



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**PROF. DR. CEMİL TAŞCIOĞLU SAĞLIK UYGULAMA VE**  
**ARAŞTIRMA MERKEZİ**  
**DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**Alopesi Areata Hastalarında**  
**İntestinal Bariyer Bütünlüğünün Araştırılması**

**Dr. Ahmet Faruk Tarı**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL / 2024**





**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**PROF. DR. CEMİL TAŞCIOĞLU SAĞLIK UYGULAMA VE**  
**ARAŞTIRMA MERKEZİ**  
**DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**Alopesi Areata Hastalarında**  
**İntestinal Bariyer Bütünlüğünün Araştırılması**

**Dr. Ahmet Faruk Tarı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlteriş Oğuz Topal**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL / 2024**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan, tez çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen tez danışmanım ve saygıdeğer hocam Doç. Dr. İlteriş Oğuz Topal başta olmak üzere;

Bilgi ve tecrübelerini benimle içtenlikle paylaşan sayın uzmanlarım Doç. Dr. Ezgi Aktaş'a, Başasistan Dr. Ralfi Singer'e, Dr. Ayşe Seza Kunter'e,

4 yıllık uzmanlık eğitim sürem boyunca kendilerinden her konuda çok şey öğrendiğim kıdemlilerim Dr. Onur Gündoğdu ve Dr. Yavuz Semiz'e,

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım bütün asistan doktor arkadaşlarıma,

Desteğini her zaman hissettiren, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen klinik hemşiremiz Sevtap Dedeli'ye,

Bugünlere gelmemde en az benim kadar emekleri olan, bu hayatta her şeyi borçlu olduğum ve en büyük şanslarım sevgili annem Ayşe Tarı ve sevgili babam Murat Tarı'ya,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Ahmet Faruk Tarı

İstanbul, 2024

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No.

TEŞEKKÜR.....	i
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Alopesi Areata.....	2
2.1.1. Tanım.....	2
2.1.2. Tarihçe.....	2
2.1.3. Epidemiyoloji.....	2
2.1.4. Etiyopatogenez.....	3
2.1.4.1. Genetik Faktörler.....	3
2.1.4.2. Çevresel Faktörler.....	5
2.1.4.3. İmmün Sistem.....	6
2.1.5. Komorbid Hastalıklar.....	7
2.1.6. Klinik.....	7
2.1.7. Tanı.....	8
2.1.7.1. Trikoskopi.....	8

2.1.7.2. Histopatoloji.....	9
2.1.8. Ayırıcı Tanı.....	10
2.1.9. Prognoz.....	11
2.1.10. Tedavi.....	11
2.1.10.1. Topikal Tedaviler.....	11
2.1.10.1.1. Kortikosteroidler.....	11
2.1.10.1.2. Minoksidil.....	12
2.1.10.1.3. Antralin.....	13
2.1.10.1.4. Topikal İmmünoterapi.....	13
2.1.10.1.5. Prostaglandin Analogları.....	14
2.1.10.1.6. Kalsinörin İnhibitörleri.....	14
2.1.10.2. Sistemik Tedaviler.....	14
2.1.10.2.1. Sistemik Kortikosteroidler.....	14
2.1.10.2.2. Siklosporin.....	15
2.1.10.2.3. Metotreksat.....	15
2.1.10.2.4. Sülfasalazin.....	15
2.1.10.2.5. Fototerapi.....	16
2.1.10.2.6. JAK İnhibitörleri.....	16
2.2. Bağırsak ve Otoimmünite Arasındaki İlişki.....	17
2.2.1. İntestinal Mukozal Bariyer.....	17
2.2.2. Geçirgen Bağırsak ve Otoimmünite.....	18
2.2.3. Geçirgen Bağırsağı Göstermede Kullanılan Yöntemler.....	20

2.2.4. Claudin-3.....	22
2.2.5. İntestinal Yağ Asidi Bağlayıcı Protein (I-FABP).....	24
2.2.6. Diamin Oksidaz (DAO).....	25
2.2.7. Zonulin.....	26
2.2.8. D-laktat.....	28
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>30</b>
3.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması.....	30
3.2. Çalışmanın Yöntemi.....	30
3.2.1. Alopesi Areata Şiddet İndeksinin (SALT) Ölçümü.....	31
3.2.2. Serum Örneklerinin Toplanması, Saklanması ve Çalışılması	31
3.3. İstatistiksel Analiz.....	32
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>45</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>56</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>58</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>68</b>
<b>9. EKLER.....</b>	<b>70</b>
EK-1.....	70
EK-2.....	73
EK-3.....	75
EK-4.....	80

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AA</b>	: Alopesi Areata
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>AGA</b>	: Androjenetik alopesi
<b>AMP</b>	: Antimikrobiyal peptitler
<b>AT</b>	: Alopesi totalis
<b>AU</b>	: Alopesi universalis
<b>CRP</b>	: C reaktif protein
<b>CR-EDTA</b>	: Kromla işaretlenmiş etilen diamin tetra asetik asit
<b>CTLA-4</b>	: Sitotoksik T lenfosit assosiye antijen 4
<b>DLQI</b>	: Dermatolojik yaşam kalite indeksi
<b>DAO</b>	: Diamin oksidaz
<b>DM</b>	: Diyabetes mellitus
<b>DPCP</b>	: Difenilsiklopropenon
<b>EGFR</b>	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
<b>ELİSA</b>	: Enzyme linked immünosorbent assay
<b>EndoCab</b>	: Endotoksin kor antikorları
<b>GST</b>	: Glutasyon S transferaz
<b>HLA</b>	: İnsan lökosit antijeni
<b>I-BABP</b>	: İleal safra asidi bağlayıcı protein
<b>I-FABP</b>	: İntestinal yağ asidi bağlayıcı protein
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>IGF</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
<b>IL</b>	: İnterlökin

<b>JAK</b>	: Janus kinaz
<b>JAM</b>	: Jonksiyonel adezyon molekülü
<b>LBP</b>	: Lipopolisakkarit bağlayan protein
<b>L-FABP</b>	: Karaciğer yağ asidi bağlayıcı protein
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>LTA</b>	: Lenfotoksin alfa
<b>MHC</b>	: Majör histokompatibilite kompleksi
<b>MICA</b>	: MHC sınıf 1 zincir ilişkili gen A
<b>MİF</b>	: Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü
<b>MSH</b>	: Melanosit stimulan hormon
<b>NKG2D</b>	: NK hücre reseptör 2D
<b>PAR</b>	: Proteinaz aktive reseptör
<b>PEG</b>	: Polietilen glikol
<b>SADBE</b>	: Skuarik asit dibütil ester
<b>SALT</b>	: Severity of alopecia tool
<b>SİBO</b>	: Small intestinal bacterial overgrowth
<b>SLE</b>	: Sistemik Lupus Eritematozus
<b>TGF</b>	: Transforme edici büyüme faktörü
<b>TJ</b>	: Tight Junction
<b>TLR</b>	: Toll like reseptör
<b>TNF</b>	: Tümör nekrozis faktör
<b>ULBP</b>	: UL16 bağlayıcı protein
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

**VIP** : Vazoaktif intestinal peptid  
**ZO** : Zonula okludens  
**Zot** : Zonula okludens toksini



## TABLO LİSTESİ

	Sayfa No.
<b>Tablo 1.</b> SALT skorumlama sistemi	31
<b>Tablo 2.</b> Çalışma Popülasyonunun Demografik ve Klinik Özellikleri	33
<b>Tablo 3.</b> Hasta ve kontrol grubunun serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin karşılaştırılması	37
<b>Tablo 4.</b> Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin yaş ile ilişkisi	38
<b>Tablo 5.</b> Serum claudin-3, DAO, D-Laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin cinsiyet ile ilişkisi	39
<b>Tablo 6.</b> Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi	40
<b>Tablo 7.</b> SALT skoruna göre şiddetli grupta olan hastaların serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin hafif ve orta şiddetli grupta olan hastalarla ve kontrol grubuyla karşılaştırılması	40
<b>Tablo 8.</b> Serum claudin-3, DAO, D-Laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin hastalık süresi ile ilişkisi	41
<b>Tablo 9.</b> Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin aile öyküsü ile ilişkisi	42
<b>Tablo 10.</b> Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin yaş, hastalık süresi ve hastalık şiddeti değişkenleri ile ilişkisi	42
<b>Tablo 11.</b> Hasta grubunda serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin birbiri ile ilişkisi	43
<b>Tablo 12.</b> ROC eğrisi analizi	44

## ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No.

- Şekil 1.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum claudin-3 (ng/ml) düzeyleri dağılımı 34
- Şekil 2.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum DAO (ng/ml) düzeyleri dağılımı 35
- Şekil 3.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum D-laktat (ng/ml) düzeyleri dağılımı 35
- Şekil 4.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum İ-FABP (ng/ml) düzeyleri dağılımı 36
- Şekil 5.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum zonulin (ng/ml) düzeyleri dağılımı 36
- Şekil 6.** AA hastalarında serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin sensitivite ve spesifite analizleri 44

## ÖZET

**Amaç:** Alopesi Areata (AA), kıl folikülü içeren herhangi bir alanda ani başlangıçlı ortaya çıkan sikatriyel olmayan saç ve kıl kaybı ile karakterize organ spesifik otoimmün bir hastalıktır. AA etiyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Temelde enterositler ve enterositler arasındaki bağlantıyı sağlayan tight junction(TJ) proteinleri tarafından sağlanan intestinal mukozal bariyer fonksiyonunun etkin olarak çalışmaması intestinal lümeninden submukozaya kontrolsüz antijen geçişine yol açmakta bu durum da lokal ve sistemik immün yanıtı tetikleyerek immün aracılı çeşitli hastalıkların ortaya çıkması veya alevlenmesine yol açabilmektedir. Bu çalışmada daha önce literatürde çelişkili sonuçları bulunan intestinal disbiyoz, intestinal permeabilite artışı ve intestinal mukozal bariyer fonksiyonunun AA etiyopatogenezindeki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Bu prospektif, tek merkezli, olgu-kontrol çalışmasına 45 AA hastası ve 40 sağlıklı kontrol dahil edildi. Tüm çalışma grubunun yaş ve cinsiyeti ve hasta grubunun hastalık süresi, SALT skorları ve aile öyküsü varlığı özellikleri kaydedilmiştir. Çalışma grubunun serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin seviyeleri uygun yöntemlerle ölçülmüştür.

**Bulgular:** Kontrol grubunda ortanca claudin-3, DAO ve zonulin düzeyleri AA hasta grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti ancak iki grup arasında ortanca serum d-laktat ve İ-FABP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırası ile; ;  $p=0,037$ ,  $p=0,034$ ,  $p=0,010$ ,  $p=0,247$ ,  $p=0,149$ ). Hastalık şiddetine göre hafif, orta, şiddetli hastalık grupları arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ancak şiddetli hastalık grubunda ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri hafif ve orta hastalık gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmayacak biçimde daha yüksek saptandı. Hasta grubunda, serum claudin-3, d-laktat, İ-FABP ve Zonulin düzeyleri ile yaş değişkeni arasında; serum DAO ve İ-FABP düzeyleri ile hastalık süresi (ay) değişkeni arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( sırası ile  $p=0,025$ ,  $p=0,005$ ,  $p=0,017$ ,  $p=0,013$ ,  $p=0,036$ ,  $p=0,032$ ). Hasta grubunda serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri arasında pozitif yönlü mükemmel düzeyde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,001$ ).

**Sonuç:** Elde ettiğimiz sonuçlarda AA'da otoimmünitinin tetiklenmesinde intestinal permeabilite artışı ve intestinal bariyer bütünlüğü bozulmasının rolü olmadığı sonucu çıkarılabilir

ancak AA etiopatogenezinde intestinal bariyer bütünlüğünün rolünün daha etkin bir şekilde değerlendirilebilmesi için çalışma grubundaki toplam katılımcı sayısının ve AT ve AU gibi hastalığın şiddetli formlarına sahip hasta sayısının daha çok olduğu ayrıca intestinal permeabiliteyi etkileyen diğer bütün faktörleri etkin bir şekilde dışlayabilen daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** alopesi areata, intestinal disbiyoz, intestinal permeabilite, intestinal bariyer fonksiyonu



## ABSTRACT

**Aim:** Alopecia Areata (AA) is an organ-specific autoimmune disease characterized by sudden onset of non-cicatricial hair loss in any area containing hair follicles. The etiopathogenesis of AA has not yet been fully elucidated. Ineffective functioning of the intestinal mucosal barrier function, which is mainly provided by enterocytes and tight junction (TJ) proteins that provide the connection between enterocytes, leads to uncontrolled antigen transfer from the intestinal lumen to the submucosa, which may trigger the local and systemic immune response, leading to the emergence or exacerbation of various immune-mediated diseases. This study aimed to evaluate the role of intestinal dysbiosis, increased intestinal permeability and intestinal mucosal barrier function, which have previously had conflicting results in the literature, in the etiopathogenesis of AA.

**Materials and Methods:** This prospective, single-center, case-control study included 45 AA patients and 40 healthy controls. Age and gender of the entire study group and disease duration, SALT scores and family history characteristics of the patient group were recorded. Serum claudin-3, DAO, d-lactate, I-FABP and zonulin levels of the study group were measured by appropriate methods.

**Results:** Median claudin-3, DAO and zonulin levels in the control group were statistically significantly higher than in the AA patient group, but no statistically significant difference was detected between the median serum d-lactate and I-FABP levels between the two groups ( $p = 0.037$ ,  $p = 0.034$ ,  $p = 0.010$ ,  $p = 0.247$ ,  $p = 0.149$ ). According to disease severity, no statistically significant difference was detected in median serum claudin-3, DAO, d-lactate, I-FABP and zonulin levels between mild, moderate and severe disease groups however, median serum claudin-3, DAO, d-lactate, I-FABP and zonulin levels were found to be higher in the severe disease group than in the mild and moderate disease groups, with no statistically significant difference. In the patient group a statistically significant negative relationship was detected between serum claudin-3, d-lactate, I-FABP and Zonulin levels and the age variable and between serum DAO and I-FABP levels and the disease duration (months) variable. A perfectly positive, statistically significant relationship was detected between serum claudin-3, DAO, d-lactate, I-FABP and zonulin levels in the patient group ( $p = 0.001$ ).

**Conclusion:** Our results may indicate that increased intestinal permeability and disruption of intestinal barrier integrity do not play a role in triggering autoimmunity in AA, but in order to more effectively evaluate the role of intestinal barrier integrity in the

etiopathogenesis of AA, the number of total participants in the study group and the number of patients with severe forms of the disease such as AT and AU should be increased. Moreover, further studies that can effectively exclude all other factors affecting intestinal permeability are needed.

**Key words:** alopecia areata, intestinal dysbiosis, intestinal permeability, intestinal barrier function



# 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Alopesi Areata (AA), saçlı deri, yüz veya kıl folikülü içeren herhangi bir alanda ani başlangıçlı olarak ortaya çıkan, sikatrisyel olmayan, saç ve kıl kaybı ile karakterize organ spesifik otoimmün bir hastalıktır (1). Yaşam boyu kümülatif AA insidansı %2,1 olup yaşla beraber artış göstermektedir (2). Hastalığın etiopatogenezi hala tam olarak anlaşılacak şekilde birlikte genetik faktörler, immünolojik faktörler, oksidatif stres, nörolojik faktörler, emosyonel stres, allerji ve atopi, immünizasyon, enfeksiyonlar ve mikrobiyotayı da içeren çok sayıda kompleks mekanizma mevcuttur (1,3). Klinik olarak tek veya çok sayıda, lokalize veya jeneralize, yuvarlak veya oval, keskin sınırlı, düzgün yüzeyli alopesik yamalar ile karakterizedir (4). AA tanısında klinik öykü, fiziksel muayene, trikoskopi ve histopatoloji kullanılmaktadır ve spontan remisyon ve relapslarla seyreden hastalığın seyri önceden öngörülemezdir (5). Hastalığın tedavisinde topikal, intralezyonel ve sistemik steroidler, minoksidil, kontakt immunoterapi, immunsupresif ve immunmodülatuar ajanlar, fototerapi ve biyolojik ajanlar dahil pek çok sayıda yöntem kullanılabilir (1).

İntestinal mukoza; sindirim, emilim ve sıvı homeostazisinin sağlanması görevleri dışında kompleks bir bariyer olma özelliğine de sahiptir. İntestinal mukozal bariyer temelde enterositler ve enterositler arasındaki bağlantıyı sağlayan tight junction (TJ) proteinleri tarafından sağlanmakla beraber bunlara yardımcı çok sayıda fiziksel, biyokimyasal ve immünolojik komponent de mevcuttur. Eğer bu komponentlerden herhangi birinde bir anormallik ortaya çıkarsa sonucunda intestinal permeabilite artar ve bu duruma 'Geçirgen Barsak' (Leaky Gut) adı verilir. İntestinal permeabilite artışı çok sayıda dış faktörün intestinal lümeninden konağa geçmesine yol açar ki bu durum da lokal ve sistemik immün yanıtın uyarılmasına yol açar. Pek çok hastalık bu şekilde ortaya çıkma veya alevlenme özelliği gösterir. Bu hastalıklara inflamatuvar barsak hastalığı, çölyak hastalığı, otoimmün hepatit, tip 1 diyabet, multipl skleroz ve sistemik lupus eritematosus gibi otoimmün çok sayıda hastalık örnek olarak verilebilir (6). Otoimmün bir hastalık olan AA ile barsak mikrobiyotasındaki alterasyonlar ve intestinal permeabilite artışı dahil olmak üzere disfonksiyonel gastrointestinal sistem arasındaki ilişkiyi değerlendiren çok az sayıda çalışma mevcuttur (7).

Günümüzde intestinal mukozal bariyer fonksiyonunu non-invazif olarak değerlendirmeye imkan sağlayan biyomarkerlar bulunmuştur. Bunlar enterosit hücre hasarını gösterenler, intestinal permeabiliteyi değerlendiren fonksiyonel testler ve disbiyozu yansıtanlar olmak üzere temelde 3'e ayrılabilir.

İlk grupta intestinal yağ asidi bağlayıcı protein ‘Intestinal Fatty Acid Binding Protein’ (İ-FABP), diamin oksidaz(DAO), claudin-2 ve claudin-3 gibi tight junction (TJ) proteinleri yer almaktadır. İkinci grupta laktuloz-mannitol testi ve zonulin proteini yer almaktadır. Üçüncü grupta ise d-laktat ve lipopolisakkarit (LPS) yer alır (8,9).

Bu çalışmada daha önce literatürde çelişkili sonuçları bulunan intestinal mukozal bariyer fonksiyonunun AA etiyopatogenezindeki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu hipotezi incelemek için Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Profesör Doktor Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıkları polikliniğine başvuran AA hastalarında ve sağlıklı kontrollerde serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin seviyeleri değerlendirilmiştir. Temel amaç AA hastalarında bu parametrelerin serum seviyelerinin sağlıklı kontroller ile olası farkını ortaya koymaktır. Alt amaçlar bu parametrelerin serum seviyeleri ile yaş, cinsiyet, hastalık süresi, aile öyküsü ve hastalık şiddeti arasındaki olası ilişkileri incelemek ve bu parametrelerin birbirleri arasındaki olası korelasyonları saptamaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. ALOPESİ AREATA**

#### **2.1.1. Tanım**

Alopesi Areata, etiyolojisi ve patogenezi henüz net olarak bilinmeyen, kıl foliküllerine karşı immün toleransın bozulduğu, non-sikatrisyel alopesik yamalarla karakterize, organ spesifik otoimmün bir deri hastalığıdır (10).

#### **2.1.2. Tarihçe**

İlk defa Celsus tarafından tanımlanan alopesi terimi yunanca tilki anlamına gelen ‘Alopex’ kelimesinden türemiştir. Areata terimi ise latince yama anlamına gelen ‘Area’ kelimesinden türemiştir. Alopesi Areata terimini ilk kez Fransız doktor Sauvages 1763 yılında kullanmıştır. Sauvages bu terimi spesifik bir hastalığı tanımlamaktan çok yamasal karakterde saç kaybı yapan hastalıkları genel olarak tanımlamak için kullanmıştır. 18. ve 19. yüzyıllarda ‘Area Celsi’, ‘Area Jonston’, ‘Alopecia Areata’, ‘Alopecia Circumscripta’ terimleri yamasal alopesileri tanımlamak için değişik zamanlarda kullanılmıştır. 19.yüzyılın ortalarından itibaren ise, AA terimi diğer yamasal alopesi yapan hastalıklardan ayrılmış, günümüzde kullandığımız şekliyle tanımlanmaya başlamıştır (10,11).

#### **2.1.3. Epidemiyoloji**

Alopesi areata, erkek androgenetik ve kadın pattern tip alopesiden sonra en sık görülen sikatrisyel olmayan alopesi tipidir (12). Değişik toplumlarda yapılan hastane bazlı çalışmalarda AA insidansı %0,57- %3,8 arasında değişebilmektedir (13). Yaşam boyu kümülatif AA insidansı %2,1 olup yaşla beraber artış göstermektedir (2). Hastalık başlangıç yaşı, hastalığın süresi ve alopesi areata tipi açısından cinsiyet ve ırksal farklılık göstermemektedir. Hastaların büyük çoğunluğu 40 yaşından önce tanı almakla beraber en sık 25-36 yaşları arasındaki erişkinler etkilenir (12). Çocuk yaşta başlangıç gösteren AA olguları daha şiddetli olma eğiliminde olup ofiyazis, alopesi totalis (AT) ve alopesi universalis (AU) daha sık görülmektedir (14). AA'da aile öyküsü değişik çalışmalarda %4,6 - %42 arasında değişkenlik göstermekle beraber ülkemizde yapılan bir çalışmada %24,1 olarak bulunmuştur (15).

#### **2.1.4. Etiyopatogenez**

AA, etiyopatogenezi henüz net olarak ortaya konmamış olmasına rağmen genetik olarak yatkın bireylerde çevresel tetikleyici faktörlerin etkisiyle kıl folikülüne karşı immun toleransın bozulması, T hücre aracılı otoimmünite nedenli kıl folikül destrüksiyonu ve inflamatuvar yolakların upregüle olmasıyla sürecin ilerlediği düşünülmektedir (16).

AA'da normal kıl büyüme siklusu etkilenmiştir. Güncel çalışmalar sonucunda AA'da saç kaybının ortaya çıkmasından önceki dönemde telogen saçların oranında ve frajilitesi belirgin şekilde artmış distrofik saçların oranında net bir artış olduğu saptanmıştır (12).

Sağlıklı bir insanda saçların büyük çoğunluğu anagen fazdadır ve distrofik saçlar gözlenmez. AA'da ilk meydana gelen olay, anagen fazdaki saçların prematür olarak hızlı bir şekilde katagen ve telogen fazlara ilerlemesidir. Bunu destekler şekilde genişlemekte olan AA lezyonlarının sınırından alınan biyopsilerde katagen veya erken telogen evresindeki saçlarda normale göre belirgin artış olduğu gözlenmiştir. Histopatolojik incelemeler sonucunda AA'da anagen foliküllerin anagen evre 3 ve evre 4'ten ileriye progresyonunda sıkıntı olduğu ve prematür olarak telogen evresine girdikleri ve tekrar tekrar kısa folikül siklusları gösterdikleri saptanmıştır. AA aktivitesi ortadan kalktıktan sonra ise anagen foliküller yeniden normal folikül siklusuna dönmektedir (12).

##### **2.1.4.1. Genetik Faktörler**

Son yıllarda yapılan çalışmalarda AA patogenezinde güçlü bir genetik temel bulunduğu dair çok sayıda veri elde edilmiştir. Olguların birinci derece akrabalarında %10 ila 42 oranında yüksek insidans oranları tespit edilmiştir ve erken başlangıç gösteren olgularda

bu insidans artışı çok daha belirgindir. Monozigotik ikiz çalışmalarında konkordans oranının %55 olarak bulunması, atopik ve otoimmün hastalığı olanlarda şiddetli AA geliştirme riskinin artmış olması ve ailesel olguların sporadik olgulara göre daha kötü prognoz göstermeleri, kadın ve erkeklerin eşit oranda etkilendiği bilgisiyyle birlikte değerlendirildiğinde AA'nın otozomal dominant kalıtım paternine sahip genetik bir hastalık olabileceğine yönelik inanç kuvvetlenmektedir (17).

İnsan lökosit antijeni (HLA), immün sistem kontrolünden sorumlu majör histokompatibilite kompleksi (MHC) molekülleri ile ilişkili gen bölgesidir. Çeşitli çalışmalarda AA ile özellikle HLA-DQB1 ve HLA-DRB1 arasında yakın ilişki saptanmıştır. AA ile HLA-DR ve DQ arasındaki bu ilişkinin saptanması CD4+T hücrelerin hastalık patogenezindeki rolünü kanıtlar niteliktedir (18). İtalya'da yapılan bir çalışmada AA'lı hastalarda HLA-DQB1\*03 artmış oranda pozitiflik göstermiştir (19). HLA-DQ3, DR11 ve DQ7 ise bazı çalışmalarda AT ve AU gibi hastalığın daha şiddetli formlarıyla ilişkili bulunmuştur (20).

MHC sınıf 1 zincir ilişkili gen A (MICA) ve UL-16 bağlayıcı protein (ULBP 3/6) stres ilişkili moleküllerdir ve NK hücre reseptör 2D (NKG2D)'nin ligandlarıdır. NKG2D reseptörü ise NK hücreleri, CD8+T hücreler ve gama-delta T hücreleri tarafından eksprese edilmektedir. MICA ve ULBP 3/6, NKG2D reseptörünü taşıyan lenfositler için birer tehlike sinyalcisidirler. Genetik olarak yatkın bireylerde anormal miktarda MICA ekspresyonu onu eksprese eden dokuya karşı otoimmün yanıtı indüklemektedir. AA olgularında, saç foliküllerinde MICA ekspresyonu belirgin artmıştır. ULBP 3 de etkilenmiş olguların saç foliküllerinin dermal kılıf ve dermal papillasında artmış miktarda eksprese edilmektedir ve MICA ve ULBP 3'ün birlikte artmış miktarda ekspresyonu CD8+NKG2D+ T hücrelerinin saç folikülünü anormal miktarda infiltre etmesine ve dolayısıyla otoimmün yanıtın tetiklenmesine yol açmaktadır (17).

Geniş çaplı genetik çalışmalar AA ile ilişkili 14 gen lokusu bulmuştur. Özellikle NKG2D'nin ligandlarını kodlayan genleri içeren bir lokus AA gelişimi ile yakın ilişkili bulunmuştur. AA'da majör efektör hücreler olan NKG2D+CD8+T hücreleri fare modellerinde AA indüksiyonu için gerekli ve yeterli bulunmuştur. Bu hücreler tarafından interferon gama üretimi keratinositlerden interlökin (IL) -15 ve IL-15Ra salınımını uyarmaktadır ve IL-15 de IL-2 ile birlikte NKG2D+CD8+ T hücrelerinin varlığının ve otoreaktivitesinin devamını sağlamaktadır. Sistemik olarak verilen Janus Kinaz (JAK) inhibitörleri sinyalizasyonu JAK'lar üzerinden olan interferon (IFN) - gama, IL-2 ve IL-15 etkisini azaltmakta ve inhibe etmektedir. Bu durum JAK inhibitörlerin AA tedavisindeki yüksek başarısını açıklamaktadır (12,21).

AA patogenezinde rolü olduğu düşünölen lokuslardan biri de IL-2/21 lokusudur. IL-21, B lenfositlerin, T lenfositlerin ve NK hücrelerinin proliferasyonundan sorumludur. IL-2 ve onun yüksek afiniteli reseptörü olan IL-2RA (CD25), T regölatuvar hücrelerin sağ kalımı ve proliferasyonunu regöle ederler. T regölatuvar hücrelerin otoantijen ilişkili immün yanıtın önlenmesinde önemli görevleri vardır. T regölatuvar hücrelerin fonksiyonlarında meydana gelebilecek bir bozulma otoimmün yanıtın gelişmesine yol açmakta ve çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların oluşumuna yatkınlık oluşturmaktadır (17).

Ayrıca sitotoksik T lenfosit assosiyasyon antijen 4 (CTLA-4), IL-13, Tümör nekrozis faktör/Lenfotoksin alfa (TNF/LTA), Eos, Toll like reseptör 1 (TLR-1) ilişkili gen bölgelerinin de AA patogenezinde çeşitli rollerinin olduğu saptanmıştır (16,17).

#### **2.1.4.2. Çevresel Faktörler**

AA olgularının büyük çoğunluğunda atakların başlama nedenine yönelik net bir açıklama yapılamamaktadır ancak çeşitli çevresel tetikleyiciler ortaya atılmıştır. En sık bildirilenler arasında psikolojik ve fiziksel stres yer almaktadır. Stresin tam olarak hangi mekanizmalar üzerinden AA'yı tetiklediği anlaşılamamış olmakla beraber hastalarda depresyon ve anksiyete gibi psikiyatrik rahatsızlıkların sık olarak eşlik etmesi stresin AA patogenezinde önemli bir faktör olduğunu doğrular niteliktedir. Ayrıca HBV, HAV, HPV, herpes zoster, tetanoz gibi çeşitli aşılarından sonra; CMV, EBV enfeksiyonu sonrasında AA tetiklenen olgular bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada AA hastalarında serum 25-OH vitamin D seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu ve hastalık şiddeti ile serum seviyelerinin ters korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (12,22-24).

Güncel çalışmalarda, yüksek oranda yağ, trans yağ asidi, kolesterol, protein, şeker, tuz içeren batı tipi diyet ve işlenmiş gıda ve 'fast food' tüketiminin TJ regölasyonunu etkileyip intestinal permeabilityyi artırarak ve intestinal mikrobiyomu değiştirerek bağırsak bariyer fonksiyonunu bozduğu ve böylece çölyak hastaları, crohn hastalığı ve Tip 1 DM gibi otoimmün hastalıklara predispozisyon oluşturduğuna dair veriler elde edilmiştir (25). Yine son yıllarda ince bağırsakta bakteriyel aşırı gelişimin intestinal permeabilityyi artırarak immün sistem üzerine binen yükü artırdığı ve otoimmün hastalıklara yatkınlık oluşturduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur (26). AA tanısı olan ve eşlik eden *Clostridium Difficile* enfeksiyonu nedeniyle fekal mikrobiyota nakli yapılan iki hastada, nakil sonrası alopesik yamalarda yeniden saç çıkışının gözlenmesi sonrası bağırsak mikrobiyotasının immünmodölatuvar etkileri olabileceğine yönelik inanışı kuvvetlendirmiştir (27).

### 2.1.4.3. İmmün Sistem

Vücuttaki bazı dokular kısıtlı rejeneratif kapasiteye sahiptir ve en düşük miktarda inflamasyon bile o dokuda önemli derecede kötü sonuçlar doğurabilir. Vücut bu dokularda immün koruma adı verilen bir sistem ile anejik bir durum oluşturur ve bu dokuları immün sistemin zararlı etkilerinden korur. İmmün koruma olan dokulara santral sinir sistemi, gözler, plasenta ve testis örnek olarak verilebilir. Aynı zamanda kıl folikülünün 'bulge' kısmı ve 'bulb' yani kök kısmı da bu immün koruma olan dokulardandır (3).

Lenfatik drenajın olmayışı, bir fiziksel bariyer görevi gören extrasellüler matriks varlığı, MHC sınıf 1 proteinlerinin belirgin şekilde az eksprese edilmesi, MHC sınıf 2 proteinlerin ise hiç eksprese edilmemesi, bir NK hücre inhibitörü olan makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MİF) ekspresyonunda artış, foliküllerden immün sistem hücrelerinin aktivasyonunu engelleyen transforme edici büyüme faktörü (TGF) - Beta, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve Alfa- melanosit stimulan hormon (MSH), IL-10, somatostatin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) - 1 gibi çeşitli immunsupresif moleküllerin salgılanması ve sonucunda IFN-gama sekresyonunun inhibiyonu kıl folikülünün bu kısımlarında immün korumayı sağlayan başlıca mekanizmalardır (3-5,12).

AA olgularında ise kıl foliküllerindeki bu immün koruma sistemi bozulmuştur. IFN-gama ve substance-P, proinflamatuvar faktörlerin artışına, MHC-Sınıf 1 ve MHC-Sınıf 2 proteinlerinin ekspresyon artışına, MICA ve UL16 bağlayıcı protein 3 (ULBP3) gibi NKG2D ligandlarının up regülasyonuna, IL-2, IL-15, CXCL gibi kemokinlerin salınmasına ve immün sistemden koruyucu moleküllerin azalmasına yol açar. Özellikle MHC-Sınıf 1 ve MHC-Sınıf 2 proteinlerinde artmış ekspresyon ve vazoaaktif intestinal peptit (VIP) reseptör ekspresyonunda azalma anagen fazdaki kıl foliküllerini CD8+NKG2D+ T hücrelerinin hasarına duyarlı hale getirir. İnflamasyon sonucu AA olgularında kıl foliküllerinde distrofik anagen fazı ve prematür katagen ve telogen fazları görülür (3-5,12). Ayrıca trikohiyalin ve dopakrom tautomeraz gibi keratinosit ve melanosit ilişkili otoantijen epitoplari da otoimmün CD8+NKG2D+ T hücre yanıtlarını indüklemektedir (28).

AA hastalarının kan hücrelerinde eritrosit süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesinde azalma, malondialdehit düzeyinde ise artış saptanmıştır yani oksidatif strese belirgin artış görülmektedir. Oksidatif stres MICA ve ULBP gibi NKG2D ligandlarında up regülasyona dolayısıyla immün korumanın bozulmasına ve immün hasara yol açmaktadır (1).

### **2.1.5. Komorbid Hastalıklar**

AA ile pek çok hastalığın birlikte görülme sıklığı artmıştır. AA, hem çocuklarda hem de erişkinlerde aynı zamanda olguların aile bireylerinde de yaşam kalitesini belirgin derecede bozmaktadır (29). Polonya'da AA'nın stres ve psikiyatrik hastalıklar ile olan ilişkisini inceleyen bir çalışmada olguların 2/3'ünde ilk ataktan önce kuvvetli mental stres oluşturan bir olay yaşama öyküsü bulunmuştur. AA'nın kronik seyri ise olguların kronik strese maruziyetine neden olmaktadır. Aynı çalışmada AA olgularında depresyon, anksiyete, aleksitimi, obsesif-kompulsif bozukluk, sosyal fobi, vücut dismorfik sendromu ve intihar düşünceleri daha sık olarak bulunmuştur (30).

AA'da kişisel veya ailesel atopi öyküsü ve atopik dermatit, alerjik rinit, astım gibi allerjik hastalıklar, otoimmün tiroid hastalıkları ve tiroid otoantikor pozitifliği, diabetes mellitus ve insülin rezistansı, vitiligo, lupus eritematozus, psoriasis, romatoid artrit gibi otoimmün bozukluklar sağlıklı popülasyona kıyasla daha sık olarak bulunmuştur (13,31).

AA hastalarında ayrıca hiperlipidemi, hipertansiyon, metabolik sendrom ve inme riskinde de normal popülasyona göre artış kaydedilmiştir (5,23,32).

### **2.1.6. Klinik**

AA, geniş bir klinik prezentasyon şekline sahiptir ve tutulan bölgeye, patterne ve saç kaybının derecesine göre klinik olarak çeşitli varyantlara ayrılmıştır. En sık görülen tutulum şekli bir veya birkaç adet keskin sınırlı yuvarlak veya oval şekilli skarlaşma göstermeyen yamasal saç kaybıdır. Yamasal alopesi alanlarının bulunduğu bölgede deri normal görünümde, düzgün yüzeyli olup nadiren hafif bir eritem gösterebilir. Genellikle asemptomatik karakterde olup bazen hastalar kaşınma ve karıncalanma hissedebilir. Hastalığın aktivitesine göre bu lezyonlar sabit çapta kalabilir, genişleyebilir ve birleşip daha geniş lezyonlar oluşturabilir veya spontan remisyona girip kısmen veya tamamen yeniden saç çıkışı gösterebilir (5,33). Saçlı deri genellikle ilk ve en sık etkilenen bölge olmakla beraber sakal, kaş, kirpik, pubik, aksiller bölge ve vücut kılları gibi kıl folikülü içeren herhangi bir alan etkilenebilir (12). Aktif dönemde saç çekme testi özellikle lezyon periferinde olmak üzere pozitiflik gösterebilir (16). Alopesik yamalar iyileşirken çıkan ilk saçlar genellikle beyazdır ve pigmentasyon takiben gelişmektedir (12).

AA, tutulum yaygınlığına göre ; Alopesi Areata Circumscripta, Alopesi Totalis (AT) ve Alopesi Universalis (AU) olmak üzere üçe ayrılır. Saçlı derinin tamamı etkilenmişse AT; saçlı deriye ek olarak tüm vücut kılları da dökülmüşse AU olarak adlandırılmaktadır (33).

Alopesi paternine göre yapılan sınıflandırma; yamasal, retiküler, ofiazis, sisaipho (ters ophiiazis), diffüz, akut diffüz, perinevoid tip dökülme paternlerini içermektedir (33). Yamasal tip, bir veya birkaç adet keskin sınırlı alopesik yama ile karakterize olup en sık görülen tiptir (%75). Retiküler tipte aktif ve iyileşme aşamasında olan alopesik yamalar birlikte olup mozaik görünüm oluşturur. Ofiazis, yunanca yılan anlamına gelmektedir. Oksipital ve temporal alanlarda bant şeklinde alopesi ile karakterize olup kötü prognoz göstergesidir. Ters ofiazis yani sisaipho ise, frontal ve verteks gibi santral alanların etkilendiği saçlı deri sınır bölgelerinin ise korunduğu tip olup androjenetik alopesi (AGA) ile karıştırılabilmektedir. Diffüz AA veya AA incognita ise saçlı deride diffüz saç kaybı ile karakterize olup 20-40 yaş arası kadınlarda daha sık olarak görülür ve şiddetli telogen effluvium ile ayırıcı tanıya girer. Akut diffüz ve total alopesi ise saçlarda hızlı ve diffüz kaybı ifade etmekte olup saçların tam kaybına kadar ilerleyebilmekte ancak birkaç ay içerisinde yeniden saç çıkışı ve spontan remisyon gelişmektedir ve prognozu iyidir. Perinevoid tipte nevüs etrafında alopesi gelişir ve nevüs eksizyonu sonrasında dahi tam iyileşme görülmeyebilir (1,33,34).

Marie Antoinette veya Thomas More sendromu olarak bilinen varyant ise pigmente saçların selektif olarak etkilenmesi sonucu saçların aniden hızlı bir şekilde beyazlamasıyla karakterize diffüz alopesi tipidir (1).

AA ile ilişkili tırnak bulguları sık olup değişik çalışmalarda %7-66 arasında gösterilmiştir ve AT ve AU'da daha sık olarak görülmektedir. Çocuklarda tırnak değişiklikleri erişkinlere göre daha sık olarak görülmektedir. Genellikle asemptomatiktir. En sık görülen değişiklikler pitting ve trakionişidir. Ayrıca longitudinal çizgilenme, onikomadezis, onikoliz, Beau çizgileri, punktat lökonişi ve lunulada kırmızı noktalanma da yine sık görülmektedir. Tırnak tutulumu, alopesiden önce, alopesi ile eş zamanlı veya alopesiden sonra ortaya çıkabilir (35).

### **2.1.7. Tanı**

AA tanısı genellikle klinik bulgulara dayanılarak konulmaktadır. Trikoskopik inceleme tanıda yardımcı olup arada kalınan olgularda kesin tanı histopatolojik inceleme ile konulur.

#### **2.1.7.1. Trikoskopi**

Trikoskopik inceleme son yıllarda AA tanısında önemli bir yardımcı araç haline gelmiş olup kıl folikülü, kıl shaftı ve etraf derinin daha detaylı incelenmesine olanak sağlamakta aynı zamanda kesin tanı için gerekli olan histopatolojik inceleme için biyopsinin alınacağı bölgeyi belirlemeye yardımcı olmaktadır (36). AA olgularında trikoskopik incelemede, sarı noktalar, siyah noktalar, kırık saçlar, ünlem işareti saçlar, vellus saçlar, domuz kuyruğu saçlar ve pohl-pinkus konstriksiyonları görülmektedir (5).

Sarı noktalar, foliküler infundibulanın sebum ve/veya keratin ile tıkanması sonucu oluşmakta ve genellikle inaktif, kronik hastalıkta görülmektedir ancak hastalığın akut formunda da görülebilir. AA'da çok sayıda ve düzenli dağılım gösterir. AA'da en sensitif bulgu olarak kabul edilmekte ancak pekçok diğer saç hastalıklarında da görülebildiğinden çok spesifik bir bulgu değildir. Siyah noktalar, pigmente kıl shaftlarının saçlı deri seviyesinde kırılması veya destrükte olması sonucu görülmekte olup hastalığın akut döneminde daha sık olarak karşılaşılr (37,38).

Ünlem işareti saçlar, proksimal kısmı ince ve hipopigmente, distal kısmı ise daha kalın ve hiperpigmente olan kırılmış saçlardır. Hastalık aktivitesiyle yakın korelasyon gösterdiği saptanmıştır ve akut, progresif hastalıkta sık olarak karşılaşılr ancak hastalığın stabil dönemlerinde de zaman zaman karşımıza çıkabilir. Kırık saçlar, terminal kıl shaftının inflamasyona sekonder zayıflaması sonucu transvers olarak kırılması ya da daha önceden siyah nokta yapısında olan saçın hızla büyümesi nedeniyle oluşur. Hastalığın aktif saç kaybı olan döneminde görülen hastalığın spesifik bir markerıdır. Trikotillomanide görülen kırık saçlardan ayrımı saçların aynı seviyeden kırılmış olmasıyla yapılmaktadır (37,38).

Kısa vellüs saçlar, kısa ve pigmentasyon göstermeyen saçlardır. Hastalığın iyileşme fazında daha sık olarak rastlanır. Vellüs saçların terminal saça dönüşümü yeni saç çıkışını gösterdiğinden iyi prognoz göstergesidir. Sarı noktalar hastalık için oldukça sensitiftir ancak spesifik değildir. Domuz kuyruğu saçlar kısa, yeniden büyüyen ve düzenli sarmal gösteren saçlardır ve yeniden saç çıkışını gösterirler (37,38).

### **2.1.7.2. Histopatoloji**

Histopatoloji AA tanısının kesinleştirilmesini sağlar. Ancak hastalığın evresine göre belirgin farklılıklar gösterebilir. Dokunun hem vertikal hem de horizontal kesitlerinin alınabilmesine imkan sağlamak adına alopesik yamanın genişlemekte olan aktif sınırından 1'den fazla biyopsi materyali alınması önerilir. Horizontal kesitler, hastalığın tanısının konmasına yardımcı olmakla kalmayıp aynı zamanda olası yeniden büyüme hakkında da

klinisyene bilgi sağlar. Ayrıca kıl foliküllerine dermisin farklı seviyelerinden bakılabildiğini sağlar ve folikül yoğunluğunu, folikül çapını ve saç siklusunun farklı evrelerindeki folikülleri değerlendirmeye imkan sağlar (39).

Hastalığın akut evresinde büyümekte olan anagen evresindeki terminal kıllar hastalığın ana hedefidir. Peribulber bölgede arı sürüsüne benzer şekilde CD8+ ve CD4+ T hücreleri, langerhans hücreleri, mast hücreleri ve eozinofillerden oluşan inflamatuvar infiltrat gözlenir. Lenfositler saç matriksi ve dermal papilla bölgesini infiltre etme eğiliminde olup içinde kök hücrelerini barındıran 'bulge' bölgesi etkilenmez. Kök hücreler infiltrattan etkilenmediği için kalıcı hasar ortaya çıkmaz ve hastalık iyileşirken yeni saç çıkışı gözlenebilir. Hastalığın akut döneminde, anagen saç /telogen saç oranı belirgin düşmekte, terminal pigment saçlar azalmakta, vellüs saç ise hafif artış göstermektedir. (12, 39-41)

Subakut evrede, horizontal kesitlerde telogen ve katagen kıl oranı normale göre artış gösterir. Ayrıca terminal kıllar azalmakta, vellüs kıllar ise artış göstermektedir. Kronik evrede, minyatürize kıl folikülleri etrafında kronik peribulber lenfositik infiltrasyon gözlenir. Terminal/vellüs kıl oranı normal değeri olan 7/1'den 1.3/1'e kadar azalma gösterir. Uzun süreli hastalık öyküsü olan olguların %10'unda foliküllerin üst kısmında hafif fibrozis görülebilir. İyileşme fazında ise inflamasyon tam veya tama yakın olarak kaybolmuştur. Minyatürize kıllar yeniden terminal kıllara dönmekte böylece terminal/vellüs oranı tekrar normal sınırlara çekilmekte aynı zamanda anagen kıllar artmakta ve telogen kıllar ise yeniden azalmaktadır (12, 39-41)

Yapılan bir çalışmada olguların %36'sında direkt immüno Floresan incelemede kıl folikülü bazal membranı boyunca granüler biçimde C3, IgG, IgA ve IgM birikimi gösterilmiştir (42).

### **2.1.8. Ayırıcı Tanı**

AA, diğer sikatrisyel olmayan alopesi çeşitlerinden, sikatrisyel alopesilerden ve genetik saç hastalıklarından ayrılmalıdır.

Çocukluk çağında AA ile en sık ayırıcı tanıya giren iki hastalık tinea kapitis ve trikotillomanidir. Tinea kapitisten skuam ve inflamasyon bulgularının görülmemesiyle ayrılabilirken; trikotillomaniden ise kırılmış saçların benzer uzunlukta olması ile ayrılabilir. Konjenital triangüler alopesi ayrıca diffüz AA durumunda gevşek anagen saç sendromu ve telogen effluvium çocukluk çağında AA ile karışabilen diğer hastalıklardır (5,12).

Erişkinlerde ise kronik diskoid lupus eritematozus, liken planopilaris, frontal fibrozan alopesi gibi sikatrisyel alopesilerin erken dönemi, sekonder sifilizde görülen sifilitik alopesi ayırıcı tanıya girebilmektedir. Diffüz AA ise telogen effluvium, androjenetik alopesi ve kadın patern tip saç kaybı, sistemik lupus eritematozusunun non-sikatrisyel saç kaybı ile zaman zaman karışabilmektedir (1,5).

### **2.1.9. Prognoz**

AA kronik bir hastalık olup değişken ve önceden kestirilemeyen bir seyre sahiptir. Seyri sırasında değişken derecelerde relapslar, spontan remisyonlar ve şiddetli saç kaybının sebat etmesi görülebilmektedir (14). İlk ataktan sonra olguların %50'sinde 1 yıl içinde spontan remisyon, %5-10'unda ise şiddetli ve kronik bir seyir görülür. AA'nın relaps riski %85-100 arasında değişebilir. Olguların %14-25'inde tablo AT'ye veya AU'ya ilerleyebilmektedir. (43,44).

Hastalığın en önemli prognostik faktörü tutulum yaygınlığı yani hastalığın şiddetidir. Yaygın tutulum, AT, AU, ofiazik paternin gözlenmesi, tırnak tutulumu, erken yaşta başlangıç ve hastalık süresinin uzun olması, AA açısından pozitif aile öyküsü, diğer otoimmün hastalıkların eşlik etmesi, atopik hastalık varlığı ve Down sendromu kötü prognozla ilişkilendirilmiş faktörlerdir (14, 44-46).

### **2.1.10. Tedavi**

AA seyri önceden kestirilemez ve hastalığın şiddetine bağlı olarak %8-68 arasında değişen spontan remisyon oranları vardır (47). AA'da bir tedavinin etkinliğini değerlendirirken 'Severity of Alopecia Tool' (SALT) skorlaması, dermatolojik yaşam kalite indeksi (DLQI), hastanın tedavi öncesi ve sonrası çekilmiş makroskopik ve dijital dermoskopik fotoğraflarından faydalanılabilir (48). Hastanın yaşı ve hastalığın yaygınlığı ve şiddeti tedavi seçiminde en önemli faktörler olarak öne çıkmaktadır (47). AA tedavisinde güncel olarak pek çok tedavi seçeneği mevcuttur ancak hiçbiri küratif veya önleyici değildir (49).

#### **2.1.10.1. Topikal Tedaviler**

##### **2.1.10.1.1. Kortikosteroidler**

Topikal kortikosteroidler, %25'in altında saç kaybı olan hafif şiddette yamasal AA hastalarında önde gelen tedavi seçeneklerinden biridir. Potensi orta-yüksek-çok yüksek grupta olan topikal ajanlar tercih edilmektedir. Erişkinlerde klobetazol propiyonat; çocuklarda ise

mometazon furoat ilk tercih edilen ajanlardır. Tek başlarına veya intralezyonel kortikosteroidler veya minoksidil gibi ajanlarla birlikte kullanılabilirler. Pediatrik hastalarda intralezyonel kortikosteroidlere kıyasla ağrı şikayeti oluşturmaması dolayısıyla öncelikli olarak tercih edilirler. Yan etkileri arasında uygunsuz kullanımda telenjiektazi, deri atrofisi ve follikülit sayılabilir (47-49). Yapılan randomize çift kör plasebo kontrollü çalışmalarda klobetazol propiyonat merhem ve köpük formu orta ve şiddetli AA'da etkili ve güvenli bulunmuştur (50,51).

İntralezyonel kortikosteroidler, erişkin hastalarda sınırlı (<%50) yaygınlığa sahip yamasal AA'da ilk tedavi seçeneğidir. En sık tercih edilen ajan olan triamsinolon asetonid, derin dermal/ üst subkutanöz alana 13 mm 30 gauge iğne ile 0,1 ml 0,5-1 cm aralıklarla 4-6 haftada aralıklarla enjekte edilir (49). 2,5-10 mg/ml dozları arasında uygulamak mümkündür. Ancak 2,5 mg/ml'in , 5 mg/ml ve 10 mg/ml'e benzer etkinlikte olduğu bulunmuş ve daha düşük konsantrasyonda olduğundan daha fazla miktarda ve daha geniş alanlarda uygulamaya imkan sağlamış aynı zamanda lokal ve sistemik yan etkileri en az oranda oluşturmuştur (52). İntralezyonel enjeksiyonlar AA'da etkili ve güvenli bulunmuştur ve etkinliğin muayenede saç çekme testi pozitif olan ve ünlem işareti saçların gözlemlendiği olgularda daha yüksek olduğu görülmüştür (53). AA tedavisinde değişik yöntemlerin etkinliğinin kıyaslandığı bir çalışmada, intralezyonel triamsinolon asetonid enjeksiyonları, topikal betametazon valerat köpük ve topikal takrolimus tedavilerine göre daha etkili bulunmuştur (54). Bilinen yan etkileri atrofi, telenjiektazi, dispigmentasyondur (47).

#### 2.1.10.1.2. Minoksidil

Minoksidil, ilk olarak hipertansiyon tedavisinde kullanılmış olan potasyum kanal aktivatörü olan vazodilatatör bir ajandır. Hipertansiyon tedavisinde kullanılırken hipertrikoza yol açtığı anlaşıldığı üzerine 30 yıldan daha uzun süredir androjenetik alopesi tedavinde kullanılan minoksidil vazodilatatör etkilerinin yanında anjiogenezi ve hücre proliferasyonunu da uyarmaktadır. AA tedavisinde genellikle diğer topikal tedaviler veya sistemik tedavilerin yanında adjuvan olarak kullanılmaktadır. %2 ve %5 olmak üzere iki formu bulunmakta olup çocuklarda ve kadınlarda %2'lik formu daha çok tercih edilmektedir (48).

Minoksidil'in monoterapi olarak kullanıldığı çalışmaları derleyen güncel bir metaanalizde %5'lik form çocuk ve erişkin yamasal AA olgularında etkili ve güvenli bulunmuştur (55). En sık görülen yan etkileri kontakt dermatit ve yüzde hipertrikozdur.

Minoksidilin köpük formu propilen glikol içermediği için kontakt dermatit riski daha düşüktür (49).

#### 2.1.10.1.3. Antralin

Antralin, lokal irritasyon sonucu iritan kontakt dermatit oluşturarak AA'da yeniden saç çıkışını uyaran katran türevi bileşiktir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, antralin tedavisine yanıt alınan farelerin çoğunluğunda tedavi uygulanan bölgede lokal olarak Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir. (56).

Standart uygulama şekli %0,5-1 arasında değişen konsantrasyonlarda kısa süreli kontakt tedavi rejimi şeklinde uygulanmasıdır. Kısa süreli kontakt tedavi metodunda, alopesik yamalara topikal antralin günde 20 dakika ile başlanarak, hafif düzeyde eritem ve kaşıntı görülene dek süre uzatılmak suretiyle uygulanmaktadır Etkililiğin tam olarak değerlendirilebilmesi için tedavinin 3-9 ay süreyle denemesi önerilmektedir (49,57). Yan etkileri arasında lokal irritasyon, follikülit, bölgesel lenfadenopati bulunmaktadır (48).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada %1'lik topikal antralinin pediatrik AA'da etkili ve güvenli bir tedavi seçeneği olduğu bildirilmiştir (57). Antralin pediatrik AA'da belirgin yeni saç çıkışı sağlaması ve minimal sistemik yan etkisi olması nedeniyle alternatif bir tedavi ajanı olarak kullanılabilir (58).

#### 2.1.10.1.4. Topikal İmmünoterapi

Topikal immünoterapi, allerjik kontakt dermatit oluşturma amacıyla kullanılan skuarik asit dibütil ester (SADBE) ve difenilsiklopropenon (DPCP) kontakt alerjenlerinin kullanıldığı tedavi modalitesidir (49). AA hastalarında alopesik alanlardan topikal immünoterapi tedavisi öncesi ve sonrasında alınan biyopsilerin değerlendirildiği bir çalışmada peribulber CD4/CD8 oranını 4:1'den normal saçlı deri oranlarına yakın değerlere indirdiği aynı zamanda vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) up regülasyonuna yol açarak anjiogenez indüklediği saptanmıştır (59). CD8+ T lenfositlerin AA patogenezindeki rolü düşünüldüğünde, bu hücrelerin topikal immünoterapi tedavisi sonrası sayılarında artış olmasına rağmen yeniden saç çıkışının olması CD8+ T lenfositlerin tedavi sonrası kıl folikülü antijenlerine karşı normal immünoreaktivitesini tekrar kazandığını düşündürmektedir (60).

Topikal immünoterapide hastaya ilk olarak saçlı deride küçük bir alana %2'lik konsantrasyonda kontakt allerjen tatbik edilerek hastanın duyarlanması sağlanır. İki hafta sonrasında DPCP için %0,001, SADBE için %0,1 konsantrasyondan başlanarak saçlı deriye

haftalık uygulamalar yapılır. Hafif bir allerjik kontakt dermatit tablosu oluşana kadar konsantrasyon artırılır. Tedaviye yanıt alındıktan sonra tedavi sıklığı düşürülebilir. Tam yanıt alındıktan sonra ise kesilir. 6 aylık tedavi sonunda hala yanıt alınamaz ise tedavi kesilir. Bildirilen yan etkiler arasında geçici oksipital ve servikal lenfadenopati, şiddetli allerjik kontakt dermatit gelişimi, ürtikeryal reaksiyon, vitiligo ve dispigmentasyon bulunmaktadır (61).

2018'de yapılan retrospektif bir çalışmada tedavi başarı oranı SADBE'de %45, DPCP'de ise %34 olarak bulunmuştur. Tedavi başarısını etkileyen prognostik faktörler ise; saçlı derinin tutulum yaygınlığı, hastalığın süresi, atopi varlığı ve allerjik reaksiyonun erken gelişimi olmuştur (62).

#### 2.1.10.1.5. Prostaglandin Analogları

Bimatoprost ve Latanoprost glokom tedavisinde kullanılan prostoglandin F2 alfa analoglarıdır. Kirpiklerde hipertrikoz yan etkilerinden faydalanılarak son yıllarda AA'nın kirpik tutulumunda denenmiş ve her ikisi de AA'lı hastalarda etkili ve güvenli bulunmuştur (63,64). Erişkin AA hastalarında etkililik açısından topikal mometazon furoat ile topikal bimatoprost'un karşılaştırıldığı bir çalışmada, bimatoprost topikal mometazon furoat'a göre tedavide daha etkili ve daha güvenli bulunmuştur (65).

#### 2.1.10.1.6. Kalsinörin İnhibitörleri

Topikal pimekrolimus ve takrolimus, çeşitli dermatolojik hastalıklarında tedavisinde kullanılan T lenfositler üzerine baskılayıcı etkiye sahip topikal immünsupresif ajanlardır. Yapılan çalışmalarda AA'da topikal pimekrolimus ve takrolimusun etkinlikleri plaseboya kıyasla üstün görülmemiştir (66,67).

### **2.1.10.2. Sistemik Tedaviler**

#### 2.1.10.2.1. Sistemik Kortikosteroidler

Sistemik kortikosteroidler yaygın ve hızlı progresif AA tedavisinde uzun süredir kullanılmaktadır (49). AA hastalarında sistemik kortikosteroidler, hastalığın uzun dönem prognozunu değiştirmemeleri, yan etkilerinin çok sayıda olması ve tedavi kesildikten sonra tekrarlama riskinin yüksek olması nedeniyle kullanımları sınırlıdır (48). Yapılan çalışmalarda yüksek doz pulse intravenöz kortikosteroid tedavisi AA'da etkili bulunmuş ancak tedavi kesildikten sonra relaps riskinin yüksek olduğuna vurgu yapılmıştır (68,69). Sistemik steroidlerin önemli yan etkileri arasında hiperglisemi, osteoporoz, katarakt, immünsupresyon,

duygudurum değişikliği, obezite, dismenore, akne, cushing sendromu, kas-iskelet sistemi anormallikleri sayılabilir (49).

#### 2.1.10.2.2. Siklosporin

Siklosporin, immünsupresif ve hipertrikotik bir ajan olarak AA tedavisinde kullanılmaktadır (61). Siklosporin CD4+ T yardımcı lenfositleri inhibe etmekte ve IFN-gama sekresyonu baskılamaktadır. Kıl folikülündeki sitotoksik T lenfosit, yardımcı T lenfosit ve langerhans hücre infiltrasyonunu azalttığı ve CD4+/CD8+ T lenfosit oranını normal seviyelere indirdiği tespit edilmiştir. Orta ve şiddetli AA tedavisinde siklosporin etkinliğinin plasebo ile karşılaştırıldığı iki güncel çalışmada oral siklosporin tedavisinin orta ve şiddetli AA olgularında etkili olduğu ancak iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir (70,71). 2008 yılında yapılan bir çalışma şiddetli AA'da siklosporin ve metilprednizolon kombinasyonu etkili bulunmuştur (72). Ancak nefrotoksisite, immünsupresyon, hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi önemli yan etkilerinin olması ve tedavi kesildikten sonra yüksek relaps riski nedeniyle AA tedavisinde ön planda tercih edilen bir ajan değildir (49).

#### 2.1.10.2.3. Metotreksat

Metotreksat, dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek pürin sentezi ve hücre proliferasyonunu baskılayan folat analogu olan bir ajandır. İmmünsupresif etkilerinden dolayı AA gibi inflamatuvar hastalıklarda zaman zaman kullanılabilir. AT ve AU'da haftalık 15-25 mg metotreksatın tek başına veya günlük 10-20 mg düşük doz oral prednizon ile birlikte kullanıldığında etkinliğini araştıran retrospektif bir çalışmanın sonucunda metotreksatın düşük doz oral kortikosteroidle kombinasyonunun şiddetli AA'da etkili bir tedavi seçeneği olduğuna karar verilmiştir (73). Metotreksatın AA tedavisinde etkinliğini araştıran başka bir metaanaliz çalışmada ise metotreksatın şiddetli AA'da etkili bir tedavi seçeneği olabileceği, kortikosteroidlerle birlikte kombinasyonunun tek başına kullanılmasından daha iyi sonuçlar ortaya çıkardığı anlaşılmıştır (74).

#### 2.1.10.2.4. Sulfasalazin

Hem immünomodülatuar hem de immünsupresif etkileri olan sülfasalazin, T hücre proliferasyonunu, NK hücre aktivitesini ve antikör üretimini baskılamakta aynı zamanda T hücre sitokinleri olan IFN-gama ve IL-2'yi, monosit-makrofaj sistemi sitokinleri IL-1, TNF-alfa ve IL-6'yı inhibe etmektedir (48). Persistan AA hastalarında 6 ay boyunca günlük 3 mg sülfasalazinin tedavide etkinliğini araştıran bir çalışmanın sonucunda hastaların %25'inde iyi

düzeyde tedavi yanıtı elde edilmiştir ve sülfasalazinin persistan AA'da alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği vurgulanmıştır (75).

#### 2.1.10.2.5. Fototerapi

AA tedavisinde dar bant ultraviyole (UV) B, topikal PUVA ve UVA-1 gibi değişik fototerapi yöntemleri kullanılmıştır. UV ışık, Langerhans hücre miktarını ve aktivitesini baskılamakta aynı zamanda IL-12, IFN-gama ve IL-8 gibi proinflamatuvar karakterde sitokinlerin üretimini inhibe etmektedir ve böylece immünsupresif etki oluşturmaktadır (76).

Dar bant UVB'nin AA tedavisinde etkinliğini değerlendiren retrospektif bir çalışmada 25 hastaya dar bant UVB tedavisi verilmekte ayrıca hastaların çoğunluğu ek olarak aylık intramüsküler triamsinolon asetonid enjeksiyon tedavisi almıştır. 25 hastanın sadece 6'sında mükemmel yanıt gözlenmiş ve bu 6 hastanın 4'ü de eş zamanlı intramüsküler kortikosteroid enjeksiyonu yaptıran grupta olduğundan dar bant UVB'nin AA tedavisinde etkisiz olduğu düşüncesine varılmıştır (77).

Topikal PUVA'nın AA tedavisinde etkinliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada 149 AA hastasının tedavisinde topikal 8-metoksipsoralen ile fototoksik dozda UVA kombine edilmiştir ve tedavinin sonucunda AT veya AU tanısı olan hastalarda %56, AA tanısı olan hastalarda ise % 85 hastada %50'den fazla saç çıkışı rapor edilmiştir. Böylelikle topikal PUVA tedavisinin AA'da alternatif bir tedavi modalitesi olabileceği vurgulanmıştır (78).

UVA1'in AA tedavisinde etkinliği değerlendiren bir çalışmada 4 hastaya 6 ay süreyle haftada 3 kere totalde 75 seans UVA1 fototerapisi verilmiştir. 4 hastanın 3'ünde tam yanıt 1 hastada ise kısmi yanıt elde edilmiştir. Derin dermis penetrasyonu gösteren UVA1'in diğer tedavilere yanıtı AA hastalarında alternatif bir tedavi modalitesi olabileceği vurgulanmıştır (79).

#### 2.1.10.2.6. JAK İnhibitörleri

Son yıllarda AA patogenezi üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, kıl folikülleri etrafında otoreaktif karakterde NKG2D+ CD8+ T lenfositlerin belirgin infiltrasyonu ve folikül içerisinde ULBP3 ve MICA gibi NKG2D ligandlarının ekspresyon artışının olduğunun gözlenmesi NKG2D+CD8+ T lenfositlerin AA oluşumu için hem gerekli hem de yeterli olduğunu ortaya koymuştur. JAK inhibitörleri AA patogenezinde ana efektör olan bu hücreler tarafından üretilen ve kıl folikülü destrüksiyonuna aracılık eden IFN-gama, IL-2 ve IL-15 sitokinlerin etkilerini inhibe etmiş ve AA gelişimini engellemiştir (21).

AA'nın tedavisinde JAK 1 ve JAK 2 inhibitörü olan ruxsolitinib'in etkinliğini araştıran bir çalışmada, 12 hastanın 9'unda %50'nin üzerinde belirgin yanıt alınmış ve totalde tedavi başarısı %75 olarak kaydedilmiştir (80). 2016 yılında yayımlanan bir vaka raporunda AU tanılı bir olguya 12 hafta süre boyunca %0,6 topikal ruxsolitinib tedavisi 2x1 olarak kaşlara ve saçlı deriye uygulanmış, kaşlarda maksimum yanıt alınmış, saçlı deride ise alopesik alanın %10'unda 5-10 mm boyutlu koyu pigmente saç çıkışı gözlenmiştir (81). AA tedavisinde JAK1/2 inhibitörü olan barisitinib'in kullanıldığı 2015 ve 2019 yılında yayımlanan iki vaka raporunda, şiddetli AA'sı olan iki hastada oral barisitinib tedavisine dramatik yanıt görülmüştür (82,83). 2016 yılında yayımlanan bir çalışmada şiddetli AA'sı olan 66 hastaya 5 mg JAK 1/3 inhibitörü olan oral tofasitinib 3 ay boyunca 2x1 olarak verilmiş ve 3 ayın sonunda 32 hastada %50'nin üzerinde yanıt alınmıştır ve oral tofasitinib'in AA tedavisinde etkili ve güvenli bir tedavi seçeneği olduğu vurgulanmıştır (84). 2019 yılında Türkiye'de yayımlanan retrospektif bir çalışmada ortalama 12 ay süre boyunca oral tofasitinib tedavisi alan 63 hastadan 25'inde tam yanıt, 27'sinde %50'nin üzerinde yanıt kaydedilmiş ve tedavi süresi ile tedaviye yanıt arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (85). JAK inhibitörlerinin olası yan etkileri arasında üst solunum yolu enfeksiyonları ve herpes zoster dahil enfeksiyonlara yatkınlık, baş ağrısı, akne ve hipersebore, non-melanositik deri kanseri ve solid tümörler dahil malignite riskinde artış, bulantı ve diyare gibi gastrointestinal yan etkiler, anemi, lökopeni, transaminazların ve serum lipidlerinin değerlerinde artış sayılabilir. (86).

## **2.2. BAĞIRSAK VE OTOİMMÜNİTE ARASINDAKİ İLİŞKİ**

### **2.2.1. İntestinal Mukozal Bariyer**

İntestinal mukozanın en bilinen fonksiyonları nutrisyonel elementlerin sindirimi, emilimi ve sıvı homeostazisinin sağlanmasıdır. Ancak bu görevlerinin yanında bağırsak lümenindeki mikroorganizmalar ve antijenik yapıdaki maddelere karşı bariyer görevi de görür. İntestinal mukoza bir yandan lümendeki kommensal bakterilere karşı abartılı immün yanıt gelişimini önlemeli diğer yandan patojenik karakterdeki mikroorganizmaları başarılı bir şekilde bulmalı ve elimine etmelidir. İntestinal kolonizasyon proksimalden distale doğru artmakta ve kolonda gram luminal komponent başına  $10^{11}$ - $10^{12}$  mikroorganizma seviyesine kadar artmaktadır. Zararlı mikroorganizmaların adhezyon ve invazyonunu önlemek için intestinal mukoza çok sayıda immün ve non-immün koruyucu yapılar ve mekanizmalar ile donatılmıştır ve bu yapılar ve mekanizmalar birleşerek efektif bir mukozal bariyer oluşumunu sağlarlar (6,87,88).

İntestinal mukozal bariyer fiziksel, biyokimyasal ve immünolojik komponentlere sahiptir. İntestinal mukozal bariyerin fiziksel komponentini, intestinal mukozayı kaplayan enterositler, enterositlerin apikal yüzeyinde bulunan mikrovillusları örten glikokaliks tabakası ve enterositler arasındaki bağlantıyı sağlayan tight junctionlar (TJ), adherent junctionlar, desmozomlar; goblet hücrelerinden salgılanan ve intestinal mukozal bariyerin en dış fiziksel komponentini oluşturan mukus ve kommensal özellikteki bakteriler oluşturur (6,87-90). Biyokimyasal komponenti alfa ve beta ve teta defensinler, katelisidinler, Reg3 ailesi proteinleri yani C-tipi lektin, lizozim, intestinal alkalen fosfataz, lipopolisakkarit bağlayan peptid gibi antimikrobiyal peptitler (AMP) ve safra asitleri oluşturur (6,89,91). İmmünolojik bariyer komponentini ise lamina propriada bulunan organize ve izole lenfoid foliküllerden ve ince bağırsakta bulunan ve çok sayıda lenfoid doku agregatından oluşan peyer plakları tarafından sekrete edilen sekretuar IgA oluşturur (6,92).

### **2.2.2. Geçirgen Bağırsak ve Otoimmünite**

Bağırsak geçirgenliğini etkileyen ana faktörler diyet, stres, bağırsak mikrobiyomu, disbiyoz ve enfeksiyonlardır (6).

Diyetin intestinal permeabilite üzerine olan etkisini inceleyen çok sayıda güncel çalışma mevcuttur. 2016'da yapılan bir çalışmada liften fakir diyetle beslenmenin çeşitli mukus degrade eden bakterilerde artışa dolayısıyla mukus bariyerinin tahribatına ve intestinal permeabilite artışına yol açtığı tespit edilmiştir (93). 2012'de yapılan başka bir çalışmada doymuş yağlardan zengin diyetin bağırsak mikrobiyotasında *Lactobacillus*'ların oranının düşmesine ve *Oscillibacter*'lerin oranının artmasına yol açarak intestinal permeabiliteyi artırdığı saptanmıştır (94). Vitamin D'nin intestinal permeabilite üzerine olan etkisini araştıran bir çalışmada, D vitamininin TJ proteinleri olan zonula okludens (ZO) - 1 ve claudin-1'de ekspresyon artışına ve böylelikle intestinal permeabiliteyi korucu etkisi olduğuna yönelik bulgular tespit edilmiştir. (95).

Yanık hasarının, enterositlerdeki miyozin hafif zincir kinaz bağımlı miyozin hafif zincir fosforilasyonunu aktive ettiği bu durumun da TJ proteinleri olan ZO-1, occludin ve claudin-1'in redistribüsyonuna böylece intestinal permeabilitede artışa yol açtığı bulunmuştur (96).

Kronik alkol kullanımının intestinal monosit/makrofaj sisteminde TNF-alfa sekresyon artışına yol açtığı ve artmış olan TNF-alfa'nın TNF-reseptör 1 taşıyan enterositlere bağlandığı bu durumun da enterositlerdeki miyozin hafif zincir kinazı aktive ederek intestinal permeabiliteyi artırdığı tespit edilmiştir. Alkol kullanımı aynı zamanda bağırsak

mikrobiyotasında düzensizliklere yol açarak da intestinal permeabiliteyi artırmaktadır (97). Ayrıca yapılan çalışmada small intestinal bacterial overgrowth (SİBO) gibi bağırsak mikrobiyotasında belirgin alterasyonlara yol açan patolojik durumların da intestinal permeabiliteyi artırdığı saptanmıştır (98).

İntestinal mukozal bariyeri oluşturan komponentlerden herhangi bir veya birkaçında ortaya çıkabilecek bozulmalar, intestinal permeabiliteyi artırmakta ve geçirgen bağırsak ('leaky gut') adı verilen duruma yol açmaktadır. Geçirgen bağırsak, bağırsak lümeninde bulunan eksojen antijenler, lümeninde bulunan bakteriler ve bakteriyel ürünlerin lümeninden konağa geçmesine dolayısıyla lokal ve sistemik immün yanıt gelişmesine yol açmakta bu durum da çok sayıda otoimmün hastalığa zemin hazırlamaktadır. Bağırsak mikrobiyom disbiyozu, intestinal bariyer disfonksiyonu ve mikrobiyal translokasyon ile pek çok otoimmün hastalık ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda özellikle çölyak hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, Tip 1 Diyabetes mellitus (Tip 1 DM), sistemik lupus eritematozus (SLE), multipl sklerozis, otoimmün hepatit gibi çok sayıda otoimmün hastalığın meydana gelmesinde ve alevlenmesinde geçirgen bağırsak olarak adlandırılan intestinal bariyer disfonksiyonu önemli rol almaktadır (6).

Normal sağlıklı bir insanda, bağırsak lümenindeki immünolojik olarak aktif yapıdaki antijenler iki fonksiyonel yol ile mukozal bariyeri geçer. Antijenlerin %90'ı transsellüler yolla enterositlere geçer burada lizozomal degradasyona uğrayarak küçük, immünojenik olmayan peptitler haline gelirler. Kalan %10 antijenik peptitler ise TJ'lerin ana rolde olduğu parasellüler yolla aracılığıyla intakt proteinler halinde taşınır ve antijen spesifik immün yanıtı uyarırlar. Parasellüler yolla TJ'ler aracılığıyla sıkı şekilde regüle edilerek mukozal antijenik toleransın gelişimini sağlarlar (99,100).

Fizyolojik şartlarda, TJ'ler aracılığıyla sıkı bir şekilde regüle edilen mukozal antijen trafik, immün sistem hücreleri, kemokinler ve sitokin mediyatörler ile uyumlu bir şekilde çalışarak anergi yani mukozal tolerans gelişimini sağlarlar. Çevresel uyaran sonucu bağırsak mikrobiyomunda meydana gelen imbalans anormal miktarda zonulin üretimini tetiklemekte bu durum da intestinal bariyer fonksiyonunda bozulmaya ve buna sekonder intestinal permeabilite artışına yol açmaktadır. İntestinal permeabilite artışı sonucu mukozal antijen trafik kontrol edilemez bir hal alır ve submukozal immün kompartmanda bulunan doğal immün sistem uyarılır. Eğer bu süreç devam ederse adaptif immün sistem de uyarılır ve IFN-gama ve TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinler artmış miktarda üretilmeye başlanır bu durum da parasellüler yolla daha da aktiflenmesine, daha fazla miktarda antijenin geçmesine ve kısır

bir döngü oluşumuna neden olur. TNF-alfa, miyozin hafif zincir kinaz'ı aktive ederek TJ'ların açılması üzerinden intestinal permeabilityyi artırırken, IFN-gama ise çeşitli TJ proteinlerinin ekspresyon ve konumunu değiştirerek ve hücre iskeletinde yeniden yapılandırma sağlayarak intestinal permeabilityyi artırmaktadır. Sonuçta bu süreç immün sistem üzerinde sürekli devam eden strese yol açacak ve kişinin genetik yatkınlığının belirlediği organ veya dokulara karşı immün toleransın kaybedilmesine ve otoimmün hastalık sürecinin başlamasına yol açacaktır (101).

### **2.2.3. Geçirgen Bağırsağı Göstermede Kullanılan Yöntemler**

İntestinal bariyer bütünlüğü ve fonksiyonunu değerlendirebilmemiz pek çok hastalığın etiyolojisi ve patofizyolojisi aynı zamanda bu hastalıklara yaklaşım yönünde değerli bilgiler elde etmemizi sağlayacaktır. Biyopsi alınması gibi invazif yaklaşımlar hem hasta için rahatsızlık verici hem de sağlık sistemi üzerinde gereksiz yük oluşturmaktadır. Bu nedenle son yıllarda intestinal bariyer bütünlüğü ve fonksiyonunu non-invazif olarak değerlendirmeye imkan sağlayan biyomarkerlar araştırılmıştır. Henüz rutin klinik biyokimyaya girmeyen ancak çalışmalarda umut verici sonuçların gözlemlendiği birçok biyomarker bulunmuştur (8).

İntestinal bariyer bütünlüğü temel olarak enterositler ve enterositler arasındaki parasellüler boşluğu sıkı şekilde kontrol eden TJ'ler tarafından sağlanmaktadır. Dolayısıyla intestinal bariyer bütünlük kaybı intestinal epitelial hücre hasarı veya TJ kaybı üzerinden değerlendirilebilir (8,102).

Yağ asidi bağlayıcı proteinler 'Fatty Acid Binding Proteins (FABP)' ince ve kalın bağırsak matür enterositlerinin sitoplazmasında yer alan yağ asitlerinin apikal membrandan sellüler alımı ve metabolizmasında görev alan proteinlerdir. Çok sayıda alt tipi bulunan FABP proteinlerinin intestinal alt tipi (I-FABP) bağırsağa özgüdür. I-FABP herhangi bir nedenle mukozal doku hasarı sonucu enterosit membran bütünlüğünün bozulduğu durumlarda hızla kana geçmektedir. Sağlıklı insanlarda ise kan düzeyi oldukça düşüktür. Böylece intestinal bariyer bütünlük kaybının erken tanısında potansiyel bir marker olarak kullanılabilir. Serum veya idrarda enzyne linked immunosorbent assay(ELİSA) yöntemiyle düzeyi bakılabilir (8,9,102).

Diaminoksidaz (DAO) villüs uç bölge enterositlerin sitoplazmalarında bulunan ve primer aminlerin oksidatif deaminasyonunda görev alan bir amin oksidazdır. Enzim aktivitesi duodenumdan ileuma doğru artar. DAO ince bağırsak mukozal bariyer bütünlüğü kaybı ve bozulmuş transsellüler permeabilite durumlarında kana geçer ve bu durumların tanısında

plazmada potansiyel bir marker olarak öne çıkar (8). Glutasyon -S Transferaz'lar(GST) hücre korunması, antioksidasyon ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görev alan sitozolik enzimler olup pek çok alt tipi bulunmaktadır. Alfa-GST, karaciğer, böbrek ve bağırsak hücrelerinde bulunmakta ve bu yüzden intestinal epitelial hücre hasarının göstergesi olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda karaciğer ve böbrekte bulunması spesifitesini düşürmektedir. İzole bağırsak hasarından şüphelenilen durumlarda plazma veya idrar seviyesine bakılabileceği öne sürülmüştür (102).

TJ proteinlerinin özellikle de claudinlerin normal ekspresyonu intestinal mukozal bariyer bütünlüğünün sağlanmasında kritik öneme sahiptir. Azalmış claudin ekspresyonu veya claudinlerin TJ yapısına anormal biçimde katılması mukozal bariyer bütünlüğünü bozmaktadır. TJ proteinlerinin yıkılması ve kana geçmesi intestinal hasarın erken döneminde dahi belirgin biçimde gözlenir. Claudin-3; küçük boyutu, intestinal bölgede belirgin biçimde eksprese edilmesi ve parasellüler lokalizasyonu sayesinde intestinal TJ bütünlük bozulmasının serum veya idrarda erken non-invazif teşhisi için çok uygun bir adaydır (8,102).

İntestinal permeabilitenin değerlendirilmesinde kullanılan ana fonksiyonel testlerden biri idrarda laktuloz/mannitol oranına bakılmasıdır. Bir gecelik açlık sonrası laktuloz ve mannitol içeren sıvı oral yoldan alınmakta ve sonrasında toplanan idrarda laktuloz/mannitol oranına bakılmaktadır. Mannitol monosakkarit yapıda olup bağırsaktan kolaylıkla emilebilirken, laktuloz disakkarit yapıda olup fizyolojik şartlarda bağırsaktan emilmez. Herhangi bir nedenle bağırsak geçirgenliği bozulursa laktuloz emilimi de artmakta ve idrarda laktuloz/mannitol oranı artmaktadır (103). İdrarda polietilen glikol (PEG) ve kromla işaretlenmiş etilen diamin tetra asetik asit (Cr-EDTA) testleri de fizyolojik şartlarda bağırsaktan emilmeyen büyük moleküllerin, intestinal permeabilite arttığında idrarda tespit edilebilir düzeylere geldiklerini göstermektedir (102).

Zonulin, TJ'ların regülasyonunda görev alan en önemli proteindir. Zonulin, TJ proteinleri arasındaki etkileşimi reversibl olarak değiştirerek parasellüler yolağın regülasyonunda görev alır. Zonulin, proteinaz aktive reseptör (PAR) 2 üzerinden epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) transaktive etmekte ve sonrasında bir dizi hücre içi olay sonucunda TJ gevşemekte ve bağırsak geçirgenliği artmaktadır. İntestinal bakteriler ve gliadin gibi bazı potansiyel intestinal uyarıcılar zonulin sekresyonunu uyarmakta ve intestinal permeabiliteyi artırmaktadır. Serum zonulin seviyeleri intestinal permeabilitenin spesifik bir göstergesidir (8,104).

Sitrülin, ince bağırsak enterositlerinde glutaminden elde edilen protein yapısına katılmayan bir amino asittir ve kanda dolaşan sitrülin seviyesinin büyük bölümü bu üretimden kaynaklanır. İnce bağırsak fonksiyonel enterosit kitlesinde oluşacak bir kayıp serum sitrülin seviyesinde azalmaya yol açacaktır. Serum sitrülin seviyesinin çölyak hastalığı ve crohn hastalığında intestinal hastalığın şiddeti ile negatif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (9,104).

Mikrobiyom ve konak arasındaki hassas dengenin bozulmasına disbiyoz denmektedir. Disbiyoz, intestinal bariyer bütünlüğünü etkilemekte böylelikle intestinal permeabilityyi artırmaktadır. Disbiyoz tarafından indüklenmiş intestinal permeabilite artışı sonucu bakteriyel ürünler ve metabolitler kana geçmektedir. Bunlar arasında en bilinenleri d-laktat, lipopolisakkarit (LPS), lipopolisakkarit bağlayan protein (LBP)'dir. Ayrıca lipopolisakkaritlere karşı gelişen antikorlar olan endotoksin kor antikorları (EndoCAB) da bu bakteriyel ürünlerin kana geçişinin artması sonucu fazla miktarda üretilmektedir (8,9,102,104). D-laktat, gastrointestinal bakterilerin metabolik son ürünüdür. Memelilerde d-laktat'ı sindirebilecek bir enzim sistemi olmadığından intestinal bariyer hasarı durumunda d-laktat kana geçer. Sağlıklı bir insanda kan d-laktat seviyesi oldukça düşüktür ancak bağırsakta oluşan bir hasar nedeni veya bakteriyel aşırı gelişim ve disbiyoz nedeni intestinal permeabilite artışında serum seviyeleri yükselir (8). Ayrıca gram negatif bakterilerin dış membranının ana bileşeni olan LPS, hepatositler tarafından üretilip kandaki LPS'lere bağlanan LBP ve LPS'ye karşı gelişen antikor olan EndoCAB de bozulmuş intestinal mukozal bariyer sonucu meydana gelen intestinal permeabilite artışında serum seviyelerinde artış göstermektedir (9,104).

#### **2.2.4. Claudin-3**

İntestinal bariyer bütünlüğünün devamından sorumlu olan TJ'ler komşu enterositler arasındaki parasellüler boşluğu selektif olarak kapatarak luminal içeriklerin parasellüler boşluktan konağa kontrolsüz biçimde geçişini engellerler. TJ bariyer fonksiyonu ve parasellüler permeabilite çeşitli iç ve dış uyaranlar tarafından dinamik olarak regüle edilmekte ve bu sıkı regülasyon sağlık ile hastalık arasındaki bariyeri oluşturmaktadır (105).

Lateral hücre yüzeyinin en apikal segmentinde yerleşen TJ'ler 4 ana integral transmembran protein içerirler. Bunlar claudin, occludin, jonksiyonel adhezyon molekülü (JAM) ve trisellülin'dir. Bu transmembran proteinlerinin intrasellüler komponentleri sitozolik ZO proteinleri aracılığıyla F-aktin'e bağlanmaktadır. TJ proteinleri ile aktin sitoskeletonunun bağlantısı TJ yapı bütünlüğünün sağlanması için vitaldir ve TJ bariyer bütünlüğünün sitoskeleton tarafından regülasyonuna izin verir. Aktin filamanlarının kontraksiyonu ve hareketi ise miyozin

hafif zincirlerin aktivasyonu aracılığıyla regüle edilir. Miyozin hafif zincirlerin, miyozin hafif zincir kinazlar aracılığıyla fosforilasyonu aktin filamanların kontraksiyonuna ve parasellüler yolağın açılmasına yol açar (105).

İntestinal kronik inflamatuvar hastalıklar TJ proteinlerinde disregülasyona yol açmakta bunun da bariyer fonksiyonu üzerine iki önemli etkisi bulunmaktadır. Su ve iyonların kandan lümene kontrolsüz parasellüler transportu sonucu ortaya çıkan diyare ; luminal patojenler dahil çok çeşitli antijenik yapıların artmış parasellüler permeabilitesi sonucu mukozal immün sistemin uyarılması ve inflamatuvar sürecin başlaması. İnflamatuvar hastalıklarda ortaya çıkan bariyer bozulması temelde claudin ve occludin proteinleri üzerinden olmaktadır. Bu bariyer bozulması lümeden çok çeşitli antijenik yapıların emilimine ve mukozal immün sistemin uyarılması üzerinden inflamasyona yol açar. Bu inflamasyon sonucu açığa çıkan proinflamatuvar sitokinler ise TJ proteinlerinin ekspresyonu ve lokalizasyonunu daha da bozmakta ve ortaya bir kısır döngü çıkmaktadır (106).

TJ yapısındaki transmembran proteinleri arasında en önemlisi claudindir ve epitelyal bariyerin sıklığını belirler ve epitelyal hücrelerin polarizasyonuna katkıda bulunur. Genel olarak claudinler 3 farklı fonksiyona sahiptirler. Transepitelyal bariyer veya kanal fonksiyonu, hücre içi sinyal fonksiyonu ve apikal ve bazolateral membran proteinlerinin karışmasını engelleyen 'fence' (Çit) fonksiyonu. 3 farklı fonksiyon da hücre içi ve hücre dışı uyarımlarla kontrol edilir (106).

Claudin transmembran proteinleri, N-terminal ve C-terminal uçları sitoplazmada kalacak şekilde hücre membranını dört kere geçerek, hücre dışında iki spiral (loop) oluşturur. Bu iki ekstrasellüler spiral, komşu hücrenin claudin spiralleriyle güçlü bağlantılar oluşturur (107).

Claudin protein ailesinde insanlarda şimdiye kadar 24 çeşit tanımlanmıştır. Bunlardan claudin-3 gastrointestinal epitelde belirgin bir şekilde eksprese edilmektedir. Claudin-3'ün ilk olarak fare bağırsağında jejunum, ileum ve kolonda belirgin bir şekilde eksprese edildiği keşfedilmiştir. Sonrasında insan bağırsağında yapılan çalışmalarda da ince bağırsak ve kalın bağırsakta enterositler arasındaki TJ'larda belirgin claudin-3 ekspresyonuna rastlanmıştır. Daha sonra ise intestinal bariyer bütünlüğünü bozan intestinal hastalıkların claudin-3 ekspresyon ve lokalizasyonunda bozulmaya yol açtığı tespit edilmiştir (106).

2014'te yapılan bir çalışmada tedavi naif çölyak hastaları ve crohn hastalarının duodenal biyopsi materyallerinde kontrollere kıyasla claudin-3'ün belirgin bir şekilde azalmış

ekspresyonuna bunun sonucunda TJ yapısında ultrastruktürel değişiklikler ve TJ dilatasyonu geliştiğini saptamışlardır. 6 aylık tedaviden sonra yeniden alınan biyopsi materyallerinde ise TJ proteinlerindeki bu değişikliklerin normale döndüğü saptanmıştır (108). 2010’da yapılan başka bir çalışmada nüks inflamatuvar barsak hastalığı hastalarının kolon biyopsi materyallerinde immünohistokimyasal olarak claudin-3 ekspresyonu ve üriner claudin-3 düzeyleri remisyonadaki inflamatuvar barsak hastalığı hastaları ile karşılaştırılmış. Sonuç olarak nüks hastalarında kolonda claudin-3’ün istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış ekspresyonunu ve üriner claudin-3 seviyesinin ise anlamlı bir şekilde artmış olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar intestinal TJ kaybı ile claudin-3 arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir (109).

2019’da kronik inflamatuvar hastalıklar ile intestinal mikrobiyota disbiyozu ve intestinal bariyer bütünlük kaybı arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada psoriasis hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum claudin-3 seviyeleri karşılaştırılmış ve psoriasis hastalarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış serum claudin-3 seviyelerine rastlanmış ve claudin-3 seviyelerinin hastalık şiddetiyle anlamlı bir pozitif korelasyon gösterdiği ve 16 haftalık tedavi sonrasında serum claudin-3 seviyelerinin anlamlı bir düşüş gösterdiği saptanmıştır (110).

Son olarak 2023 yılında AA patogenezi ile intestinal disbiyoz ve intestinal permeabilite arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlayan başka bir çalışmada AA hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum claudin-3 seviyeleri karşılaştırılmış ve AA hastalarında anlamlı bir şekilde artmış serum claudin-3 seviyelerine rastlanmış ve claudin-3 seviyelerinin hastaların SALT skorlarıyla anlamlı bir pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (111).

### **2.2.5. İntestinal Yağ Asidi Bağlayıcı Protein (I-FABP)**

Yağ asidi bağlayıcı proteinler (FABP), yağ asitlerinin apikal membrandan endoplazmik retikuluma taşınmasında görevli düşük moleküler ağırlıklı suda çözünür sitozolik proteinlerdir. Buldukları dokuya göre değişik immünolojik fonksiyonları olan çok sayıda FABP alt tipi tanımlanmıştır. İntestinal enterositlerde temelde 3 tip FABP bulunur. İntestinal-FABP, karaciğer-FABP (L-FABP) ve ileal safra asidi bağlayıcı protein (I-BABP). I-FABP ve I-BABP, sadece bağırsaklara özgüken L-FABP aynı zamanda karaciğerde ve böbrekte de bulunmaktadır (8,9,102,104).

I-FABP özellikle intestinal villusların uç kısmındaki matür enterositlerde lokalizedir ki burası mukozal hasardan ilk etkilenen bölge olma özelliği taşır. Fizyolojik koşullarda dolaşımdaki bazal I-FABP seviyesi oldukça düşüktür ve enterositlerin fizyolojik turnover

düzeşini yansıtır. Mukozal doku hasarına sekonder enterosit hücre bütünlüğü bozulur bozulmaz I-FABP hızla kana salınır ve suda çözüdür özellihte olması ve düşük moleküler ağırlığı sayesinde böbrekler tarafından kandan hızla temizlenir. Ortalama yarı ömrü 11 dakikadır. Böylelikle serum veya idrar I-FABP düzeylerinin ELİSA yöntemiyle ölçülmesi intestinal hücre hasarının erken dönemde saptanmasını sağlar. Yükselmiş serum ve idrar I-FABP düzeyleri pek çok intestinal ve inflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmiştir (8,9,102,104).

2012'de yapılan bir çalışmada çölyak hastalığı ile plazma I-FABP düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Histopatolojik inceleme ile tanı almış çölyak hastalarının glutenden fakir diyet öncesi ve sonrasında plazma I-FABP düzeyleri sağlıklı kontroller ile kıyaslanmış ve çölyak hastalarının plazma I-FABP düzeyleri ile anti-doku transglutaminaz IgA düzeyleri ve histolojik olarak villöz atrofi düzeyini gösteren Marsh skorları ile korele edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda çölyak hastalarının plazma I-FABP düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve bu düzeyler hastaların antikor düzeyleri ve marsh skorları ile anlamlı derecede pozitif korelasyon göstermiştir. Glutenden fakir diyet sonrasında hastaların serum antikor düzeyleri ve marsh skorları normal değerlere inmiştir. Plazma I-FABP düzeyleri glutenden fakir diyet sonrası belirgin bir şekilde düşmüş ama yine de sağlıklı kontrollere göre daha yüksek kalmıştır (112).

2015 yılında başka bir çalışmada crohn hastalarının serum I-FABP düzeyleri sağlıklı kontrollerle kıyaslanmıştır. Aktif dönemdeki crohn hastalarının serum I-FABP düzeyleri remisyon dönemindeki hastalar ve sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve bu düzeyler crohn hastalığı şiddet skoru ve kan C reaktif protein (CRP) düzeyleri ile anlamlı derecede pozitif korelasyon göstermiştir. Remisyon dönemindeki crohn hastaları ile kontrol grubu arasında ise anlamlı farklılık saptanmamıştır (113). Ülseratif kolit ile I-FABP arasındaki ilişkiyi inceleyen başka bir çalışmada ülseratif kolit hastalarının serum I-FABP düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve hastalık şiddeti ile anlamlı derecede pozitif korelasyon göstermiştir (114).

2018 yılında kronik inflamatuvar bir hastalık olan kronik plak psoriasis ile enterik mikrobiyota disbiyozu ve bağırsak bariyer bütünlüğü bozulması arasındaki ilişki incelenmiştir. Kronik plak psoriasis hastalarının serum I-FABP düzeyleri sağlıklı kontroller ile kıyaslanmış ve psoriasis hastalarının serum düzeyleri (medyan:708.8 pg/ml) sağlıklı kontrollere (medyan:147.1 pg/ml) kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (115).

## **2.2.6. Diamin Oksidaz (DAO)**

Diamin oksidaz (DAO), histamin, putresin ve kadaverin gibi primer aminlerin oksidatif deaminasyonundan sorumlu bir amin oksidazdır. İnsanlarda çeşitli dokularda bulunabilmekle birlikte tipik olarak ince bağırsak villöz uç matür enterositlerinin sitoplazmalarında bulunur ve aktiviteleri duodenumdan ileuma doğru giderek artış gösterir. Yüksek aktiviteye sahip olan bu enzimin serum düzeyi ince bağırsak mukozasının bütünlüğünü ve matüritesini yansıtır. Fizyolojik bazal plazma düzeyleri oldukça düşük olan bu enzim ince bağırsak mukozal bütünlüğünün bozulmasına sekonder hızla dolaşıma geçmekte ve plazma DAO düzeyleri artmaktadır. Serumda DAO aktivitesi genel olarak stabil olduğu için enzimin plazma konsantrasyonu intestinal mukozal bütünlüğün bir göstergesi olarak kullanılabilir (8,116,117).

2009 yılında yapılan bir çalışmada inflamatuvar barsak hastalığı hastalarında serum DAO düzeyleri incelenmiş ve sonuçlarda hastaların serum DAO düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek saptanmıştır. Ülseratif kolit hastaları ile crohn hastaları arasında anlamlı farklılık saptanmamış ve tedavi sonrasında serum DAO düzeylerinde tedavi öncesine göre anlamlı düşüş görülmüştür (117). 2019 yılında yapılan başka bir çalışmada crohn hastalarında serum DAO düzeyleri incelenmiş ve sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında crohn hastalarının serum DAO düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Benzer şekilde serum DAO düzeyinin hastalık şiddeti ile belirgin bir pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (118).

2023 yılında yapılan bir çalışmada alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalarının intestinal bariyer bütünlüğü sağlıklı kontroller ile kıyaslanmıştır. İntestinal bariyer bütünlüğünü yansıtan serum DAO düzeyleri alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Ultrasonografi ile hastalar hafif, orta, şiddetli steatoz grubuna ayrılmış ve serum DAO düzeylerinin steatoz şiddeti ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (119).

### **2.2.7. Zonulin**

Son yıllarda intersellüler TJ'lerin yapısı, fonksiyonu ve regülasyonu hakkında çok sayıda güncel bilgi edinilmiştir. Bir zamanlar bağırsak lümeninden submukozaya makromolekül geçişini bloke eden statik yapılar olduğu sanılan TJ'lerin aslında bağırsak epitelinde antijen trafiğini düzenleyen dinamik yapılar oldukları ve çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullara adaptasyon yetenekleri olduğu tespit edilmiştir (99,101).

Kolera hastalığı ile ilgili yapılan aşı çalışmaları esnasında, *Vibrio cholera* adlı etkenin zonula okludens toksini (Zot) adı verilen ve TJ'leri reversibl olarak açan bir enterotoksin

ürettiği keşfedilmiştir. Zot'un TJ modülasyonunu sağlayan kompleks bir intrasellüler sinyalizasyon mekanizmasını aktive ettiğinin keşfiyle beraber, araştırmacılar bu toksinin insanlarda epitelyal TJ'leri regüle eden endojen bir proteini taklit ettiği hipotezini ortaya atmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, Zot'un insanlardaki analogu olan zonulin proteini keşfedilmiştir (99,101).

İnsan serumunun proteomiks çalışmalarında zonulinin, haptoglobulin 2'nin önceleri inaktif olduğu varsayılan prekürsörü olan pre-haptoglobulin 2 olduğu anlaşılmıştır (99,101,120). Haptoglobulin'in serbest hemoglobini bağlayarak stabil haptoglobulin-hemoglobin kompleksleri oluşturduğu böylece hemoglobinin yaratacağı oksidatif hasarı önlediği bilinmektedir (121). Zonulin olarak tanımlanan pre-haptoglobulin 2'nin başlarda işlevi bilinmezken yapılan çalışmalarda jejunum ve ileumda permeabilityyi artırdığı gösterilmiştir (101).

Dinlenme fazında TJ proteinleri homofilik ve heterofilik protein-protein etkileşimleriyle kapalı konumda tutulurlar. Zonulin yolağı aktive olurken ilk olarak zonulin proteinaz aktive reseptör 2 (PAR2)'yi kullanarak epidermal büyüme faktör reseptörünü (EGFR) transaktive eder. EGFR de fosfolipaz C'yi aktive etmektedir. Fosfolipaz C ise fosfatidil inozitolü hidrolize ederek inositol 1,4,5-trifosfat ve diaçilgliserolü açığa çıkarmaktadır. Daha sonrasında protein kinaz C-alfa doğrudan veya hücre içi kalsiyumun serbest bırakılmasıyla aktive edilir. Membranla ilişkili protein kinaz C-alfa zonula okludens 1 (ZO-1) ve miyozin 1C'yi de içeren hedef proteinleri fosforilize eder ve solubl G-aktin'in F-aktin'e polimerizasyonunu katalize eder. TJ protein fosforilasyonu ve aktin polimerleşmesi birlikte aktin filamentlerinin yeniden düzenlenmesine ve ZO-1 dahil TJ proteinlerinin yer değiştirmesine neden olur ve ultrastruktürel yapısı değişen TJ gevşer. Zonulin sinyali kesildikten sonra ise TJ dinlenme fazındaki kararlı haline geri döner (120).

Artmış miktarda zonulinin uygunsuz üretimi sonucu zonulin sinyalinde kontrolsüz bir artış olması halinde TJ'ler devamlı açık konumda kalmakta ve intestinal bariyer fonksiyonu kaybolmaktadır. Sonucunda bağırsak geçirgenliği artmakta ve lümen den submukozaya kontrolsüz antijen trafiği sonucu öncelikle doğal immün sistem sonrasında adaptif immün sistem uyarılmaktadır. Adaptif immün sistem ise TNF-alfa ve IFN-gama aracılığıyla bağırsak geçirgenliğini daha da artırmaktadır ve ortaya bir kısır döngü çıkmaktadır. Sonuç olarak genetik olarak yatkınlığı olan bireylerde immün sistemin sürekli olarak antijenik uyarıya maruz kalması immün sistemin self antijenlere karşı toleransının kaybolmasına ve otoimmün sürecin tetiklenmesine neden olmaktadır (101).

Zonulin salınımını uyaran majör 2 tetikleyici ince bağırsağın artmış miktarda bakteriye maruz kalması ve gliadindir (99,120). İnce bağırsaklar luminal mikroorganizma varlığına luminal zonulin sekresyonunu artırarak yanıt vermekte ve böylece konak-enterik bakteri etkileşiminde primer rolü oynamaktadır. İnce bağırsakta artmış miktarda bakteri bulunması, bakteriler patojenik olsa da olmasa da luminal zonulin sekresyonunu artırmakta ve bu durumda intestinal permeabiliteyi artırmaktadır. Bu zonulin aracılı intestinal permeabilite artışı, ince bağırsakta anormal bakteri kolonizasyonunu engellemek amacıyla konağın geliştirdiği bir doğal immün sistem yanıtı olarak düşünülebilir (122).

Glutenin ana bileşenlerinden olan gliadin, bir kemokin reseptörü olan CXCR3 ile etkileşerek zonulin sekresyonunu artırmakta ve intestinal permeabilite artışını indüklemektedir. Çölyak hastalığının erken döneminde artmış miktarda eksprese edilen CXCR3 ile gliadin etkileşimi zonulin up regülasyonuna yol açmakta ve böylece meydana gelen artmış intestinal permeabilite sonucu gliadin dahil pek çok antijenik peptit submukozaya geçmektedir (120,123). Genetik olarak yatkın bireylerde bu antijenler gluten spesifik adaptif immün yanıtı uyarmakta ve çölyak hastalarında görülen intestinal mukozanın otoimmün hasarlanmasına yol açmaktadır. Glutenin diyetten çıkarılmasından sonra serum zonulin düzeyleri düşmekte, intestinal bariyer fonksiyonu tekrar kazanılmakta, antikor titreleri normale dönmekte ve otoimmün süreç ve intestinal hasar durmaktadır (120,124).

Pankreas'ta beta hücrelerine karşı gelişen otoantikörlerin izlendiği tip 1 DM olgularında yapılan güncel çalışmalar sonucunda hastalarda tip 1 DM ve ilişkili otonom nöropatiye sekonder gastrointestinal motilite problemleri gelişmeden önce TJ'lerin fonksiyonundaki bozulmalara sekonder artmış intestinal permeabilite olduğu saptanmış ve TJ fonksiyonundaki bu bozulmanın hastalığın gelişiminde tetikleyici rolde olabileceği düşünülmüştür (125). Tip 1 DM geliştirmeye eğilimli fareler üzerinde yapılan çalışmada, intraluminal zonulin sekresyonunda artışa sekonder gelişen bağırsak permeabilite artışının 3-4 hafta içerisinde Tip 1 DM gelişimine yol açtığı tespit edilmiştir. (126). Buna ek olarak 2006 yılında yapılan bir çalışmada Tip 1 DM'si olan hastalarda serum zonulin seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (127).

### **2.2.8. D-laktat**

D-laktat, gastrointestinal traktusta yer alan fermentasyon yapan bakteriler tarafından üretilen bir metabolik son üründür. İnsanlarda d-laktat'ı hidrolize edecek d-laktat dehidrogenaz enzimi bulunmadığından intestinal bariyer fonksiyonunun bozulup intestinal permeabilitenin

arttığı durumlarda bakterilerin, onların yapısal komponentlerinin ve metabolik ürünlerinin lümeninden submukozaya artmış miktarda çıkışına sekonder olarak kanda d-laktat düzeyleri yükselecektir. Sağlıklı insanlarda ise bazal d-laktat seviyeleri oldukça düşüktür. Bu yüzden d-laktat son yıllarda bozulmuş intestinal bariyer fonksiyonunu göstermede bir marker olarak kullanılmaya başlanmıştır (8,9,102). Ancak kısa bağırsak sendromunda oluşan bakteriyel aşırı gelişim durumunda da lümeninde bulunan sindirilmemiş ve emilmeyen karbonhidratların bakteriler tarafından artmış miktarda fermentasyonuna bağlı yüksek miktarlarda d-laktat oluşmakta ve yüksek miktarda d-laktat kana geçmekte ve d-laktik asidoz adı verilen tablo ortaya çıkabilmektedir. O yüzden bu hastalarda kan d-laktat seviyesi sonuçlarının dikkatli değerlendirilmesi gerekmektedir (128).

2015 yılında yapılan bir çalışmada akut intestinal iskemi hastalarında serum d-laktat ve I-FABP seviyeleri akut abdomen klinik tablosu oluşturan diğer hastalıklar ile karşılaştırılmış ve akut intestinal iskemi hastalarında serum I-FABP ve d-laktat düzeylerinin belirgin bir şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ve bu markerların intestinal iskemi tanısında tanısal başarıyı artırdığı belirtilmiştir (129). 2009 yılında yapılan bir çalışmada inflamatuvar barsak hastalığı hastalarında serum d-laktat düzeyleri incelenmiş ve sonuçlarda hastaların serum d-laktat düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek saptanmıştır. Ülseratif kolit hastaları ile crohn hastaları arasında anlamlı farklılık saptanmamış ve tedavi sonrasında serum d-laktat düzeylerinde tedavi öncesine göre anlamlı düşüş saptanmıştır (117). 2019 yılında yapılan bir çalışmada crohn hastalarında serum d-laktat düzeyleri incelenmiş ve sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında crohn hastalarının serum d-laktat düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Benzer şekilde serum d-laktat düzeyinin hastalık şiddeti ile belirgin bir pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (118). 2023 yılında yapılan başka bir çalışmada alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalarının intestinal bariyer bütünlüğü sağlıklı kontroller ile kıyaslanmıştır. İntestinal bariyer bütünlüğünü yansıtan serum d-laktat düzeyleri alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Ultrasonografi ile hastalar hafif, orta, şiddetli steatoz grubuna ayrılmış ve serum d-laktat düzeylerinin steatoz şiddeti ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (119).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez konusu, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı tarafından 27/02/2024 tarih ve 181 sayılı akademik kurul kararı ile onaylanmıştır (EK-1). Çalışma için, İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 05/06/2023 tarih ve 98 sayılı kararı ile onay alınmıştır (EK-2). Tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmış, araştırma boyunca Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulama ilkelerine ve denek araştırma etik kurallarına uygun davranılmıştır.

#### 3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI

Çalışmaya, Temmuz 2023-Ocak 2024 tarihleri arasında İstanbul Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvurmuş, 18 yaşından büyük, klinik muayene sonucunda aktif AA tanısı almış 45 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak, İstanbul Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvurmuş, AA veya inflamatuvar bir deri hastalığı bulunmayan, hasta grubu ile uyumlu yaş ve cinsiyete sahip 40 gönüllü çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmanın dışlama kriterleri her iki grup için, 18 yaş altı olmak, otoimmün olduğu düşünülen deri hastalıkları ve sistemik hastalıkların varlığı, hipertansiyon, diyabetes mellitus, hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalık, hematolojik hastalık, kronik böbrek veya karaciğer hastalığı varlığı, inflamatuvar veya enfeksiyöz gastrointestinal hastalık varlığı, malignite tanısı veya şüphesi olması, gebelik ve emzirme olması, son 3 ay içerisinde immünesupresif veya immünmodülatör ilaç kullanımı ve hasta grubunda son 3 ay içerisinde AA için sistemik tedavi almış olmak olarak belirlendi.

#### 3.2. ÇALIŞMANIN YÖNTEMİ

Tek merkezli, non-randomize, kontrollü, prospektif, gözlemsel bir çalışmadır.

Çalışmaya katılmayı kabul eden hasta ve kontrol grubundan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu (EK-3) alındı. Çalışmaya katılanların adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti ve iletişim bilgileri gibi demografik verileri kaydedildi. Ayrıca AA hastalarının AA şiddetinin belirlenmesinde kullanılan Severity of Alopecia Tool Score (SALT) skorları, hastalığın toplam süresi ( hastalığın ilk ortaya çıkmasından başvuru tarihine dek ay olarak geçen süre), AA açısından aile

öyküsü içeren olgu rapor formu dolduruldu (EK-4). . Hasta ve kontrol grubundaki katılımcılardan, 12 saatlik açlık sonrası alınan venöz kan örnekleri 3000 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen serumlar, mikrosantrifüj tüplerine alınarak örnekleme gününe kadar -80°C’de saklandı.

### 3.2.1. Alopesi Areata Şiddet İndeksinin (SALT) Ölçümü

Hastaların SALT skorları, Ulusal Alopesi Areata Vakfı çalışma komitesinin hazırladığı skora sistemine göre hesaplandı. SALT skorlamasında, saçlı deri, tepe bölgesi (saçlı deri yüzeyinin 40%’i); saçlı deri sağ tarafı (saçlı deri yüzeyinin 18%’i); saçlı deri sol tarafı (saçlı deri yüzeyinin 18%’i); saçlı deri arka tarafı (saçlı deri yüzeyinin 24%’ü) olmak üzere 4 ana bölgeye bölünür. Bu bölgelerden herhangi birindeki saç kaybı oranı; tutulan bölgenin saç kaybı yüzdesi ile bu bölgedeki saçlı deri alanının yüzdesi çarpılarak bulunur. SALT skoru yukarıda bahsedilen bütün bölgelerdeki saç kaybı yüzdesinin toplamıdır (130). You ve ark.’nın yaptıkları çalışma esas alınarak SALT skoru S1 olan hastalar hafif, S2 olan hastalar orta, SALT skoru S3, S4, S5 olan hastalar ise şiddetli hastalığı olanlar olarak gruplandırıldı (131).

**Tablo 1.** SALT skora sistemi

Kıl Kaybı Yüzdesi	Skor
Kıl kaybı yok	S0
<%25 kıl kaybı	S1
%25-49 kıl kaybı	S2
%50-74 kıl kaybı	S3
%75-99 kıl kaybı	S4
%100 kıl kaybı	S5

### 3.2.2. Serum Örneklerinin Toplanması, Saklanması ve Çalışması

Hasta ve kontrol grubundaki katılımcılardan, 12 saatlik açlık sonrası venöz kan örnekleri alındı. Yaklaşık 5 cc venöz kan örnekleri 3000 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen serumlar, mikrosantrifüj tüplerine alınarak örnekler çalışma gününe kadar -80°C’de saklandı. Hasta ve kontrol grubundan toplanan serum örnekleri, çalışma

günü Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Biyokimya Merkez Laboratuvarı'ndan, Farmasina Tıbbi ve Kimyevi Ürünler Laboratuvarı'na transfer edildi.

Analizde Claudin-3 seviyeleri, serum örneklerinde double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile çalışıldı. Ticari kit olarak, SunRed Human Claudin-3 Sandwich-ELISA ( katalog no:201-12-2303) kullanıldı. Analizde İ-FABP seviyeleri, serum örneklerinde double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile çalışıldı. Ticari kit olarak, SunRed Human İntestinal Fatty Acid Binding Protein Sandwich-ELISA ( katalog no:201-12-1542) kullanıldı. Analizde Diamin Oksidaz seviyeleri, serum örneklerinde double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile çalışıldı. Ticari kit olarak, SunRed Human Diamine Oksidase Sandwich-ELISA ( katalog no:201-12-0777) kullanıldı. Analizde Zonulin seviyeleri, serum örneklerinde double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile çalışıldı. Ticari kit olarak, SunRed Human Zonulin Sandwich-ELISA ( katalog no:201-12-5578) kullanıldı. Analizde d-laktat seviyeleri, serum örneklerinde double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile çalışıldı. Ticari kit olarak, SunRed Human D-Lactate Sandwich-ELISA ( katalog no:201-12-7685) kullanıldı.

### **3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, minimum, maksimum, ortanca olarak verildi. Gruplarda oranlar Ki Kare testi ile karşılaştırıldı. Sayısal değişkenlerin karşılaştırmaları normal dağılım koşulu sağlanmadığından bağımsız ikiden çok grup karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile bağımsız iki grup karşılaştırmaları Mann Whitney U testi ile yapıldı. Sayısal veriler arası ilişkiler normal dağılım koşulu sağlanmadığından Spearman Korelasyon analizi ile incelendi. Kesim değeri incelemeleri ROC Curve Analizi ile yapıldı. Alfa anlamlılık seviyesi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Katılımcıların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmaya 45 AA hastası ve 40 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 85 katılımcı dahil edildi. Hasta grubu 23 (%51,1) kadın ve 22 (%48,9) erkek , sağlıklı kontrol grubu 21 (%52,5) kadın ve 19 (%47,5) erkekten oluşmaktaydı. Hasta grubunda ortalama yaş  $33,8 \pm 9,4$ , kontrol grubunda ortalama yaş  $31,7 \pm 6,7$  idi. AA ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık izlenmedi (sırası ile;  $p= 0,268$ ,  $p= 0,898$ ).

AA grubunda hastalık süresi 1 ile 60 ay arasında değişirken ortalama  $12,6 \pm 14,8$ , ortanca ise 8 aydı. Hastaların 9'unda (%20) ailede AA öyküsü mevcuttu. Bu hastaların 8'i (%17,7) hafif (S1) şiddetli grupta, 1'i (%2,3) şiddetli (S4) gruptaydı. Hastaların SALT skorları 2 ile 88 arasında değişmekteyken ortalama  $18,0 \pm 21,8$ , ortanca ise 10'du. Hastaların 33'ü (%73,3) hafif (S1) şiddetli grupta, 7'si (%15,6) orta (S2) şiddetli grupta, 5'i (%11,1) şiddetli (S3-S4) gruptaydı. Çalışmamızda AT ve AU hasta bulunmamaktaydı. Çalışma popülasyonunun demografik ve klinik özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

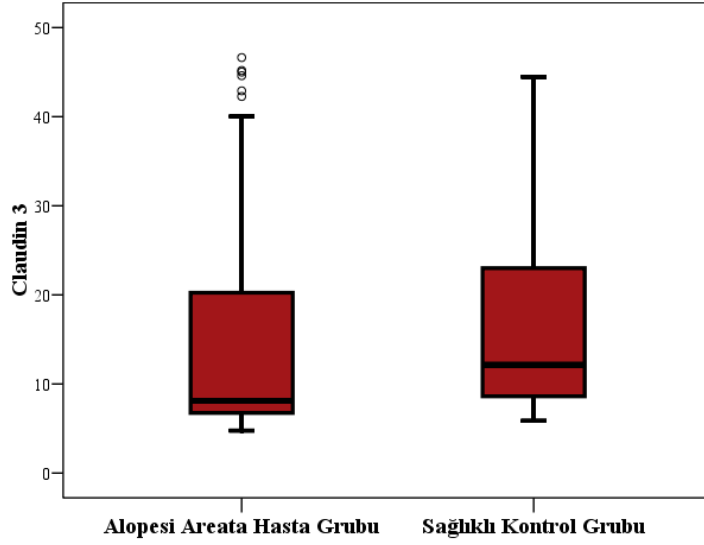
**Tablo 2.** Çalışma Popülasyonunun Demografik ve Klinik Özellikleri

	AA Grubu	Sağlıklı Kontrol Grubu	
	Ort.±SS / Min-Maks (Ortanca)	Ort.±SS / Min-Maks (Ortanca)	p
<b>Yaş</b>	33,8±9,4 / 18-56 (33)	31,7±6,7 / 26-60 (30)	0,268*
<b>Cinsiyet Kadın</b>	23 (51,1)	21 (52,5)	0,898#
<b>n (%) Erkek</b>	22 (48,9)	19 (47,5)	
<b>Hastalık Özellikleri</b>			
<b>Aile Öyküsü n (%)</b>	9 (20,0)		
<b>Süre ay</b>	12,6±14,8 / 1-60 (8)		
<b>SALT</b>	18,0±21,8 / 2-88 (10)		
<b>&lt;25 Hafif (S1)</b>	33 (73,3)		
<b>25-49 Orta (S2)</b>	7 (15,6)		
<b>50 ve üzeri-Şiddetli (S3-S4)</b>	5 (11,1)		

\*Mann Whitney U Testi #Ki Kare Testi

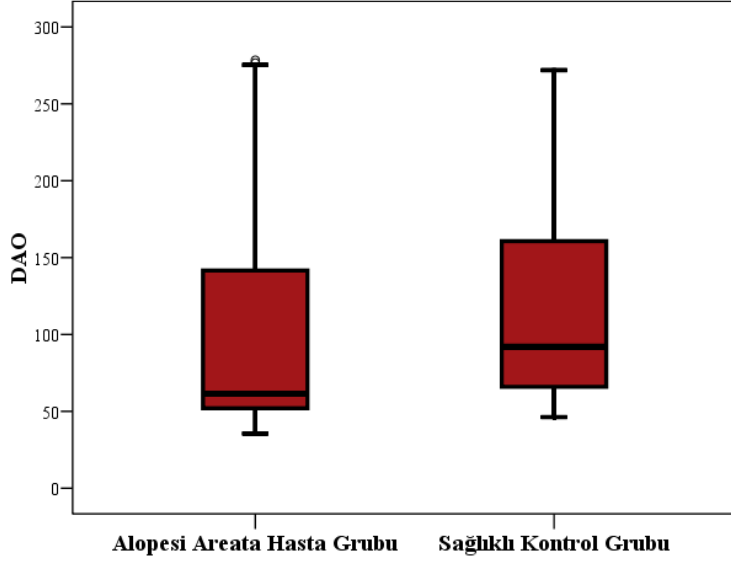
#### 4.2. Hasta ve Kontrol Grubunun Serum Claudin-3, DAO, D-Laktat, İ-FABP ve Zonulin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hasta grubunun ortalama serum claudin-3 düzeyleri  $15,45 \pm 13,82$  ng/ml, ortanca düzey ise 8,08 ng/ml idi. Kontrol grubunun ortalama serum claudin-3 düzeyleri  $16,97 \pm 11,35$  ng/ml, ortanca düzey ise 12,16 ng/ml idi (Şekil-1). Kontrol grubunda ortanca claudin-3 düzeyi hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti ( $p=0,037$ ) (Tablo-3).



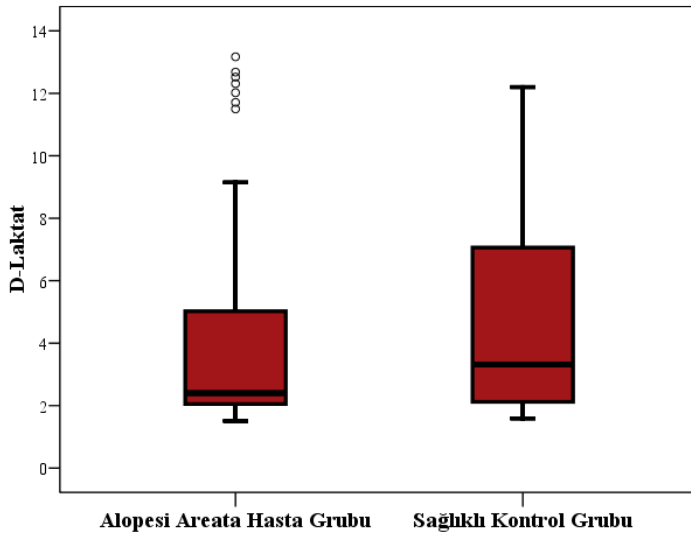
Şekil 1. Hasta ve kontrol grupları arasında serum claudin-3 (ng/ml) düzeyleri dağılımı

Hasta grubunun ortalama serum DAO düzeyleri  $105,76 \pm 80,12$  ng/ml, ortanca düzey 61,60 ng/ml idi. Kontrol grubunun ortalama serum DAO düzeyleri  $116,35 \pm 66,71$  ng/ml, ortanca düzey 92,07 ng/ml idi (Şekil-2). Kontrol grubunun ortanca serum DAO düzeyi hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti ( $p=0,034$ ) (Tablo-3).



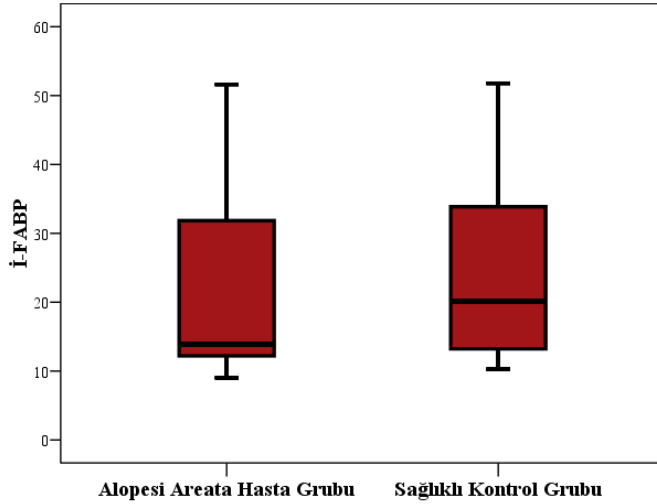
**Şekil 2.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum DAO (ng/ml) düzeyleri dağılımı

Hasta grubunun ortalama serum d-laktat düzeyleri  $4,50 \pm 3,87$  ng/ml, ortanca düzey 2,40 ng/ml idi. Kontrol grubunun ortalama d-laktat düzeyleri  $4,84 \pm 3,30$  ng/ml, ortanca düzeyi 3,31 ng/ml idi (Şekil-3). Her iki grupta ortanca serum d-laktat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,247$ ) (tablo-3).



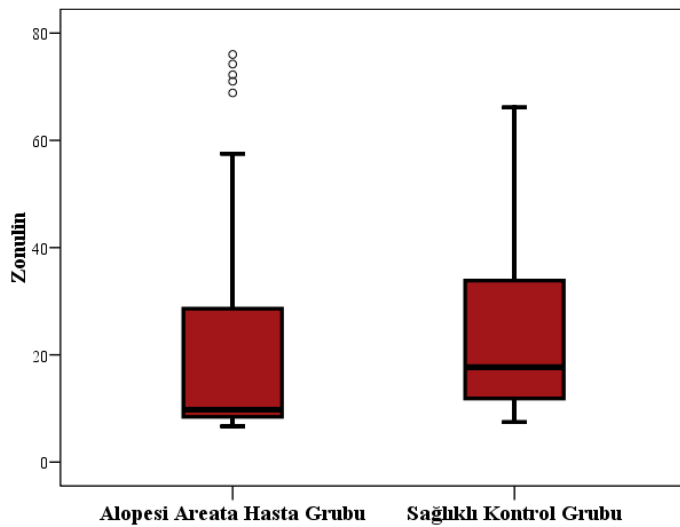
**Şekil 3.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum D-laktat (ng/ml) düzeyleri dağılımı

Hasta grubunun ortalama serum İ-FABP düzeyleri  $22,45 \pm 14,67$  ng/ml, ortanca düzey  $13,88$  ng/ml idi. Kontrol grubunun ortalama serum İ-FABP düzeyleri  $24,77 \pm 13,08$  ng/ml, ortanca düzey  $20,17$  ng/ml idi (Şekil-4). Her iki grupta ortanca serum İ-FABP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,149$ ) (Tablo-3).



**Şekil 4.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum İ-FABP (ng/ml) düzeyleri dağılımı

Hasta grubunun ortalama serum zonulin düzeyleri  $22,34 \pm 22,12$  ng/ml, ortanca düzey  $9,79$  ng/ml idi. Kontrol grubunun ortalama serum zonulin düzeyleri  $24,76 \pm 17,64$  ng/ml, ortanca düzey  $17,73$  ng/ml idi (Şekil-5). Kontrol grubunun ortanca serum zonulin düzeyi hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti ( $p=0,010$ ) (Tablo-3).



**Şekil 5.** Hasta ve kontrol grupları arasında serum zonulin (ng/ml) düzeyleri dağılımı

**Tablo 3.** Hasta ve kontrol grubunun serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin karşılaştırılması

	<b>Alopesi Areata Hasta Grubu</b>	<b>Sağlıklı Kontrol Grubu</b>	
	Ort.±SS	Ort.±SS	p*
	Min-Maks (Ortanca)	Min-Maks (Ortanca)	
<b>Claudin 3</b>	15,45±13,82 4,77-46,64 (8,08)	16,97±11,35 5,86-44,46 (12,16)	<b>0,037</b>
<b>DAO</b>	105,76±80,12 35,55-278,39 (61,60)	116,35±66,71 46,25-271,89 (92,07)	<b>0,034</b>
<b>D-laktat</b>	4,50±3,87 1,51-13,17 (2,40)	4,84±3,30 1,59-12,20 (3,31)	0,247
<b>İ-FABP</b>	22,45±14,67 9,02-51,61 (13,88)	24,77±13,08 10,28-51,77 (20,17)	0,149
<b>Zonulin</b>	22,34±22,12 6,68-76,02 (9,79)	24,76±17,64 7,45-66,14 (17,73)	<b>0,010</b>

\*Mann Whitney U Testi

#### 4.3. Hasta Grubunda Serum Claudin-3, DAO, D-laktat, İ-FABP, Zonulin düzeylerinin Yaş ve Cinsiyet ile İlişkisi

Hasta grubu, median yaş 33 ve altı ve 33'ün üstü olmak üzere iki alt gruba ayrılmış ve bu alt grupların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Yaş 33'ün üstü olan grubun ortanca serum d-laktat ve zonulin düzeyi, 33 ve altı olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı (sırası ile; p=0,031, p=0,048) (Tablo-4). Her iki grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO ve İ-FABP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo-4).

**Tablo 4.** Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin yaş ile ilişkisi

	Yaş <sup>a</sup>		p*
	33 ve altı	33 üstü	
Alopesi Areatata Hasta Grubu	Ort.±SS Min-Maks (Ortanca)	Ort.±SS Min-Maks (Ortanca)	
Claudin 3	18,43±15,01 4,77-45,19 (8,98)	12,04±11,77 5,08-46,64 (7,06)	0,059
DAO	123,60±89,93 35,55-278,39 (66,645)	85,37±63,29 40,14-247,58 (57,16)	0,142
D-laktat	5,36±4,16 1,59-13,17 (2,78)	3,52±3,33 1,51-12,68 (2,16)	0,031
İ-FABP	25,52±15,64 10,38-51,04 (16,3)	18,94±12,95 9,02-51,61 (13,08)	0,084
Zonulin	27,49±25,10 6,68-76,02 (11,62)	16,45±16,85 7,06-68,85 (8,63)	0,048

<sup>a</sup>Hasta grup median 33 yaş \*Mann Whitney U Testi

Hasta grubu cinsiyet değişkenine göre kadın ve erkek olarak iki alt gruba ayrılmış ve bu alt grupların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Her iki grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo-5).

**Tablo 5.** Serum claudin-3, DAO, D-Laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin cinsiyet ile ilişkisi

	Cinsiyet		p*
	Kadın	Erkek	
<b>Alopesi Areata Hasta Grubu</b>	Ort.±SS Min-Maks (Ortanca)	Ort.±SS Min-Maks (Ortanca)	
<b>Claudin 3</b>	17,28±15,41 5,08-46,64 (8,48)	13,54±12,00 4,77-45,01 (7,815)	0,286
<b>DAO</b>	114,28±88,62 35,55-278,39 (61,6)	96,86±71,14 44,93-272,78 (60,68)	0,518
<b>D-laktat</b>	4,78±4,19 1,51-12,68 (2,37)	4,21±3,57 1,59-13,17 (2,575)	0,847
<b>İ-FABP</b>	24,15±16,18 11,13-51,61 (13,49)	20,67±13,04 9,02-51,04 (13,985)	0,650
<b>Zonulin</b>	24,86±24,20 7,23-76,02 (9,79)	19,70±19,94 6,68-72,24 (9,79)	0,414

\*Mann Whitney U Testi

#### 4.4. Hasta Grubunda Serum Claudin-3, DAO, D-laktat, İ-FABP, Zonulin Düzeylerinin Hastalık Şiddeti, Hastalık Süresi ve Aile Öyküsü ile İlişkisi

AA hastaları, Alopesi Areata Şiddet İndeksi (SALT) skorlarına göre hafif (S1) şiddetli hastalar, orta (S2) şiddetli hastalar ve şiddetli (S3-S4) hastalar olmak üzere üç alt gruba ayrılmış ve bu alt grupların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Her üç grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak şiddetli gruptaki hastaların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri, hafif şiddetli ve orta şiddetli gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmayacak biçimde daha yüksek saptandı (Tablo-6 ve Tablo-7).

**Tablo 6.** Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi

<b>SALT</b>				
	<b>&lt;25 Hafif</b>	<b>25-49 Orta</b>	<b>50 ve üzeri-Şiddetli</b>	
<b>Alopesi Areata</b>	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	
<b>Hasta Grubu</b>	Min-Maks (Ortanca)	Min-Maks (Ortanca)	Min-Maks (Ortanca)	p*
<b>Claudin 3</b>	15,6±13,7 4,77-45,19 (8,08)	12,6±14,3 5,28-45,01 (7,06)	18,2±16,3 7,55-46,64 (12,17)	0,360
<b>DAO</b>	109,9±80,7 44,01-278,39 (61,6)	84,5±84,1 35,55-272,78 (57,03)	108,6±83,6 49,18-247,58 (68,96)	0,493
<b>D-laktat</b>	4,61±3,86 1,59-12,68 (2,41)	3,63±4,23 1,51-13,17 (2,11)	5,02±4,10 1,9-12,02 (3,75)	0,304
<b>İ-FABP</b>	22,7±15,0 9,02-51,04 (13,6)	18,8±13,2 11,5-48,41 (14,45)	25,9±16,4 12,26-51,61 (20,76)	0,705
<b>Zonulin</b>	22,6±22,0 6,68-76,02 (9,54)	18,4±23,8 8,44-72,24 (9,16)	26,3±25,0 9,95-68,85 (14,09)	0,352

\*Mann Whitney U Testi

**Tablo 7.** SALT skoruna göre şiddetli grupta olan hastaların serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin hafif ve orta şiddetli grupta olan hastalarla ve kontrol grubuyla karşılaştırılması

	<b>Şiddetli grup vs.Hafif</b>	<b>Şiddetli grup vs.Orta</b>	<b>Şiddetli grup vs. Kontrol Grubu</b>
	p*	p*	p*
Claudin 3	0,271	0,149	1,000
DAO	1,000	0,432	0,515
D-Laktat	0,529	0,202	0,820
İ-FABP	0,475	0,432	0,986
Zonulin	0,218	0,106	0,847

\*Mann Whitney U Testi

Hasta grubu, median hastalık süresi 8 ve altı ve 8'in üstü olmak üzere iki alt gruba ayrılmış ve bu alt grupların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Hastalık süresi 8 ay ve altı olan grubun ortanca serum İ-FABP düzeyi, hastalık süresi 8 ayın üstü olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Her iki grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo-8).

**Tablo 8.** Serum claudin-3, DAO, D-Laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin hastalık süresi ile ilişkisi

	Hastalık Süre		p*
	8 ve altı	8 üstü	
	Ort.±SS	Ort.±SS	
	Min-Maks (Ortanca)	Min-Maks (Ortanca)	
<b>Alopesi Areata Hasta Grubu</b>			
<b>Claudin 3</b>	18,03±14,24 5,08-45,19 (9,06)	11,58±12,57 4,77-46,64 (7,32)	0,093
<b>DAO</b>	123,53±84,55 35,55-278,39 (86,87)	79,12±66,56 44,01-272,78 (56,77)	0,074
<b>D-laktat</b>	5,24±4,05 1,51-12,68 (2,81)	3,39±3,39 1,59-13,17 (2,165)	0,102
<b>İ-FABP</b>	25,98±15,29 11,13-51,04 (17,09)	17,16±12,24 9,02-51,61 (12,935)	<b>0,025</b>
<b>Zonulin</b>	26,55±22,85 7,23-76,02 (12,38)	16,02±19,93 6,68-72,24 (8,84)	0,067

<sup>a</sup>Hasta grup median 8 hastalık süre \*Mann Whitney U Testi

AA hastaları, aile öyküsü olup olmamasına göre iki alt gruba ayrılmıştır ve bu alt grupların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Her iki grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo-9).

**Tablo 9.** Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin aile öyküsü ile ilişkisi

	Aile Öyküsü		p*
	Yok	Var	
	Ort.±SS Min-Maks (Ortanca)	Ort.±SS Min-Maks (Ortanca)	
<b>Alopesi Areata Hasta Grubu</b>			
<b>Claudin 3</b>	16,13±14,22 5,08-46,64 (8,14)	12,70±12,48 4,77-44,6 (8,08)	0,665
<b>DAO</b>	108,88±82,18 35,55-276,57 (62,465)	93,30±74,46 49,49-278,39 (57,16)	0,900
<b>D-laktat</b>	4,70±4,00 1,51-13,17 (2,405)	3,71±3,37 1,85-12,31 (2,31)	0,878
<b>İ-FABP</b>	23,13±15,19 9,02-51,61 (14,27)	19,72±12,79 10,38-48,91 (13,38)	0,791
<b>Zonulin</b>	23,18±22,42 6,68-76,02 (9,87)	18,98±21,82 7,23-74,23 (9,54)	0,548

\*Mann Whitney U Testi

Hasta grubunda, serum claudin-3, d-laktat, İ-FABP ve Zonulin düzeyleri ile yaş değişkeni arasında; serum DAO ve İ-FABP düzeyleri ile hastalık süresi (ay) değişkeni arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( sırası ile p=0,025, p=0,005, p=0,017, p=0,013, p=0,036, p=0,032) (Tablo-10).

**Tablo 10.** Serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP, zonulin düzeylerinin yaş, hastalık süresi ve hastalık şiddeti değişkenleri ile ilişkisi

Alopesi Areata Hasta Grubu	Yaş		Hastalık Süre ay		SALT	
	r	p <sup>£</sup>	r	p <sup>£</sup>	r	p <sup>£</sup>
<b>Claudin 3</b>	-0,333	<b>0,025</b>	-0,247	0,101	-0,095	0,534
<b>DAO</b>	-0,276	0,067	-0,313	<b>0,036</b>	-0,226	0,135
<b>D-laktat</b>	-0,413	<b>0,005</b>	-0,271	0,072	-0,119	0,436
<b>İ-FABP</b>	-0,354	<b>0,017</b>	-0,320	<b>0,032</b>	-0,065	0,671
<b>Zonulin</b>	-0,367	<b>0,013</b>	-0,289	0,055	-0,041	0,787

£Spearman Korelasyon Analizi

#### 4.5. Hasta Grubunda Serum Claudin-3, DAO, D-laktat, İ-FABP, Zonulin Düzeylerinin Birbiri ile İlişkisi

Hasta grubunda serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri arasında pozitif yönlü mükemmel düzeyde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Tablo-11).

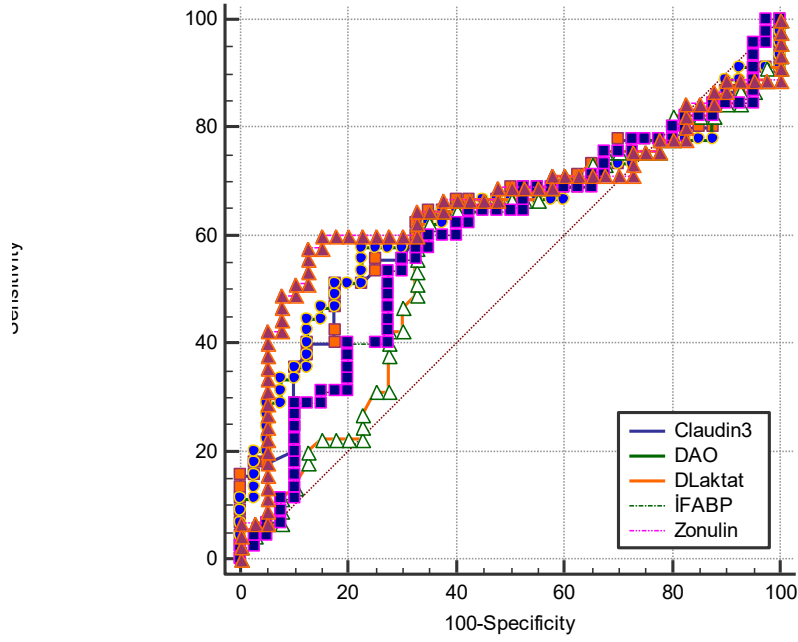
**Tablo 11.** Hasta grubunda serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin birbiri ile ilişkisi

	Claudin 3		DAO		D-laktat		İ-FABP	
	r	p <sup>£</sup>	r	p <sup>£</sup>	r	p <sup>£</sup>	r	p <sup>£</sup>
<b>DAO</b>	0,871	<0,001						
<b>D-laktat</b>	0,877	<0,001	0,885	<0,001				
<b>İ-FABP</b>	0,847	<0,001	0,876	<0,001	0,849	<0,001		
<b>Zonulin</b>	0,923	<0,001	0,839	<0,001	0,851	<0,001	0,853	<0,001

<sup>£</sup>Spearman Korelasyon Analizi

#### 4.6. Çalışılan Parametrelerde Cut-off Değerlerin İncelenmesi

AA grubunu saptamada claudin-3 için %51,11 sensitivite, %82,50 spesifite ile  $\leq 8,1$ ; DAO için %57,78 sensitivite, %77,50 spesifite ile  $\leq 65,48$ ; d-laktat için %62,22 sensitivite, %67,50 spesifite ile  $\leq 2,75$ ; İ-FABP için %53,33 sensitivite, %72,50 spesifite ile  $\leq 14,09$ ; zonulin için %57,78 sensitivite, %87,50 spesifite ile  $\leq 10,15$  olarak saptandı. AA hasta grubunda tanı kesim değeri incelemesi ve ROC eğri analizi Tablo 12 ve Şekil 6'da gösterilmiştir.



**Şekil 6.** AA hastalarında serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerinin sensitivite ve spesifite analizleri

**Tablo 12.** ROC eğrisi analizi

	<b>Claudin 3</b>	<b>DAO</b>	<b>D-Laktat</b>	<b>İ-FABP</b>	<b>Zonulin</b>
<b>Area under the ROC curve (AUC)</b>	<b>0,631</b>	<b>0,634</b>	<b>0,573</b>	<b>0,591</b>	<b>0,662</b>
Standard Error <sup>a</sup>	0,0618	0,0619	0,0636	0,0627	0,0621
95% Confidence interval <sup>b</sup>	0,520 to 0,734	0,522 to 0,736	0,461 to 0,680	0,479 to 0,697	0,551 to 0,761
z statistic	2,127	2,165	1,149	1,452	2,614
Significance level P (Area=0.5)	0,0334	0,0304	0,2506	0,1464	0,0089
Youden index J	0,3361	0,3528	0,2972	0,2583	0,4528
<b>Associated criterion</b>	<b>≤8,1</b>	<b>≤65,48</b>	<b>≤2,75</b>	<b>≤14,09</b>	<b>≤10,15</b>
<b>Sensitivity</b>	<b>51,11</b>	<b>57,78</b>	<b>62,22</b>	<b>53,33</b>	<b>57,78</b>
<b>Specificity</b>	<b>82,50</b>	<b>77,50</b>	<b>67,50</b>	<b>72,50</b>	<b>87,50</b>

## 5. TARTIŞMA

AA, ani başlangıçlı sikatrisyel olmayan saç veya kıl kaybı ile karakterize organ spesifik otoimmün bir hastalıktır (1). 1990-2009 arasında yapılan toplum bazlı bir çalışmada kümülatif AA insidansı yaklaşık olarak %2,1 bulunmuş, çeşitli hastane bazlı çalışmalarda ise AA insidansı %0,57-3,8 olarak bildirilmiştir (2,13). AA'da uzun yıllar süren toplum bazlı çalışmalarda hastalığın genel olarak erkek ve kadın cinsiyeti eşit oranda etkilediği belirtilse de hastalarda erkek veya kadın hakimiyeti bildiren değişik çalışmalar da mevcuttur. 2008 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada 1,6/1 oranında erkek hakimiyeti bildirilmiştir (2,13-15,132). Çalışmamıza 23 kadın, 22 erkek AA hastası dahil edildi ve güncel literatürle uyumlu şekilde her iki cinsiyetin benzer oranda etkilendiği saptandı.

AA, tüm yaş gruplarında görülebilmekle birlikte hastalığın en sık 20-40 yaş aralığında görüldüğü bildirilmiştir (2,13,14,133). Çalışmamızda mevcut literatürle uyumlu şekilde AA hastalarının ortalama yaşı 33,8 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda hastalık süresi 1-60 ay arasında değişmekteydi ve medyan hastalık süresi 8 ay olarak tespit edildi. Hastalarda şikayetlerin başlamasıyla dermatolojik tedaviye ulaşma arasında geçen sürenin kısaltılması hastaların AA'ya eşlik edebilecek depresyon, anksiyete ve sosyal izolasyon gibi psikiyatrik komorbiditelerin azaltılmasına katkıda bulunacaktır.

Literatürde AA hastalarının %3-42'sinde aile öyküsü bildirilmekte ve aile öyküsü hastalığın daha şiddetli formlarıyla ilişkilendirilen bir kötü prognoz kriteri olarak ifade edilmektedir (134,135). Çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde AA hastalarında %20 oranında aile öyküsü bildirilmiştir. Ancak aile öyküsü bildiren 9 hastanın 8'i hafif (S1) hastalık grubunda 1 tanesi ise şiddetli (S4) hastalık grubunda olarak bulunmuş ve mevcut literatürde ifade edilen aile öyküsünün hastalık şiddeti ile olan ilişkisi çalışmamızda gözlenmemiştir.

AA'nın saçlı deri tutulumunun şiddeti 'Severity of Alopecia Tool (SALT)' skorları ile belirlenmektedir. S1 hafif şiddetli hastalığı, S2 orta şiddetli hastalığı, S3-S4-S5 ise şiddetli hastalığı ifade etmektedir (131). Çalışmamızda hastaların %73,3'ü S1, %15,6'sı S2 ve %11,1'i ise S3-S4 olarak belirlenmiştir.

AA, patogenezinde otoimmüitenin başrolde olduğu otoimmün bir hastalıktır ve vitiligo, hashimoto tiroiditi, graves hastalığı, Tip 1 diyabetes mellitus, psoriasis, lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıkların görülme sıklığı topluma göre daha sıktır (134). Ancak

serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin seviyelerini etkileyebileceğinden dolayı eşlik eden otoimmün hastalığı olan hastalar çalışmamıza dahil edilmemiştir.

Son yıllarda AA gibi otoimmün hastalıkların gelişiminde genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin yanı sıra oksidatif stres, intestinal mikrobiyota, intestinal permeabilite ve ilişkili intestinal mukozal bariyer fonksiyonu üzerinde durulmaktadır (1,6). İntestinal mukozal bariyeri oluşturan komponentlerden herhangi bir veya birkaçında ortaya çıkabilecek bozulmalar, intestinal permeabilitesi artırmakta ve geçirgen bağırsak ('leaky gut') adı verilen duruma yol açmaktadır. Geçirgen bağırsak, bağırsak lümeninde bulunan eksojen antijenler, lümeninde bulunan bakteriler ve bakteriyel ürünlerin lümeden konağa geçmesine dolayısıyla lokal ve sistemik immün yanıt gelişmesine yol açmakta bu durum da çok sayıda otoimmün hastalığa zemin hazırlamaktadır (6).

2019'da yapılan bir sistematik meta-analiz çalışmasında intestinal permeabilite artışı ile değişen derecelerde ilişkili yüzden fazla faktör olduğu belirtilmiştir. İntestinal permeabilite artışı ile en yakından ilişkili olan faktörler; IL-6, CRP, TNF-alfa gibi proinflamatuvar markerların artmış düzeyleri ve yüksek sistemik inflamasyon, HDL seviyelerinde düşüş, LDL seviyelerinde yükseklik, artmış trigliserid ve total kolesterol düzeyleri ve dislipidemi, hiperglisemi, HbA1C seviyelerinde yükseklik, insülin direnci ve bozulmuş glukoz metabolizması, artmış vücut kitle indeksi, artmış bel çevresi ve obezite, yüksek miktarda sigara ve alkol tüketimi, yüksek kalorili, düşük besinsel değerli, hayvansal proteinden zengin ve düşük lif oranına sahip batı tarzı diyet, tip 2 diyabet, metabolik sendrom, karaciğer ve böbrek hastalıkları, polikistik over sendromu gibi eşlik eden komorbiditeler, inflamatuvar bağırsak hastalığı, çölyak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu, intestinal disbiyoz gibi kronik gastrointestinal hastalıklar, tip 1 diyabet, ankilozan spondilit, lupus eritematozus otoimmün hepatit, multipl skleroz gibi otoimmün ve romatolojik hastalıklar olarak ifade edilmiştir. Ayrıca bu hastalıkların şiddeti ile intestinal permeabilite artışı arasında yüksek pozitif korelasyon bildirilmiş ve birden çok faktörün bir arada bulunmasının intestinal permeabiliteyi daha da artırdığı ifade edilmiştir (136,137).

İntestinal permeabilite ve intestinal mukozal bariyer fonksiyonu ile otoimmün hastalıkların gelişimi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda üzerinde en çok durulan yapı zonulindir. Zonulin, TJ proteinlerinin görev aldığı parasellüler yolağın dolayısıyla lümeninden submukozaya antijen geçişinin majör düzenleyicisi olan protein yapıda bir moleküldür. Gliadin veya ince bağırsağın fazla miktarda bakteriye maruz kalması gibi faktörler aracılığıyla salınımı uyarılan zonulin intestinal permeabiliteyi artırmaktadır (99,120). Güncel çalışmalarda zonulin

yolağında disregülasyon, intestinal permeabilite artışı ve intestinal mukozal bariyer fonksiyonunda bozulma ile pek çok otoimmün hastalığın gelişimi veya alevlenmesi arasında önemli ilişkiler saptanmıştır. Çölyak hastalığı, tip 1 diyabet, inflamatuvar bağırsak hastalığı, multipl skleroz, sistemik lupus eritematozus ve romatoid artrit bu otoimmün hastalıklara örnektir (101,120).

Çölyak hastalarında, erken dönemde TJ proteinleri olan claudin-2,3,4'ün intestinal mukozal hücrelerde anormal miktarda eksprese edildiği ve TJ'lerin açık olduğu ve intestinal permeabilitenin arttığı tespit edilmiştir (138). İntestinal lümende gliadin varlığı zonulin sekresyonunu uyarmakta ve zonulin de TJ proteinlerinin yapısal konformasyonunu değiştirerek TJ'ları açmakta ve intestinal permeabiliteyi artırmaktadır (139). Çölyak hastalarında serum zonulin seviyesi yükselmekte ve hastaların diyetinden gluten çıkarıldıktan sonra serum zonulin seviyeleri düşmekte, intestinal permeabilite ve intestinal mukozal bariyer fonksiyonu normale dönmektedir (120).

Zonulin aracılı intestinal permeabilite artışı ve otoimmünite arasındaki ilişkinin gösterildiği bir diğer hastalık Tip 1 DM'dir. Tip 1 DM geliştirmeye eğilimli fareler üzerinde yapılan çalışmada, intraluminal zonulin sekresyonunda artışa sekonder gelişen bağırsak permeabilite artışının 3-4 hafta içerisinde Tip 1 DM gelişimine yol açtığı tespit edilmiştir. Çalışmanın devamında Tip 1 DM geliştirmeye eğilimli farelerin bir kısmına zonulin inhibitörü verilmiş bir kısmı ise tedavisiz bırakılmıştır. Zonulin inhibitörü verilen grupta, intestinal permeabilite artışı oluşmamakta ve Tip 1 DM gelişmemekteyken, tedavisiz bırakılan farelerde intestinal permeabilite artışı devam etmekte ve Tip 1 DM gelişmektedir (126). 2006 yılında yapılan bir çalışmada Tip 1 DM hastalarının yaklaşık %50'sinde ve Tip 1 DM hastalarının Tip 1 DM olmayan 1.derece akrabalarının yaklaşık %25'inde serum zonulin seviyeleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı şekilde yüksek saptanmış ve benzer şekilde intestinal permeabilite de artmış olarak izlenmiştir. Bu durum intestinal permeabilite artışının Tip 1 DM gelişiminde gerekli ancak yeterli olmadığını düşündürmüştür (127).

İntestinal permeabilite artışı ile ilişkilendirilen bir diğer hastalık grubu crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Güncel bir çalışmada inflamatuvar bağırsak hastalarında serum zonulin seviyeleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı biçimde yüksek saptanmış ve hastalık süresi ile serum zonulin seviyeleri arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir. Aynı çalışmada serum zonulin seviyeleri ülseratif kolit ile crohn hastaları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir (140).

Son yıllarda intestinal permeabilite artışı ve zonulin ilişkisi pek çok dermatolojik hastalıkta çalışma konusu olmuştur. 2012 yılında yapılan bir çalışmada psoriasis hastalığının patogenezinde intestinal permeabilite artışının rolü araştırılmış ve psoriasis hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum zonulin seviyeleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda psoriasis hastaları ile sağlıklı kontroller arasında serum zonulin seviyesinde anlamlı farka rastlanmamış ve psoriasis patogenezinde intestinal permeabilite artışı ve zonulinin rolü olmayabileceği kanısına varılmıştır (141). 2020 yılında psoriasis patogenezinde intestinal permeabilite artışını araştıran başka bir çalışmada ise psoriasis hastalarında serum zonulin ve lipopolisakkarit (LPS) seviyeleri sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin şekilde yüksek çıkmış ancak hastalığın şiddet skoru ile serum zonulin ve LPS seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (142).

2023 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada otoimmün bir hastalık olan vitiligonun patogenezinde intestinal permeabilite artışının rolü araştırılmış ve vitiligo hastalarında serum zonulin, LPS seviyeleri sağlıklı kontroller ile kıyaslanmıştır. Vitiligo hastalarının serum zonulin, LPS seviyeleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek çıkmış ve zonulin ile LPS seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon izlenmiştir. Ancak hastalığın şiddet skoru ile serum zonulin ve LPS seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Çalışma sonucunda vitiligo hastalarında melanositlere karşı gelişen otoimmün atağın tetiklenmesinde intestinal disbiyoz ve intestinal permeabilite artışının rolü olabileceği anlaşılmıştır (143).

2018 yılında yapılan bir çalışmada atopik dermatit hastalarında serum zonulin seviyeleri ve lezyonlu deri biyopsi örneklerinde zonulin ekspresyonu araştırılmıştır. Hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla serum zonulin seviyelerinin anlamlı şekilde yüksek olduğu ve lezyonlu deri biyopsi örneklerinde zonulin ekspresyonunun anlamlı şekilde artmış olduğu saptanmış ve bu parametrelerin hastalığın şiddetiyle pozitif korelasyon gösterdiği anlaşılmıştır (144).

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada ise akne rozase hastalığının patogenezinde intestinal permeabilite artışının rolü araştırılmış ve serum zonulin seviyeleri incelenmiştir. Hastaların serum zonulin seviyeleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek saptanmış ve akne rozase patogenezinde intestinal permeabilite artışının rolü olabileceği kanısına varılmıştır (145).

Çölyak hastalığı ile yakından ilişkili olan dermatitis herpetiformis’de intestinal permeabilite artışı araştırılmış ve deri biyopsisi ile dermatitis herpetiformis tanısı konmuş olan hastaların intestinal permeabilite artışını yakından gösteren laktuloz/mannitol test sonuçları ve

serum zonulin seviyeleri incelenmiş ve eş zamanlı olarak intestinal biyopsi işlemi uygulanmış ve Marsh skorlaması ile intestinal tutulumun şiddeti değerlendirilmiştir. Hastaların laktuloz/mannitol test sonuçları ve serum zonulin seviyeleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuş ve intestinal biyopsi materyallerinde hasar bulgusu olmasa dahi intestinal permeabilitenin artmış olduğu görüşüne varılmıştır (146).

Ülkemizde yapılan güncel bir çalışmada AA patogenezinde intestinal permeabilite artışının rolü araştırılmış ve serum zonulin seviyeleri incelenmiştir. Ancak AA hastalarının serum zonulin seviyeleri sağlıklı kontroller ile anlamlı fark göstermemiş ve hastalığın şiddeti ile serum zonulin seviyesi arasında ilişki saptanamamıştır. Sonuç olarak AA patogenezinde intestinal permeabilite artışı ve zonulin ilişkisinin majör bir rolü olmayabileceği kanısına varılmıştır (147). Bizim çalışmamızda ise kontrol grubunda hasta grubuna kıyasla ortanca zonulin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek değerler olduğu görülmüştür. Şiddetli gruptaki hastaların ortanca serum zonulin düzeyleri, hafif şiddetli ve orta şiddetli gruba göre daha yüksek olarak saptanmıştır.

İntestinal bariyer bütünlüğünün devamından sorumlu olan TJ'ler 4 ana integral transmembran protein içerirler. Bunlar claudin, occludin, jonksiyonel adhezyon molekülü (JAM) ve trisellülin'dir. TJ yapısındaki transmembran proteinleri arasında en önemlisi claudindir ve epitelyal bariyerin sıklığını belirler ve epitelyal hücrelerin polarizasyonuna katkıda bulunur. Claudin protein ailesinde insanlarda şimdiye kadar 24 çeşit tanımlanmıştır. Bunlardan claudin-3 gastrointestinal epitelde belirgin bir şekilde eksprese edilmektedir. Claudin-3'ün ilk olarak fare bağırsağında jejunum, ileum ve kolonda belirgin bir şekilde eksprese edildiği keşfedilmiştir. Sonrasında insan bağırsağında yapılan çalışmalarda da ince bağırsak ve kalın bağırsakta enterositler arasındaki TJ'larda belirgin claudin-3 ekspresyonuna rastlanmıştır. Daha sonra ise intestinal bariyer bütünlüğünü bozan intestinal hastalıkların claudin-3 ekspresyon ve lokalizasyonunda bozulmaya yol açtığı tespit edilmiştir (105,106).

Çölyak hastalığında, ince bağırsak mukozası kontrolsüz otoimmün hasara maruz kalmakta ve besin öğelerinin emiliminden sorumlu villüs yapılarında atrofi ve mukozal kriplerde hiperplazi gelişmektedir. Erken dönem çölyak hastalarında ince bağırsakta villöz atrofi gelişmeden önce abdominal semptomlar başlamaktadır. Epitelyal TJ bütünlüğünün ileri evre hastalıkta bozulduğu net bir şekilde bilirse de normal mukozal morfolojiye sahip erken dönem çölyak hastalarında epitelyal TJ bütünlüğünün durumu kesin olarak bilinmemektedir. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada erken evre çölyak hastaları, ileri evre çölyak hastaları ve sağlıklı kontrollerin ince bağırsak mukozal biyopsi materyalleri incelenerek epitelyal TJ

bütünlüğü ve occludin, claudin-3, zonula occludens-1 ve E-Cadherin proteinlerinin ekspresyonları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda normal mukozal villöz morfolojiye sahip erken evre çölyak hastalarında claudin-3 dahil TJ proteinlerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı biçimde azalmış ekspresyonuna rastlanmış ve ekspresyon ile serum otoantikör düzeyleri ve klinik semptomların şiddeti arasında negatif korelasyon ortaya konmuştur. Böylelikle çölyak hastalarında erken evrede dahi mukozal epitelyal bütünlüğün bozulduğu saptanmıştır (148).

İntestinal permeabilite artışı ve claudin-3 ilişkisi dermatolojik hastalıklarda da çalışma konusu olmuştur. Sikora ve ark. yaptıkları çalışmalarda intestinal disbiyoz ve ilişkili intestinal permeabilite artışının psoriasis patogenezindeki olası rolünü araştırmak amacıyla psoriasis hastalarının serum claudin-3 düzeylerini sağlıklı kontroller ile karşılaştırmıştır. Çalışmaların sonucunda psoriasis hastalarının serum claudin-3 düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuş ve hastalığın şiddeti ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca uygulanan tedavi sonucunda PASİ90 yanıtı elde edilen hastalarda serum claudin-3 konsantrasyonunda düşme eğilimi gözlenmiştir. Bunun sonucunda intestinal bariyer bütünlüğünün psoriastiste yeni bir tedavi hedefi olabileceği görüşüne varılmıştır (110,115).

Güncel bir çalışmada AA patogenezinde intestinal disbiyoz sonucu gelişen claudin-3 gibi intestinal mukozal TJ proteinlerinin kaybı ve takiben ortaya çıkan intestinal bariyer bütünlük bozulmasının organ spesifik otoimmünitenin tetiklenmesindeki rolü araştırılmıştır. AA hastaların serum claudin-3 seviyeleri sağlıklı kontroller ile kıyaslanmıştır. Çalışmanın sonucunda AA hastalarının serum claudin-3 seviyelerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı bir yükseklik saptanmış ve hastalığın şiddeti ile serum claudin-3 konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon izlenmiştir (111). Bizim çalışmamızda kontrol grubunda ortanca claudin-3 düzeyi hasta grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Şiddetli gruptaki hastaların ortanca serum claudin-3 düzeyleri, hafif şiddetli ve orta şiddetli gruba göre daha yüksek olarak saptanmıştır.

Yağ asidi bağlayıcı proteinler (FABP), yağ asitlerinin apikal membrandan endoplazmik retikuluma taşınmasında görevli düşük moleküler ağırlıklı suda çözünür sitozolik proteinlerdir. İntestinal enterositlerde temelde 3 tip FABP bulunur. İntestinal-FABP, karaciğer-FABP (L-FABP) ve ileal safra asidi bağlayıcı protein (I-FABP). I-FABP özellikle intestinal villusların uç kısmındaki matür enterositlerde lokalizedir ki burası mukozal hasardan ilk etkilenen bölge olma özelliği taşır. Mukozal doku hasarına sekonder enterosit hücre bütünlüğü bozulur bozulmaz I-FABP hızla kana salınır. Böylelikle serum veya idrar I-FABP düzeylerinin ELİSA

yöntemiyle ölçülmesi intestinal hücre hasarının erken dönemde saptanmasını sağlar. Yükselmiş serum ve idrar I-FABP düzeyleri pek çok intestinal ve inflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmiştir (8,9,102,104).

Adriaanse ve ark. çölyak hastalığında görülen intestinal mukozal hasarı plazma I-FABP düzeyleri ile değerlendirmeyi amaçlamış ve histopatolojik inceleme ile tanı almış çölyak hastalarının glutenden fakir diyet öncesi ve sonrasında plazma I-FABP düzeyleri sağlıklı kontroller ile kıyaslamış ve çölyak hastalarının plazma I-FABP düzeyleri ile anti-doku transglutaminaz IgA düzeyleri ve histolojik olarak villöz atrofi düzeyini gösteren Marsh skorları ile korele etmiştir. Çalışma sonucunda çölyak hastalarının plazma I-FABP düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve bu düzeyler hastaların anti-doku transglutaminaz IgA antikor düzeyleri ve marsh skorları ile anlamlı derecede pozitif korelasyon göstermiştir. Glutenden fakir diyet sonrasında hastaların serum antikor düzeyleri ve marsh skorları normal değerlere inmiş ancak plazma I-FABP düzeyleri glutenden fakir diyet sonrası belirgin bir şekilde düşmesine rağmen sağlıklı kontrollere göre daha yüksek kalmaya devam etmiştir (112).

Sikora ve ark. 2018 ve 2019 yıllarında yaptıkları çalışmalarda sistemik inflamatuvar bir hastalık olan psoriasis patogenezinde intestinal disbiyoz ve intestinal bariyer bütünlüğünün rolünü araştırmayı amaçlamış ve psoriasis hastalarının serum I-FABP düzeylerini sağlıklı kontroller ile kıyaslamıştır. Elde edilen sonuçlarda her iki çalışmada serum I-FABP düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve serum I-FABP düzeyleri ile hastalığın şiddeti arasında ve sistemik inflamasyonu yansıtan nötrofil/lenfosit oranı arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. Böylelikle ilerleyen yıllarda intestinal bariyerin psoriasis tedavisinde yeni bir hedef olabileceği öne sürülmüştür (115,149).

Güncel bir çalışmada otoimmün bir hastalık olan vitiligo da intestinal bariyer bütünlüğü bozulmasının otoimmüniteyi tetiklemedeki rolünü araştırmak amacıyla vitiligo hastaların serum I-FABP düzeyleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmıştır. Vitiligo hastalarının serum I-FABP düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek saptanmış ancak hastalığın şiddeti ile serum düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki izlenmemiştir. Vitiligo patogenezinde intestinal bariyer bütünlüğünü değerlendirmek amacıyla daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (150).

Diamin oksidaz (DAO), primer aminlerin oksidatif deaminasyonundan sorumlu bir amin oksidazdır. İnsanlarda çeşitli dokularda bulunabilmekle birlikte tipik olarak ince bağırsak

villöz uç matür enterositlerinin sitoplazmalarında bulunur ve yüksek aktiviteye sahip olan bu enzimin serum düzeyi ince bağırsak mukozasının bütünlüğünü ve matüritesini yansıtır. Fizyolojik bazal plazma düzeyleri oldukça düşük olan bu enzim ince bağırsak bütünlüğünün bozulmasına sekonder hızla dolaşıma geçmekte ve serum DAO düzeyleri artmaktadır. Serumda DAO aktivitesi genel olarak stabil olduğu için enzimin plazma konsantrasyonu intestinal mukozal bütünlüğün bir göstergesi olarak kullanılabilir (8,116,117).

D-laktat, gastrointestinal traktusta yer alan fermentasyon yapan bakteriler tarafından üretilen bir metabolik son üründür ve intestinal bariyer bütünlüğünün bozulup intestinal permeabilitenin arttığı durumlarda bakterilerin, onların yapısal komponentlerinin ve metabolik ürünlerinin lümeninden submukozaya artmış miktarda geçişine sekonder olarak kanda d-laktat düzeyleri yükselmektedir. Sağlıklı insanlarda ise bazal d-laktat seviyeleri oldukça düşüktür. Bu yüzden d-laktat son yıllarda bozulmuş intestinal bariyer fonksiyonunu göstermede bir marker olarak kullanılmaya başlanmıştır (8,9,102).

Song ve ark.'nın inflamatuvar bağırsak hastalığı hastalarında serum DAO ve d-laktat düzeylerinin klinik önemini araştırdıkları çalışmada hastaların serum DAO ve d-laktat düzeyleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmış ve hastaların serum DAO ve d-laktat düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı biçimde yüksek saptanmış ve ayrıca serum DAO ve d-laktat düzeylerinin hastalık şiddeti ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği ve tedavi sonrasında serum DAO ve d-laktat düzeylerinde anlamlı düşüş görüldüğü aktarılmıştır (117).

Cai ve ark. ise crohn hastalığı hastalarında serum DAO ve d-laktat düzeylerinin klinik önemini araştırmış ve hastaların serum DAO ve d-laktat düzeyleri ile sağlıklı kontrolleri karşılaştırmıştır. Elde edilen sonuçlarda crohn hastalarında serum DAO ve d-laktat düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı biçimde yüksek saptanmış ve serum DAO ve d-laktat düzeyleri hastalık şiddeti ile anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir. Sonuç olarak DAO ve d-laktat'ın crohn hastalığı iyi bir prognostik değeri olduğu vurgulanmıştır (118).

Güncel bir çalışmada organ spesifik otoimmün bir hastalık olan Graves hastalığında intestinal mikrobiyota ve intestinal bariyer bütünlüğü ile otoimmünitenin tetiklenmesi arasındaki ilişki araştırılmaya çalışılmıştır. Graves hastalarında intestinal bariyer bütünlüğünü yansıtan serum bakteriyel lipopolisakkarit (LPS), I-FABP, zonulin, d-laktat ve DAO düzeyleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlarda graves hastalarında serum LPS, I-FABP, zonulin ve d-laktat düzeyleri anlamlı şekilde yüksek saptanmış ancak DAO düzeylerinde iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca d-laktat, I-FABP ve LPS

düzeyle hastaların serbest T4 değeri ile pozitif ; TSH değeri ile de anlamlı şekilde negatif korelasyon göstermiştir. Çalışma neticesinde artmış intestinal permeabilite ve artmış bakteriyel translokasyonun graves hastalığı patogeneğinde önemli bir role sahip olduğu aktarılmıştır (151).

Son yıllarda AA'da T hücre aracılı otoimmünitenin kıl folikülünde hedef aldığı antijenik yapılar dikkatle araştırılmaktadır. Kıl folikülünde en muhtemel hedef antijenlerden biri trikohiyalin proteindir. Trikohiyalin proteini, çölyak hastalığında otoimmüniteyi tetikleyen alfa-gliadin proteini ile benzer epitoplara sahiptir. Bu benzerlik nedeniyle gliadine karşı gelişen otoantikorların trikohiyalin proteinine karşı da immün reaksiyon verebileceği iddia edilmiştir. Bu ilişki son yıllarda AA hastalığında patogeneğden sorumlu otoreaktif T hücrelerinin intestinal permeabilite artışı sonucu gelişen immün aktivasyona bağlı intestinal mukozal lenfoid dokular kökenli mi yoksa periferik lenfoid dokular kökenli mi sorusunu gündeme getirmiştir (7).

Ayrıca ince bağırsakta meydana gelen bakteriyel aşırı gelişimin intestinal mikrobiyomu bozarak zonulin sekresyonunu uyarması ve bunun sonucunda intestinal permeabilitenin artışı ve intestinal bariyer bütünlüğünün bozulması AA patogeneğinde intestinal mikrobiyomun araştırılması gerekliliğini akla getirmiştir (122). Nair ve ark. intestinal mikrobiyom üzerine yaptıkları çalışmalarda AA'nın indüklenbilmesi için intestinal mikrobiyomda *Lactobacillus* cinsi bakterilerin varlığının gerekliliğini ortaya koymuşlardır (152). Rekürren *Clostridium Difficile* enfeksiyonu nedeniyle fekal mikrobiyota transplantasyonu yapılan eş zamanlı dirençli AA tanısı da olan iki hastada, fekal mikrobiyota transplantasyonu sonrası AA olan bölgelerde yeni saç çıkışları olduğu ve AA şiddetinde belirgin azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (27). Bu çalışmaların sonucunda intestinal mikrobiyom disbiyozu nedeniyle gelişen intestinal bariyer bütünlüğü bozulmasının AA'yı indükleyebileceği düşünülmüştür (7).

AA ile çölyak hastalığının birlikte görülebilmesi, her iki hastalığın patogeneğinde de HLA-DRA, HLA-DQA1, CTLA-4 gibi ortak genlerin olması, çölyak hastalığıyla birlikte AA'sı olan hastalarda glutensiz diyet verilmesini takiben bazı hastalarda AA lezyonlarının iyileşmesi ve bir çalışmada AA hastalarında %18 oranında anti-gliadin antikorlara rastlanması AA ile çölyak hastalığı arasındaki olası ilişkiyi göstermektedir (153-155). Çölyak hastalığında, hastalığın karakteristik histopatolojik ve klinik özellikleri gelişmeden önce zonulin sekresyon artışına bağlı olarak intestinal permeabilite artışının ve intestinal bariyer bütünlüğünde bozulmanın görülmesi AA patogeneğinde de intestinal disbiyoz, intestinal permeabilite artışı ve intestinal bariyer bütünlüğünün rolünü düşündürmektedir.

Çalışmamızda AA'da anagen kıl folikülüne karşı otoimmün hasarın tetiklenmesinde intestinal disbiyoz, intestinal permeabilite artışı ve intestinal bariyer bütünlüğü bozulmasının rolünü araştırmak amacıyla 45 AA hastası ve yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş 40 sağlıklı kontrolün serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeylerini ölçerek değerlendirdik. Hipotezimizin aksine 45 AA hastasının ortanca serum claudin-3, DAO ve zonulin düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük çıktı, serum d-laktat ve İ-FABP düzeyleri ise iki grup arasında anlamlı farklılık göstermedi. Erkek ve kadın cinsiyet arasında intestinal bariyer bütünlüğü düzeyini yansıtan parametreler açısından anlamlı farklılık gözlenmedi. Hastalık şiddeti ile serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ancak şiddetli hastalığa sahip olan grupta parametrelerin tamamı hafif şiddetli ve orta şiddetli gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmayacak şekilde daha yüksek izlendi. Hasta grubunda, serum claudin-3, d-laktat, İ-FABP ve Zonulin düzeyleri ile yaş değişkeni arasında; serum DAO ve İ-FABP düzeyleri ile hastalık süresi (ay) değişkeni arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Hasta grubunda serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri arasında pozitif yönlü mükemmel düzeyde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı.

Elde ettiğimiz sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde AA'da otoimmüitenin tetiklenmesinde intestinal permeabilite artışı ve intestinal bariyer bütünlüğü bozulmasının rolü olmadığı sonucu çıkabilir. Ancak Leech ve ark.'nın 2019 yılında yaptığı sistematik meta-analiz çalışmasında ifade edildiği üzere intestinal permeabilite artışı ile değişen derecelerde ilişkili yüzden fazla faktör tanımlanmış ve birden çok faktörün bir arada bulunmasının intestinal permeabiliteyi daha da artırdığı ifade edilmiştir. Çalışmamızda AA hastası grupta ve sağlıklı kontrol grubunda bu faktörlerin mevcut olma ihtimalini minimuma indirmek için hastalardan detaylı bir anamnez alınmış ve dışlama kriterlerinden herhangi biri olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmamızın ana kısıtlılıkları küçük bir örnekleme kapsamı, intestinal permeabiliteyi etkileyen yüzden fazla faktörü sadece hastadan kısıtlı sürede alınan anamnez ile dışlanmaya çalışılmasının mümkün olmayışı, çalışmadan dışlanma gerektiren hastalıkların bir kısmının hastalarda semptom oluşturmadığı halde var olması ve bu hastalıkların ve durumların tamamının dışlanması için laboratuvar tetkiklerine ve ek görüntüleme yöntemlerine başvurulmasının maliyet etkin olmayıp sağlık sistemini mali zarara uğratma ihtimalinin bulunmasıdır.

AA etiopatogenezinde intestinal bariyer bütünlüğünün rolünün daha etkin bir şekilde değerlendirilebilmesi için çalışma grubundaki toplam katılımcı sayısının ve AT ve AU gibi hastalığın şiddetli formlarına sahip hasta sayısının daha çok olduğu, intestinal permeabiliteyi etkileyen diğer bütün faktörleri etkin bir şekilde dışlayabilen daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## 6. SONUÇ

- Bu çalışmada daha önce literatürde çelişkili sonuçları bulunan intestinal disbiyoz, intestinal permeabilite artışı ve intestinal mukozal bariyer fonksiyonunun AA'da anagen kıl folikülüne karşı otoimmün hasarın tetiklenmesindeki rolü araştırılmıştır.
- Alopesi areata hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık izlenmedi (sırası ile;  $p=0,268$ ,  $p=0,898$ ).
- AA grubunda hastalık süresi 1 ile 60 ay arasında değişirken ortalama  $12,6 \pm 14,8$ , ortanca ise 8 aydı. Hastaların 9'unda (%20) ailede AA öyküsü mevcuttu. Bu hastaların 8'i (%17,7) hafif (S1) şiddetli grupta, 1'i (%2,3) şiddetli (S4) gruptaydı.
- Hastaların SALT skorları 2 ile 88 arasında değişmekteyken ortalama  $18,0 \pm 21,8$ , ortanca ise 10'du. Hastaların 33'ü (%73,3) hafif (S1) şiddetli grupta, 7'si (%15,6) orta (S2) şiddetli grupta, 5'i (%11,1) şiddetli (S3-S4) gruptaydı. Çalışmamızda AT ve AU hasta bulunmamaktaydı.
- Kontrol grubunda ortanca claudin-3, DAO ve zonulin düzeyleri AA hasta grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti (sırası ile;  $p=0,037$ ,  $p=0,034$ ,  $p=0,010$ ).
- Her iki grupta ortanca serum d-laktat ve İ-FABP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırası ile;  $p=0,247$ ,  $p=0,149$ ).
- Hasta grubunda, yaş 33'ün üstü olan grubun ortanca serum d-laktat ve zonulin düzeyi, 33 ve altı olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı (sırası ile;  $p=0,031$ ,  $p=0,048$ ).
- Hasta grubunda, erkek cinsiyet ve kadın cinsiyet grupları arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- Hasta grubu, hastalık şiddetine göre hafif şiddetli, orta şiddetli ve şiddetli hastalık olmak üzere üç gruba ayrıldı ve her üç grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- Şiddetli hastalık grubundaki hastaların ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri, hafif şiddetli ve orta şiddetli gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmayacak biçimde daha yüksek saptandı.
- Hastalık süresi 8 ay ve altı olan grubun ortanca serum İ-FABP düzeyi, hastalık süresi 8 ayın üstü olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p=0,025$ ).
- Hasta grubunda AA açısından aile öyküsü olan grup ile aile öyküsü olmayan grup arasında ortanca serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

- Hasta grubunda, serum claudin-3, d-laktat, İ-FABP ve Zonulin düzeyleri ile yaş değişkeni arasında; serum DAO ve İ-FABP düzeyleri ile hastalık süresi (ay) değişkeni arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( sırası ile **p=0,025**, **p=0,005**, **p=0,017**, **p=0,013**, **p=0,036**, **p=0,032**)
- Hasta grubunda serum claudin-3, DAO, d-laktat, İ-FABP ve zonulin düzeyleri arasında **pozitif yönlü mükemmel düzeyde** istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (**p=0,001**).
- AA grubunu saptamada claudin-3 için **%51,11 sensitivite**, **%82,50 spesifite** ile **≤8,1**; DAO için **%57,78 sensitivite**, **%77,50 spesifite** ile **≤ 65,48**; d-laktat için **%62,22 sensitivite**, **%67,50 spesifite** ile **≤ 2,75**; İ-FABP için **%53,33 sensitivite**, **%72,50 spesifite** ile **≤ 14,09**; zonulin için **%57,78 sensitivite**, **%87,50 spesifite** ile **≤ 10,15** olarak saptandı.
- AA etiyopatogenezinde intestinal bariyer bütünlüğünün rolünün daha etkin bir şekilde değerlendirilebilmesi için çalışma grubundaki toplam katılımcı sayısının ve AT ve AU gibi hastalığın şiddetli formlarına sahip hasta sayısının daha çok olduğu, intestinal permeabilityi etkileyen diğer bütün faktörleri etkin bir şekilde dışlayabilen daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Zhou C, Li X, Wang C, Zhang J. Alopecia Areata: an Update on Etiopathogenesis, Diagnosis, and Management. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2021;61(3):403-423.
2. Mirzoyev SA, Schrum AG, Davis MDP, Torgerson RR. Lifetime incidence risk of Alopecia Areata estimated at 2.1 percent by Rochester Epidemiology Project, 1990–2009. *J Invest Dermatol.* 2014;134(4):1141-1142.
3. Rajabi F, Drake LA, Senna MM, Rezaei N. Alopecia areata: a review of disease pathogenesis. *Br J Dermatol.* 2018;179(5):1033-1048.
4. Trüeb RM, Dias MFRG. Alopecia Areata: a Comprehensive Review of Pathogenesis and Management. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018;54(1):68-87.
5. Lintzeri DA, Constantinou A, Hillmann K, Ghoreschi K, Vogt A, Blume-Peytavi U. Alopecia areata – Current understanding and management. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges.* 2022;20(1):59-90.
6. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo XM. Leaky Gut As a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2017;8(MAY):1-10.
7. Borde A, Åstrand A. Alopecia areata and the gut—the link opens up for novel therapeutic interventions. *Expert Opin Ther Targets.* 2018;22(6):503-511.
8. Linsalata M, Riezzo G, Clemente C, D’Attoma B, Russo F. Noninvasive Biomarkers of Gut Barrier Function in Patients Suffering from Diarrhea Predominant-IBS: An Update. *Dis Markers.* 2020;2020:e2886268.
9. Derikx JP, Luyer MD, Heineman E, Buurman WA. Non-invasive markers of gut wall integrity in health and disease. *World J Gastroenterol WJG.* 2010;16(42):5272-5279.
10. Sperling LC, Sinclair RD, Shabrawi-Caelen L El. Alopecias. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Schaffer J V, editors. *Dermatology.* 4th ed. Elsevier; 2017. p. 1171–4.
11. Callander J, Yesudian PD. Nosological Nightmare and Etiological Enigma: A History of Alopecia Areata. *Int J Trichology.* 2018;10(3):140.
12. Pratt CH, King LE, Messenger AG, Christiano AM, Sundberg JP. Alopecia areata. *Nat Rev Dis Primer.* 2017;3(1):1-17.
13. Villasante Fricke AC, Miteva M. Epidemiology and burden of alopecia areata: a systematic review. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2015;8:397-403.
14. Lyakhovitsky A, Aronovich A, Gilboa S, Baum S, Barzilai A. Alopecia areata: a long-term follow-up study of 104 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019;33(8):1602-1609.
15. Kavak A, Yeşildal N, Parlak A, et al. Alopecia areata in Turkey: demographic and clinical features. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008;22(8):977-981.

16. Strazzulla LC, Wang EHC, Avila L, et al. Alopecia areata: Disease characteristics, clinical evaluation, and new perspectives on pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78(1):1-12.
17. Biran R, Zlotogorski A, Ramot Y. The genetics of alopecia areata: New approaches, new findings, new treatments. *J Dermatol Sci*. 2015;78(1):11-20.
18. Alzolibani AA. Epidemiologic and genetic characteristics of alopecia areata (part 1). *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2011;20(4):191-198.
19. Megiorni F, Pizzuti A, Mora B, et al. Genetic association of HLA-DQB1 and HLA-DRB1 polymorphisms with alopecia areata in the Italian population. *Br J Dermatol*. 2011;165(4):823-827.
20. Islam N, Leung PSC, Huntley AC, Eric Gershwin M. The autoimmune basis of alopecia areata: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2015;14(2):81-89.
21. Xing L, Dai Z, Jabbari A, et al. Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition. *Nat Med*. 2014;20(9):1043-1049.
22. Richardson CT, Hayden MS, Gilmore ES, Poligone B. Evaluation of the Relationship between Alopecia Areata and Viral Antigen Exposure. *Am J Clin Dermatol*. 2018;19(1):119-126.
23. Huang KP, Mullangi S, Guo Y, Qureshi AA. Autoimmune, Atopic, and Mental Health Comorbid Conditions Associated With Alopecia Areata in the United States. *JAMA Dermatol*. 2013;149(7):789-794.
24. Aksu Cerman A, Sarikaya Solak S, Kivanc Altunay I. Vitamin D deficiency in alopecia areata. *Br J Dermatol*. 2014;170(6):1299-1304.
25. Lerner A, Matthias T. Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2015;14(6):479-489.
26. Borde A, Åstrand A. Alopecia areata and the gut—the link opens up for novel therapeutic interventions. *Expert Opin Ther Targets*. 2018;22(6):503-511.
27. Rebello D, Wang E, Yen E, Lio PA, Kelly CR. Hair Growth in Two Alopecia Patients after Fecal Microbiota Transplant. *ACG Case Rep J*. 2017;4:e107.
28. Wang EHC, Yu M, Breitkopf T, et al. Identification of Autoantigen Epitopes in Alopecia Areata. *J Invest Dermatol*. 2016;136(8):1617-1626.
29. Liu LY, King BA, Craiglow BG. Alopecia areata is associated with impaired health-related quality of life: A survey of affected adults and children and their families. *J Am Acad Dermatol*. 2018;79(3):556-558.e1.
30. Kutty-Pachecka M. Psychological and psychopathological factors in alopecia areata. *Psychiatr Pol*. 2015;49(5):955-964.
31. Chu SY, Chen YJ, Tseng WC, et al. Comorbidity profiles among patients with alopecia areata: The importance of onset age, a nationwide population-based study. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(5):949-956.

32. Kang JH, Lin HC, Kao S, Tsai MC, Chung SD. Alopecia Areata Increases the Risk of Stroke: a 3-year Follow-Up Study. *Sci Rep.* 2015;5(1):11718.
33. Finner AM. Alopecia areata: Clinical presentation, diagnosis, and unusual cases. *Dermatol Ther.* 2011;24(3):348-354.
34. Lew BL, Shin MK, Sim WY. Acute diffuse and total alopecia: A new subtype of alopecia areata with a favorable prognosis. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60(1):85-93.
35. Chelidze K, Lipner SR. Nail changes in alopecia areata: an update and review. *Int J Dermatol.* 2018;57(7):776-783.
36. Tosti A, Whiting D, Iorizzo M, et al. The role of scalp dermoscopy in the diagnosis of alopecia areata incognita. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(1):64-67.
37. Waśkiel A, Rakowska A, Sikora M, Olszewska M, Rudnicka L. Trichoscopy of alopecia areata: An update. *J Dermatol.* 2018;45(6):692-700.
38. Guttikonda AS, Aruna C, Ramamurthy DVSB, Sridevi K, Alagappan SKL. Evaluation of Clinical Significance of Dermoscopy in Alopecia Areata. *Indian J Dermatol.* 2016;61(6):628-633.
39. Dy LC, Whiting DA. Histopathology of alopecia areata, acute and chronic: Why is it important to the clinician? *Dermatol Ther.* 2011;24(3):369-374.
40. Ahmed Z, Banik RL, Paul HK, Jaigirdar QH, Begum F, Chowdhury SA. Histopathological changes in different stages of alopecia areata. *Mymensingh Med. J.* 2010;19:100-5.
41. Peckham SJ, Sloan SB, Elston DM. Histologic features of alopecia areata other than peribulbar lymphocytic infiltrates. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(3):615-620.
42. Kulkarni S, Punia RS, Kundu R, Thami GP, Mohan H. Direct Immunofluorescence Pattern and Histopathological Staging in Alopecia Areata. *Int J Trichology.* 2014;6(4):164-167.
43. Tosti A, Bellavista S, Iorizzo M. Alopecia areata: A long term follow-up study of 191 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55(3):438-441.
44. Messenger AG, McKillop J, Farrant P, et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of alopecia areata 2012. *Br J Dermatol.* 2012;166(5):916-926.
45. Ucak, H., Cicek, D., Demir, B., Erden, I. and Ozturk, S. (2014), Prognostic factors that affect the response to topical treatment in patchy alopecia areata. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 28: 34-40.
46. Cho HH, Jo SJ, Paik SH, et al. Clinical Characteristics and Prognostic Factors in Early-Onset Alopecia Totalis and Alopecia Universalis. *J Korean Med Sci.* 2012;27(7):799-802.
47. Strazzulla LC, Wang EHC, Avila L, et al. Alopecia areata: An appraisal of new treatment approaches and overview of current therapies. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(1):15-24.

48. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update: Part II. Treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(2):191-202.
49. Shapiro J. Current Treatment of Alopecia Areata. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2013;16(1):S42-S44.
50. Tosti A, Piraccini BM, Pazzaglia M, Vincenzi C. Clobetasol propionate 0.05% under occlusion in the treatment of alopecia totalis/universalis. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49(1):96-98.
51. Tosti A, Iorizzo M, Botta GL, Milani M. Efficacy and safety of a new clobetasol propionate 0.05% foam in alopecia areata: a randomized, double-blind placebo-controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20(10):1243-1247.
52. Chu TW, AlJasser M, Alharbi A, Abahussein O, McElwee K, Shapiro J. Benefit of different concentrations of intralesional triamcinolone acetonide in alopecia areata: An intrasubject pilot study. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73(2):338-340.
53. Chang KH, Rohjirunsakool S, Goldberg LJ. Treatment of severe alopecia areata with intralesional steroid injections. *J Drugs Dermatol*. 2009;8(10):909-912.
54. Kuldeep C, Singhal H, Khare AK, Mittal A, Gupta LK, Garg A. Randomized Comparison of Topical Betamethasone Valerate Foam, Intralesional Triamcinolone Acetonide and Tacrolimus Ointment in Management of Localized Alopecia Areata. *Int J Trichology*. 2011;3(1):20-24.
55. Freire P c. b., Riera R, Martimbianco A l. c., Petri V, Atallah A n. Minoxidil for patchy alopecia areata: systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(9):1792-1799.
56. Sehgal VN, Verma P, Khurana A. Anthralin/dithranol in dermatology. *Int J Dermatol*. 2014;53(10):e449-e460.
57. Özdemir M, Balevi A. Bilateral Half-Head Comparison of 1% Anthralin Ointment in Children with Alopecia Areata. *Pediatr Dermatol*. 2017;34(2):128-132.
58. Wu SZ, Wang S, Ratnaparkhi R, Bergfeld WF. Treatment of pediatric alopecia areata with anthralin: A retrospective study of 37 patients. *Pediatr Dermatol*. 2018;35(6):817-820.
59. Simonetti O, Lucarini G, Bernardini ML, Simoncini C, Biagini G, Offidani A. Expression of vascular endothelial growth factor, apoptosis inhibitors (survivin and p16) and CCL27 in alopecia areata before and after diphencyprone treatment: an immunohistochemical study. *Br J Dermatol*. 2004;150(5):940-948.
60. Wasyłyszyn T, Kozłowski W, Zabielski SL. Changes in distribution pattern of CD8 lymphocytes in the scalp in alopecia areata during treatment with diphencyprone. *Arch Dermatol Res*. 2007;299(5):231-237.
61. Messenger AG, McKillop J, Farrant P, et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of alopecia areata 2012. *Br J Dermatol*. 2012;166(5):916-926.
62. Zerbinati N, Esposito C, D'Este E, Calligaro A, Valsecchi R. Topical Immunotherapy of Alopecia Areata: A Large Retrospective Study. *Dermatol Ther*. 2018;8(1):101-110.

63. Vila TO, Camacho Martinez FM. Bimatoprost in the Treatment of Eyelash Universalis Alopecia Areata. *Int J Trichology*. 2010;2(2):86-88.
64. Coronel-Pérez I, Rodríguez-Rey E, Camacho-Martínez F. Latanoprost in the treatment of eyelash alopecia in alopecia areata universalis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24(4):481-485.
65. Zaher H, Gawdat HI, Hegazy RA, Hassan M. Bimatoprost versus Mometasone Furoate in the Treatment of Scalp Alopecia Areata: A Pilot Study. *Dermatology*. 2015;230(4):308-313.
66. Rigopoulos D, Gregoriou S, Korfitis C, et al. Lack of response of alopecia areata to pimecrolimus cream. *Clin Exp Dermatol*. 2007;32(4):456-457.
67. Price VH, Willey A, Chen BK. Topical tacrolimus in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(1):138-139.
68. Luggen P, Hunziker T. High-dose intravenous corticosteroid pulse therapy in alopecia areata: Own experience compared with the literature. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges*. 2008;6(5):375-378.
69. Nakajima T, Inui S, Itami S. Pulse Corticosteroid Therapy for Alopecia Areata: Study of 139 Patients. *Dermatology*. 2007;215(4):320-324.
70. Açıkgöz G, Çalışkan E, Tunca M, Yeniay Y, Akar A. The effect of oral cyclosporine in the treatment of severe alopecia areata. *Cutan Ocul Toxicol*. 2014;33(3):247-252.
71. Lai VWY, Chen G, Gin D, Sinclair R. Cyclosporine for moderate-to-severe alopecia areata: A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of efficacy and safety. *J Am Acad Dermatol*. 2019;81(3):694-701.
72. Kim BJ, Uk min S, Park KY, et al. Combination therapy of cyclosporine and methylprednisolone on severe alopecia areata. *J Dermatol Treat*. 2008;19(4):216-220.
73. Joly P. The use of methotrexate alone or in combination with low doses of oral corticosteroids in the treatment of alopecia totalis or universalis. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55(4):632-636.
74. Phan K, Ramachandran V, Sebaratnam DF. Methotrexate for alopecia areata: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80(1):120-127.e2.
75. Rashidi T, Mahd AA. Treatment of persistent alopecia areata with sulfasalazine. *Int J Dermatol*. 2008;47(8):850-852.
76. Welsh O. Phototherapy for alopecia areata. *Clin Dermatol*. 2016;34(5):628-632.
77. Bayramgürler D, Demirsoy EO, Aktürk AŞ, Kiran R. Narrowband ultraviolet B phototherapy for alopecia areata. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2011;27(6):325-327.
78. Mohamed Z, Bhouri A, Jallouli A, Fazaa B, Kamoun M, Mokhtar I. Alopecia areata treatment with a phototoxic dose of UVA and topical 8-methoxypsoralen. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005;19(5):552-555.

79. Herz-Ruelas ME, Welsh O, Gomez-Flores M, Welsh E, Miranda-Maldonado I, Ocampo-Candiani J. Ultraviolet A-1 phototherapy as an alternative for resistant alopecia areata. *Int J Dermatol*. 2015;54(10):e445-e447.
80. Mackay-Wiggan J, Jabbari A, Nguyen N, et al. Oral ruxolitinib induces hair regrowth in patients with moderate-to-severe alopecia areata. *JCI Insight*. 1(15):e89790.
81. Craiglow BG, Tavares D, King BA. Topical Ruxolitinib for the Treatment of Alopecia Universalis. *JAMA Dermatol*. 2016;152(4):490-491.
82. Jabbari A, Dai Z, Xing L, et al. Reversal of Alopecia Areata Following Treatment With the JAK1/2 Inhibitor Baricitinib. *eBioMedicine*. 2015;2(4):351-355.
83. Olamiju B, Friedmann A, King B. Treatment of severe alopecia areata with baricitinib. *JAAD Case Rep*. 2019;5(10):892-894.
84. Kennedy Crispin M, Ko JM, Craiglow BG, et al. Safety and efficacy of the JAK inhibitor tofacitinib citrate in patients with alopecia areata. *JCI Insight*. 1(15):e89776.
85. Serdaroğlu S, Engin B, Çelik U, et al. Clinical experiences on alopecia areata treatment with tofacitinib: A study of 63 patients. *Dermatol Ther*. 2019;32(3):e12844.
86. Klein B, Treudler R, Simon JC. JAK-inhibitors in dermatology – small molecules, big impact? Overview of the mechanism of action, previous study results and potential adverse effects. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges*. 2022;20(1):19-24.
87. Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, Stange EF. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol WJG*. 2014;20(5):1165-1179.
88. Salvo Romero E, Alonso Cotoner C, Pardo Camacho C, Casado Bedmar M, Vicario M. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2015;107(11):686-696.
89. Okumura R, Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflamm Regen*. 2018;38(1):5.
90. Hansson GC. Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15(1):57-62.
91. Dupont A, Heinbockel L, Brandenburg K, Hornef MW. Antimicrobial peptides and the enteric mucus layer act in concert to protect the intestinal mucosa. *Gut Microbes*. 2014;5(6):761-765.
92. Di Tommaso N, Gasbarrini A, Ponziani FR. Intestinal Barrier in Human Health and Disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(23):12836.
93. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*. 2016;167(5):1339-1353.e21.

94. Lam YY, Ha CWY, Campbell CR, et al. Increased Gut Permeability and Microbiota Change Associate with Mesenteric Fat Inflammation and Metabolic Dysfunction in Diet-Induced Obese Mice. *PLOS ONE*. 2012;7(3):e34233.
95. Kong J, Zhang Z, Musch MW, et al. Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. 2008;294(1):G208-G216.
96. Chen C, Wang P, Su Q, Wang S, Wang F. Myosin Light Chain Kinase Mediates Intestinal Barrier Disruption following Burn Injury. *PLOS ONE*. 2012;7(4):e34946.
97. Chen P, Stärkel P, Turner JR, Ho SB, Schnabl B. Dysbiosis-induced intestinal inflammation activates tumor necrosis factor receptor I and mediates alcoholic liver disease in mice. *Hepatology*. 2015;61(3):883-894.
98. Gasbarrini A, Lauritano EC, Gabrielli M, et al. Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Diagnosis and Treatment. *Dig Dis*. 2007;25(3):237-240.
99. Fasano A. Zonulin and Its Regulation of Intestinal Barrier Function: The Biological Door to Inflammation, Autoimmunity, and Cancer. *Physiol Rev*. 2011;91(1):151-175.
100. Stewart AS, Pratt-Phillips S, Gonzalez LM. Alterations in Intestinal Permeability: The Role of the “Leaky Gut” in Health and Disease. *J Equine Vet Sci*. 2017;52:10-22.
101. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*. 2016;4(4):e1251384.
102. Grootjans J, Thuijls G, Verdam F, Derikx JP, Lenaerts K, Buurman WA. Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World J Gastrointest Surg*. 2010;2(3):61-69.
103. Camilleri M, Nadeau A, Lamsam J, et al. Understanding measurements of intestinal permeability in healthy humans with urine lactulose and mannitol excretion. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22(1):e15-e26.
104. Schoultz I, Keita ÅV. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. *Cells*. 2020;9(8):1909.
105. Lee SH. Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implication on Inflammatory Bowel Diseases. *Intest Res*. 2015;13(1):11-18.
106. Barmeyer C, Fromm M, Schulzke JD. Active and passive involvement of claudins in the pathophysiology of intestinal inflammatory diseases. *Pflüg Arch - Eur J Physiol*. 2017;469(1):15-26.
107. Assimakopoulos SF, Papageorgiou I, Charonis A. Enterocytes’ tight junctions: From molecules to diseases. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2011;2(6):123-137.
108. Goswami P, Das P, Verma AK, et al. Are alterations of tight junctions at molecular and ultrastructural level different in duodenal biopsies of patients with celiac disease and Crohn’s disease? *Virchows Arch*. 2014;465(5):521-530.

109. Thuijls G, Derikx JPM, Haan JJ de, et al. Urine-based Detection of Intestinal Tight Junction Loss. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(1):e14.
110. Sikora M, Chrabaszcz M, Waśkiel-Burnat A, Rakowska A, Olszewska M, Rudnicka L. Claudin-3 – a new intestinal integrity marker in patients with psoriasis: association with disease severity. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(10):1907-1912.
111. Rafik D, Younis I, Atef R, Eid H. Claudin-3 is a novel intestinal integrity marker in patients with alopecia areata: Correlation with the disease severity. *J Cosmet Dermatol*. 2023;22(4):1377-1381.
112. Adriaanse MPM, Tack GJ, Passos VL, et al. Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;37(4):482-490.
113. Sarikaya M, Ergül B, Doğan Z, Filik L, Can M, Arslan L. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) as a promising test for Crohn's disease: a preliminary study. *Clin Lab*. 2015;61(1-2):87-91.
114. Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Siwak E, Pogorzelska J, Prokopowicz D. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) as a possible biomarker of ileitis in patients with ulcerative colitis. *Regul Pept*. 2008;147(1):25-28.
115. Sikora M, Chrabaszcz M, Maciejewski C, et al. Intestinal barrier integrity in patients with plaque psoriasis. *J Dermatol*. 2018;45(12):1468-1470.
116. Wolvekamp MCJ, de Bruin RWF. Diamine Oxidase: An Overview of Historical, Biochemical and Functional Aspects. *Dig Dis*. 2008;12(1):2-14.
117. Song WB, Lv YH, Zhang ZS, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1, D-lactate and diamine oxidase in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol WJG*. 2009;15(31):3916-3919.
118. Cai J, Chen H, Weng M, Jiang S, Gao J. Diagnostic and Clinical Significance of Serum Levels of D-Lactate and Diamine Oxidase in Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2019;2019:e8536952.
119. Zhang R, Chen Y nan, Zhang J, Liu J. Elevated serum levels of diamine oxidase, D-lactate and lipopolysaccharides are associated with metabolic-associated fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2023;35(1):94-101.
120. Fasano A. Intestinal Permeability and Its Regulation by Zonulin: Diagnostic and Therapeutic Implications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(10):1096-1100.
121. Asleh R, Marsh S, Shilkrot M, et al. Genetically Determined Heterogeneity in Hemoglobin Scavenging and Susceptibility to Diabetic Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2003;92(11):1193-1200.
122. Asmar RE, Panigrahi P, Bamford P, et al. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*. 2002;123(5):1607-1615.
123. Lammers KM, Lu R, Brownley J, et al. Gliadin Induces an Increase in Intestinal Permeability and Zonulin Release by Binding to the Chemokine Receptor CXCR3. *Gastroenterology*. 2008;135(1):194-204.e3.

124. Fasano A. Surprises from celiac disease. *Sci Am.* 2009;301(2):54-61.
125. Carratù R, Secondulfo M, de Magistris L, et al. Altered Intestinal Permeability to Mannitol in Diabetes Mellitus Type I. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999;28(3):264.
126. Watts T, Berti I, Sapone A, et al. Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. *Proc Natl Acad Sci.* 2005;102(8):2916-2921.
127. Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, et al. Zonulin Upregulation Is Associated With Increased Gut Permeability in Subjects With Type 1 Diabetes and Their Relatives. *Diabetes.* 2006;55(5):1443-1449.
128. Herrera DJ, Morris K, Johnston C, Griffiths P. Automated assay for plasma D-lactate by enzymatic spectrophotometric analysis with sample blank correction. *Ann Clin Biochem.* 2008;45(2):177-183.
129. Shi H, Wu B, Wan J, Liu W, Su B. The role of serum intestinal fatty acid binding protein levels and D-lactate levels in the diagnosis of acute intestinal ischemia. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2015;39(3):373-378.
130. Bhor U, Pande S. Scoring systems in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2006;72:315.
131. You HR, Kim SJ. Factors Associated with Severity of Alopecia Areata. *Ann Dermatol.* 2017;29(5):565-570.
132. Guzmán-Sánchez DA, Villanueva-Quintero GD, Alfaro Alfaro N, McMichael A. A clinical study of alopecia areata in Mexico. *Int J Dermatol.* 2007;46(12):1308-1310.
133. Kyriakis K, Paltatzidou K, Kosma E, Sofouri E, Tadros A, Rachioti E. Alopecia areata prevalence by gender and age. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009;23(5):572-573.
134. Goh C, Finkel M, Christos P, Sinha A. Profile of 513 patients with alopecia areata: associations of disease subtypes with atopy, autoimmune disease and positive family history. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2006;20(9):1055-1060.
135. Sharma VK, Dawn G, Kumar B. Profile of Alopecia Areata in Northern India. *Int J Dermatol.* 1996;35(1):22-27.
136. Leech B, McIntyre E, Steel A, Sibbritt D. Risk factors associated with intestinal permeability in an adult population: A systematic review. *Int J Clin Pract.* 2019;73(10):e13385.
137. Leech B, Schloss J, Steel A. Association between increased intestinal permeability and disease: A systematic review. *Adv Integr Med.* 2019;6(1):23-34.
138. Nagy Szakál D, Györffy H, Arató A, et al. Mucosal expression of claudins 2, 3 and 4 in proximal and distal part of duodenum in children with coeliac disease. *Virchows Arch.* 2010;456(3):245-250.
139. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41(4):408-419.
140. Caviglia GP, Dughera F, Ribaldone DG, et al. Serum zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. *Minerva Med.* 2019;110(2):95-100.

141. Gerdes S, Osadtschy S, Buhles N, Mrowietz U. Zonulin may not be a marker of autoimmunity in patients with psoriasis. *Acta Derm Venereol.* 2012;92(2):171-172.
142. Richetta AG, Grassi S, Moliterni E, et al. Increased intestinal barrier permeability in patients with moderate to severe plaque-type psoriasis. *J Dermatol.* 2020;47(10):e366-e368.
143. Arslan S, Altunisik N, Turkmen D, Uremis MM, Sener S, Turkoz Y. Evaluation of plasma zonulin level and its relationship with inflammatory cytokines in patients with vitiligo. *J Cosmet Dermatol.*
144. Sheen YH, Jee HM, Kim DH, et al. Serum zonulin is associated with presence and severity of atopic dermatitis in children, independent of total IgE and eosinophil. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* 2018;48(8):1059-1062.
145. Yüksel M, Ülfer G. Measurement of the serum zonulin levels in patients with acne rosacea. *J Dermatol Treat.* 2022;33(1):389-392.
146. Smecuol E, Sugai E, Niveloni S, et al. Permeability, zonulin production, and enteropathy in dermatitis herpetiformis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3(4):335-341.
147. Hacinecipoglu F, Gönül M, Özdemir Ş, Demir ÖF. Is there a link between alopecia areata and gut? *J Cosmet Dermatol.* 2022;21(11):6049-6055.
148. Rauhavirta T, Lindfors K, Koskinen O, et al. Impaired epithelial integrity in the duodenal mucosa in early stages of celiac disease. *Transl Res.* 2014;164(3):223-231.
149. Sikora M, Stec A, Chrabaszcz M, et al. Intestinal Fatty Acid Binding Protein, a Biomarker of Intestinal Barrier, is Associated with Severity of Psoriasis. *J Clin Med.* 2019;8(7):1021.
150. Shaker OG, El-Tahlawi SM, Fawzy MA. Intestinal fatty acid bind protein as a biomarker for vitiligo. *J Egypt Women's Dermatol Soc.* 2024;21(1):52.
151. Zheng D, Liao H, Chen S, et al. Elevated Levels of Circulating Biomarkers Related to Leaky Gut Syndrome and Bacterial Translocation Are Associated With Graves' Disease. *Front Endocrinol.* 2021;12.
152. Nair L, Dai Z, Christiano AM. 649 Gut microbiota plays a role in the development of alopecia areata. *J Invest Dermatol.* 2017;137(5):S112.
153. Petukhova L, Duvic M, Hordinsky M, Norris D, Price V, Shimomura Y, et al. Genome-wide association study in alopecia areata implicates both innate and adaptive immunity. *Nature.* 2010;466(7302):113-7.
154. Kaplan L, Castelo-Soccio L. When your patient's parent asks: "My child's alopecia areata is not getting better. Should he or she get tested for celiac disease?" *Pediatr Dermatol.* 2018;35(4):535-8.
155. Hallaji Z, Akhyani M, Ehsani A, Noormohammadpour P, Gholamali F, Bagheri M, et al. Prevalence of antigliadin antibody in patients with alopecia areata: A case-control study. *Tehran Univ Med J.* 2011;68:738-42.

