) Wang S, Zhai H, Su Y, et al. IL-17F but not IL-17A gene polymorphism confers risk to multiple sclerosis in a Chinese Han population 2014; *Journal of the Neurological Sciences* 342(1-2)
- 123) Maalmi H, Beraies A, Charad R, et al. IL-17A and IL-17F genes variants and susceptibility to childhood asthma in Tunisia 2014; *J Asthma*
- 124) Boz S. Behçet Hastalığında Non-HLA Genetik Polimorfizmleri (IL 17 ve IL 23R Polimorfizmleri) *Uzmanlık tezi* 2016
- 125) Borrelli M, Gianfrani C, Lania G. In the Intestinal Mucosa of Children With Potential Celiac Disease IL-21 and IL-17A are Less Expressed than in the Active Disease. *Am J Gastroenterol* 2016; 111:134–144; doi: 10.1038/ajg.2015.390
- 126) Akbulut U, Çebi A,Sağ E et al. Interleukin-6 and interleukin-17 gene polymorphism association with celiac disease in children 2017;*Turk J Gastroentereol*

127) Withoff S, Li Y, Jonkers I et al. Understanding celiac disease by genomics  
Trends Genet.2016 May;32(5):295-308

**EKLER**  
Ek-1

T.C.  
**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çocuk Çölyak Hastalarında HLA DQB1 ve IL17 Polimorfizminin Saptanması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 35360 Karabağlar/İZMİR
	TELEFON	0232 245 04 38
	FAKS	0232 245 04 38
	E-POSTA	-

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Maşallah BARAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk Gastroenteroloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji BD			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>				
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	








Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ

T.C.  
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çocuk Çölyak Hastalarında HLA DQB1 ve IL17 Polimorfizminin Saptanması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	08.08.2017	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	08.08.2017	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	08.08.2017	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	-			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	08.08.2017	1		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	-			
	İLAN	<input type="checkbox"/>	-			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	-			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	-			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	-			
	DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	-Doç. Dr. Maşallah BARAN özgeçmiş formu -Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA özgeçmiş formu -Dr. Aşlı ELDEM özgeçmiş formu			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 113	Tarih: 16.11.2017				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili 14.09.2017 tarihli etik kurul toplantısında istenen düzeltmeler araştırmacılar tarafından yapılmış uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					



İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ / Başkan	Tıbbi Farmakoloji	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nihal OLGAC DÜNDAR / Başkan Yardımcısı	Çocuk Nörolojisi	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof. Dr. Mehmet ÖZEREN	Kadın Hastalıkları ve Doğum	İKÇÜTEAH	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Servet AKAR	İç Hastalıkları/ Romatoloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Abdi SAĞCAN	Kardiyoloji	Kent Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Korhan Barış BAYRAM	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	İKÇÜ ATATÜRK EAH	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hatice Sabiha TÜRE	Nöroloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Utku Kürşat ERCAN	Biyomedikal Mühendisliği	İKÇÜMMF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	



T.C.  
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çocuk Çölyak Hastalarında HLA DQB1 ve IL17 Polimorfizminin Saptanması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

Yrd. Doç. Dr. Melih Kaan SÖZMEN	Halk Sağlığı	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Av. Fatma GÜLMEZOĞLU	Hukuk	İKÇÜ	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Meral MEHREKULA	Sivil	İKÇÜ ATATÜRK EAH	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ



## ÖZGEÇMİŞ

1994 yılında Manisa/Akhisar'da doğdum. İlk orta ve lise öğrenimimi Akhisar'da tamamladım. 2012 yılında Uşak Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünü kazandım. Üniversite 2.sınıfta Celal Bayar Üniversitesi Histoloji Embriyoloji bölümünde, 3.sınıfta ise Ege Üniversitesi Tıbbi Genetik bölümünde staj yaptım. 2013 yılında Anadolu üniversitesi Açıköğretim Sağlık kurumları işletmeciliği bölümüne başladım. 2015 yılında açıköğretim önlisans mezun oldum. 2016 Haziran ayında ise lisans eğitimimi tamamladım. Aynı yıl yaz döneminde Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Doku Tipleme laboratuvarında staj yaptım. 2016 Eylül ayından bu yana İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim dalında yüksek lisans eğitimi almaktayım.