

EGE ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA  
PROJE KESİN RAPORU  
EGE UNIVERSITY SCIENTIFIC  
RESEARCH PROJECT REPORT

**PROJE NO: 11/TIP/068**  
**VİTİLİGODA SÜPEROKSİT**  
**DİSMUTAZ 1 VE 2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**PROJE YÖNETİCİSİ**

Prof. Dr. Günseli Öztürk

**ARAŞTIRMACILAR**

Dr. Arzu Tuna

Uzm. Dr. Bengü Gerçeker Türk

Dr. Meltem Türkmen

Uzm. Dr. Emin Karaca

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Onay

Dr. Merve Saka Güvenç

Prof. Dr. Özgür Çoğulu

**Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar AD**

Faculty of Medicine

Department of Dermatology and Venereology

**Bornova-İZMİR**

**2012**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren ve tez çalışmamda desteklerini benden esirgemeyen, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Günseli ÖZTÜRK'e teşekkürü borç bilirim.

Asistanlığım süresince eğitimime büyük katkıları olan ve attığım her adımda desteklerini aldığım saygıdeğer hocalarım Sayın Prof. Dr. İdil ÜNAL'a, Sayın Prof. Dr. Sibel ALPER'e, Sayın Prof. Dr. Fezal ÖZDEMİR'e, Sayın Prof. Dr. Derya AYTİMUR'a, Sayın Prof. Dr. Tuğrul DERELİ'ye, Sayın Prof. Dr. Can CEYLAN'a, Sayın Doç. Dr. İlgen ERTAM'a ve Sayın Doç. Dr. Işıl KILINÇ KARAARSLAN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Uzm. Dr. Alican KAZANDI ve Uzm. Dr. Bengü GERÇEKER TÜRK'e teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde büyük katkıları olan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Özgür ÇOĞULU, Yard. Doç. Dr. Hüseyin ONAY, Uzm. Dr. Emin KARACA, Dr. Merve SAKA GÜVENÇ'e teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, klinik hemşireleri ve personeline teşekkür ederim.

Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Alt Komisyonuna projemize verdikleri destek nedeniyle teşekkür ederiz.

Dr. Arzu TUNA

## İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	40
4. BULGULAR .....	49
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ VE ÖZET .....	59
7. KAYNAKLAR.....	61

# 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Vitiligo, melanosit kaybı ile karakterize, süt beyazı renkte maküller Şeklinde görülen, kalıtsal veya edinsel olabilen bir hastalıktır.

Etiyopatogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik, emosyonel ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı, otoimmün, nöral ve ototoksik teorilerle açıklanmaya çalıŐılmaktadır. Bunlar arasında en çok kabl gören otoimmun teoridir. Etiyolojiyi açıklamaya yönelik, güncel araŐtırmaların çoğunu ise genetik çalışmalar oluŐurmaktadır. zerinde en fazla çalışılan genler, melanin sentezi, otoimmunitenin düzenlenmesi ve oksidatif strese verilen biyolojik yanıt süreçlerini belirleyen genlerdir. Çalışmalarda genel olarak Mendelian dışı kalıtım ve inkomplet penetrans paterni ile çok sayıda Şüpheli lokus ve genetik heterojeniteden bahsedilmektedir.

Vitiligoda oksidatif stresin rolünü açıklamaya çalışan çok sayıda çalışma mevcuttur. Bunların çoğu kan ve doku düzeyinde antioksidan enzim aktivitelerindeki deđiŐiklikleri belirlemeye yöneliktir ve sonuçlarında birbirleriyle çeliŐen veriler elde edilmiştir. Birçok çalışmada aktif ve stabil vitiligolu olgularda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin oksidatif strese adaptasyon olarak arttığı belirtilmektedir. Günümüze kadar vitiligoda bu enzimi kodlayan gen polimorfizmi üzerinde durulmamıŐtır.

Bu çalışmada, vitiligo tanılı 101 hastada ve kontrol grubu olarak 99 sağlıklı bireyde “süperoksit dismutaz (SOD) gen polimorfizmi” değerlendirilerek, hastalığın etiyopatogenezindeki rolünün araŐtırılması amaçlanmıŐtır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.VİTİLİGO

#### 2.1.1.TANIM

Vitiligo, deride melanosit kaybı sonucu ortaya çıkan keskin sınırlı, süt beyazı maküllerle karakterize, nedeni tam olarak bilinmeyen ve tüm ırkları etkileyebilen bir hastalıktır. Asemptomatik seyretmesine, mortalite ve morbidite yaratmamasına rağmen ciddi kozmetik ve psiko-sosyal sorunlara yol aabilmektedir. Gneğe maruz kalan alanlarda ve deri rengi koyu olan kiğilerde daha sık gözlenmektedir (1).

#### 2.1.2.TARİHE

Vitiligo kelimesinin ortaya cıkığı ile ilgili en eski belgeler Ebers papirsleridir. Eksik, noksan anlamına gelen Latin kökenli *vitium* ya da baldırın beyaz yamaları anlamındaki *vitelius* sözcüklerinden köken aldığı dğnlmektedir (2).

#### 2.1.3 EPİDEMİYOLOJİ

Vitiligo epidemiyolojisine iliğkin yapılan alığmalarda hastalık insidansı % 0,14-8,8 gibi geniğ bir aralıkta saptanmığ olmakla birlikte ortalama insidansın % 1 civarında olduğu kabul edilmektedir. Dünyada en yüksek prevalans Hint toplumundadır (1). Her yağta görülebilmekle birlikte hastaların yaklağık yarısında, bağlangı yağı 20'nin altındadır. Tüm ırklarda görülebilen bu hastalıkta, yağ arttıka insidans azalır. Konjenital vakalar ok nadirdir (3). Otuz yağ altında kadınlarda erkeklere göre daha fazla görülür. Kadınlarda yağamın ilk dekadında pik yaparken erkeklerde daha ok 50 yağından sonra ortaya cıkar (1).

#### 2.1.4. GENETİK

Vitiligoda ailesel yatkınlık konusu ilk kez 1933'te bildirilmiğ ve daha sonra hastalığın altta yatan genetik nedenleri üzerine ok sayıda alığma yapılmığtır. Bu alığmaların sonucunda genetik faktörlerin vitiligonun geliğiminde önemli rolü olduğu

kanısı oluşmuştur. Ancak genel olarak vitiligo sadece otozomal dominant veya resesif olarak tanımlanan Mendelian paternde kalıtılmaz. Olguların çoğunluğunu aile öyküsü olmayan sporodik vakalar oluşturur. Araştırmalar inkomplet penetrans, heterojen ve poligenik kalıtım olduğunu göstermektedir (4).

Otoimmün hastalıklarla insan lökosit antijenleri (HLA) arasında ilişki bilinmektedir. Vitiligo ile HLA antijenleri arasında da benzer tarzda bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Bu konu ile ilgili çalışmalar toplumdan topluma değişkenlik göstermektedir (4).

Bağışıklık sisteminin kendinden olanı ve olmayanı ayırt edebilmesi için gerekli olan 'doku antijenleri'ni kodlayan gen bölgesi, Majör Doku Uyum Kompleksi (MHC) olarak adlandırılır. Bu bölge insan genomunda, 6. kromozomun kısa kolu (6p21.31) üzerinde yerleşmiş olup, yaklaşık olarak 4 mega bazlık (Mbp) bir yer kaplar. İlk olarak beyaz kan hücrelerinde gösterilen bu genler 'İnsan Lökosit Antijenleri' (Human Leucocyte Antigens); HLA bölgesi olarak da adlandırılır. Çok sayıda genin yer aldığı yaklaşık 4000 kilobaz (kb) büyüklüğündeki bu bölgede immün yanıtla ilgili tanımlanamamış bazı genler de vardır. HLA allellerinin tanımlanması, belirli hastalıklar ile özgün HLA antijenleri veya haplotipleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. HLA ile hastalık ilişkilerinin büyük çoğunluğunun etiyolojik yapısı bilinmemektedir. Her bir HLA antijeni kendisine özgün bir gen tarafından kontrol edilir. MHC genlerinin kalıtsal yolla iletimi Mendel yasalarına göre olur. Her ebeveynde iki haplotip olup bunlardan bir tanesi çocuğa iletilir. Bir HLA haplotipi tek bir kromozom üzerinde bulunan özgün allel serisidir. HLA tiplmesi bireyin fenotipini gösterir. Haplotiplerin saptanması için ailedeki bireylerin HLA tayininin yapılması gerekir. Bireyin iki haplotipi belirlendiği zaman genotipi de saptanmış olur.

Sınıf II MHC molekülleri antijen sunulmasında görevlidir. Antijen sunan hücreler yabancı antijenleri hücre içinde peptidlere parçalar ve MHC sınıf II molekülleri bu peptidleri bağlar. CD4 T lenfositler ise antijen sunan hücrenin yüzeyinde bulunan ve sınıf II molekülleri ile ilişkili olan antijeni tanırlar. CD4 T lenfositlerin yüzeyindeki TCR (T hücre reseptörleri) antijen-sınıf II protein kompleksini bağlar ve CD4 T hücresinden açığa çıkan sitokinler immün yanıtı tetikler. MHC gen bölgesinde 3.673.800 nükleotid bulunmaktadır. İnsanda MHC gen bölgesi 200'den fazla farklı gen içermekte ve 4 sınıfa ayrılmaktadır; bunlar sınıf I, sınıf II, sınıf III ve sınıf IV olarak tanımlanmaktadır. MHC gen bölgesi 4.464 farklı allel içermektedir. HLA'ların gen düzeyinde ifade edilmesini

sağlayan sınıf I ve sınıf II MHC gen bölgeleridir. Sınıf III ve sınıf IV gen bölgeleri bağışıklık sistemi fonksiyonları ile ilgili olsalar da HLA olarak isimlendirilmezler (5).

HLA lokuslarındaki MHC sınıf I ve II genomik bölgelerinin farklı etnik gruplardaki polimorfizmleri, vitiligo da dahil olmak üzere bir çok otoimmün kökeni olduğu düşünölen hastalıkta gösterilmiştir. Toplum bazlı vaka-kontrol olarak tasarlanan bu çalışmalarda değişken ve anlamlı bulunamayan sonuçlar da elde edilmiştir. Bunun nedeni olarak aynı etnik köken içinde dahi genetik homojenizasyonun sağlanamaması gösterilmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, HLA-A2, -A30,-A31, -B12, -B21, -B46, Bw60,-Cw4, -Cw6, -Cw7, DR1, DR4, DR6, DR7, DR53 ve DRw12 allelleri artmış sıklıkta saptanmıştır. Bunlar arasında HLA-A2, DR4, DR7 ve DQB1\*0303 en çok üzerinde durulanlardır (6,7).

Ölkemizden Taştan ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada; DRB1\*03, DRB1\*04, DRB1\*07 allellerinin vitiligo için Türk toplumunda önemli genetik belirleyiciler olduğu bildirilmiştir (4).

Vitiligo patogenezinde rol oynadığı düşünölen genlere ait elde edilen veriler genetik bilimi geliştikçe çeşitlenmiş ve farklılaşmıştır. Yapılan ilk çalışmalar ekspresyon analizleri ve biyolojik aday genler üzerine olmuştur.

Mikroarray teknikleri ile yapılan gen ekspresyon analizlerinde, vitiligodan sorumlu kabul edilen ilk gen günümüzde FBXO11 olarak tanımlanan, VIT1 geni olmuştur. Bu genin lezyonel alandaki melanositlerde aşırı düzeyde eksprese edildiği görölmüştür (8,9). Benzer şekilde Kingo ve ark.'ları tarafından 2006 yılında MYG1'in jeneralize vitiligolu hastaların melanositlerinde yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir (10). 2010 yılında Philips ve ark.'ları bu gendeki varyasyonun, genin ekspresyon düzeyini etkilediğini desteklemişlerdir (11).

Aday gen çalışmalarında üzerinde en fazla durulan genler aşağıda belirtilmektedir.

#### **2.1.4.a. TAP1 (Transporter associated with antigen processing protein-1) geni**

HLA lokusunda yer alan ve oldukça polimorfik olan MHC sınıf I ve II allelleri; vitiligo yanı sıra antijen sunumu ve işlenmesinde önemli role sahip olan düşük moleküler ağırlıklı polipeptit 2 ve 7 (LMP2 ve LMP7) ile taşıyıcı ilişkili antijen sunucu protein 1 ve 2 (TAP1 ve TAP2) genlerini de içermektedir. Bu genler aynı zamanda tip 1 diyabetes

mellitus, juvenil romatoid artrit, ankilozan spondilit, Çölyak hastalığı, Sjögren sendromu ve multiple skleroz ile de ilişkilendirilmiştir (7,12). Özellikle TAP1'in erken başlangıçlı vitiligo ile ilişkisi üzerinde durulmaktadır. TAP1, LMP2 ve LMP7; IFN- $\gamma$ 'nın indüklenebilir alt ünitesinin, ubikuitin aracılı sitoplazmik proteinlerin peptitlere ayrıştırıp endoplazmik retikuluma geçmesinde görev almaktadır.

#### **2.1.4.b. Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4) geni**

Aktif vitiligolu hastalarda otoreaktif T lenfositlerin gösterilmesiyle etiyopatogeneze hücrel immunitenin de rol oynadığı hipotezi ortaya atılmıştır. Hücrel immunité aracılı Graves hastalığı gibi bazı otoimmün hastalıklarda T hücrelerinin proliferasyonu ve apoptozisini kontrol eden CTLA-4 geninde exon 3'de, 106 bp'lik mikrosatellit polimorfizm saptanmıştır. İzole vitiligosu olan hastalarda bu gende polimorfizm saptanmazken vitiligonun yanısıra diğer otoimmün hastalıkların eşlik ettiği vakalarda bu polimorfizm anlamlı bulunmuştur (13,14,15,16).

#### **2.1.4.c. Anjiyotensin konverting enzim (ACE) geni**

Özellikle segmental vitiligonun etiyolojisinde üzerinde durulan nöral hipotezde bu genin etkilendiği varsayılmaktadır. Substance P başta olmak üzere derideki sinir uçlarından salınan nöropeptitler, inflamatuvar yanıtta kimyasal ve mekanik hasar oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. ACE; bradikini inaktive edip, substance P ve diğer nöropeptitlerin miktarını azaltarak kutanöz nörojenik inflamasyonda düzenleyici olmaktadır. Otoimmün hastalıklarda bu gende intron 16'da I/D polimorfizmi gösterilmiştir (17).

#### **2.1.4.d. Katalaz (CAT) geni**

Katalaz, hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü sağlayan enzim olup, hücreleri oldukça güçlü bir serbest radikal olan hidrojen peroksitin zararlı etkilerinden korur. Yapılan çalışmalarda vitiligolu hastalarda epidermiste azalmış katalaz aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Katalaz (CAT) geni; 11p13 üzerinde yer alır, 33 kb genomik DNA içeren, 13 ekson ve 1584 baz içermektedir. Vitiligoda genin exon 9 bölgesinde tek nükleotid polimorfizmi gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında T/C heterozigotesi C allelinden daha sık saptanmıştır. Bu durumun kantitatif olarak enzim aktivitesini etkilediği ve epidermiste hidrojen peroksit birikimine yol açtığı düşünülmektedir (7,12).



Genom düzeyindeki çalışmalarla özellikle jeneralize vitiligoda şüpheli kabul edilen lokuslar Tablo 1’de özetlenmiştir.

**Tablo 1. Jeneralize vitiligoda şüpheli bulunan lokuslar**

Kromozom	Gen	Protein	Fonksiyon
1p36.23	<i>RERE</i>	Atrofin benzeri protein 1	Apopitozisin düzenlenmesi
1p13.2	<i>PTPN22</i>	Lenfoid spesifik protein tirozin fosfotaz reseptörel olmayan tip 22	T hücre reseptör sinyalizasyon düzenlenmesi
2q33.2	<i>CTLA4<sup>b</sup></i>	Sitotoksik T lenfosit antijen 4	T hücre inhibisyonu
3p13	<i>FOXP1</i>	Forkhead box P1	Lenfoid hücre farklılaşmasının düzenlenmesi
3q28	<i>LPP</i>	LIM domain içeren translokasyon partneri	Bilinmiyor
5q22.1	<i>TSLP</i>	Timik stromal lenfoprotein	T hücre ve dendritik hücre matürasyonunun düzenlenmesi
6p21.3	<i>MHC smf I</i> <i>MHC smf II</i> <i>MHC smf III</i>	HLA alfa zincir	Peptid yapıda antijen sunumu
6q27	<i>CCR6</i>	C-C kemokin reseptör tip 6	B ve Th17 hücre farklılaşmasının düzenlenmesi
10p15.1	<i>IL2RA</i>	İnterlökin 2 reseptör alfa zinciri	IL2 ye lenfosit yanıtının düzenlenmesi
11q14.3	<i>TYR</i>	Tirozinaz	Melanin sentezindeki anahtar enzim
14q12	<i>GZMB</i>	Granzim B	Sitotoksik ve NK hücrelerinin apoptozisinin düzenlenmesi
17p13.2	<i>NLRP1</i>	NACHT, LRR ve PYD domain içeren protein 1	T hücre sinyalizasyonu
21q22.3	<i>UBASH3A</i>	Ubiquitin ilişkili SH3 domain içeren A	T hücre sinyalizasyonu
22q12.1	<i>XBPI</i>	X box protein 1	MHC sınıf II geni ekspresyonunun düzenlenmesi, IL6, B hücre ve plazma hücrelerinin farklılaşması
22q13.1	<i>CIQTNF6</i>	C1q ve tümör nekrozis faktör ilişkili protein 6	Bilinmiyor
Xp11.23	<i>FOXP3</i>	Forkhead box P3	Düzenleyici T hücrelerinin kontrolü

#### 2.1.4.e. Polimorfizm kavramı ve vitiligoda çalışılmış polimorfizmler

Kromozomlar hücre çekirdeğinin içinde yer alan ve genlerin düzenlenmesini sağlayan ünitelerdir. İnsanlarda 23 çift yani 46 kromozom bulunmaktadır. Bunların ikisini seks kromozomu oluşturur. Eşleşme esnasında her ebeveynin kromozom çiftlerinden birini vermesiyle, doğan çocuk sahip olduğu kromozomların yarısını annesinden yarısını da babasından elde etmiş olur.

Genom organizmadaki tüm DNA'yı ifade eder. Genomun içinde proteinlerin sentezi için gerekli olan genler bulunmaktadır. Proteinler, hem hücreler ve dokular için yapı taşı olup hem de kimyasal reaksiyonlar için özel enzimleri oluşturur. Böylelikle proteinler organizmanın özelliklerini, işlev ve davranışlarını belirler. Proteinler 20 farklı amino asidin değişik kombinasyonlarından oluşur ve her proteinde birkaç yüz amino asit bulunmaktadır. Genlerin temel işlevi bu amino asitlerin sekanslarını belirleyip proteinleri oluşturmaktır.

Bütün hücrelerde aynı genler olmakla beraber her hücredeki her gen aktif olmadığı için genlerin proteine dönüşmesi dokudan dokuya farklılık göstermektedir.

Genlerdeki dizin değişikliği aynı genin iki değişik formunun oluşmasına sebep olur ve buna allel adı verilir. Her gen için aynı ya da farklı alleller olabilir.

Belirli bir popülasyonda, belli bir gen lokusunda, bir allelin bulunma sıklığına allel frekansı veya gen frekansı denir.

X ve x şeklindeki iki olası allele sahip bir gen lokusu için olası genotipler XX, Xx veya xx'dir. İki allelin birlikte frekansı (X'in frekansı p ve x'nin frekansı q) %100 (1,0) olmalıdır. Eğer iki allel aynı sıklıkta ise (her biri 0,5), X alleli için  $p=0,5$  ve x alleli içinde  $q=0,5$  frekansına sahiptirler, yani  $p+q=1$ 'dir. Bir allelin sıklığı bilirse genotipinin toplumdaki sıklığı saptanabilir.

Gözlenen bir özelliğe fenotip denir. Genotip ise fenotipin temelindeki genetik bilgiyi tanımlar.

Gen lokusu kromozom üzerinde belirli bir karaktere ait genetik bilginin yer aldığı bölgedir. Diploid organizmalarda herhangi bir lokusda iki allel bulunması durumunda üç genotip olasılığı vardır. Bunlar, bir allel için homozigotluk, iki farklı allel için

heterozigotluk, diğerk allel için homozigotluktur. Alleller heterozigot durumunda da fenotipe yansiyabiliyorsa dominant olarak nitelendirilir. Eğer sadece homozigot durumunda görülebiliyorsa resesif olarak tanımlanır. Heterozigot durumunda iki allelde görülebiliyorsa bunlara ko-dominant denir.

Birçok gen lokusunda iki ya da daha fazla allel yer alabilir ve buna genetik polimorfizm adı verilir. Yani genetik polimorfizm, bir popülasyonda, farklı allellere bağı genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Eğer bir lokusdaki allel frekansı en az 0.01 ise ve bu alleli taşıyan heterozigotların frekansı % 1'den büyükse bu gen lokusuna polimorfik denebilir.

Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşikliklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm) veya DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde görülebilir (18).

Günümüze kadar vitiligonun etiyopatogenez ve genetik kökenlerini ortaya koymak amacıyla çok sayıda polimorfizm çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalar aşağıda sıralanmıştır.

#### **2.1.4.e.1. Aril hidrokarbon reseptör (AHR) gen polimorfizmi**

Wang ve ark.'ları melanogenez ile melanosit proliferasyonu ve diferansiyasyonunun düzenlenmesinde önemli görevleri olan aril hidrokarbon reseptörünün (AHR) polimorfizmini saptamaya yönelik çalışmalarında 1000 hasta ve 1000 kişiden oluşan kontrol grubunda; AHR genindeki TT ve CT genotiplerini vitiligo açısından düşük riskli bulmuşlardır. Çin toplumunda yapılan bu çalışmada, AHR geninin promoteri olan rs10249788'in T alleli vitiligo için koruyucu olduğu belirtilmiştir.

AHR, 'basic-helix-loop-helix transkripsiyon faktör ailesi'nin bir üyesi olup sitoplazmada şaperonlara bağı ve inaktif formda bulunur. Reseptör ligandı ile birleştikten sonra şaperondan ayrılarak nükleusa taşınır ve AHR, nükleer translokator ile dimerize olur. Bu şekilde başlayan kaskad, melanogenezin modülasyonu başta olmak üzere birçok immun, endokrin ve biyolojik yolda görev alır. Bu sinyalizasyon yolağı; tirozinaz ve tirozinaz ilişkili protein 2'de artışa yol açarak melanin sentezini indükler. Dolayısıyla AHR genindeki polimorfizm, AHR sinyal yolağını olumsuz yönde etkileyecektir (19).

#### **2.1.4.e.2. Toll-like reseptör 2 ve 4 gen polimorfizmi**

Psoriasis ve atopik dermatit başta olmak üzere çok sayıda inflamatuvar hastalıkta önemi ortaya konmuş olan toll-like reseptörlerinden (TLR) 2 ve 4'ün genetik polimorfizmleri Karaca ve ark.'ları tarafından çalışılmış olup TLR2 Arg753Gln genotipi ve TLR2 753Gln allel sıklıkları vitiligolu olgularda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur. TLR4 Asp299Gly genotipindeki dağılım hasta grubunda % 10, kontrol grubunda ise % 2 sıklıkta saptanmıştır (20)

#### **2.1.4.e.3. Katalaz gen polimorfizmi**

Katalaz, hidrojen peroksit metabolizmasının temel düzenleyici enzimidir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene çevirerek antioksidan bir enzim olarak çalışır. Bu enzimdeki eksiklik, sadece vitiligo değil diyabet, dislipidemi, Parkinson hastalığı, osteoporoz gibi çok sayıdaki metabolik hastalıkla da ilişkilidir. Vitiligoda bu gene ait polimorfizm yanı sıra kan ve doku düzeyindeki enzim yetmezliklerini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Kosa ve ark.'ları Bulgar toplumunda katalaz geninde -262> T polimorfizmini göstermişlerdir (21,22).

Bulut ve ark.'ları tarafından Türk toplumunda yapılan başka bir katalaz gen polimorfizmi çalışması, CAT exon 9 (Asp-389) lokusu ile vitiligo ilişkisi hipotezine dayandırılarak yapılmış ancak bu genotip ve allel sıklığında, hasta ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (23).

Casp ve ark.'ları Kuzey Amerika toplumunda yaptıkları çalışmalarında katalaz geninde C/T kodon 389'da tek nükleotid polimorfizmi saptamışlardır (24).

Liu ve ark tarafından yapılan bir çalışmada; CAT-89>T genotipinin vitiligo için yüksek risk taşıdığı ancak 389C>T veya 419C>T varyantlarının ilişkisiz bulunduğu belirtilmiştir. Katalaz geninin varyant allellerinin kombine analizleri sonucunda bu allellerin vitiligoda önemli olduğu ve bu genin promotor bölgesinin polimorfizmlerinin gen ekspresyonunu etkilediği belirtilmiştir (25).

#### **2.1.4.e.4. Glutatyon S-transferaz gen polimorfizmi**

Vitiligoda polimorfizmi çalışılan diğer antioksidan enzim, glutatyon S-transferaz M1/T1'dir. Glutatyon S-transferazlar ilaç, ksenobiyotik, zehirler gibi endojen ve eksojen substratların glutatyon ile konjugasyonunu katalizleyen ubiquitin türevi enzimlerdir.

Gueneri ve ark.'ları Akdeniz toplumunda yaptıkları çalışmalarında, oksidatif stres durumunda ekspresyonunda artış beklenen GSTM1/GSTT1'in vitiligoda up regüle olmadığını belirtmişlerdir (26).

Liu ve ark.'ları da vitiligoda, glutatyon S-transferaz geni ile ilgili polimorfizm çalışması yapmışlar ancak Gueneri ve ark.'larından farklı olarak GSTT1 ve GSTM1 genotipleri ile anlamlı düzeyde ilişki bulduklarını belirtmişlerdir (27).

Uhm ve ark.'ları tarafından Kore toplumunda, 310 vitiligo hastası ile 549 gönüllünün dahil edildiği çalışmada ise GSTM1 ile ilişki saptanmış ancak GSTT1 açısından farklılık olmadığı belirtilmiştir (28).

#### **2.1.4.e.5. Myeloperoksidaz gen polimorfizmi**

Myeloperoksidaz (MPO) da vitiligoda çalışılan diğer bir enzimdir. Polimorf nüveli lökositlerin lizozomlarında yer alan bu enzim, güçlü bir oksidan olan hipoklorik asit üretimini sağlamaktadır. Ülkemizden 2009 yılında Aksoy ve ark. vitiligoda bu enzimin aktivitesi ve polimorfizmini çalışmışlardır. Hasta grubunda MPO aktivitesi kontrol grubuna göre belirgin düzeyde düşük bulunmuş ancak polimorfizm açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığı belirtilmiştir (29).

#### **2.1.4.e.6. Katekol-O-metil transferaz (COMT) gen polimorfizmi**

Katekol-O-metil transferaz (COMT) enzimi; biyolojik olarak aktif ya da toksik olan katekollerin metilasyonunu sağlayarak birçok ilaç ve nörotransmitteri metabolize eder. Bu enzim aynı zamanda organizmayı melanin sentezi sırasında açığa çıkan o-quinonların toksik etkilerinden korur. Bu proteinin anormal ekspresyonu toksik substratların oluşumuyla melanositlere ve diğer epidermal hücrelere zarar verebilir. Li ve ark. Çin toplumunda yaptıkları çalışmada COMT-158(G>A) polimorfizminin vitiligo açısından risk oluşturduğunu belirtmişlerdir (30).

#### **2.1.4.e.7. Nitrik oksit sentetaz gen polimorfizmi**

Hücre proliferasyonunun inhibisyonu, diferansiyasyon ve apoptozisinde inhibitör olmasıyla çok sayıda otoimmün hastalığın patogenezinde yer aldığı düşünülen nitrik oksit (NO) sentezleyen enzimlerin ortak adı nitrik oksit sentetazlardır. Bu enzimler L-arjinin, O<sub>2</sub> ve NADPH'tan NO ve L-sitrullin oluşumunu katalizler. Nöronal, endotelial ve

indüklenebilir (iNOS) alt formları tanımlanmış olup bu enzimlerden indüklebilir olan IFN  $\gamma$ , TNF  $\alpha$  ve IL-1  $\beta$  gibi sitokinlerin kontrolü altında çalışır. NO melanositler üzerinde, proliferasyon inhibitörü olarak etki gösterir. Vitiligoda melanositlerin otoimmün olarak hasarlanması hipotezi, dikkatleri NO sentetaz geninde toplamıştır. Zhang ve ark.'ları Çin toplumunda, indüklenebilir NOS geninde üç polimorfizm saptamışlardır. Özellikle iNOS-954 polimorfizmi, vitiligo açısından yüksek riskli bulunmuştur. Aynı çalışmada serum iNOS aktivitesinin lojistik regresyon analizi ile polimorfizmi de vitiligo ile ilişkili bulunmuştur (31).

#### **2.1.4.e.8. Thioredoxin domain containing 5 gen polimorfizmi**

Thioredoxin domain containing 5 (TXNDC5), tiyoredoksin ailesi içinde yeni tanımlanmış bir protein olup, endoplazmik retikulumda oksitadif stres durumunda, protein sentezinde ve şaperon aktivitesinde görev aldığı belirtilmektedir. Jeong ve ark.'larının çalışmasında, bu proteini kodlayan gende 7 tek nükleotid polimorfizmi seçilmiş ve 3 ekzonik polimorfizm ( rs1043784, rs7764128, rs8643) segmental olmayan vitiligo ile ilişkilendirilmiştir (32).

#### **2.1.4.e.9. NLRP gen polimorfizmi**

NLRP1, genom çapında yapılan çalışmalarla özellikle ailesel vitiligo olgularında dikkati çeken bir genidir. NLR'ler immün sistemde hücre içi patojenleri tanıma, hatırlama ve yanıt oluşması ile apoptozis sürecinde görev alan protein ailesidir. NLRP1 geninin L155H konumundaki mutasyonu, proteinin yapısında oligomerizasyona neden olmaktadır (33, 34, 35).

#### **2.1.4.e.10. Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4) gen polimorfizmi**

Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4), vitiligo dahil olmak üzere bir çok otoimmün hastalığın patogenezinde rol aldığı düşünülen ve T hücre fonksiyonlarının negatif yönde düzenleyen bir moleküldür. Aktive CD4+ ve CD8+ T lenfositlerden eksprese edilen bu antijenin B7 ile etkileşimi, hücrelerde self toleransda kritik basamağı oluşturur. Dwivedi ve ark.'ları, CTLA-4 ekspresyon düzeylerini araştırdıkları çalışmalarında, 3' UTR CT60A/G polimorfizmi ile birlikte çözünebilir CTLA-4 mRNA düzeylerini değerlendirmişler ve genotip-fenotip korelasyonu ile vitiligonun otoimmün bir hastalık olduğu hipotezini desteklediklerini belirtmişlerdir (36).

#### **2.1.4.e.11. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) gen polimorfizmi**

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE); inflamasyon, vaskülarite, kan basıncı, yağ dokusunun vücuttaki dağılımı gibi çok sayıda işlevi olan ve vitiligo da dahil olmak üzere bir çok hastalığın etyopatogenezinde rol alan renin-anjiyotensin sisteminin düzenleyicisidir. Bu gendeki 287bp'in insersiyon/delesyon polimorfizminin, intron 16 daki tekrarlayıcı sekansları ACE genine 2 ko-dominant allel kazandırır. Bu polimorfik genin oksidatif stres ve anjiyogenez oluşumunda rol aldığı düşünülmektedir. Ayrıca Tippisetty ve ark.'larının çalışmasında I/D genotipi, hastalık progresyonuyla da ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada DD genotipi; aile öyküsü olanlar ve erken başlangıçlı olgularda; ID genotipinin pre-dominansı ise yavaş progresyon gösteren hastalarda anlamlı bulunmuştur (37).

Dwivedi ve ark.'ları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, genotip ve allel sıklığı açısından vitiligolu olanlarla kontrol grubu arasında fark saptanmadığı belirtilmiştir (38).

ACE ile birlikte IL4, CCR5, CTLA4 ve IL1-RN gen polimorfizmlerinin birlikte değerlendirildiği çalışmada; ACE, IL4, CCR5 ile ilgili genotip dağılımında ve allel frekansında farklılık görülmemiş, CTLA4 genindeki GG genotipi ve G allelinin vitiligo hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunduğu belirtilmiştir (39).

#### **2.1.4.e.12. Siklooksijenaz (COX) gen polimorfizmi**

Siklooksijenazlar (COX) araşidonik asitlerden prostoglandin sentezinde anahtar rolü oynayan enzimlerdir. COX1 ve COX2 olmak üzere iki izoformu vardır. Özellikle COX2'nin iridal melanositlerde güçlü olarak eksprese edildiği bilinmektedir. Ayrıca ultraviyole, COX2 ekspresyonunu arttırarak prostoglandin E2 (PGE2) üretimini indükler. PGE2 epidermal melanositlerin melanogenez ve proliferasyonu için güçlü bir uyarıcıdır. Li ve ark.'ları 755 vitiligo hastası ile 774 kontrolü karşılaştırdıkları çalışmalarında, COX2-1195 G varyant allelinin vitiligo için yüksek riskli olduğunu belirtmişlerdir (40).

#### **2.1.4.e.13. Secreted modular calcium binding gen polimorfizmi**

Vitiligo hastalarında melanosit ve keratinositlerdeki kalsiyum taşınmasında defekt olduğu düşünülmektedir. SMOC2 (secreted modular calcium binding gen) proteini kalsiyum bağlanmasını sağlayarak metastaz, hücre siklus düzenlenmesi, anjiyogenez gibi biyolojik olaylarda görev almaktadır. Ayrıca hücrelerin birbirine tutunmasında etkili olan bu proteinin defektif olması melanositlerin çevre dokuya tutunmalarını bozarak kolaylıkla zarar görmelerine neden olur. Alkhateeb ve ark.'ları Kafkas popülasyonunda, hasta grubunda, bu genin allelik varyantını % 29,5; kontrol grubunda ise % 19,6 oranında bulmuş ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (41).

#### **2.1.4.e.14. Transforming growth faktör beta (TGF $\beta$ ) reseptör 2 gen polimorfizmi**

T hücre homeostazisi ve self toleransta önemli bir sitokin olan TGF $\beta$ 'nın aynı zamanda melanosit aktivitesini inhibe ettiği de bilinmektedir. Bu genin somatik mutasyonları sindirim sistemi mukoza epitel malignitelerinde çalışılmıştır. Yun ve ark.'ları tarafından Kore toplumunda, transforming growth faktör beta reseptör 2 (TGF $\beta$ R2) gen polimorfizmi çalışması yapılmış, bu gende 3 tek nükleotid polimorfizmi (rs2005061, rs3773645, rs3773649) segmental olmayan vitiligo ile ilişkili bulunmuştur (42).

#### **2.1.4.e.15. İnterferon gama (IFN $\gamma$ ) ve Tümör nekrozis faktör alfa (TNF $\alpha$ ); gen polimorfizmi**

İnterferon gama ve TNF  $\alpha$ ; melanositlerin apoptotik süreçlerinde görev alan sitokinlerdir. Bu sitokinler melanositlerin hücre yüzeylerinde bulunan ve adezyon molekülü olan ICAM-1 ekspresyonunu arttırmaktadır. ICAM-1 ekspresyonunun artması ile melanositlerle T hücrelerinin etkileşimini artırır ve T hücre aracılı hücre ölümü uyarılmış olur. TNF  $\alpha$  aynı zamanda tirozinaz ve tirozinaz ilişkili peptid üzerine inhibitör etki göstererek melanogenezi baskılar. Namian ve ark.'larının bu sitokinleri kodlayan genlerle ilgili yaptıkları çalışmada IFN  $\gamma$  +874 T/A ve TNF  $\alpha$ -308 G/A gen polimorfizmi saptanmıştır. Çalışmacılar TNF  $\alpha$  ile ilgili olan polimorfizmi sadece kadın vitiligolu hastalarda anlamlı bulurken IFN  $\gamma$  ile ilgili cinsiyet dağılımında farklılık olmadığını belirtmişlerdir (43).



#### **2.1.4.e.16. Interlökin-10 gen polimorfizmi**

Vitiligoda, diğer çalışılan sitokin gen polimorfizmi IL-10'dur. Bu sitokin temelde antiinflamatuvar etki göstermektedir. Yardımcı T hücreler başta olmak üzere monosit, makrofaj, mast hücreleri, eozinofil ve keratinosit gibi çok sayıda hücre tarafından üretilmektedir. TNF  $\alpha$ 'nın, IL-1, IL-8 üretimini baskılaması ve B hücrelerinin üretim ve farklılaşmasını uyarmasıyla, immun sistemde düzenleyici özelliği ön plana çıkar. Abanmi ve ark.'ları vitiligo lezyonlarında IL-10, TNF  $\alpha$  ve IFN  $\gamma$  üretiminin artması gözlemlenerek yola çıkılarak vitiligolu hastalarda IL-10 gen polimorfizmini çalışmışlardır. Suudi Arabistan toplumunda yapılan bu çalışmada; -1082GG genotipi ve -592 ile 819CC genotipi vitiligolu hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Kontrol grubunda da -1082GA, -819 CT, -592CA genotipleri sık bulunmuş ve vitiligo için koruyucu etkide oldukları belirtilmiştir (44).

#### **2.1.4.e.17. Timik stromal lenfoprotein (TSLP) gen polimorfizmi**

Timik stromal lenfoprotein (TSLP); CD4+ T hücrelerini, IL-4 gibi sitokinlerin üretimini sağlayarak Th2 yanıtının oluşmasını indükler. Cheong ve ark.'ları 2009 yılında vitiligo ile bu proteinin ilişkisi üzerine polimorfizm çalışması yapmışlar ve vitiligolularda -847C>T polimorfizmini kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır. Buna göre TSLP delesyonu IFN  $\gamma$  üretimini arttırmaktadır. Böylelikle de Th1 baskın immun yanıt aktive olmaktadır (45).

#### **2.1.4.e.18. Melanosit proliferatif gen polimorfizmi**

Vitiligoda; hem lezyonel hem de normal deride melanosit proliferatif gen (MYG) mRNA düzeylerindeki artış Philips ve ark.'ları tarafından 2006 yılında yapılan çalışmada gösterilmiştir (10). Bu gen sadece vitiligoda değil atopik dermatit gibi başka inflamatuvar hastalıklarda da up regüle olmaktadır. Aynı çalışmacılar bu gendeki 9 polimorfizmi de göstermişlerdir. Yüz yirmi dört vitiligo hastası ile 325 kontrolün dahil edildiği çalışmada -119G alleli hasta grubunda anlamlı düzeyde yüksek (% 47,1) bulunmuştur (46).

#### **2.1.4.e.19. Discoidin domain reseptör 1 (DDR1) gen polimorfizmi**

Kollajenin aktive olması, lökositler başta olmak üzere birçok hücrenin farklılaşmasını, adezyonunu ve sitokin üretimini etkilemektedir. Discoidin domain reseptör

1 (DDR1),  $\beta$ 1 integrinden bağımsız olarak kollajeni aktive eden bir transmembran tirozin kinaz reseptörüdür (47). Kemoterapötik olarak kullanılan imatinib mesilatın DDR1'i inhibe ettiği bilinmektedir. Bu ilacı alan hastalarda vitiligo benzeri depigmente maküllerin gözlenmesi Castro ve ark.'larını bu genin vitiligoda etkilenip etkilenmediğini araştırmaya yöneltmiştir. Bu genin melanositlerin bazal membrana yapışmasının düzenlenmesinde görev aldığı düşünülmektedir. Çalışmada DDR1 lokusunda 10 tek nükleotid polimorfizmi gösterilmiştir. Çalışmacılar rs4618569 T alleli ve rs2267641 C allelinin erken başlangıçlı olgularda sık olduğunu belirtmişlerdir (48).

#### **2.1.4.e.20. CD4 gen polimorfizmi**

Vitiligonun T hücre aracılı otoimmün mekanizmalarla oluştuğu hipotezinden yola çıkarak Zamani ve ark.'ları CD4 gen polimorfizmi ile vitiligo ilişkisi üzerine çalışma yapmışlardır. CD4; antijen sunumu sırasında HLA II ile etkileşerek ko-stimülatör işlevi olan bir moleküldür. Bu molekülün polimorfizmi Tip 1 diyabet ve şizofreni gibi otoimmün süreçlerle oluşan hastalıklarda gösterilmiştir (49,50). Çalışmacılar İran toplumunda CD4\*A4 allelinin vitiligo ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (51).

#### **2.1.4.e.21. Keratinosit ilişkili büyüme faktör gen polimorfizmi**

Vitiligo gelişmesinde keratinositlerin rolü üzerinde de durulmaktadır. İn vivo olarak keratinosit ve melanositler, epidermal-melanin ünitesini oluşturarak kişinin deri tipini belirler. Basic fibroblast growth factor (bFGF), endotelin-1 (EDN1), hepatosit growth factor (HGF) gibi kök hücreler üzerinde büyüme faktörü olan moleküller keratinosit ve melanosit arası homeostazisi düzenlerler. Epidermal-melanin ünitesinde keratinosit kaynaklı foksiyon bozuklukları depigmentasyona yol açabilmektedir. Vitiligolu deriden hazırlanan kültüre keratinositlerin, normal keratinositlerden farklı davranışlar sergiledikleri bilinmektedir. Lan ve ark.'ları keratinositlerden yeterli düzeyde keratinosit kaynaklı melanosit uyarıcı faktörlerin salınmaması sonucu melanositlerin fonksiyonlarının bozulması nedeniyle vitiligo gelişebileceğini öne sürmüşlerdir ve Tayvan toplumunda keratinosit ilişkili büyüme faktör gen polimorfizmini çalışmışlardır. Bu çalışmada stem cell faktör (SCF), basic fibroblast growth factor (bFGF), endotelin-1 (EDN1), hepatosit growth factor (HGF) ve stem cell growth factor (SCGF) genlerine ait 11 tek nükleotid polimorfizmi bakılmış ve SCF geninde rs11104947 için A alleli ve SCGF geninde rs13866 T alleli, vitiligo için anlamlı bulunmuştur (52).

#### **2.1.4.e.22. FAS/FAS ligand gen polimorfizmi**

FAS/FAS ligand apoptoziste anahtar rol oynayan sistemdir. Bu hücre yüzey faktörleri, Tümör nekrozis faktör süper ailesinin üyeleridir. Sjögren sendromu, sistemik lupus eritematozus ve otoimmün hepatit gibi otoimmün hastalıklarda bu moleküllere ait polimorfizmler saptanması nedeniyle Li ve ark.'ları vitiligoda bu gende polimorfizm varlığını araştırmışlardır. Çalışmacılar; FAS-1377 G>A, FAS-670 A>G ve FASLG-844 T>C polimorfizmlerini vitiligo için anlamlı bulduklarını belirtmişlerdir (53).

#### **2.1.4.e.23. Melanokortin 1 reseptör (MC1R) ve agouti sinyalizasyon proteini (ASIP) gen polimorfizmleri**

Melanokortin 1 reseptörü (MC1R) ve agouti sinyalizasyon proteini (ASIP) pigmentasyon düzenlenmesinde rol alır. MC1R, alfa melanosit stimule edici hormonun ( $\alpha$ -MSH) bağlandığı reseptördür. Hormonun reseptörüne bağlanması ile hücre içinde c-AMP yolağı aktive olur ve ömelanın sentezi artar. ASIP'in MSH reseptörüne bağlanması,  $\alpha$ -MSH aracılı sinyal transdüksiyonunu dolayısıyla ömelanın sentezini baskılar. Bu proteinlerin mutasyonunun açık renk deri ve saç rengi ile de ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Szell ve ark.'ları Bulgar toplumunda bu genlerin polimorfizmlerini çalışmışlardır. Deri tipi ve saç rengi dağılımı açısından farklılık saptamazken; C478T olarak ifade edilen MC1R'nün bir tek nükleotid polimorfizmini, allel sıklığını, kontrol grubunda anlamlı düzeyde yüksek saptayarak bu allelin vitiligodan koruyucu olduğunu ifade etmişlerdir (54).

#### **2.1.4.e.24. Mannan bağlayıcı lektin gen polimorfizmi**

Mannan bağlayıcı lektin (MBL), apoptotik hücreler ve kompleman aktivasyonu ile oluşan artık molekülleri ortadan kaldırmaya yarar ve doğuştan kazanılan immunitenin bir elemanı olarak kabul edilmektedir. Bu proteini kodlayan gendeki değişikliklerin otoimmün hastalıklara neden olabileceği belirtilmektedir. Dwivedi ve ark.'ları bu genin genotip ile allel frekansı açısından kontrol grubu ile anlamlı farklılık bulmadıklarını belirtmişlerdir (55).

#### **2.1.4.e.25. Otoimmün regülatör gen polimorfizmi**

Otoimmün poliendokrinopati, kandidiyazis, ektodermal displazi sendromu (APECED) vitiligo ile yüksek oranda birliktelik gösteren otoimmün hastalıklarından birisidir ve otoimmün regülatör gendeki (AIRE) mutasyon nedeniyle ortaya çıkar. Bu gen, timus,

akciğer, dalak, lenf nodları, adrenal bezler, böbrek gibi çok sayıda organda eksprese edilir. Bu proteinin ekspresyon paternlerindeki farklılıkların immun sistem üzerinde de etkili olduğu belirtilmektedir. Ahnini ve ark.'ları vitiligoda bu gene ait 6 polimorfizmi çalışmışlar ve AIRE 7215C ile vitiligo arasında güçlü ilişki bulduklarını belirtmişlerdir (56).

#### 2.1.5. ETİYOPATOGENEZ

Vitiligo maküllerinde melanositlerin kaybının anlaşılması ile hastalığın etiopatogenezinde melanosit hasarına yol açan teori ve hipotezler öne sürülmüştür. Günümüze kadar üzerinde durulan 3 temel hipotez mevcuttur. Bunlar; nöral, otoimmün ve özyıkım (self-destrüktif) hipotezleridir.

Birçok dermatolojik hastalıkta tanımlanan, koebner fenomeni vitiligo için de geçerlidir. Koebner fenomeni Alman bir dermatolog olan Heinrich Koebner tarafından 1877 yılında psoriasis için travma uygulanan alanda lezyon oluşumu olarak tariflenen izomorfik bir yanıttır. Vitiligo hastalarında travma sonrası oluşan depigmentasyon, ne klinik ne de histopatolojik olarak diğer vitiligo maküllerinden ayırt edilemez. Koebnerizasyon, genel olarak tekrarlanan friksiyona maruz kalan alanlarda oluşmaktadır ve de aktif hastalık göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu durum vitiligoya genetik yatkınlığı olan bireylerdeki melanositlerin travma karşısında apoptozise uğradığı görüşüyle açıklanmaktadır (57).

##### 2.1.5.1. Nöral Hipotez

Nöral hipotez, stresli yaşam olayları ile vitiligonun başlaması veya artış göstermesi gözlemine dayanarak ortaya atılmış ve sinir sistemi ile derinin aynı embriyolojik tabakadan oluşması ile desteklenmiştir. Nörofibromatozis ve tüberoskleroz gibi genodermatozlarda hiperpigmente ve hipopigmente lezyonların varlığı, depigmente lezyonlardaki melanositlerin sinir sonlanmaları ile yakın ilişkisi, vitiligo lezyonlarında adrenerjik aktiviteyi gösteren terleme ve vazokonstriksiyon artışı gibi bulgular bu teoriyi güçlendirmektedir. Özellikle segmental vitiligo da daha çok kabul gören bu teoriye göre, serbest sinir uçları ile bağlantılı olan melanositler, buradan salınan nöromedyatör özellikteki maddelerin toksik etkileri nedeniyle zarar görmektedir (3).

Tirozin hem epinefrin, hem de melanin sentezinde bir maddedir. Epinefrinin deney hayvanlarına enjekte edilmesiyle depigmentasyona yol açtığı bilinmektedir. Epinefrin ve melanin öncülleri arasındaki kimyasal benzerlikler nedeniyle, epinefrin oluşumu sırasında sinir uçlarından salınan ara ürünlerin, melanositlerde hasara neden olabileceği düşünülmektedir. Bu görüşü desteklemeye yönelik çalışmalarda, lezyonel alanda, normal deriye kıyasla  $\alpha$  ve  $\beta$  adrenoreseptör yanıtları daha fazla saptanmış, ancak bu alanlardaki nöropeptit dağılımındaki artış vitiligo için anlamlı bulunamamıştır (57,58).

Sinir uçlarından salınan kalsitonin-*gen-ilişkili* peptit (CGRP) düzeyleri segmental vitiligolu deride normalden fazladır (59). Ayrıca artmış nöroepinefrin düzeyleri ve monoaminooksidaz seviyelerini gösteren çalışmalar bu hipotezi desteklemiştir (60,61). Ancak lokal katekolamin ve türevlerinin artmış konsantrasyonlarının melanosit harabiyeti yapacak düzeyde olmadığı görüşünü savunanlar da mevcuttur (62).

### **2.1.5.2. Otoimmün Hipotez**

Vitiligonun otoimmün olduğu düşünülen hastalıklar ile klinik ilişkisine dayalı bir hipotezdir. Bu teori, periferik kanda melanosit sitoplazması ve yüzey antijenlerine yönelik olduğu düşünülen antikorların saptanmasıyla desteklenmiştir. Ayrıca vitiligodaki cerrahi dışı tedavi seçenekleri, immun modülatör etki göstererek iyileştirici olmaktadır.

Vitiligosu olan melanomlu hastaların daha iyi prognoza sahip olması melanositlere karşı olan immun yanıtın, tümör kontrolünde etkili olduğu görüşünü uyandırmaktadır (1).

Otoimmün hipoteze göre; melanosit yıkımında hümmoral ve hümmresel immunitte birlikte rol oynamaktadır. Bilinen bütün otoimmün endokrinopatiler MHC sınıf 2 HLA DR allelleri ile ilişkilidir ve vitiligoda da benzer bir ilişki varlığı, vitiligonun otoimmün bir zemininin olabileceğine dair dolaylı bir kanıt olabilir (63).

Histopatolojik olarak normal görümmümlü deri ile vitiligo alanları karşılaştırıldığında; melanositlerdeki dejenerasyon, bazal hümmrelerde vakuoler değışiklikler ve epidermis ve üst dermiste melanofajlar ile lenfosit infiltrasyonu göze çarpmaktadır. Bu değışiklikleri detaylandırmak üzere yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda, jeneralize vitiligoda CD3+, CD4+ ve CD8+ makrofajlar dahil immünositlerin tutulmuş derinin çevresinde varlığını göstermektedir. Bu T hümmre infiltrasyonu içinde önemli oranda CD8+ T hümmreleri izlenmektedir (64). Otoreaktif ve sitotoksik özellikteki bu hümmrelerin melanosit

hasarlanmasında anahtar rolü oynayan hücreler olduğu savunulmaktadır. Ancak bu hücrelerin melanosit antijenlerine tolerans kaybını neden oluşturduğu halen açıklanamamaktadır. CD4+ ve CD 25+ T hücrelerinin burada anahtar rol oynadığı belirtilmektedir. Bu hücreler T lenfositler üzerinde inhibitör etki göstermektedir. Ahmed ve ark.'ları vitiligolu hastalarda, düzenleyici işlevi olan bu hücrelerdeki fonksiyonel defekti göstermiş ve bu hücrelerin azalmış süpresif etkilerinin, hastalık aktivitesi ile doğru orantılı olduğunu bildirmişlerdir (65,66).

Günümüze kadar vitiligonun çok sayıda otoimmün hastalıkla birlikteliğinin görülmesi, kan dolaşımındaki otoantikorlar ve hastalık ilişkisini ortaya koymayı hedefleyen çalışmalar için yol gösterici olmuştur. Çalışmacılar arasında en popüler olanlar; melanositlerin sitoplazmik ve yüzey antijenlerine yönelik antikorları belirleyenlerdir. Bu antikorların, ELISA, immunpresipitasyon, indirek immunfloresan ve immunblotting gibi laboratuvar tekniklerle kompleman veya antikor aracılı sitotoksitate oluşturdukları gösterilmiştir. Oluşan antikorlar çoğunlukla IgG yapısında olup C3 ile birlikte vitiligo lezyonlarındaki keratinositlerin etrafında ve bazal membranda gösterilebilmektedir. Aktif ve yaygın hastalık durumunda bu birikim ön planda olmaktadır. Yapılan bir çalışmada ise, pigmente hücre membranına karşı oluşan Ig A tipi antikorların hastalık aktivitesi ile daha yakından korele olduğu belirtilmiştir (66). Vitiligoda antikorların hedefi olduğu düşünülen antijenler çok sayıda ve heterojen yapıda olduğundan, otoimmünite yoluyla melanositlerin nasıl seçici olarak hasarlandıkları sorusu tam olarak yanıtlanamamaktadır. Buna verilmeye çalışılan en akılcı yanıt, melanositlerin toksik veya immun aracılı hasarlara diğer kutanöz hücre tiplerine göre çok daha duyarlı olmalarıdır.

Vitiligoda rol oynadığı düşünülen ve üzerinde durulmuş özgün otoantijenler; VIT 40, VIT 75, VIT 90, tirozinaz ve tirozinaz ilişkili protein 1 ve 2 ( TRP-1 ve TRP-2), MelanA /MART1, melanin konsantre edici hormon reseptör 1 (MCHR1) 'dir (66). VIT 90 pigmente hücrelerin yüzeyinde bulunurken VIT 40 ve VIT 75 pigmente olmayan hücrelerde de bulunabilen yüzey antijenleridir (1).

### **2.1.5.3. Özyıkım (otositotoksik=oksidatif stres) Hipotezi**

Vitiligo etiyopatogenezinde oksidatif stresin melanosit yıkımında tetikleyici rol oynadığını öne süren hipotezdir. Melanin sentezi sırasında melanositlere toksik olduğu bilinen ara ürünler oluşmaktadır. Melanin sentezinin hız kısıtlayıcı basamak olan tirozinaz

basamağından sonra inhibe olması melanositler içinde serbest radikal birikmesine neden olmaktadır. Bunun sonucunda melanosit hasarı ve yıkımı oluşmaktadır. Ayrıca bozulmuş melanogenez sonucu ortaya çıkan yapısı farklılaşmış melanositin kendi içindeki maddelere veya yüzey antijenlerine karşı otoimmün yanıtı tetiklediği öne sürülmektedir.

### **2.1.5.3.1. Oksidatif Stres**

Vücuttaki fizyolojik aktiviteler sonucu oluşan serbest radikaller, antioksidan mekanizmalarla ortadan kaldırılmaya çalışılır. Oksidan-antioksidan dengenin bozulması oksidatif strese yol açar.

Serbest radikaller, atomik yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulundurarak, bağımsız olarak varolabilen moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronun varlığı bu moleküllere diğer radikallerle ortak elektron paylaşabilme özelliği kazandırır.

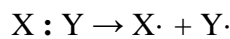
Serbest radikallerin en önemli tepkimeleri, moleküler oksijen ve onun reaktif türleri ile olan reaksiyonlardır.

Antioksidan ise; okside olabilen substrata göre ortamda daha az miktarda bulunan ve bu substratın oksidasyonunu belirgin şekilde geciktiren veya engelleyen madde olarak tanımlanmaktadır. Bu tanıma göre antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikalleri içeren kimyasal tepkimelerin sonucunda hücresel yapılara gelebilecek zararı önlemektir. Geri dönüşümsüz oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklar ortaya çıkmaktadır (67, 68).

### **2.1.5.3.2. Serbest Radikaller**

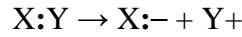
Serbest radikaller hücrede devamlı olarak yapılırlar ve temelde 3 yolla oluşurlar.

1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.

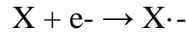


2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi.

Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



### 2.1.5.3.3. Reaktif oksijen türleri

Normal şartlarda oksijen kararlı, kokusuz, tatsız, renksiz, sudaki çözünürlüğü sınırlı bir gazdır. İnsan hayatı için hem gerekli hem de toksik olan bir moleküldür. Oksijenin iki eşleşmemiş elektronunun ayrı orbitallerde aynı yönde dönmesi nedeniyle, oksijen bir radikaldir. Moleküler oksijen, elektron transferiyle suya kadar indirgenir. Bu yol 4 elektron gerektirir ve bu yolda reaktif ara moleküller oluşur ki bunlar süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleridir. Bunlar önemli oksidatif stres ajanları olup reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır.

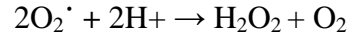
### Süperoksit Radikali ( $O_2\cdot^-$ )

Oksidatif fosforilasyonun ana bileşeni olan oksijene bir elektron eklenmesi ile süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali serbest radikal olmasına karşın reaktifliği yüksek değildir. Kendiliğinden, özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında solunum zinciriyle birlikte oluşur. Süperoksit ayrıca iskemi-reperfüzyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavoenzimlerce endojen olarak da oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer süperoksit oluşturan enzimlerdir.

Süperoksit ayrıca yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar gibi fiziksel ve kimyasal ajanlar ile bazı bileşiklerin oto-oksidasyonunda ve fagositoz esnasında da oluşur.



Süperoksit sulu çözeltide askorbik asit, tiyol gibi molekülleri oksitleyebilen zayıf bir oksitleyici ajandır. Bunun yanında süperoksit güçlü bir indirgeyici ajan olup sitokrom-c ve ferrik-EDTA gibi çeşitli demir bileşiklerini indirgeyebilir. Süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijenin olduğu dismutasyon tepkimesinden dolayı sulu ortamda hızlıca kaybolur. Diğer taraftan süperoksit dismutaz enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi ise spontan dismutasyondan 109 kat daha hızlıdır (69).

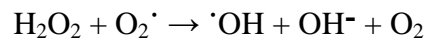


### **Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına karşın biyolojik membranlardan geçebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapımında rol alması nedeniyle önemlidir. Diğer bir işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. Hidrojen peroksit süperoksit radikalinin dismutasyon tepkimesi sonucu oluşur. Ürat oksidaz, glukoz oksidaz, d-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim oksijene 2 elektron transfer ederek direkt hidrojen peroksit oluşturabilirler. Hidrojen peroksitin redoks özelliği ve geçiş metalleri varlığında yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmasına karşı savunma sistemleri gelişmiştir. Hidrojen peroksit katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer oksidazlar ile hücreden uzaklaştırılır (70).

### **Hidroksil radikali (·OH)**

Hidroksil radikalinin temel oluşumu suyun yüksek enerji ile iyonizasyonudur. Hidrojen peroksit ise süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.

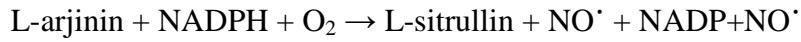


## Singlet Oksijen (1O<sub>2</sub>)

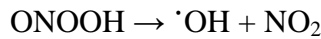
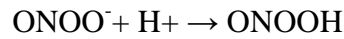
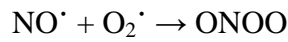
Singlet oksijen, eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur. Moleküler oksijende paylaşılmamış 2 dış elektron aynı yönde, ayrı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdukları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar.

## Nitrik Oksit (NO<sup>•</sup>)

NO<sup>•</sup> enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir.



NO<sup>•</sup> eşleşmemiş elektron bulundurmasına rağmen birçok molekül ile kolayca tepkimeye giremez ancak peroksit, alkil gibi diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek daha az reaktif moleküller oluşturur. Yüksek miktarda O<sub>2</sub><sup>•</sup> yapımı NO<sup>•</sup> ile paraleldir ve birbirlerini etkileyerek <sup>•</sup>OH ve <sup>•</sup>NO<sub>2</sub> oluşumuna neden olurlar. Tepkime sırasında ise peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) ve peroksinitröz asit (ONOOH) ara ürünleri oluşur (69,71).



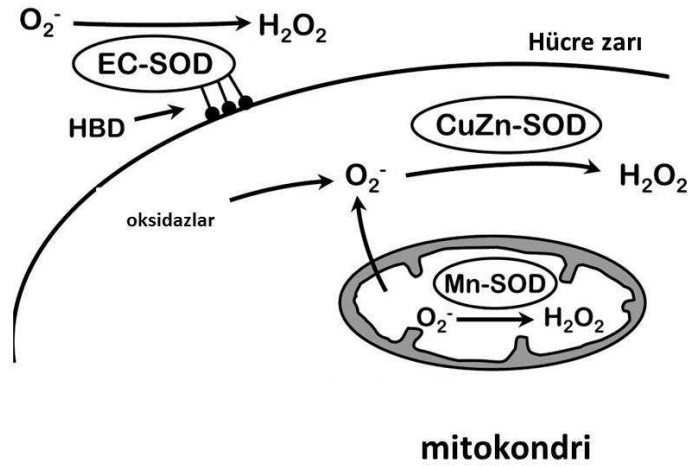
### 2.1.5.3.4. Antioksidanlar

Hücre ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı koruyabilmek için endojen ve eksojen kökenli birbiriyle ilişkili çalışan sistemler mevcuttur. Antioksidan sistem serbest radikal oluşumunu önler, oksidatif hasarı onarır, hasara uğramış molekülleri temizler ve mutasyonları önler. Nötralize olması gereken çeşitli reaktif ara ürünleri ve indirgenmesi gereken okside biyomolekülleri etkileyen hem lipofilik hem hidrofilik fazda pek çok antioksidan mevcuttur. Antioksidanları hücre içi, hücre dışı ve zar antioksidanları

olarak sınıflandırılır. Hücre içi antioksidanlar, süperoksit dismutazlar, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S transferaz, glutatyon redüktazdır. Zar antioksidanları, E vitamini,  $\beta$  karoten, koenzim Q; hücre dışı antioksidanları ise transferin, laktoferrin, haptoglobin, hemopeksin, albumin, seruloplazmin, ekstrasellüler süperoksit dismutaz, ekstrasellüler glutatyon peroksidaz, bilirubin ve askorbik asittir (71).

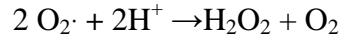
#### 2.1.5.3.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimleri

Reaktif oksijen türlerine karşı primer antioksidan enzim süperoksit dismutazdır. Üç farklı gen tarafından kodlanan ancak aynı reaksiyonu katalizleyen 3 izoformu vardır. Formları arasındaki farklılığı; aminoasit dizilimi, aktif metal bölgesi ve hücredeki konumu oluşturur. SOD1 olarak tanımlanan bakır-çinko SOD (CuZn-SOD), sitozolik bir enzimdir. SOD2 ise manganez SOD (Mn-SOD) olup mitokondride yer alır. Mn-SOD homotetramer yapıdadır, her subünitesinde bir Mn iyonu bulundurur ve 88 kDa ağırlığındadır. Hücresel Mn-SOD içeriği, kalp, beyin, karaciğer, böbrek gibi yüksek metabolik aktivitesi olan dokularda daha fazladır. SOD3 (CuZn-SOD) izoformu da hücre dışı yerleşimlidir. CuZn-SOD 32 kDa ağırlığında olup ekspresyonu sadece bazı hücre tipleri ile sınırlıdır. Özellikle plazmada, lenflerde veya serebrospinal sıvıda eksprese olmaktadır. İki protein subünitesi içerir her subünitede Cu ve Zn atomları bulunur (72, 73).

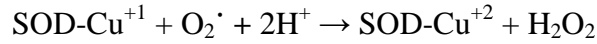
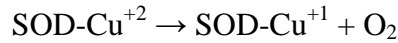


Şekil 1. SOD enzimlerinin subsellüler yerleşimleri (74)

SOD, süperoksit molekülünün hidrojen peroksit ve moleküler oksijene tepkimesini katalizler.



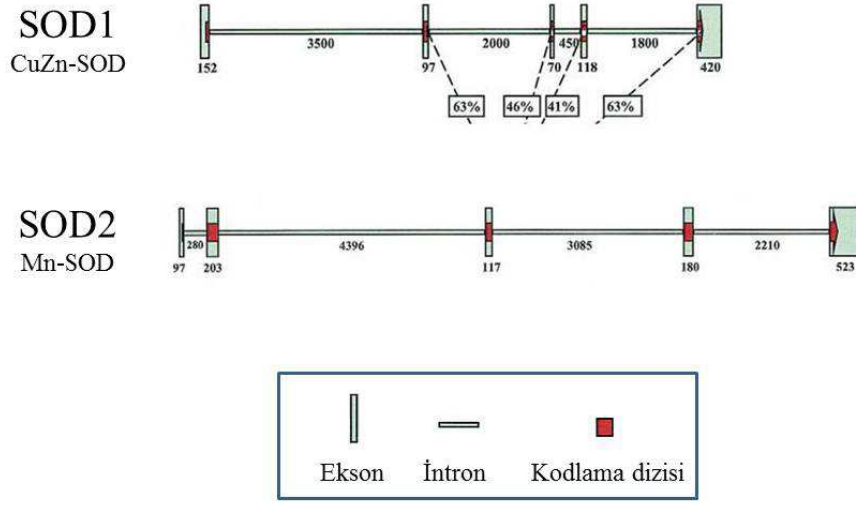
Tepkimede süperoksit anyonu  $Cu^{+2}$  ve bir arjinin kalıntısının guanido grubuna bağlanır. Bu şekilde süperoksitten bir elektron  $Cu^{+2}$ 'a transfer olurken  $Cu^{+1}$  ve moleküler oksijen oluşur. İkinci süperoksit anyonu  $Cu^{+1}$ 'dan bir elektron bağlanma ortağından ise iki elektron alarak hidrojen peroksiti oluşturur (74).



İnsanlarda SOD1 geni, 21q22 lokalizasyonunda yer alır. SOD1 geni 5 ekson ve 4 introndan oluşur. SOD1, beş eksonun kodladığı 153 aminoasitten oluşan 32,000 Da ağırlığında küçük bir enzim olup iki eş alt birimden oluşan bir homodimerdir; dimerler arası hidrofobik bağlar bu yapıyı sağlamlaştırır. Enzimin katalitik merkezini olan ekson 3 ve 5 bölgesine  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  metalleri yerleşmiştir. Ve bu bölgeler oldukça korunmuş aminoasit dizileri içerir.  $Cu^{2+}$ 'nin enzimatik,  $Zn^{2+}$ 'nin yapısal işlevi vardır.

SOD2 geni ise 6q25 lokalizasyonunda olup 5 ekson 4 introndan oluşmaktadır. Bu gen, homotetramer oluşturan ve her bir alt biriminde bir manganez iyonu bulunduran bir proteini kodlar. Bu protein oksidatif fosforilasyonun bir yan ürünü olan süperoksit bağlanarak hidrojen peroksit ve diatomik oksijene dönüştürür (75).

Bu genlerin yapısı şekil 2'de gösterilmiştir.



**Şekil 2. SOD1 ve SOD2 enzimlerinin genomik organizasyonu (75)**

Vitiligo da oksidan ve antioksidan sistemler arasında dengenin bozulmasıyla hidrojen peroksit başta olmak üzere serbest oksijen radikallerinin, epidermis ve periferik kandaki artışını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (76).

Khan ve ark.'larının yaptıkları çalışmada, vitiligo hastalarında serum malondialdehit (MDA) seviyeleri yüksek bulunurken, SOD, glutatyon peroksidaz, vitamin C, E ve total antioksidan aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (77). Dammak ve ark.'ları tarafından yapılan benzer bir çalışmada, doku örneklerinde ve stabil vitiligo ile kontrol grubu ile aktif vitiligolu hastaların örnekleri karşılaştırılmıştır. Aktif vitiligolu hastalarda SOD, glutatyon peroksidaz ve MDA düzeyleri artmış olarak saptanmıştır. Çalışmacılar antioksidan sistemdeki imbalansın aktif hastalıkta belirgin olduğunu vurgulamışlardır (78). Ülkemizden Yıldırım ve ark.'ları da doku düzeyinde SOD, glutatyon peroksidaz, MDA ve NO düzeylerini çalışmışlar ve 25 kontrol ile kıyaslanan aynı sayıdaki doku örneğinde NO haricindeki moleküllerin artmış olduğunu saptamışlardır (79).

Garsaud ve ark.'ları tarafından yapılan başka bir çalışmada total antioksidan aktiviteyi belirlemek ve sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslamak için 11 zenci vitiligolu hastanın serum örneklerinde selenyum, ferritin, transferrin, seruloplazmin, tokoferol ve retinol düzeyleri çalışılmıştır. Çalışmacılar, selenyum seviyesini vitiligolularda artmış saptarken diğer parametreler açısından kıyaslandığında farklılık olmadığını belirtmişlerdir (80).

Agraval ve ark.'larının Hindistan'da yaptıkları çalışmada, vitiligolu hastalar yaş gruplarına göre (5-15, 16-25, 26-35, 36-45 yaş) gruplanmıştır. Hastalarda plazma katalaz, SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon ve E vitamini ile eritrositlerdeki lipit peroksidasyon ile glukoz-6-fosfat dehidrogenaz düzeyleri değerlendirilmiş ve SOD ile eritrositlerdeki lipit peroksidasyon düzeyleri artmış saptanmıştır. Yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde de bu artışın, en fazla 36-45 yaş grubunda olduğu gözlenmiştir. Kan glutatyon, eritrosit glutatyon peroksidaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktiviteleri kontrol grubuna göre azalmış saptanırken, eritrosit katalaz aktivitesi ile plazma E vitamini düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (81).

#### **2.1.5.4. Diğer Hipotezler**

Nöral, otoimmün ve oksidatif stres hipotezleri vitiligo etiyopatogenezinde temel olarak kabul edilmekle birlikte, viral etiyoloji, melanositlerin yaşam sürelerinde azalma gibi teorilerden de bahsedilmektedir (1).

#### **2.1.6. KLİNİK**

Vitiligo; süt beyazı renkte, yuvarlak veya oval şekilli olabilen, boyutu birkaç milimetre ile birkaç santimetre arasında değişen keskin sınırlı depigmente lezyonlarla karakterizedir.

Vitiligo makülünün görünümüne göre isimlendirilmiş varyasyonları bulunmaktadır. Bunlar trikrom, kuadrikrom, pentakrom ve inflamatuvar vitiligo olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca belli belirsiz hipopigmente maküllerle karakterize lezyonları tanımlayan konfeti-tipi vitiligoyu ayrı bir varyant olarak kabul edenler de vardır.

- Triokrom vitiligo: Tipik vitiligo makülü ile normal deri arasında sarı-kahve renkte bir halka bulunur. Sonuçta vitiligo plağı üç renk olarak görülür. Buradaki hipopigmente alanlar tamamen depigmente olur.
- Kuadrikrom vitiligo: Vitiligo plağında repigmentasyonun başlaması ile perifoliküler alanda veya lezyon sınırında hiperpigmentasyon izlenir. Bu durum genellikle koyu ten rengine sahip kişilerdeki repigmentasyon sürecinde gözlenen bir bulgudur.
- Pentakrom vitiligo: Vitiligo makülünde beyaz, açık kahverengi, kahverengi, mavigrri hiperpigmentasyon ve normal deri rengi de dahil olmak üzere beş renk bulunur. Mavi renk; melanin inkontinansı ve postinflamatuar hipermelanozis gösteren vitiligo makülüne karşılık gelmektedir.
- İnflamatuvar vitiligo: Tinea versikolor lezyonlarına benzer şekilde eritemli bir sınır izlenir. Eritem, vitiligo makülünün güneşe maruz kalması sonrasında da izlenebilmektedir.

Vitiligonun klinik tipleri ise; lezyonların yaygınlığına ve dağılımına göre tanımlanmıştır. Buna göre fokal, segmental, jeneralize, akrofasiyal ve üniversal olmak üzere beş farklı tipi vardır (82).

- Fokal vitiligo: Bir veya birkaç izole makül şeklindedir. Genellikle çocuklarda görülür. Erişkin vitiligo olgularının % 5'ini oluşturur. Bu tip vitiligo, genellikle trigeminal sinir dağılım trasesine uyan alandadır, diğer tutulum alanları ise boyun ve gövdedir. Vitiligo sınıflamasında 2012'deki revizyona göre fokal vitiligo tanısının hipopigmente makül kliniğinde olan diğer deri hastalıklardan gerekirse histopatolojik olarak ekarte edildikten sonra konabileceği bildirilmektedir (83).
- Segmental vitiligo: Sadece bir veya birkaç dermatom bölgesine yerleşen vitiligo makülleridir. Genellikle diğer bölgelerde lezyonun saptanmaması, bölgesel olarak terlemede azalmanın eşlik edebilmesi, koebner fenomeninin pozitif olması ve sistemik hastalıklar ile birlikteliğe rastlanmaması bu formun önemli özellikleri arasında yer almaktadır. Segmental vitiligo, jeneralize vitiligodan daha erken yaşlarda başlaması; genelde başlangıçtan

birkaç yıl sonra stabilize olması ve diğer otoimmün hastalıklarla ya da ailesel kalıtım paterniyle ilişkili olmaması yönleriyle ayrılır. Sıklıkla trigeminal alan tutulur. Patogenezinden nöral peptitlerdeki değişiklikler sorumlu tutulmaktadır. Olguların yarısından fazlasına poliozis eşlik eder. Jeneralize vitiligonun aksine sınırlı segmentte, hızlı yayılım gösterir (84).

- Jeneralize vitiligo: Vitiligonun en sık görülen tipidir. Vitiligo vulgaris olarak da tanımlanır. Tüm vücutta yaygın ve simetrik dağılmış depigmente maküller ile karakterizedir. Metakarpofalangeal eklem, metatarsfalangeal eklem yüzeyleri, dizler, dirsekler gibi ekstansör yüzlerde daha sık olarak yerleşir.
- Akrofasiyal vitiligo: Bu tip vitiligoda parmakların distali ile yüzde perioral bölge tutulmaktadır.
- Üniversal vitiligo: Vücut yüzey alanının tamamını kaplayacak kadar yaygın vitiligo lezyonları ile karakterizedir. Birkaç alanda normal deri alanı kalmış olabilir. Çoklu endokrinopatilerin eşlik ettiği sendromlarla birlikteliği sıktır.

2012’de, vitiligonun sınıflama ve terminolojisinin revize edildiği ‘Vitiligo Küresel Uzlaşma Konferansı’nda, fokal, mukozal ve üniversal vitiligo tanımlamaları yer almakla birlikte segmental, punktat, mikst ve mesleksel/kontakt vitiligo terimleri tam sınıflanamayan vitiligoid durumlar olarak belirtilmiştir (83).



**Tablo 2. Vitiligonun klinik sınıflaması**

<b>VİTİLİGO TİPİ</b>	<b>ALT TİPLER</b>
<b>Segmental olmayan vitiligo</b>	Akrofasiyal Mukozal (birden çok mukozal alanda) Jeneralize Üniversal Mikst
<b>Segmental vitiligo</b>	Bir veya birden çok dermatomu içeren tarzda
<b>Tanımlanamamış/sınıflanamamış vitiligo</b>	Fokal Mukozal (tek mukozal alanda)

Mukozal vitiligo, özellikle genital alanı etkilediğinde liken sklerozus ile ayırıcı tanısı zor olabilmekte ve mutlaka biyopsi ile doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca bu iki ayrı antitenin bir arada bulunabilmesi de mümkündür. Oral mukozanın tutulumu nadir görülür ve kolaylıkla gözden kaçabilir.

Mesleksel/kontakt vitiligo, ev veya iş ortamında maruz kalınan fenol ve katekollerin alifatik türevleri ile ilişkilidir. Burada vitiligo temas alanları ile sınırlı depigmente yamalar şeklindedir (83).

#### 2.1.7. AYIRICI TANI

Vitiligonun ayırıcı tanısında hipopigmentasyon görülen çok sayıda hastalık ve sendrom yer almaktadır (1).

Nevüs depigmentozus, yaşamın ilk yılında fark edilen ve çocuğun büyümesiyle orantılı bir şekilde büyüyen segmental hipopigmentasyon olup özellikle segmental vitiligonun ayırıcı tanısında akla gelmektedir.

Piebaldizm doğumdan itibaren var olan, alın orta hat yerleşimli depigmentasyon ve tutulan alanda saçların beyazlaması ile karakterize otozomal dominant kalıtmı bir hastalıktır.

**Tablo 3. Vitiligonun ayırıcı tanısına giren hastalıklar**

<b>Kimyasallarla indüklenen lökoderma</b>
<b>Enfeksiyonlar</b> Leishmaniazis Lepra Onkoseryazis Tinea versikolor Pinta ve sfiliz
<b>Genetik sendromlar</b> Ito'nun hipomelanozisi Piebaldizm Tuberoz skleroz Waardenburg sendromu
<b>Postinflamatuvar hipopigmentasyon</b> Atopik dermatit Allerjik kontakt dermatit Fototerapi/Radyoterapi tarafından indüklenen hipopigmentasyon Pitiriyazis alba Posttravmatik hipopigmentasyon Psoriasis Sistemik lupus eritematozus İlaçlarla indüklenen depigmentasyon
<b>Neoplastik</b> Amelanotik melanom Halo nevüs Melanom ilişkili lökoderma Mikozis fungoides
<b>İdiyopatik</b> İdiyopatik guttat hipomelanozis Liken sklerozus Liken striatus benzeri lökoderma Melazma Progresif maküler hipomelanozis
<b>Malformasyonlar</b> Nevüs anemikus Nevüs depigmentozus

## 2.1.8. VİTİLİGO İLE İLİŞKİLİ HASTALIK VE SENDROMLAR

Vitiligo ile ilişkisi en çok bilinen hastalıklar tiroid hastalıklarıdır. Cho ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada 324 hastanın 15'inde (% 5,9), tiroid patolojisi saptanmış ve çocuklar ile erişkinlerdeki insidans benzer bulunmuştur (85).

Jeneralize vitiligo; segmental vitiligoya göre diğer hastalıklarla daha çok birliktelik gösterir. Vitiligo ile ilişkisi üzerinde en fazla durulan sendrom, otoimmün poliendokrinopati kandidiyazis ektodermal displazi (APECED) sendromudur.

APECED sendromu gibi poliglanduler yetmezlikle seyreden ve otozomal dominant kalıtılan diğer bir hastalık ise Schmidt sendromudur.

Vogt-Koyonagi-Harada hastalığı, üveit, aseptik menenjit, disakuzi, alopesi, poliozis, tinnitus ve vitiligo bulgularının bir arada olduğu, nadir görülen, sistemik bir T hücre aracılı bir hastalıktır.

Kabuki sendromu, çoklu malformasyonlar (büyüme gelişme geriliği, konjenital kalp defektleri, iskelet anomalileri, karakteristik yüz görünümü ve boy kısalığı), idiyopatik trombositopenik purpura, hemolitik anemi ve vitiligonun görülebildiği nadir bir genetik hastalıktır.

Alezzandrini sendromu, tek taraflı fasiyal vitiligo, poliozis, sağırılık, tapetoretinal dejenerasyon ile karakterizedir.

Mitokondriyal bir hastalık olan MELAS sendromu (mitokondriyal ensefalomiyopati, laktik asidoz, stroke benzeri epizotlar) da vitiligonun eşlik edebildiği bir diğer sendromdur (1).

**Tablo 4. Vitiligo ile ilişkili hastalık ve sendromlar**

<p><b>Sık birliktelik gösteren hastalıklar</b></p> <p>Addison hastalığı Alopesi areata Atopik dermatit Otoimmün tiroid hastalığı Kronik ürtiker Diyabetes mellitus Halo nevüs Hipoakuzi Hipoparatiroidizm İktiyozis Pernisyöz anemi Psoriasis Romatoid Artrit</p>
<p><b>Nadir birliktelik gösteren hastalıklar</b></p> <p>Akrokeratozis paraneoplastika Bazex Alezzandrini sendromu APECED sendromu Astım Ataksi-telenjiektazi Sağrlık DOPA-yanıtlı distoni Disgamaglobulinemi İnflamatuvar bağırsak hastalıkları Kabuki sendromu Kaposi sarkomu Melanom MELAS sendromu Morfea Multipl skleroz Myastania gravis Melanom dışı deri kanserleri Pemfigus vulgaris Sarkoidoz Schmidt sendromu Sistemik lupus eritematozus Turner sendromu Yirmi tırnak distrofisi Vogt-Koyanagi-Harada sendromu</p>

## 2.1.9. TEDAVİ

Çok sayıda tedavi seçeneğinin denendiği bir hastalık olan vitiligo, bu seçeneklerin hiç birinin küratif olmaması nedeniyle hastalar için önemli bir psikolojik ve sosyal bir sorun oluşturmaktadır.

Vitiligo tedavisinde elde edilebilecek başarı oranı, hastalığın yaygınlığına, deri rengine, hastanın yaşına, seçilecek tedaviye ve tedavi sürelerine bağlı olarak değişebilmektedir. Bu nedenle tedaviye başlamadan önce hastalar bilgilendirilmeli ve birliktelik gösterebilecek otoimmün hastalıklar açısından da gerekli araştırmalar yapılmalıdır.

Vitiligo tedavisinde en sık tercih edilen tedavi yöntemleri arasında topikal kortikosteroidler, immunomodülatör ilaçlar, fototerapi ve çeşitli cerrahi teknikler sayılabilir (86).

### 2.1.9.a. Destekleyici Tedaviler

#### 2.1.9.a.1. Güneş Koruyucular

Ultraviyole A ve B ışınlarının kısa ve uzun dönemli yan etkilerini azaltmak, koebnerizasyonu engellemek ve normal deri ile vitiligolu deri arasındaki renk zıtlığının artarak vitiligolu alanların daha belirgin hale gelmesini önlemek amacıyla güneş koruyucuların kullanımı önerilmektedir.

#### 2.1.9.a.2. Kamuflej Kozmetikleri

Özellikle yüz, boyun ve ellerdeki depigmente makül ve yamalar için kozmetik makyaj boyları veya topikal boylar kullanılabilir.

#### 2.1.9.a.3. Nutrisyonel Tedaviler

Vitiligonun başlangıçtaki yayılma döneminde vitaminler, eser elementler ve protein kaynağı ile konservatif tedavi hastalığın ilerlemesini durdurabilir.

Tirozinazın esansiyel bir ögesi olan bakır melanogenezde önemli bir rol oynar. Çinko, manganez, nikel, kobalt, kalsiyum, demir, askorbik asit ve alfa-tokoferolün de vitiligonun pigmentasyon sürecini etkilediği bildirilmektedir (87).

## 2.1.9.b. Cerrahi Dışı Tedaviler

### 2.1.9.b.1. Kortikosteroidler

Topikal kortikosteroidler, hem çocuklar hem de erişkinlerde vitiligo tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan ilaçlardır. Çocuklarda erişkinlere göre daha etkili olduğu bilinmektedir. Kwinter ve ark.'ları topikal kortikosteroid tedavisi ile 101 çocuk hastanın % 64'ünde iyileşme, % 49,3'ünde ise tam pigmentasyon sağlandığını belirtmişlerdir (88).

Hastanın yaşına, lezyonların lokalizasyonuna ve yaygınlık derecesine göre zayıf, orta etkili veya güçlü preparatlar seçilebilir. Genellikle tedaviye güçlü steroidler ile başlayıp, zayıf etkili olanlarla devam edilmesi önerilmektedir.

Uzun süreli topikal kortikosteroid kullanımı ile ilgili en önemli sorun, bölgesel (atrofi, hipertrikoz, telenjektazi, akneiform lezyonlar) ve sistemik yan etkilerdir. Bunların içinde en ciddi olanı, özellikle çocuklarda, uzun süreli güçlü topikal kortikosteroid kullanımı sonrası gelişen adrenal supresyondur. Bu nedenle topikal kortikosteroid tedavisi 2 ay düzenli kullanıldıktan sonra yanıt alınamıyorsa tedavi kesilmelidir.

Sistemik steroidlerin, sitotoksik melanosit antikörlerini azalttığı; özellikle yeni başlayan ve yaygın lezyonu olan olgularda daha etkili olduğu düşünülmektedir (87).

### 2.1.9.b.2. Kalsipotriol

Tek başına veya topikal steroidler ile ya da ultraviyole ile kombine edilerek uygulanabilen diğer bir topikal tedavi seçeneğidir. Psoriaziste antiproliferatif etkisi nedeniyle kullanılan kalsipotriol, vitiligoda melanogenez üzerinde immunmodülatör etkisi nedeniyle tercih edilmektedir. Topikal steroidlere göre yanıt oranı daha düşüktür. Ancak kombine edildiklerinde repigmentasyondaki stabiliteyi arttırdığı belirtilmektedir. Dar band UVB (dbUVB) ile kombine edildiğinde pigmentasyonu geciktirdiğini belirten yayınlar olmakla birlikte, genel olarak kümülatif ultraviyole dozunun azaltılmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (89,90,91).

### 2.1.9.b.3. Kalsinörin inhibitörleri

Kalsinörin, lenfosit ve dendritik hücrelerde bulunan hücre içi bir proteindir. Aktive olduğunda IL-2 başta olmak üzere inflamatuvar sitokin salınımını sağlar. Takrolimus ve

pimekrolimus, T hücre aktivasyonunu baskılayarak ve IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını engelleyerek etki gösteren kalsinörin inhibitörleridir. Kollajen sentezi ve keratinosit proliferasyonu üzerine etkisi olmadığından deride atrofiye yol açmaz. Bu nedenle çocuklarda ve göz kapakları, genital bölge gibi derinin daha ince olduğu alanlarda kullanılabilir. En başarılı klinik yanıt baş ve boyun uygulamalarında görülmektedir. Topikal steroide göre repigmentasyon başarısı düşük olmakla birlikte, yanıt alınan olgularda iyileşmenin erken başlaması yüz güldürücü olmaktadır.

Tedaviye bağlı olası yan etkiler; eritem, kaşıntı ve yanma gibi irritasyona ait bulgular, hiperpigmentasyon ve aknedir. İki veya 4 haftalık kısa dönemli veya uzun dönemli ancak aralıklı kullanımları önerilmektedir. Dirençli olgularda oklüzyon tedavisi olarak da uygulanabilir (87).

#### 2.1.9.b.4. Fotokemoterapi

Fotokemoterapi, vitiligoda repigmentasyon sağlayan etkili bir tedavi yöntemidir. Psoralen grubu ilaçlarla birlikte 320-400 nm dalga boyunda olan UVA, immunsupresyon ile melanosit aktivasyonu ve melanin üretimde artışa neden olur.

Vitiligoda lokal PUVA ve dbUVB de uygulanabilmektedir.

PUVA tedavisi; melanositlerde hipertrofi ve melanozomlarda aktivasyona neden olarak başta kıl follüküllerinde pigmentasyonun sağlanmasıyla perifoliküler hiperpigmentasyona neden olur. Bu tedavide; 8-metoksipsoralen (8-MOP) oral (0.4-0.6 mg/kg) olarak alındıktan 1.5-2 saat sonra UVA uygulaması yapılır. Vitiligolu hastalar için başlangıç dozu 0.5-1.0 j/cm<sup>2</sup> dir. Tutulan deride asemptomatik minimal eritem oluşuncaya kadar doz aşamalı olarak arttırılır. Baş ve boyun bölgesindeki lezyonlar tedaviye daha iyi yanıt verirken ekstremiteler dirençli seyredebilmektedir. Elde edilmiş başarılı sonuçlara rağmen hastalardaki tedavi yanıtları oldukça değişkendir. Total repigmentasyon vitiligolu hastaların sadece %15-20'sinde sağlanabilir (92, 93). PUVA'ya en iyi yanıt deri tipi 3 ve 4 olan koyu tenli kişilerde alınır.

Maksimum repigmentasyon elde edebilmek için hastaların 100 seans üzerinde tedavi alması gerekebilir. Genellikle 16 ile 24. seansta pigment oluşumu gözlenmekle birlikte bazı hastalarda daha erken yanıt alınabilir.

Khellin, oral veya sistemik yolla uygulanarak fototerapide duyarlandırıcı olarak kullanılabilen maddedir. Yapısı ve fotokimyasal özellikleri 8-MOP'a benzer. Sistemik ve topikal uygulamalarıyla PUVA ile benzer etkinlikte olduğu belirtilmektedir. Sistemik yolla verildiğinde 8-MOP'a benzer gastrik yan etkiler gözlenir. Mutajenik ve karsinojenik etkilerinin daha az olduğu düşünülmektedir.

DbUVB tedavisi, melanin üretiminde anahtar enzim olan tirozinazı indükler ve melanozom yüzeyindeki HMB45 düzeyini artırıcı etki gösterir. Tek başına kullanıldığında repigmentasyon oranları % 41,6-100 arasında değişmektedir (94, 95, 96, 97, 98). PUVA ile etkinliğinin kıyaslandığı çalışmalarda ya benzer sonuçlar elde edilmiş, ya da UVB daha üstün bulunmuştur (99, 100).

Akut dönemde fototoksik reaksiyonların, geç dönemde de deri yaşlanması, fotokarsinogenez gibi yan etkilerin minimize edilmesi için suberitematojenik dozda kullanımı önerilmektedir (101).

DbUVB ışığı sadece hipopigmente alana mikrofototerapi tekniği ile uygulanabilmektedir. Özellikle lokalize ve segmental vitiligo ile vücut yüzey alanının % 20'sinden azı tutulduğunda minimum yan etki profili ile güvenli bir tedavi seçeneği olmaktadır. Ayrıca bu uygulama farklı vücut alanlarına farklı dozları uygulayabilme avantajı da sağlamaktadır (102).

#### 2.1.9.b.5. Lazer Tedavisi

Vitiligoda lazer kullanımı son on yılda denenen nispeten yeni bir tedavidir. Etki mekanizması konvansiyonel ışık tedavileri gibi olup, daha az total ışık maruziyeti sağlaması ve normal deriye etkisinin olmaması gibi avantajları sahiptir.

Vitiligoda en fazla denenen monokromatik excimer lazerdir. Xenon klorid; 308 nm dalga boyu ile 311 nm olan dbUVB'ye benzer bir spektruma sahiptir. FDA tarafından vitiligoda kullanımı onaylı olup haftada 1 ile 3 arasında sıklıkla 12 hafta olarak uygulanmaktadır. Ortalama 10-20. seanslar arasında repigmentasyon başlar. Baş ve boyun bölgesindeki lezyonlar, PUVA'ya benzer şekilde ekstremitelere göre daha iyi yanıt vermektedir.

Helyum neon lazer ise tedavide en çok zorluk yaşanan vitiligo tipi olan segmental vitiligoda kullanılabilir (87,103).



#### 2.1.9.b.6. Antioksidanlar

Oksidatif stresin vitiligo etiyopatogenezinde rolü olduğu görüşüne dayanarak topikal ve oral antioksidanlar vitiligo tedavisinde denenmektedir. Bu amaçla kullanılanlar; C ve E vitaminleri, α-lipoik asit, ginkgo biloba, topikal katalaz, SOD ve polipodyum lökotomos olmuştur.

Metiyonin sülfoksit redüktaz; reaktif oksijen radikallerinin hücreler üzerindeki destrüktif etkilerini azaltan bir enzimdir. Bu enzim düzeyinin düşük olması melanositleri oksidanlara daha duyarlı hale getirmektedir. Oral antioksidan tedavisi ile katalaz aktivitesi de artmaktadır.

Vitiligoda antioksidan desteğinin tedavi edici özelliği iyi tanımlanmamıştır. Ancak çoğu otör tarafından düşük maliyetli, iyi tolere edilebilir ve etkili bulunmaktadır (87). Yapılan çift kör plasebo-kontrollü bir çalışmada tek başına kullanılan oral ginkgo biloba, plaseboya göre hastalığın progresyonunu yavaşlattığı görülmüştür (104). DellAnna ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, dbUVB tedavisine; α-lipoik asit, vitamin E, C ve poliansatüre yağ asitlerinin eklenmesiyle repigmentasyon oranının % 18'den % 47'ye yükseldiği belirtilmiştir (105).

Oral antioksidan destek tedavilerinin yanı sıra katalaz ve SOD enzimlerinin topikal formunu içeren preparatlar da kullanılabilir (87).

#### 2.1.9.c. Cerrahi Tedavi

Medikal tedavilerin başarılı olamadığı durumlarda, özellikle akral yerleşimli olmayan, segmental veya stabil lokalize vitiligolu olgularda cerrahi tedavilere başvurulabilir. Cerrahi tedavi yöntemleri çeşitli greftleme tekniklerinden oluşmaktadır. Tüm greftlemeler melanosit içermeyen hastalıklı deri alanının yerine melanosit içeren derinin konulması esasına dayanır. Pigmente deri alanından alınan (tercihen gluteal bölge iç-üst kadrandan) greft, vitiligolu alana implante edilir. Tedavinin ilk haftasından sonra yapay veya doğal UV uygulaması repigmentasyonu hızlandırmaktadır. Emme bülü oluşturarak greftleme bir başka tekniktir (103).

#### **2.1.9.d. Depigmentasyon Yapıcı Ajanlar**

Vücutun % 50'sinden fazlası tutulduğunda; kozmetik kaygıları ön planda olan kişiler için depigmentasyon; sunulabilecek bir seçenek olmaktadır. Bu amaçla kullanılan ilaçlar monobenzon, hidrokinon ve türevleridir. Bunlar dışında Q-switched ruby ve alexandrite lazerler de depigmentasyon için kullanılabilirlerdir.

#### **2.1.9.e. Diğer Tedaviler**

Vitiligo tedavisinde sayılan bu tedavilerden başka, yeni seçenekler, psikoterapi, TNF  $\alpha$  inhibitörleri, minosiklin ve immunsüpresiflerdir. TNF  $\alpha$ , melanosit ölümünü indükleyen ve kök hücrelerden melanosit farklılaşmasını inhibe eden proinflamatuvar bir sitokindir. Minosiklin; antiinflamatuvar, immunmodülatör, antioksidan ve antibiyotik özellikleri olan bir moleküldür. Vitiligonun ilerlemesini durdurucu ve repigmentasyon sağlayıcı etkileri gözlenmiştir. Ancak vitiligo tedavisindeki etkinliği için kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır (87).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **Çalışma Grubu**

Vitiligo hastalarında SOD 1 ve 2 polimorfizmini değerlendirmeye yönelik yapılan bu çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'na vitiligo nedeniyle başvuran 101 hasta dahil edildi. Kontrol grubu, vitiligosu olmayan, yaş ve cinsiyet dağılımı benzer olan 99 gönüllüden oluşturuldu. Çalışma öncesi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (25.03.2011 tarih ve B.30.2.EGE.0.20.05.00/OY/431-195 sayı, 11-2.1/12 karar no'lu). Hem hasta hem de kontrol grubunda yer alan bireylere çalışma protokolü anlatıldı, bilgilendirilmeden sonra onay formu imzalatıldı.

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin, yaş, cinsiyet, medeni durum, iş, beslenme tercihleri (vejeterian olan ve olmayan), bilinen ek hastalık ve ultraviyole maruziyetleri sorgulanarak kaydedildi. Vitiligo hastalarının hastalık süreleri ve birinci derece yakınlarında vitiligo olup olmadığı sorgulandı.

Vitiligo tanısı Wood ışığı muayenesi yapılarak klinik olarak konuldu. Fizik muayenede, vitiligo lezyonlarının vücut yüzeyine dağılımı fokal, segmental, jeneralize, akrofasiyal, üniversal ve miks tip olarak değerlendirilip kaydedildi. Hastaların geçmişte aldıkları tedaviler öğrenildi.

#### **Örneklerin Toplanması ve Saklanması**

Çalışma ve kontrol grubundan steril silikonize 2 ml'lik % 7.5 etilendiamintetraasetikasit (EDTA) içeren vakumlu tüplere venöz kan örnekleri alındı ve alınan kan örnekleri DNA izolasyonu yapıncaya kadar +4 °C'de saklandı. Alınan kan örneklerinde SOD1 35 A/C ve SOD2 Ala-9Val (C/T) polimorfizmleri çalışıldı.

#### **Kandan DNA İzolasyonu ve DNA Amplifikasyonu**

EDTA'lı tüpe alınan periferik kan lenfositlerinden DNA izole edildi. İzolasyon İnvisorb spin blood kit (İnvitek) ile gerçekleştirildi. EDTA'lı tüplerden 200 µl kan

eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerine 20 µl proteinaz K ve 200 µl Lysis buffer A eklenerek 10–15 saniye vortekslendi, 56 °C su banyosunda 10 dakika enkübe edildi. Elution buffer D, 56 °C su banyosunda, ısınması için bırakıldı. Spin filtreler, Recevier tüplerine yerleştirildi. Daha sonra üzerine 400 µl Binding buffer B6 eklendi ve filtreli tüplere aktarıldı. Filtreli tüpler içerisinde oda sıcaklığında 1dakika enkübasyon uygulandı. Bu filtreli tüpler 1 dakika sonra 12000 rpm de 2 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj işlemi bitiminde filtreler Recevier tüplerinden çıkarıldı ve recevier tüpleri boşaltıldı. Filtreler tekrar Recevier tüplerine yerleştirildi ve filtrelerin üzerine 500 µl Wash buffer I eklenerek tekrar santrifüje yerleştirildi.12000 rpm de 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı ve tekrar Recevier tüpleri boşaltıldı. Filtrelerin üzerine Wash buffer II solusyonu eklendi ve 12000 rpm de 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj işlemi bitiminde Recevier tüpleri boşaltılarak maximum rpm de 4 dakika kuru santrifüj işlemi uygulandı ve filtreler Eppendorf tüplerine alındı. Bu işlemden sonra, daha önce 56 °C su banyosunda bekletilmiş olan Elution buffer D her örnek için 200 µl olmak üzere filtrelerin üzerine eklenerek, 3 dakika oda sıcaklığında enkübasyona bırakıldı. Enkübasyon bittikten sonra 10000 rpm de 1 dakika santrifüj yapılarak DNA izolasyon aşaması bitirildi. DNA izolasyon başarısı %2' lik agaroz jelde kontrol edildi.

DNA izolasyonu ve amplifikasyonu için gerekli alet ve kimyasalların listesi aşağıda yer almaktadır.

#### **DNA izolasyonu ve amplifikasyonu için gerekli alet ve kimyasalların listesi**

- Termal cycler (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9600)
- Otomatik pipetler (1–10 µl ve 10–100 µl)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 0.5 ml'lik ve 1,5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- 0,2 µl lik PCR tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Otoklav (Hirayama)
- Otoklav bantı (Sussex)
- Steril kavanozlar
- Buz kalıbı
- Kâğıt havlu
- Deiyonize su
- Mineral yağ (Sigma M–5904 Lot 38H0021)
- Taq DNA Polimeraz (Fermentas #EP402 Lot 4835)
- MgCl<sub>2</sub> (Fermentas Lot4835)
- 10X PCR Buffer (Fermentas Lot 4835)
- 100 mM Tris HCl (pH: 8.-250C de)
- 500 mM KCl
- %0.8 Nonidet P4O
- dNTP karışımı (MBI- Fermentase)
- İnvisorb spin blood kit (İNVİTEK)
- Filtreli tüpler
- Receiver tüpleri
- Eppendorf tüpleri
- Proteinaz K
- Lysis buffer A
- Binding buffer B6
- Wash buffer I
- Wash buffer II
- Elution buffer D
- Etanol(%95–99)
- Otomatik pipetler (1–10 µl ve 10–100 µl, Eppendorf)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Vorteks (Heidolph Reaks Top)
- Santrifüj (Sigma 1–15)
- Su banyosu (Nüve BM 302)
- Steril eldiven

## Primerlerin Sulandırılması

SOD1 35 A/C ve SOD2 Ala-9Val (C/T) polimorfizmleri için kullanılan primerler aşağıdadır:

— *SOD1 35 A/C*

F: 5'CTATCCAGAAAACACGGTGGGCC 3'

R: 5'TCTATATTCAATCAAATGCTACAAAAC3'

— *SOD2 Ala-9Val (C/T)*

F: 5'GCTGTGCTTTCTCGTCTTCAG 3'

R: 5'TGGTACTTCTCCTCGGTGACG3'

Liyofilize durumdaki primerlere kullanma talimatında belirtilen miktarda su eklenerek ve 100 pmol/  $\mu\text{l}$  'lik stok çözelti hazırlandı. PCR işleminde kullanılmak üzere stoktan 5 pmol/  $\mu\text{l}$  'lik konsantrasyonu olan 100  $\mu\text{l}$  'lik çözeltiler hazırlandı ve her PCR işlemi için dilusyondan 2  $\mu\text{l}$  kullanıldı.

## Reaksiyon Karışımı

Her bir örnek için hazırlanan total PCR reaksiyon karışımı 25  $\mu\text{l}$  'dir. H<sub>2</sub>O, 10X buffer, MgCl<sub>2</sub> (25mM), dNTP (4x25  $\mu\text{mol}$ ), primerler ve Taq polimerazdan oluşan karışım her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi. Bu karışımın üzerine buharlaşmayı engellemek için 30  $\mu\text{l}$  mineral yağ eklenerek amplifikasyon gerçekleştirildi.

H <sub>2</sub> O	10,2 $\mu\text{l}$ .
Buffer	2,5 $\mu\text{l}$ .
MgCl <sub>2</sub>	1,75 $\mu\text{l}$ .
dNTP	1,2 $\mu\text{l}$ .
IL10	
F	2 $\mu\text{l}$ .
R	2 $\mu\text{l}$ .
Taq polimeraz	0,3 $\mu\text{l}$ .
DNA	5 $\mu\text{l}$ .

## İzlenen PCR Programı

Denatürasyon	95 °C	3 dakika	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	45 saniye	30 döngü
Bağlanma	59 °C	45 saniye	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Final uzama	72 °C	5 dakika	1 döngü

PCR programı bittikten sonra amplifikasyon ürünleri +4 °C'de saklandı. Isıyı sabit tutabilmek için PCR işlemi gerçekleştirilirken oda sıcaklığı +20 °C 'de tutuldu.



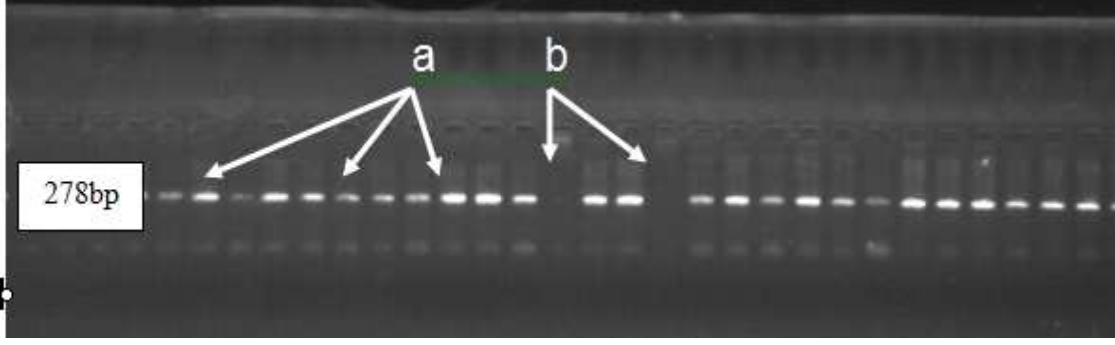
Şekil 3. PCR aleti (Gene Amp PCR System 9700)

**Agaroz jel elektroforezi için gerekli alet ve kimyasalların listesi**

- Yatay elektroforez (Thermo Midicell)
- Güç kaynağı (Desaga, PS600 Fransa)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Erlen mayer
- Mezürler (50 ml, 100 ml, 500 ml)
- Pipetler (2 ml, 1.5 ml, 10 ml)
- Pens ve çeşitli boyutta cam şişeler
- Alüminyum folyo ve streç film
- Buzdolabı ve derin dondurucu (Bosch)
- Manyetik karıştırıcı (Icamag)
- Agaroz (Sigma, A5093 Lot 51K01131)
- Tris baz (Sigma, T8524 Lot 39H5439)
- Borik asit (Carlo erba, Code No 302177)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Na-EDTA (Sigma, E5134 Lot 112K0765)
- Orange G (Biological Industries Lot 204804)
- DNA markır (Fermentas, O'Range Ruler 100bp DNA Ladder)
- Deiyonize su
- Görüntüleme cihazı (VilberLourmat, Marne La Valle, France)
- Tartı (Scaltec, Max.3200 g. d=0,01gr.)
- pH metre (Jenway)

SOD1 35 A/C ve SOD2 Ala-9Val (C/T) bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun olup olmadığının kontrolü % 2'lik agaroz jelde yapıldı. Öncelikle yatay elektroforez tabağının etrafı otoklav bandı ile bantlandı ve tabağa uygun tarak yerleştirildi. 100 ml'lik Erlen içerisine 2 gr agaroz ve 100 ml 0,5xTBE konulup erlenin ağzı alüminyum folyo ile kapatıldı. Folyo üzerinde birkaç küçük delik açılıp bu karışım berraklaşmaya kadar mikrodalga fırında eritildi. Berraklaştıktan sonra 16 µl etidyum bromür eklenip karıştırıldı ve hazırlanan tabağa döküldü. Jel donduktan sonra örnekler jele yüklenirken; bir parça parafilm üzerinde 4µl orange G (yükleme tamponu) ve 4 µl PCR ürünü karıştırılıp jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PCR ürünlerinin doğru amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için her jele markör yüklendi. 120 voltta 3 cm yürütüldükten sonra jel görüntüleme sisteminde incelendi.

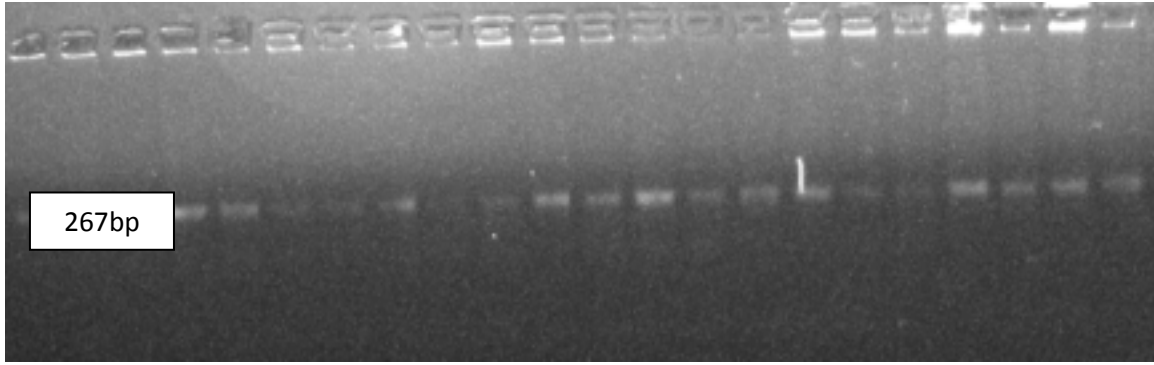




**Şekil 4. SOD1 35 A/C bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun kontrol analizine ait jel görüntüsü**

a: PCR ürünlerinde amplifikasyonun olduğu ürünler

b: PCR ürünlerinde amplifikasyonun olmadığı, PCR'ı tekrar edilen ürünler



**Şekil 5. SOD2 Ala-9Val (C/T) bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun kontrol analizine ait jel görüntüsü**

**DNA'nın enzimatik kesim işlemi için gerekli alet ve kimyasalların listesi**

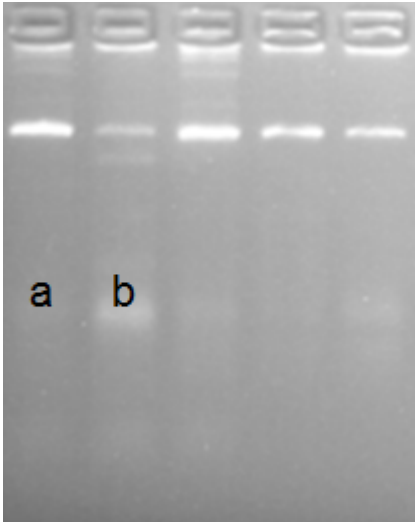
- Su banyosu (Nüve BM 302)
- HhaI restriksiyon enzimi (SOD1 35 A/C bölgesi)
- BsaWI restriksiyon enzimi (SOD2 A16V (C/T) bölgesi)
- Buffer O (Fermentas)

PCR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinden amplifikasyonun oluşum kontrolü yapıldıktan sonra enzimatik kesim işlemi yapıldı. PCR ürünü 278bç'dir. HhaI restriksiyon enzimi ile özgün PCR ürünü kesildiğinde 207bç ve 71bç boyutları vermektedir. SOD2 Ala-9Val (C/T) bölgesi PCR ürünün 267bç'dir. BsaWI özgün restriksiyon enzimi ile PCR ürünü kesildiğinde 183bç ve 84bç boyutları vermektedir.

### Kesim Koşulları

PCR ürünü	10 µl
Buffer	2 µl
Enzim	1 µl
H2O	3 µl
BsaWI Kesimi	
PCR ürünü	10 µl
Buffer	2 µl
Enzim	1 µl
H2O	3 µl

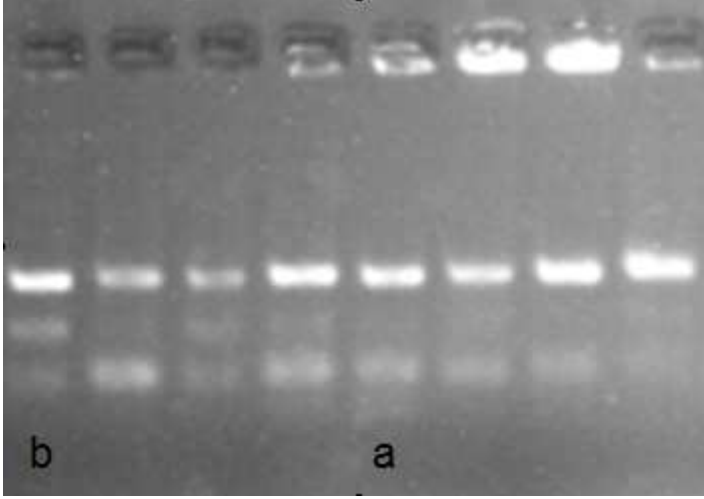
Restriksiyona uğramış PCR ürünlerinde amplifikasyonun olup olmadığının kontrolü % 3.5'lik agaroz jelde yapıldı. Örnekler jele yüklenirken kesim ürünleri üzerine 5µl orange G (yükleme tamponu) eklendikten sonra 13 µl'si jeldeki kuyucuklara yüklendi. Yürüyüş panellerine göre değerlendirildikten sonra görüntülendi.



**Şekil 6. SOD1 35 A/C bölgesinin enzim kesim analizinde;**

**a: SOD1 35 AA genotipine ait jel görüntüsü**

**b: SOD1 35 AC genotipine ait jel görüntüsü**



**Şekil 7. SOD2 Ala-9Val (C/T) bölgesinin enzim kesim analizinde;**

**a: SOD2 CT genotipine ait jel görüntüsü**

**b: SOD2 CC genotipine ait jel görüntüsü**

### **İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizlerde SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programından yararlanıldı ve p değeri  $< 0,05$  olduğunda sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Yaş bakımından grupların karşılaştırılmasında 'Mann-Whitney U' test kullanıldı. Cinsiyet bakımından grupların karşılaştırılmasında 'chi-square' testi kullanıldı.

SOD1 35 A/C ve SOD2 Ala-9Val (C/T) polimorfizmleri ve allel frekansı vitiligo hastalarında ve kontrol gruplarında 'chi-square' testlerinin yardımıyla karşılaştırıldı.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 101 hastanın 58'si kadın, 43'ü erkek (ort yaş; 37,48), kontrol grubundaki 99 kişinin 50'si kadın, 49'u erkekti (ort yaş; 36,57). Gruplar arasında yaş ve cinsiyet değişkeni açısından istatistiksel farklılık saptanmadı. Olgu ve kontrol grubunun yaş-cinsiyet dağılımı Tablo 5 ve 6 da gösterilmektedir.

**Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımları**

	Kadın	Erkek	Toplam
<b>Hasta</b>	58 (% 57,4)	43 (% 42,5)	101 (% 100)
<b>Kontrol</b>	50 (% 50,5)	49 (% 49,4)	99 (% 100)

**Tablo 6. Hasta ve kontrol grubunun yaş dağılımları**

	Ortalama	Standart sapma	Medyan	Yaş aralığı
<b>Hasta</b>	37,48	15,287	36	7-68
<b>Kontrol</b>	36,57	12,696	35	18-69

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin mesleki dağılımları Tablo 7'de gösterilmektedir.

**Tablo 7. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin mesleki dağılımları**

	İşsiz	Memur	Serbest Meslek	İşçi	Özel Sektör	Öğrenci	Emekli
<b>Hasta</b>	30 (% 29,7)	15 (% 14,8)	13 (% 12,8)	8 (% 7,9)	3 (% 2,9)	19 (% 18,8)	13 (% 12,8)
<b>Kontrol</b>	31 (% 31,3)	15 (% 15,1)	11 (% 11,1)	14 (% 14,1)	6 (% 6)	11 (% 11,1)	11 (% 11,1)

Hasta grubunda 3 kişi (% 3), kontrol grubunda ise 5 (% 5) kişi vejeteryan olduğunu ifade etti.

Hasta grubunda 18 (% 17,8), kontrol grubunda ise 14 (% 14,1) bireyde ultraviyole maruziyeti saptandı.

Hastalar ve kontrol grubundaki bireyler varlığını bildikleri ek otoimmün hastalıkları açısından sorgulandı. Gruplar, eşlik eden ek hastalık açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ( $p=0,431$ ). Hasta ve kontrol grubunun ek hastalıklar açısından dağılımı Tablo 8’de gösterilmektedir. Tiroid hastalığı ve diyabetes mellitus sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0,238$ ;  $p=0,065$ ).

**Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunun ek hastalıklar açısından dağılımı**

	<b>Tiroid hastalığı</b>	<b>Diyabetes Mellitus</b>	<b>Otoimmün bağ dokusu hastalığı</b>	<b>Pernisyöz anemi</b>
<b>Hasta</b>	12 (% 11,8)	11 (% 10,8)	0	2 (% 1,9)
<b>Kontrol</b>	7 (% 7)	4 (% 4)	3 (% 3)	0

Vitiligo hastalarında ortalama hastalık süresi 9,015 yıl (medyan:5, std sapma:8,4051, min:1, maks:35) olarak saptandı. Hastaların % 22,7 (n=23)’sinin birinci derece yakınında vitiligo öyküsü mevcuttu.

Hastaların vitiligo tiplerine göre dağılımı Tablo 9’da gösterilmektedir.

**Tablo 9. Hastaların vitiligo klinik tiplerine göre dağılımı**

<b>Klinik Tip</b>	<b>Sayı (n)</b>	<b>Sıklık (%)</b>
<b>Fokal</b>	46	45,5
<b>Akrofasiyal</b>	25	24,7
<b>Jeneralize</b>	21	20,7
<b>Segmental</b>	4	3,9
<b>Üniversal</b>	3	2,9
<b>Miks</b>	2	1,9
<b>Toplam</b>	101	100

Hastaların öykülerinde öncesinde almış oldukları tedaviler de sorgulandı. Bu tedaviler topikal steroid, kalsipotriol, kalsinörin inhibitörü, antioksidan, dbUVB ile PUVA, sistemik antioksidan, cerrahi ve depigmentasyon olarak sınıflanarak sorgulandı. Bu tedavileri alan hasta sayıları Tablo 10’da gösterilmiştir.

**Tablo 10. Hastaların aldıkları tedaviler**

Alınan tedavi	Sayı (n)	Sıklık (%)
<b>Topikal</b>		
▪ Steroid	68	67,3
▪ Kalsipotriol	24	23,7
▪ Kalsinörin inhibitörü	28	27,7
▪ Antioksidan	6	5,9
<b>Fototerapi</b>		
▪ DbUVB	9	8,9
▪ PUVA	9	8,9
<b>Sistemik Antioksidan</b>	14	13,8
<b>Cerrahi</b>	0	-
<b>Depigmentasyon</b>	0	-

Hasta ve kontrol grubu SOD1 35 A/C polimorfizmi için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,277$ ) (Tablo 11).

**Tablo 11. Hasta ve kontrol gruplarında SOD1 35 A/C polimorfizmi için genotip dağılımı**

SOD1 35 A/C		Hasta (n=101)		Kontrol (n=99)		Toplam	$\chi^2$	p
		n	%	n	%			
A/C	AA	96	95,04	97	97,97	193	1,438	0,277
	CA	5	4,95	2	2,02	7		

Hasta ve kontrol grubu SOD2 Ala-9Val (C/T) polimorfizmi için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p=0,047$ ) (Tablo 12).

**Tablo 12: Hasta ve kontrol gruplarında SOD2 Ala-9Val (C/T) polimorfizmi için genotip dağılımı**

SOD2 Ala9Val (C/T)	Hasta (n=101)		Kontrol (n=99)		Toplam	$\chi^2$	p
	n	%	n	%			
CC	26	25,7	35	35,3	61	4,74	0,047
CT	37	36,6	40	40,4	77		
TT	38	37,6	24	24,2	62		

Hasta grubundaki SOD2 Ala-9Val (C/T) TT genotip sıklığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ( $p=0,047$ , OR=2,075, % 95 CI=1,008-4,272) (Tablo 13).

**Tablo 13: Genotip dağılımlarının rölatif risk oranları**

SOD2 Ala-9Val (C/T)		p	OR	%95 CI	O
C/T	CC	0,047	1,000		
	CT		1,215	0,619–2,385	0,572
	TT		2,075	1,008–4,272	0,048

Vitiligo hasta ve kontrol grubu SOD2 Ala-9Val (C/T) ve SOD1 35 A/C polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p= 0,46$  ve  $p= 0,214$ ) (Tablo 14).

**Tablo 14: SOD2 Ala-9Val (C/T) ve SOD1 35 A/C polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması**

SOD	Hasta		Kontrol		Toplam	Fisher's Exact $\chi^2$	p	
	n	%	n	%				
SOD2 Ala-9Val (C/T)	T	154	76,2	124	62,67	139	4,37	0,46
	C	48	23,8	74	37,4			
	<b>Toplam</b>	202	100	198	100			
SOD1 35 A/C	A	197	97,52	196	98,98	393	1,395	0,214
	C	5	2,47	2	1,02			
	<b>Toplam</b>	202	100	198	100			



## 5.TARTIŞMA

Depigmente maküllerle karakterize olan vitiligonun etiyojisi halen netlik kazanmamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda en fazla üzerinde durulan teorilerden birisi melanositlerin oksidatif strese duyarlı olmasıdır. Oksidatif stresin melanosit yıkımında tetikleyici rol oynadığı kabul edilmektedir.

Reaktif oksijen türleri organizmada mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve inflamatuvar hücreler olan makrofaj, eozinofil ve nötrofiller nedeniyle sürekli yapım halindedir. Eksojen olarak UV veya X ışınlarına maruz kalma, metaller tarafından katalizlenen reaksiyonların ürünleri ile atmosferde var olan toksik maddeler de serbest radikal üretimine katkı sağlamaktadır.

Hücre içinde serbest radikallerin en fazla üretildiği yer mitokondridir. Mitokondri hücrenin canlılığını sürdürebilmesi için gereken enerjiyi üreten en önemli organellerden biri olduğu gibi serbest radikallerin de üretildiği ve bunların düzenleyici ve toksik etkilerinin kontrol edildiği organeldir.

Oksidatif moleküllere maruz kalan organizmada DNA modifikasyonu, lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar sitokin salınımı gibi biyolojik olaylar gerçekleşmektedir. Bu etkilerden korunmak için antioksidan sistemler mevcuttur. Bu antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik yapıdadırlar. Enzimatik olmayan antioksidanlar askorbik asit (C vitamini),  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini), glutasyon, karotenidler ve flavinoidler gibi organik bileşiklerin yanı sıra selenyum gibi mineralleri de içermektedir ve bunlar besinlerle alınabilmektedir. Enzimatik olan antioksidanların başında glutasyon peroksidaz, katalaz ve SOD gelir. Bu enzimler mitokondrinin iç ve dış zarlarında yerleşmişlerdir. Normal biyolojik süreçlerde oksidan ve antioksidan sistemler birbirlerini dengeleyerek çalışırlar.

SOD enzimleri hücrelerin serbest radikallere karşı koruma sağlayan en önemli antioksidan enzimlerdendir. Bu enzimeler katalitik bölgelerinin merkezinde redoks metalleri içerirler ve süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürürler.

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin hücre içinde antioksidan sistemlerle dengelenememesi sonucunda, DNA hasarı ve bu sayede oluşan mutasyonlar nedeniyle hücrede kanserleşme, hormon ve sitokin salınımında değişiklikler gibi çok sayıda farklı patoloji gelişebilmektedir. Günümüze kadar oksidatif stresin patogenezinde rol aldığı

düşünülen hastalıkların başında maligniteler, kardiyovasküler hastalıklar, romatoid artrit, diyabet, Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik hastalıklar ile yaşlanma gelmektedir (106).

Vitiligolu hastalarda psikolojik stres veya fiziksel olaylarla tetiklenen lezyon oluşumu iyi bilinmektedir. Travma ve stres ile presinaptik hücrelerden genellikle katekolamin salınımı artar ve bunun sonucunda vazokonstriksiyon ile epidermal-dermal hipoksi gelişir. Sonrasında oluşan reperfüzyon ile ortamdaki serbest oksijen radikalleri ve toksik maddeler artar. Hücresel hipoksi ve reoksijenizasyonun hasar düzeyi hücresel antioksidan düzeyine bağlı olarak değişir. Passi ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada aktif vitiligolu hastaların epidermisinde ubikinon, vitamin E, indirgenmiş glutatyon ve fosfolipid ile çoklu doymamış yağ asitlerinde azalma saptanmıştır. Bu nedenle aktif vitiligolu hastalarda ubikinon, vitamin E, selenyum ve metionin gibi antioksidan kullanımının hem dolaşımdaki, hem de epidermal alandaki antioksidan miktarını arttırarak tedavi edici olabileceği ileri sürülmüştür (107).

Yıldırım ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada vitiligolu dokuda malondialdehit (MDA), NO düzeyi, SOD ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) aktivitesi araştırılmıştır. Yüz on dört vitiligo hastasının doku SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Dokudaki artmış SOD aktivitesinin, süperoksit anyonlarının aşırı üretimine bağlı olabileceği belirtilmiştir (79).

İnsan vücudunun en büyük organı olan deri, aynı zamanda çevresel faktörlere karşı önemli bir fiziksel bariyer oluşturur. Derinin bariyer fonksiyon bozukluğu, diğer dokuları da etkileyen birçok hastalığın oluşmasına neden olabilir. Deride oluşan inflamasyon ve enfeksiyon akut inflamatuvar yanıtın tetiğini çekebilmektedir. Örneğin keratinositlerin kimyasal iritan, allerjen ve uyarılara maruz kalması serbest radikaller aracılı olan stres duyarlı protein kinazları aktive etmektedir. Ayrıca psoriaziste Mn-SOD'un daha fazla eksprese edildiği bildirilmektedir (108).

Polimorfizmler, genetik araştırmalarda genetik bir belirleyici olmaktadır. Eğer toplumun % 1 veya daha fazlası, nadir bir alleli taşıyorsa, bu durum veya hastalık polimorfik kabul edilir.

Günümüze kadar vitiligoda katalaz başta olmak üzere antioksidan enzimlerin doku ve kan düzeylerinin yanı sıra polimorfizmleri de çalışılmıştır. Ancak antioksidan

enzimlerin başında gelen SOD ile ilgili polimorfizmi değerlendiren çalışma bulunmamaktadır. Vaka-kontrol olarak tasarlanan bu çalışmada SOD enziminin iki izoformunda, polimorfizm araştırılmıştır.

SOD1 olarak tanımlanan bakır-çinko SOD (CuZn-SOD), sitozolik bir enzimdir. SOD1 enzimi ile ilgili yapılan genetik çalışmaların önemli bir kısmı fatal, familial ve nörodejeneratif bir hastalık olan amyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalığı üzerinedir. Deng ve ark.'nın 25 ALS'li ailede SOD1'in tüm kodlanan bölgesini taradıkları bir çalışmada ekson 1'de yer alan Ala4Val mutasyonunu diğerlerine oranla daha yüksek bir sıklıkta bulunmuştur. 25 ailenin 8'inde bu mutasyona rastlanmıştır. Bu çalışma kapsamında ekson 2, 4 ve 5'de de mutasyonlar belirlenmiştir (109).

Mancuso ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada SOD 1 geninde Aspartat-90-Alanin (D90A) mutasyonu sporodik ALS'li vakalarla ilişkilendirilmiştir (110).

Zhang ve ark.'ları yaşla ilişkili katarakt olgularında antioksidan enzimlerin gen polimorfizlerini araştırmışlar ve bu çalışmada SOD 1 geninin -251A/G tek nükleotid polimorfizmini çalışmışlardır. Genin G/G genotipi katarakt hastalarında anlamlı düzeyde yüksek ( $p=0,012$ ,  $OR=1,642$ ,  $95\% CI=1,129-2,389$ ) bulunmuş ve A/A genotipinin koruyucu role sahip olabileceği belirtilmiştir (111).

Bu çalışmada SOD1 35 A/C polimorfizmi için genotip dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,277$ ). Gruplar, SOD1 35 A/C polimorfizmi allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,214$ ). Buna göre hasta ve kontrol grubunda genotip dağılımı sırasıyla; % 95,04 AA, % 4,95 CA; % 97,97 AA, % 2,02 CA olarak bulundu. Allelik frekanslar, A alleli için hastalarda % 97,52, kontrollerde % 98,98, C alleli için de hastalarda % 2,47, kontrollerde % 1,02 olarak saptandı. SOD1 enziminin sitozolik yerleşimli olması ve antioksidan tepkimelerin daha çok mitokondride olması, bu enzim için hasta ve kontrol grubundaki genotip ve allel frekansının benzer olmasını açıklıyor olabilir.

Mn-SOD olarak da adlandırılan SOD2 ise, mitokondriyal ve indüklenebilir olması nedeniyle SOD1'e göre çok daha fazla araştırılan bir enzim olmuştur. Süperoksit üretiminin artması ile enzimin transkripsiyon yoluyla üretimi de artmaktadır.

Mn-SOD geni için iki polimorfik yapı belirlenmiştir; bunlar 339. nükleotitte meydana gelen C'nin T'ye dönüşmesi sonucu oluşan Ile58Thr polimorfizmi ile 1183. nükleotitte meydana gelen yine C'nin T'ne dönüşmesi sonucu oluşan Ala-9Val polimorfizmidir. Ile58Thr amino asid değişimi enzimin tetramerik stabilitesini etkileyerek enzimatik aktiviteyi düşürmektedir. Bu durum enzimin ısıya karşı olan dayanıklılığını değiştirmektedir. Ala/Val değişimi proteinin mitokondriyel hedef dizisinde meydana gelmektedir ve enzimin aktivitesinden çok enzimin mitokondriye transfer edilmesinde sorun yaratmaktadır.

Sutton ve ark.'ları fare karaciğerinde Mn-SOD alanin varyantının valin varyantından % 30–40 oranında daha aktif olduğunu ortaya koymuşlardır (112).

Ala-9-Val polimorfizminin Parkinson hastalığı, şizofreni, ürolitiazis, erişkin yaş başlangıçlı obezite, motor nöron hastalığı, ailesel olmayan idiyopatik dilate kardiyomyopati, yaşla ilişkili maküler dejenerasyon, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi hastalıkların yanı sıra, meme, prostat, mide, kolon, akciğer ve deri kanseri gibi çeşitli kanserlerle ilişkisi olup olmadığı incelenmiştir (113,114,115,116,117,118,119). Çok farklı hastalık grubunda yapılan bu çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bu durum Ala allelinin oldukça geniş etnik varyasyonunun olması ile açıklanabilir.

SOD2 enziminin polimorfizminin en çok çalışıldığı hastalık diyabetes mellitus olup, bunu yine diyabete ait komplikasyon olarak tanımlanan hastalıklar izlemektedir. Özellikle diyabetik nöropati gibi uzun dönemli komplikasyonlar, oksidatif stres ile yakından ilişkilendirilmektedir. Diyabetik hastalarda, periferik sinir uçlarında antioksidan enzim aktivitesinin düştüğü bilinmektedir.

Süperoksit radikalini ortadan kaldıran kilit enzim olan Mn-SOD'daki Ala(-9)Val ve Ile58Tr polimorfizmleri, 2001 yılında Chistyakov ve ark.'ları tarafından çalışılmıştır. Mn-SOD için Ala allel sıklığı nöropati olanlarda % 50,6, olmayanlarda ise % 68,5 ( $p < 0,002$ ), Ala/Ala genotipi sırasıyla % 17,1 ile % 39,3 ( $p < 0,002$ ) bulunmuştur. Buna karşın Val alleli % 49,4 ve % 31,5 ( $p < 0,002$ ), Val genotipi ise % 15,9 ve % 2,4 ( $p < 0,002$ ) olarak saptanarak, Mn-SOD'daki Ala(-9)Val değişiminin Rus toplumunda diyabetik nöropati gelişimi açısından anlamlı olduğu belirtilmiştir (120).

Lee ve ark.'ları tip 2 diyabetli hastalarda Mn-SOD'daki V16A polimorfizmi ile ACE genindeki insersiyon ve delesyonu birlikte değerlendirdikleri çalışmalarında,

diyabetik maküler ödem açısından farklılık olup olmadığını araştırmışlardır. Mn-SOD enziminin 2. eksonundaki 16. aminoasitte valinin alaninle transpozisyonu değerlendirilmiştir. Aslında bu polimorfizm Ala(-9)Val'dan farklı değildir çünkü sinyal peptidindeki 9'uncu aminoasit sekansına karşılık gelmektedir. Bu çalışmada diyabetik maküler ödem açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark bulunmadığı belirtilmiştir (121). Aynı çalışmacılar diğer bir çalışmalarında tip 2 diyabetli hastalarda albüminüri açısından polimorfizm araştırmışlar ve gruplar arasında fark saptamamışlardır (122).

Möllsten ve ark.'ları, Mn-SOD için aynı polimorfizmi diyabetik nefropati açısından değerlendirmişlerdir. İsveç toplumunda yapılan bu çalışmada, Val/Val genotipi, diyabetik nefropati için (1,32[1,00-1,74], p=0,049) artmış riskle ilişkilendirilmiştir (123).

Tian ve ark.'ları, diyabetik hastalarda C47T (Val16Ala) polimorfizmini çalışmışlar ve C allelini diyabetes mellitus ve diyabetik mikrovasküler komplikasyonlar açısından koruyucu (OR 0,788, 95 % CI 0,680-0,914) bulmuşlardır (124).

Bu çalışmada hasta ve kontrol grubu, SOD2 Ala-9Val (C/T) polimorfizmi için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,047). Hasta grubundaki SOD2 Ala-9Val (C/T) TT genotip sıklığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,047, OR=2,075, % 95 CI=1,008-4,272). Allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p= 0,46). Buna göre hasta ve kontrol grubunda genotip dağılımı sırasıyla; % 25,7 CC, % 36,6 CT, % 37,6 TT; % 35,3 CC; % 40,4 CT; % 24,2 TT olarak bulunmuştur. Allelik frekansları, T alleli için hastalarda % 76,2, kontrollerde % 62,67, C alleli için ise hastalarda % 23,8, kontrollerde % 37,4 olarak saptanmıştır.

Hasta grubundaki TT homozigotluğundaki artış, genin ekspresyonu azaltarak, enzimin mitokondriye taşınmasında sorun yaratmaktadır. Buna göre, vitiligoda Mn-SOD'un antioksidan etkisinin azaldığı hipotezi desteklenmektedir.

## 6.SONUÇ ve ÖZET

Bu çalışmada yaş ve cinsiyet dağılımları benzer, 101 vitiligo hastası ve 99 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubunda SOD1 ve 2 enzimlerinin polimorfizmi değerlendirilmiştir.

- SOD1 35 A/C polimorfizmi için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grubu arasında farklılık saptanmamıştır ( $p=0,277$ ). Gruplar, SOD1 35 A/C polimorfizmi allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p= 0,214$ ). A alleli hastalarda % 97,52, kontrollerde % 98,98, C alleli ise hastalarda % 2,47, kontrollerde % 1,02 olarak saptanmıştır. SOD1 enziminin antioksidan etkisinin zayıf olması, bu enzimin, hasta ve kontrol grubundaki genotip ve allel frekansının benzer olmasını açıklıyor olabilir.
- Hasta grubundaki SOD2 Ala-9Val (C/T) TT genotip sıklığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,047$ , OR=2,075, % 95 CI=1,008-4,272). Gruplar allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p= 0,46$ ). T alleli, hastalarda % 76,2, kontrollerde % 62,67, C alleli ise hastalarda % 23,8, kontrollerde % 37,4 olarak saptanmıştır. TT genotipinin varlığı, SOD2 geninin ekspresyonu azaltarak, enzimin mitokondriye taşınmasında sorun yaratmaktadır. Bu durum, vitiligo hastalarındaki azalmış antioksidan aktivitenin nedeni olabilir.

Vitiligonun etyolojisi ve tedavisi konusundaki bilinmezliklere yanıt bulabilmek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarla yeni biyolojik yolların da tanımlanması mümkün olacaktır.

Oksidatif stres ve hastalık ilişkisi çok sayıda uzmanlık alanını ilgilendiren bir çalışma konusudur. Vitiligo da dermatolojide oksidatif stresin en çok tartışıldığı hastalıklardandır. Özyıkım hipotezi ile öne sürülen; oksidatif stres sonucunda melanositlerde toksik bileşiklerin birikimi ve antioksidan mekanizmaların inhibisyonu nedeniyle vitiligolu deride melanosit yıkımı oluştuğunu destekleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, antioksidan enzimlerden biri olan SOD'ın 2 izoformunun polimorfizmi araştırılmıştır. Günümüze kadar ulaşılabilen ulusal ve uluslararası literatürlerde bu konuda yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Bu alışmada, Türk toplumundaki vitiligolu hastalarda SOD 1 ve 2 polimorfizmi değerlendirilmiştir. İleride, farklı etnik toplumlarda, daha geniş katılımlı çalışmalarda elde edilecek verilerin, bu çalışmanın verileriyle kıyaslanması, konu üzerindeki tartişmaları zenginleştirecektir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Alikhan A, Felsten LM, Daly M et al. Vitiligo: A comprehensive overview. *J Am Acad Dermatol* 2011; 65:473-491.
2. Kovacs SO. Vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38:647-666.
3. Ortonne JP, Bahadoran P, Fitzpatrick TB et al. Hypomelanosis and hypermelanosis. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Ed. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolf K et al. USA, McGraw-Hill, 2003; 836-881.
4. Tastan HB, Akar A, Orkunoglu FE et al. Association of HLA class I antigens and HLA class II alleles with vitiligo in a Turkish population. *Pigment Cell Res*. 2004; 17(2):181-4.
5. Guern JR, Weissman SM. Evolving views of the major histocompatibility complex. *Blood* 1997; 90(11):4252-4265.
6. Abanmi A, Harthi FA, Baqami RA et al. Association of HLA loci alleles and antigens in Saudi patients with vitiligo. *Arch Dermatol Res* 2006; 298:347-352.
7. Zhang X, Chen J, Liu J. The genetic concept of vitiligo. *J Dermatol Sci* 2005; 39:137-146.
8. Spritz RA. Recent progress in the genetics of generalized vitiligo. *J Genet Genomics* 2011; 38:271-278.
9. Le Poole IC, Sarangarajan R, Zhao Y et al. "VIT1" a novel gene associated with vitiligo. *Pigment Cell Res* 2001; 14:475-484.
10. Kingo K, Philips MA, Aunin E et al. MYG1, novel melanocyte related gene, has elevated expression in vitiligo. *J Dermatol Sci* 2006; 44:119-122.
11. Philips MA, Kingo K, Karelson M et al. Promoter polymorphism-119C/G in MYG1 (C12orf10) gene is related to vitiligo susceptibility and Arg4Gln affects mitochondrial entrance of Myg 1. *BMC Med. Genet* 2010;11:56.
12. Casp CB, She JX, McCormack WT. Genes of the LMP/TAP cluster are associated with the human autoimmune disease vitiligo. *Genes Immun* 2003; 4:492-499.
13. Kotsa K, Watson PF, Weetman AP. A CTLA-4 gene polymorphism is associated with both Graves disease and autoimmune hypothyroidism. *Clin Endocrinol* 1997; 46:551-554.
14. Kemp EH, Ajjan RA, Waterman EA et al. Analysis of a microsatellite polymorphism of the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene in patients with vitiligo. *Br J Dermatol* 1999; 140:73-78.



15. Blomhoff A, Kemp HE, Gawkrödger DJ et al. CTLA4 polymorphisms are associated with vitiligo, in patients with concomitant auto-immune diseases. *Pigment Cell Res* 2005; 18: 55-58.
16. Birlea SA, LaBerge GS, Procopciuc LM et al. CTLA4 and generalized vitiligo: two genetic association studies and a meta-analysis of published data. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2009; 22:230-234.
17. Papadopoulos KI, Melander O, Orho-Melander M et al. Angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism in sarcoidosis in relation to associated autoimmune diseases. *J Intern Med* 2000; 247:71-77.
18. Passarge M, Passarge E. *Human Genetics. Color Atlas of Genetics* 2<sup>nd</sup> edition. New YORK, USA, Georg Thieme Verlag, 2001; 62-66.
19. Wang XW, Guo LS, Qiang HN et al. The association of functional polymorphisms in the aryl hydrocarbon receptor (AHR) gene with the risk of vitiligo in Han Chinese populations. *Br J Dermatol* 2012; 166:1081-1087.
20. Karaca N, Ozturk G, Gerceker BT et al. TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Turkish vitiligo patients. *J Eur Acad Dermatol* 2012; 16(3): 1-6.
21. Kosa Z, Fejes Z, Nagy T et al. Catalase -262C>T polymorphisms in Hungarian vitiligo patients and controls: further acatalasemia mutations in Hungary. *Mol Biol Rep* 2012; 39:4787-4795.
22. Wood JM, Gibbons N, Chavan B et al. Computer simulation of heterogeneous single nucleotide polymorphisms in the catalase gene indicates structural changes in the enzyme active site, NADPH-binding and tetramerization domains: a genetic predisposition for an altered catalase in patients with vitiligo?. *Exp Dermatol* 2008; 17:366-371.
23. Bulut H, Pehlivan M, Alper S et al. Lack of association between catalase gene polymorphism (T/C exon 9) and susceptibility to vitiligo in a Turkish population. *Genet Mol Res* 2011; 10(4):4126-4132.
24. Casp CB, She JX, McCormack WT. Genetic association of the catalase gene (CAT) with vitiligo susceptibility. *Pigment Cell Res* 2001; 15:62-66.
25. Liu L, Li C, Gao J et al. Promoter variant in the catalase gene is associated with vitiligo in Chinese people. *J Invest Dermatol* 2010;130(11):2647-2653.
26. Guarneri F, Asmundo A, Sapienza D et al. Glutathione S-transferase M1/T1 gene polymorphisms and vitiligo in a Mediterranean population. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 24:731-733.

27. Liu L, Li C, Gao J et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-Transferase and risk of vitiligo in the Chinese population. *J Invest Dermatol* 2009; 129(11):2646-52.
28. Uhm YK, Yoon SH, Kang IJ et al. Association of glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) of vitiligo in Korean population. *Life Sci* 2007; 81: 223-227.
29. Aksoy SN, Erbagcı Z, Saygılı EK. Analysis of myeloperoxidase promotor polymorphism and enzyme activity in Turkish patients with vitiligo. *Eur J Dermatol* 2009; 19(6):576-580.
30. Li K, Li C, Gao L et al. A functional single-nucleotide polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene alter vitiligo risk in a Chinese population. *Arch Dermatol Res* 2009; 301:681-687.
31. Zhang Y, Li C, Li K et al. Analysis of inducible nitric oxide synthase gene polymorphisms in vitiligo in Han Chinese people. *Plos One* 2011; 6(12):1-7.
32. Jeong KH, Shin MK, Uhm YK et al. Association of TXNDC5 gene polymorphisms and susceptibility to nonsegmental vitiligo in the Korean population. *Br J Dermatol* 2010; 162: 759-764.
33. D’Ousaldo A, Reed JC. NLRP1, a regulator of innate immunity associated with vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 25:5-8.
34. Horie Y, Saito W, Kitaichi N et al. Evaluation of NLRP1 gene polymorphism in Vogt-Koyonagi-Harada disease. *J Ophthalmol* 2011; 55:57-61.
35. Jin Y, Riccardi S.L, Gowan K et al. Fine-mapping of vitiligo susceptibility loci on chromosomes 7 and 9 and interactions with NLRP1(NALP). *J Invest Dermatol* 2010; 130(3):774-83.
36. Dwivedi M, Laddha NC, Imran M et al. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4) in isolated vitiligo: a genotype-phenotype correlation. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 24:737-740.
37. Tippisetty T, Ishag M, Komaravalli PL et al. Angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism in vitiligo: protective and predisposing effects of genotypes in disease susceptibility and progression *Eur J Dermatol*. 2011; 21(2):173-7.
38. Dwivedi M, Laddha NC, Shajil EM. et al. The ACE gene I/D polymorphism is not associated with generalized vitiligo susceptibility in Gujarat population. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008; 21: 407-408.

39. Pehlivan S, Ozkınay F, Alper S et al. Association between IL4(-590), ACE(I)/(D), CCR5( $\Delta$ 32), CTLA (+49) AND IL1-RN (VNTR in intron 2) gene polymorphisms and vitiligo. *Eur J Dermatol* 2009; 19(2): 126-128.
40. Li M, Gao Y, Li C et al. Association of COX2 functional polymorphisms and the risk of vitiligo in Chinese populations. *J Dermatol Sci* 2009; 53:176-181.
41. Alkhateeb A, Marzouka N, Qarqaz F. SMOC2 gene variant and the risk of vitiligo in Jordanian Arabs. *Eur J Dermatol* 2010; 20(6): 701-704.
42. Yun JY, Uhm YK, Kim J et al. Transforming growth factor beta receptor II (TGFB2) polymorphisms and the association with nonsegmental vitiligo in the Korean population. *Int J Immunogenet* 2010; 37:289-291.
43. Namian A, Shahbaz S, Salmanpoor R et al. Association of interferon-gamma and tumor necrosis factor alpha polymorphisms with susceptibility to vitiligo in Iranian patients. *Arc Dermatol Res* 2009; 301:21-25.
44. Abanmi A, Al Harthi F, Zouman A et al. Association of Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in Saudi patients with vitiligo. *Dis Markers*. 2008; 24(1):51-57.
45. Cheong KA, Chae SC, Kim YS et al. Association of thymic stromal lymphopoietin gene -847C>T polymorphism in generalized vitiligo. *Exp Dermatol* 2009; 18:1073-1075.
46. Philips M, Kingo K, Karelson M et al. Promoter polymorphism -119C/G in MYG1 (C12orf10) gene is related to vitiligo susceptibility and Arg4Gln affects mitochondrial entrance of Myg1. *BMC Medical Genetic* 2010; 11(56):2-9.
47. Kim H, Uhm YK, Yn JY et al. Association between polymorphisms of discoidin domain receptor tyrosine kinase1 (DDR1) and non-segmental vitiligo in the Korean population. *Eur J Dermatol* 2010; 20(2):231-232.
48. Castro C, Nascimento LM, Walker G et al. Genetic variants of the DDR1 gene are associated with vitiligo in two independent Brazilian population samples. *J Invest Dermatol* 2010; 130(7):1813-8.
49. Kristiansen OP, Zamani M, Johannesen J et al. Linkage and association between a CD4 gene polymorphisms and IDDM in Danish IDDM patients. *Diabetes* 1998; 47:281-283.
50. Zamani MG, De Hert M, Spaepen M et al. Study of the possible association of HLA class II, CD4 and CD3 polymorphisms with schizophrenia. *Am J Med Genet* 1994; 54:372-377.

51. Zamani M, Tabatabaiefar MA, Mosayyebi S et al. Possible association of the CD4 gene polymorphism with vitiligo in an Iranian population. *Clin Exp Dermatol* 2009; 35:521-524.
52. Lan CE, Ko YC, Tu HP et al. Association study between keratinocyte-derived growth factor gene polymorphisms and susceptibility to vitiligo vulgaris in a Taiwanese population: potential involvement of stem cell factor. *Br J Dermatol* 2009; 160:1180-1187.
53. Li M, Sun D, Li C et al. Functional polymorphisms of the FAS gene associated with risk of vitiligo in Chinese populations: A case-control analysis. *J Invest Dermatol* 2008; 128(12):2820-4.
54. Szell M, Baltas E, Bodai L et al. The Arg160Trp allele of melanocortin-1 receptor gene might protect against vitiligo. *Photochem Photobiol* 2008; 84:565-571.
55. Dwivedi M, Gupta K, Laddha NC et al. Lack of genetic association of promoter and structural variants of mannan-binding lectin (MBL2) gene with susceptibility to generalized vitiligo. *Br J Dermatol* 2009; 161:63-69.
56. Tazi-Ahni R, McDonagh AJG, Wengraf DA et al. The autoimmune regulator gene (AIRE) is strongly associated with vitiligo. *Br J Dermatol* 2008; 159:591-596.
57. Geel N, Speeckaert R, Taieb A et al. Koebner's phenomenon in vitiligo: European position paper. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 24:564-573.
58. Wu CS, Yu HS, Chang HR et al. Cutaneous blood flow and adrenoreceptor response increase in segmental-type vitiligo lesions. *J Dermatol Sci* 2000; 23:53-62.
59. Liu PY, Bondesson L, Lontz W et al. The occurrence of cutaneous nerve endings and neuropeptides in vitiligo vulgaris: a case-control study. *Arch Dermatol Res* 1996; 288:670-675.
60. Schallreuter KU, Wood JM, Pittelkow MR et al. Increased monoamine oxidase activity in the epidermis of patients with vitiligo. *Arch Dermatol Res* 1996; 288:14-18.
61. Schallreuter KU, Wood JM, Pittelkow MR et al. Increased in vitro expression of beta 2-adrenoceptors in differentiating lesional keratinocytes of vitiligo patients. *Arch Dermatol Res* 1993; 285:216-220.
62. Gauthier Y, Andre MC, Taieb A. A critical appraisal of vitiligo etiologic theories. Is melanocyte loss a melanocytorrhagy? *Pigment Cell Res* 2003; 16:322-332.
63. Kemp EH, Waterman EA, Weetman AP. Immunological pathomechanisms in vitiligo. *Expert Rev Mol Med* 2001; 23;3(20):1-22.

64. Westerhof W, D'Ischia M. Vitiligo puzzle: the pieces fall in place. *Pigment Cell Res* 2007; 20:345-359.
65. Ahmed M.B, Zaraa I, Rekik R et al. Functional defects of peripheral regulatory T lymphocytes in patients with progressive vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 25:99-109.
66. Ongenaes K, Geel NV, Naeyaert JM. Evidence for an autoimmune pathogenesis of vitiligo. *Pigment Cell Res* 2003; 16:90-100.
67. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189(1-2):41-54.
68. Bito T, Nishigori C. Impact of reactive oxygen species on keratinocyte signaling pathways. *J Dermatol Sci.* 2012; 23 (Epub ahead of print.)
69. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radic Biol Med* 2001; 31(11):1287-1317.
70. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.* 1984; 219:1-14.
71. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 2001; 54:176-186.
72. Kinnula VL, Pakko P, Soini Y. Antioxidant enzymes and redox regulating thiol proteins in malignancies of human lung. *FEBS Lett*, 2004;569(1-3):1-6.
73. Kinnula VL, Crapo J.D. Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors. *Free Radic Biol Med* 2004; 36(6):718-744.
74. Faraci FM. Vascular protection. *Stroke* 2003; 34(2): 327-329.
75. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family:a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic. Biol. Med* 2002; 33(3): 337-349.
76. Hazneci E, Karabulut A, Ozturk C et al. A comparative study of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities and nitrate levels in vitiligo patients. *Int J Dermatol* 2005; 44:636-640.
77. Khan R, Satyan A, Gupta S et al. Circulatory levels of antioxidants and lipid peroxidation in Indian patients with generalized and localized vitiligo. *Arc Dermatol Res* 2009; 301:731-737.
78. Dammak I, Boudaya S, Abdallah F.B et al. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation at the tissue level in patients with stable and active vitiligo. *Int J Dermatol* 2009; 48:476-480.

79. Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS et al. The role of oxidants and antioxidants in generalized vitiligo at tissue level. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18(6):683-686.
80. Garsaud AMB, Garsaud P, Boisseau H et al. Increase in total blood antioxidant status and selenium levels in black patients with active vitiligo. *Int J Dermatol* 2002; 41:640-642.
81. Agrawal D, Shajil EM, Marfatia Y.S et al. Study on the antioxidant status of vitiligo patients of different age groups in Baroda. *Pigment Cell Res* 2004; 17:289-294.
82. Halder MR, Chappell JL. Vitiligo update. *Semin Cutan Med Surg.* 2009; 28(2):86-92.
83. Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T et al. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: The Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012; 25:1-13.
84. Kim DY, Hann SK. Classification of segmental vitiligo on the face: Clues for prognosis. *Br J Dermatol* 2011; 164:1004-1009.
85. Cho SB, Kim JH, Park JM et al. Vitiligo in children and adolescents: association with thyroid dysfunction. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2011; 25:64-67.
86. Demirel BG, Borlu M. Vitiligo tedavisi ve yeni tedavi yaklaşımları. *Turk J Dermatol* 2010; 4: 33-9.
87. Felsten L.M, Alikhan A, Petronic-Rosic V. Vitiligo: A comprehensive overview. *J Am Acad Dermatol* 2011; 65:493-514.
88. Kwinter J, Pelletier J, Khambalia A et al. High-potency steroid use in children with vitiligo: a retrospective study. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56:236-241.
89. Arca E, Tastan HB, Erbil AH et al. Narrow-band ultraviolet B as monotherapy and combination with topical calcipotriol in the treatment of vitiligo. *J Dermatol* 2006; 33:338-343.
90. Hartmann A, Lurz C, Hamm H et al. Narrow-band UVB311 nm vs. broad-band UVB therapy in combination with topical calcipotriol vs. placebo in vitiligo. *Int J Dermatol* 2005; 44:736-742.
91. Ada S, Sahin S, Boztepe G et al. No additional effect of topical calcipotriol on narrow-band UVB phototherapy in patients with generalized vitiligo. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2005; 21:79-83.

92. Tsukamoto K, Osada A, Kitamura R et al. Approaches to repigmentation of vitiligo skin: new treatment with ultrasonic abrasion, seed-grafting and psoralen plus ultraviolet A therapy. *Pigment Cell Res* 2002; 15(5): 331-334.
93. Kwok YK, Anstey AV, Hawk JL. Psoralen photochemotherapy (PUVA) is only moderately effective in widespread vitiligo: a 10-year retrospective study. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27(2): 104-110.
94. Mofty ME, Zaher H, Esmat S et al. PUVA and PUVB in vitiligo-are they equally effective? *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001; 17:159-163.
95. Wels O, Herz-Ruelas ME, Gomez M et al. Therapeutic evaluation of UVB-targeted phototherapy in vitiligo that affects less than 10% of the body surface area. *Int J Dermatol* 2009; 45:529-534.
96. Kanwar AJ, Dogra S. Narrow-band UVB for the treatment of generalized vitiligo in children. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30:332-336.
97. Kanwar AJ, Dogra S, Parsad D et al. Narrow-band UVB for the treatment of vitiligo: an emerging effective and well tolerated therapy. *Int J Dermatol* 2005; 44:57-60.
98. Njoo MD, Bos JD, Westerhof W. Treatment of generalized vitiligo in children with narrow-band (TL-01) UVB radiation therapy. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42:245-253.
99. El Mofty M, Mostafa W, Esmat S et al. Narrow-band ultraviolet B 311 nm in the treatment of vitiligo: two right-left comparison studies. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2006; 22:6-11.
100. Mofty ME, Zaher H, Esmat S et al. PUVA and PUVB in vitiligo-are they equally effective? *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001; 17:159-163.
101. Briganti S, Caron-Schreinemachers L.D.B, Picardo M et al. Antioxidant defence mechanism in vitiliginous skin increases with skin type. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2011;10 (Epub ahead of print).
102. Lotti T, Gori A, Zanieri F et al. Vitiligo: new and emerging treatments. *Dermatol Ther* 2008; 21:110-117.
103. Patel NS, Paghdal KV, Cohen GF. Advanced treatment modalities for vitiligo. *Dermatol Surg* 2012; 38: 381-391.
104. Parsad D, Pandhi R, Juneja A. Effectiveness of oral ginkgo biloba in treating limited, slowly spreading vitiligo. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28:285-287.

105. Dell'Anna ML, Mastrofrancesco A, Sala R et al. Antioxidants and narrow-band-UVB in the treatment of vitiligo: a double-blind placebo controlled trial. *Clin Exp Dermatol* 2007; 32:631-636.
106. Valko M, Leibfritz D, Moncol J et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44–84.
107. Passi S, Grandinetti M, Maggio F et al. Epidermal oxidative stress in vitiligo. *Pigment Cell Res* 1998; 11:81-85.
108. Li C, Zhou HM. The Role of Manganese Superoxide Dismutase in inflammation defense. *Enzyme Res* 2011; 387176. Epub 2011 Oct 3.
109. Deng HX, Hentati A, Tainer-Hu P et al. Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu, Zn superoxide dismutase. *Science* 1993; 20(5124): 1047-1051.
110. Mancuso M, Filosto M, Naini A et al. A screening for superoxide dismutase-1 D90A mutation in Italian patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.* 2002;3(4):215-218.
111. Zhan Y, Zhang L, Sun D et al. Genetic polymorphisms of superoxide dismutases, catalase and glutathione peroxidase in age-related cataract. *Mol Vis* 2011; 17:2325-2332.
112. Sutton A, Khoury H, Prip-Buus C et al. The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics.* 2003; 13(3):145-157.
113. Kimura K, Isashiki Y, Sonoda S et al. Genetic association of manganese superoxide dismutase with exudative age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2000; 130(6):769-773.
114. Han J, Colditz GA, Hunter DJ. Manganese superoxide dismutase polymorphism and risk of skin cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2007; 18:79-89.
115. Wang LI, Miller DP, Sai Y et al. Manganese superoxide dismutase Alanine-to-Valine polymorphism at codon 16 and lung cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93(23):1818-1821.
116. Dalan BA, Ergen A, Yılmaz H et al. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism, MnSOD plasma levels and risk of epithelial ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol Res* 2008; 34(5):878-884.



117. Liwei L, Chunyu L, Ruifa H. Association between manganese superoxide dismutase gene polymorphism and risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Urology* 2009; 74(4):884-888.
118. Iguchi T, Wang CY, Delengchamps NB et al. Association of prostate cancer and manganese superoxide dismutase AA genotype influenced by presense of occult cancer in control group. *Urology* 2008; 72(2):238-241.
119. Tugcu V, Ozbek E, Aras B et al. Manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) gene polymorphism in urolithiasis. *Urol Res* 2007; 35:219-224.
120. Chistyakov DA, Savost' anov KV, Zotova EV et al. Polymorphisms in the Mn-SOD and EC-SOD genes and their relationship to diabetic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC Med Genet*. 2001;2:4. Epub 2001 Mar 28.
121. Lee SJ, Choi MG. Association of manganese superoxide dismutase gene polymorphism (V16A) with diabetic macular edema in Korean type 2 diabetic patients. *Metabolism* 2006; 55(12):1681-1688.
122. Lee SJ, Choi MG. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism (V16A) is associated with stages of albuminuria in Korean type 2 diabetic patients. *Metabolism* 2006; 55(1):1-7.
123. Möllsten A, Marklund SL, Wessman M et al. A functional polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene and diabetic nephropathy. *Diabetes* 2007; 56(1):265-269.
124. Tian C, Fang S, Du X et al. Association of the C47T polymorphism in SOD2 with diabetes mellitus and diabetic microvascular complications: A meta-analysis. *Diabetologia* 2011; 54:803-811.