



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VİTİLİGO HASTALARINDA G PROTEİN İLİŞKİLİ ÖSTROJEN
RESEPTÖR 1 (GPER-1) DÜZEYLERİ ÜZERİNE
RAFTLİN'İN (RFTN-2) ETKİSİ

ERKAN ÖNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2016

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

VİTİLİGO HASTALARINDA G PROTEİN İLİŞKİLİ ÖSTROJEN
RESEPTÖR 1 (GPER-1) DÜZEYLERİ ÜZERİNE
RAFTLİN'İN (RFTN-2) ETKİSİ

ERKAN ÖNER
YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ

Jüri Üyesi
Prof.Dr.Fatma İNANÇ TOLUN

Jüri Üyesi
Prof.Dr.Mehmet Akif ÇÜRÜK

KAHRAMANMARAŞ 2016

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Erkan ÖNER tarafından hazırlanan “Vitiligo Hastalarında G protein ilişkili östrojen reseptör 1 (GPER-1) düzeyleri üzerine Raftlin’in (RFTN-2) Etkisi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 29/06/2016 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr Ergül Belge KURUTAŞ

.....

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Prof.Dr.Fatma İNANÇ TOLUN

.....

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Prof.Dr.Mehmet Akif ÇÜRÜK

.....

Tıbbi Biyokimya A.B.D, Çukurova Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç.Dr. MEHMET BOŞNAK

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Erkan ÖNER



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2015/3-31YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimim süresi boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini aldığım ve fikirlerinden faydalandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a

Tezimin sonuçlarının değerlendirilmesinde yardımcı olan Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam Doç. Dr. Perihan ÖZTÜRK'e, eğitimim sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve Öğretim üyesi hocalarıma ve beni her zaman destekleyen biricik eşim Gizem ÖNER'e ve aileme teşekkür ederim.

Bu araştırma, 2015/3-31 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Haziran-2016

ERKAN ÖNER

VİTİLİGO HASTALARINDA G PROTEİN İLİŞKİLİ ÖSTROJEN RESEPTÖR 1 (GPER-1) DÜZEYLERİ ÜZERİNE

RAFTLIN'İN (RFTN-2) ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Dr. Erkan ÖNER

ÖZET

Vitiligo bir dermatolojik hastalıktır. Vitiligo melanosit pigment kaybından dolayı oluşan beyaz lekeler meydana getirir. Bu hastalığın her hangi bir yaş kısıtlaması yoktur. Her 100 kişiden 1 veya 2 kişide rastlanan bir hastalıktır. Vitiligo hastalığının temel etkeni henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu nedenle ilk olan bu çalışmamızda GPER-1 ve Raftlin düzeyleri araştırıldı.

G proteini ile ilişkili reseptör 30 G proteini ile ilişkili östrojen reseptör 1 (GPER1) olarak isimlendirilmiştir. Yedi transmembranel domainli G proteini ile ilişkili reseptöre (GPCR) 17 β -estradiol'ün yüksek afinite ile bağlandığı ve östrojenik sinyallere aracılık ettiği bulunmuştur. G protein-coupled östrojen reseptör 1 (GPER-1), G protein-coupled reseptör 30 (GPR30) olarak da bilinir ki, insanlarda GPER geni tarafından kod edilen G protein-coupled reseptördür. Bu protein rodopsin benzeri familyasının bir üyesidir ve endoplazmik retikulumda lokalize olup multipass membran proteinidir. Protein nukleusta fosfotidilinositol 3,4,5 trifosfat sentezine ve intraselüler kalsiyumun mobilizasyonuna neden olur ve neticede östrojeni bağlar. Bu nedenle bu protein, yaygın olarak östrojen ile hücre ve dokuların uyarımını takiben gözlenen non-genomik sinyal olaylarında rol oynar. GPER1, $G_{\alpha s}$ ile bağlanarak siklik adenosin monofosfat (cAMP) stimülasyonuna, melanosit duyarlı $G_{\alpha i}$ ile bağlanarak cAMP üretiminin azalmasına neden olmaktadır.

Çalışmamız 25 vitiligo hastası ve kontrol grubu olarak 25 sağlıklı birey olmak üzere 50 katılımcı dahil edildi. Vitiligo hasta grubu 13 kadın ve 12 erkek hastadan oluşurken, kontrol grubu 14 kadın ve 11 erkekten oluşuyordu. Hastaların ve kontrol grubunun hepsi 18-45 yaş aralığındaydı. Tüm vitiligo hastalarında ve kontrol grubunda GPER-1 ve Raftlin aktiviteleri ELIZA yöntemi ile ölçüldü.

Bulgularımıza göre GPER-1 ve Raftlin düzeyleri serum düzeylerinde benzer oranlarda artış göstermektedir. Vitiligo hastalarında çalıştığımız GPER-1 ve Raftlin'in birbiriyle aynı yolları etkileyebileceğini düşünmekteyiz.

GPER-1'in stimülasyonunu adenilat siklaz/cAMP yolağını kullanarak gerçekleştirdiğini ve vitiligo hastalarındaki GPER-1 aktivitelerindeki artışın bu hastalıkta

melanositlerle ilgili olabileceđi kanısına varmıř bulunmaktayız. Aynı řekilde Raftlin dűzeyindeki artıřın ise adenilat siklaz yolađı ile alakalı olabileceđi dűřűnűlmektedir. Sonuç olarak vitiligo hastalarının kalsiyum hemostazisinde bir bozukluk GPER-1 ve Raftlin dűzeyleri ile alakalı olabileceđi dűřűnűldű.

Anahtar Kelimeler: GPER-1, Raftlin,Vitiligo

Sayfa Adedi: 58

Danıřman: Prof. Dr. Ergűl BELGE KURUTAř



THE EFFECT OF RAFTLIN (RFTN-2) ON LEVELS OF G-PROTEIN COUPLED OSTROGEN RECEPTOR-1 (GPER-1) ON VITILIGO PATIENTS

Master Thesis

MD. Erkan ÖNER

ABSTRACT

Vitiligo is a dermatological disease. Melanocytes of vitiligo white spots lik due to the pigment loss brings. There is no restriction of any age of disease. For every 100 people is a hassle encountered in 1 or 2 people. The main factors of vitiligo is not yet fully elucidated. Therefore, our study will be the first GPER-1 and Raftlin levels will be investigated.

G protein associated with estrogen receptor associated with 30 G protein receptor 1 (GPER1) was named as. Seven transmembranel domainli G protein with the binary receptor (GPCR) 17 β -estradiol is linked with a high affinity and the subsystems in the estrogenic has been found mediated signals. G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER-1), G protein-coupled receptor 30 (GPR30) also known as people of the G protein-coupled code by GPER gene receptors. This protein is a member of the rhodopsin-like family and is localized in the endoplasmic reticulum multipass membrane protein. Protein nukleus phosphotidylinositol 3, 4, 5 triphosphate synthesis and intracellular calcium mobilization and eventually counteract the bindings. Therefore this protein, commonly estrogen with cells and tissues stimulation observed following the non-genomic signals play a role in the event. GPER1, cyclic adenosine monophosphate by connecting with the G α s (cAMP) stimulation melanosit, to the sensitive G α I causes a decrease of the production by connecting with cAMP.

In our study, 50 participant who has 25 vitiligo disease and 25 healty as control group has been included vitiligo patient group had 13 woman and 12 man, mean while, control group had 14 woman and 11 man. All of the patient and control group's age rage was 18 between 45 GPER-1 and Raftlin activities were measured ELISA on all vitiligo patience and control group.

We are of the opinion that GPER-1 and Raftlin which was studied on vitiligo patient will have used same pathway each other. According to our findings, level of GPER-1 and Raftlin show an increase as same rate in level of serum.

GPER-1 and Raftlin We think that the same pathways affect each other. GPER-1 stimulation of adenylyate cyclase / cAMP pathway and is achieved using the increase in the GPER-1

activity in patients with vitiligo, we have concluded that this disease may be related to melanocytes. Likewise, the increase in the level Raftlin may be associated with adenylate cyclase pathway we anticipate. As a result of this work we make comparisons of vitiligo patients with disorders of calcium hemeostasis GPER-1 and we have found might be associated with the Raftlin.

Key Words: GPER-1, Raftlin, Vitiligo

Page number: 58

Supervisor: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY	II
TEZ BİLDİRİMİ	II
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Vitiligonun Etiyolojisi ve Patogenezi	3
2.1.1. Otoimmün Teori	4
2.1.2. Nöral Teori	4
2.1.3. Ototoksik Teori (Öz Yıkım Kuramı)	4
2.1.4. Vitiligo Hastalığında Genetik	5
2.1.5. Vitiligo Hastalığına Biyokimyasal Bakış	5
2.2. Melanositler ve Etkileri	6
2.2.1. Melanozomlar	7
2.2.2. Melanosit proteinler	7
2.2.3. Melanin Sentezi	8
2.2.4. Melanosit Dentritleri	9
2.3. Melanogenik İnhibitörler	10
2.4. Vitiligo Hastalığının Klinik Özellikleri	10
2.4.1. Vitiligonun Sınıflandırılması	10
2.4.2. Vitiligo Hastalığı ile görülebilecek olan hastalıklar	11
2.5. Östrojen Hormonu	11
2.5.1. Östrojen sentezi	12
2.5.2. Östrojen reseptörleri	12
2.6. G Protein Kenetli Reseptörler (GPER)	13
2.6.1. Heterotrimerik G Proteinleri	15
2.6.2. Küçük G Proteinleri	15
2.6.2.1. Rodopsin	16
2.6.2.2. Rho/Rho-Kinaz Yolağı	17
2.7. Raftlin	18
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Araştırma Sırasında Kullanılan Aygıtlar	20
3.1.2. Araştırma Sırasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.1.3. Denekler	21
3.2. Metod	22
3.2.1. Deney grupları	22

3.3 Vitiligo Hastaların ELIZA Metodu İle GPER-1 Tayini	22
3.3.1. Ayıraçlar	22
3.4. Vitiligo Hastalarında ve Kontrol Grubunda ELIZA metodu ile Raftlin tayini	24
3.4.2 Ayıraçlar	25
3.5 Vitiligo ve Kontrol Grubunda Hormon Testleri.....	25
3.6. İstatistik	25
4. BULGULAR	26
4.1. GPER-1 Aktiviteleri	26
4.2. Raftlin Aktiviteleri.....	27
4.3. Vitiligo Hastalarının ve Kontrol Grubunun Biyokimyasal Verileri	28
5.TARTIŞMA	30
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	32
7.KAYNAKLAR	33
8.ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	38
9.TABLolar DİZİNİ	39
10.EKLER DİZİNİ	40
11.EKLER	41
12.ÖZGEÇMİŞ	42

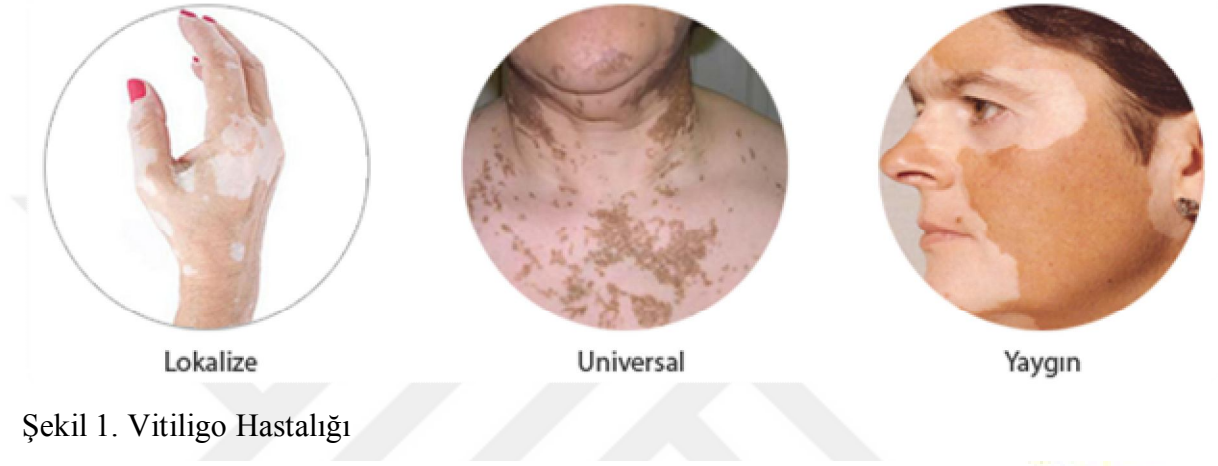
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GPER-1	: G protein ilişkili östrojen reseptör 1
DOPA	: dihidroksifenilalanin
ATP	: Adenozin Trifosfat
ADP	: Adenozin Difosfat
α	: Alfa
β	:Beta
γ	:Gama
6-BH4	:6-tetrahidrobiopterin
7BH4	:7-tetrahidrobiopterin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
H₂O₂	: Hidrojenperoksit
COMT	:katekolamin-O-metil transferaz
MAO	:monoaminoksidaz
LAMPs	:lipozom-ilişkili membran proteini
TRP-2	:tirozinaz ilişkili protein-2
gp100	:Pmel17
ml	: Mililitre
mU	: Mili Ünit
MART-1	:Melan A gibi yapısal proteinler
NO	: Nitrik oksit
Mitf	:mikroftalmi transkripsiyon faktörü
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
MC1R	:melanokortin-1 reseptörü
cAMP	:siklik AMP
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
PKC-β	: protein kinaz C- β
ER	: estrojen reseptörü
OD	: Optik Dansite
RNA	: Ribonükleik Asit
ROR	: Reaktif Oksijen Radikalleri
KSÜ	: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
AP1	:aktivatör protein 1

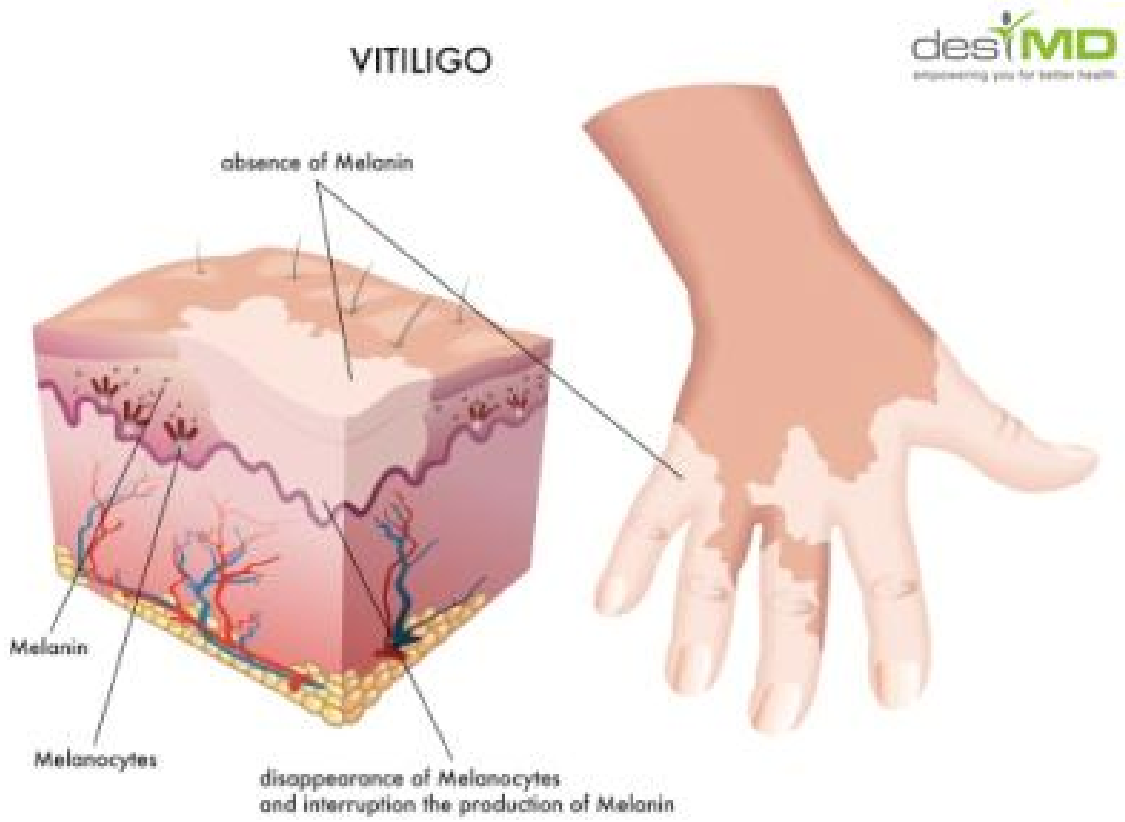
Rho	:Rhodopsin
Raftlin	:Lipid Raft
İÖ	: İnönü Üniversitesi
GTP	:Guanozin Trifosfat
ROK	: Rho-kinazın
PDE	:Fosfodiesteraz
IL-1α	:İnterlökin 1 alfa
IL-6	:İnterlökin 6
TNF- α	:Tümör Nekroz Faktör-alfa
IL-1β,	:İnterlökin 1 beta
IL-8	:İnterlökin 8
AC	:Adenilat Siklaz
PLC	:Fosfolipaz C
GIRK	:G prteini ile düzenlenen dışarı düzeltilmiş potasyum kanalı
VDCC	:Voltaj bağımlı Ca ⁺² kanalı
PI-3-K	:Fosfoinositol-3-kinaz
GRK	:G proteini ile düzenlenen kinaz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vitiligo, kelimesinin kökeni hakkında bir çok hipotez vardır. Bu kelime Latince bir kusur, hata anlamındaki vitium kelimesinden veya dananın beyaz lekelerini ifade eden vitellus kelimesinden türediği bilinmektedir (1). Vitiligo, derideki melanin pigmenti ve fonksiyonel melanosit kaybına bağlı olarak gelişen, depigmente maküller ile karakterize, kronik seyirli bir pigmentasyon bozukluğudur (2).



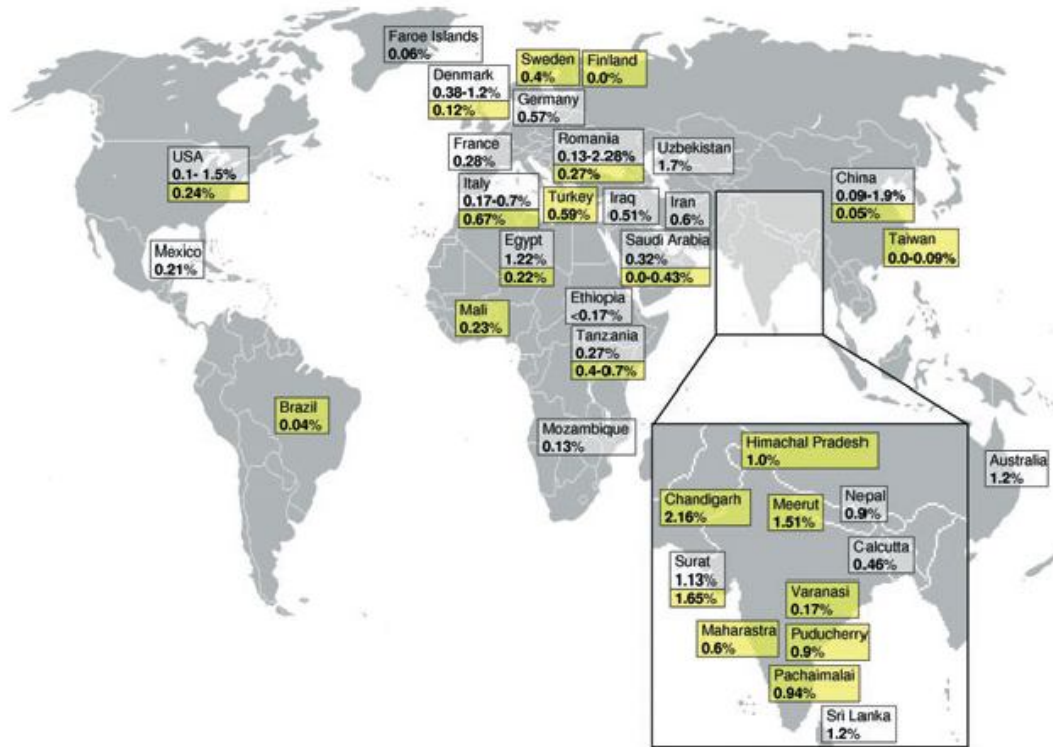
Şekil 1. Vitiligo Hastalığı



Şekil 1. Vitiligo Hastalığı

Epidemiyoloji

Vitiligo epidemiyolojisine ilişkin yapılan çalışmalarda hastalık insidansının %0,14-8,8 gibi geniş bir aralık gösterdiği ortaya konulmuş olsa da; ortalama insidansın % 1-2 olduğu kabul edilmektedir (3). Vitiligo herhangi bir yaşta başlayabilmesine karşın; genç erişkinleri ve özellikle kadınları daha sıklıkla tutmaktadır (4). En çok görülme sıklığı 10-30 yaş arasındır. Hastalığın % 50 'si 20 yaşından önce görülmektedir. Olguların % 30'unda hastalık yaklaşık 20 yaşında, ¼'ünde ise 8 yaşın altında başlar. En küçük başlama yaşı 3, en büyük başlama yaşı ise 54 olarak belirlenmiş olmasına rağmen, hastalığın 81 yaşında görülen olguları da bildirilmektedir (4). Hastalığın kendisi kalıtsal olmamasına rağmen, Vitiligo'ya yakalanma yatkınlığı kalıtsaldır. Kontrasta bağlı olarak koyu tenli kişilerde daha fazla görülür ve bu kişilerin % 73'ü kadınlardan oluşmaktadır. Bu hastalık Dünya nüfusunun % 1-4'ünü etkilemektedir (4). Amerika Birleşik Devletleri'nde % 0,24'ünü, Danimarka'da % 0,38'ini, Libya'da % 0,33'ünü, Türkiye'de ise dermatoloji kliniğine başvuran hastaların % 0,59'unu etkilediği saptanmıştır (4,5).



Şekil 2. Vitiligo Hastalığının Dünya Üzerindeki Prevelansı

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Vitiligonun Etiyolojisi ve Patogenezi

Vitiligo uzun süredir iyi bilinen bir hastalık olmasına rağmen etiolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Vitiligo kompleks bir patogeneze sahip multifaktöryel poligenik bir hastalıktır. Epidermal melanositlerin kaybını açıklamaya yönelik teoriler geliştirilmekle birlikte halen asıl neden bilinmemektedir. Otoimmün, sitotoksik, biyokimyasal, oksidan-antioksidan, nöral ve viral nedenler üzerinde durulmaktadır (6).

Vitiligoda; beyaz maküllerde hiç melanosit bulunmaz. Bundan dolayı vitiligo patogenezi üzerine teoriler melanositlerin hasarlanması üzerine odaklanmıştır. Vitiligoyu açıklayıcı temel 3 hipotez mevcuttur. Bunlar; humoral veya hücrel immunolojik olayların sonucunda melanositlerin tahrip olduğu görüşünü ortaya koyan otoimmün teori; nöral mediyatörlerin melanositlerin üzerine tahrip edici etkilerine dayanan nöral teori ve melanin sentezindeki ara maddelerin ve metabolitlerin toksik etki göstererek melanositlerin tahrip olmalarına yol açtığı otositotoksik (kendini yoketme) teoridir (48,49,53,54,55).

Otoimmün kuram: Otoimmün bozukluğu olan hastaların önemli bir kısmında Vitiligo saptanması ve immünopresipitasyon yöntemleriyle bu hastaların laboratuvar bulgularında melanositlere karşı antikorlara rastlanmasına dair klinik gözleme dayanmaktadır. Bir çalışmada, vitiligo antikorlarının düzeyleri, depigmentasyon yaygınlığıyla ilişkili bulunmuştur (6).

Nöral kuram: Bu kurama göre, Vitiligo'ya sinir uçlarında seçici olarak melanositleri yok eden bir nörokimyasal mediyatör yol açmaktadır. Vitiligo'nun segmental dermatomal şekilleri, bu kuramı destekleyen bir bulgudur (6).

Özyıkım kuramı: Vitiligonun sitotoksik melanin prekürsörlerine karşı, melanositlerdeki koruyucu düzeneklerin kendi kendini yıkım sürecinden kaynaklandığı öne sürülmektedir. Bu kuramlar etiyoloji tek başına açıklamada yetersiz olduğundan, başka yazarlar tarafından bileşik bir varsayım öne sürülmüştür. Ancak günümüzde en geçerli olanı, melanosit özyıkım varsayımdır (7).

2.1.1 Otoimmün Teori

Vitiligo gelişimi ile immün sistem arasında ilişkiyi açıklayan çok sayıda klinik gözlemler ve laboratuvar araştırmaları mevcuttur. Klinik gözlemler olarak, vitiligo ile beraber bir çok otoimmün hastalığın gelişmesi, vitiligo lezyonlarında inflamatuvar ve immünolojik olayların oluşumu, dolaşımda otoantikörlerin artmış oluşu, humoral ve hücresele immün sistem bozukluklarının bulunması bu hipotezi desteklemektedir (8). Vitiligolu hastalarda serumda melanosit yüzey antijenlerine karşı otoantikörlerin varlığı gözlemlenmiştir. Hastaların serum örneklerinde bulunmuş olan antikörlerin in vitro ortamda sitotoksitite ile birlikte selektif olarak melanositleri öldürdükleri ön görülmüştür(8).

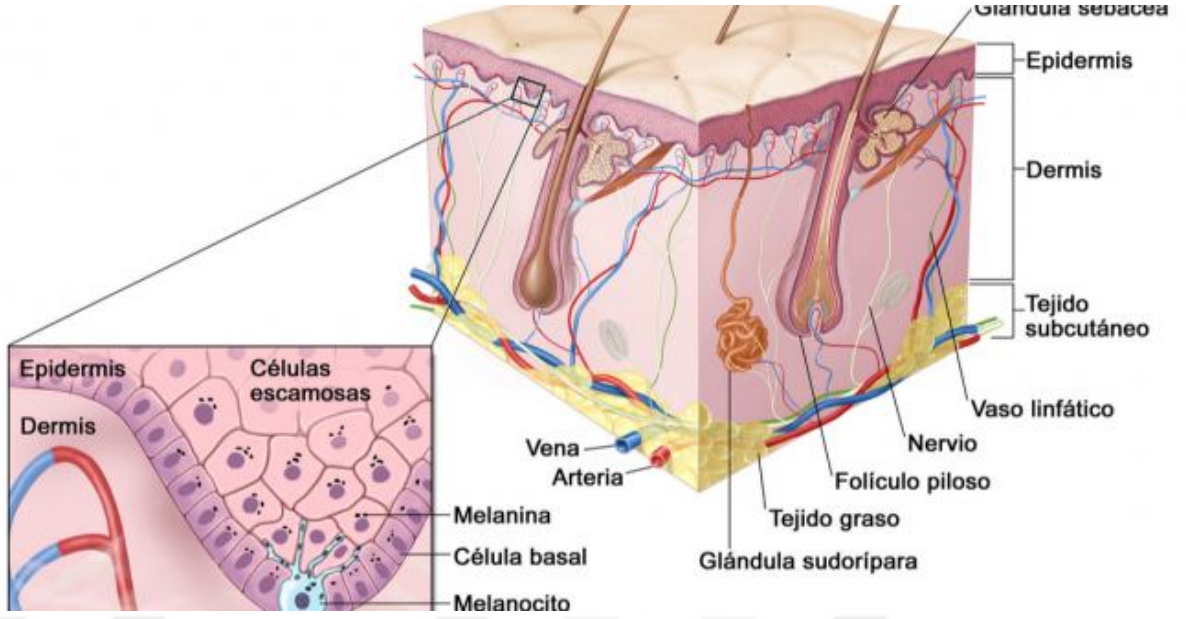
2.1.2 Nöral Teori

Sinir uçları aracılığıyla salgılanan nörotransmitter kimyasalların melanosit hücrelerini harap ettiği çalışmalarda vurgulanmıştır. Vitiligo lezyonlarının paralizili ekstremiteler üzerinde yayılması, viral ensefalit, multipl skleroz ve horner sendromu ile birlikte vitiligo gelişen olguların varlığı bu teoriyi doğrulamaktadır (9) .

2.1.3 Otositotoksik Teori(Öz Yıkım Kuramı)

Otositotoksik teori oksidan/antioksidan dengenin bozulması sonucunda oksidan ajanların yeterince detoksifikasyon işlemini gerçekleştiremeyip oksidatif hasarın oluşmasında etkili olan teoridir (10).

Melanin sentezi sırasında melanositler için oldukça toksik olan tirozin analogları ve araürünler ortaya çıkar. Oluşan ara ürünlerden özellikle dihidroksifenilalanin (DOPA) ve dopakrom 5,6-di hidroksi indol melanositler içerisinde birikir ve serbest radikal konsantrasyonunun artmasına sebep olurlar(11).



Şekil 3. Vitiligo Hastalığının Etiyolojisi

2.1.4 Vitiligo Hastalığında Genetik

Vitiligo hastalığında genetik yatkınlığı ilk defa 1933 yılında tespit edilmiş olup, vitiligonun altında yatan genetik nedenleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bulunan sonuçlar doğrultusunda vitiligo gelişiminde genetik faktörlerin önemli rolü olduğu gösterilmiştir(12). Vitiligolu hastalarda %30 kişiden fazlasında bir aile üyesinin ve %21'den fazlasında da birinci kuşak aile üyelerinin etkilenebileceği tespit edilmiştir(13). Türkiye'de yapılan bir çalışma sonucunda ise birinci derece aile arasında vitiligo görülme sıklığı %11,5 olarak bulunmuştur (14).

2.1.5 Vitiligo Hastalığına Biyokimyasal Bakış

Hücredeki oksidatif hasarın artışı, serbest radikallerin ve türevlerinin artmasına veya antioksidan düzeylerinin yetersiz kalmasına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Epidermal tabakada H_2O_2 birikmesinin patogeneze ve biyokimyasal yönden rolü olduğu ileri sürülmektedir(15). Vitiligo hastalığındaki aşırı H_2O_2 üretimi birkaç mekanizma ile gerçekleşmektedir. İlki tetrabiopterin metabolizmasındaki bozulma ve aşırı 6-tetrahidrobiopterin (6-BH₄) ve 7-tetrahidrobiopterin (7BH₄) üretimidir (15,16). 6BH₄ tirozin

oluşumunda görevli fenilalanin hidroksilaz enzimi için kofaktör olup, 7BH4'nin non-enzimatik aşırı birikimi bu enzimi inhibe etmektedir (17).

Vitiligo hastalığında katekolamin yolağındaki değişim, katekolamin-O-metil transferaz (COMT), monoaminoksidaz (MAO) aktiviterinde artış ve vitiligo hastaların derilerinde β -adrenoreseptör ekspresyonunda artış tespit edilmiştir. Vitiligolu hastaların idrar örneklerinde yapılan araştırma doğrultusunda ise dopamin metaboliti olan homovalinik asit ve epinefrin ve norepinefrin metaboliti olan vanil mandelik asit yüksek düzeylerde bulunmuştur (15,18,19).

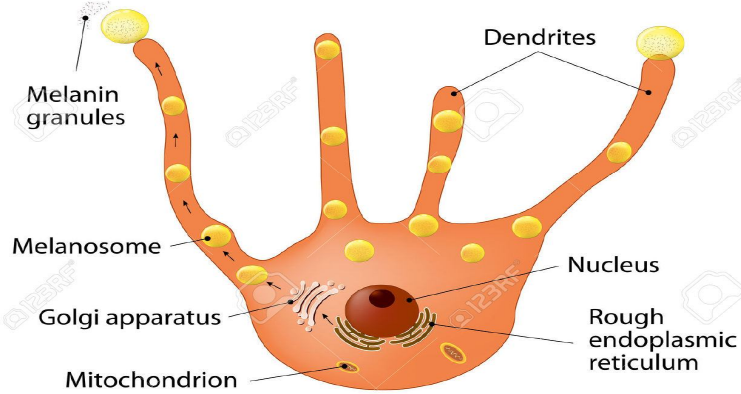
2.2. Melanositler ve Etkileri

Melanositler epidermin pigment oluşturan hücreleridir. Melanositler kendilerine has melanini depolayan sitozolik melanozom adlı granüllere sahiptirler. Bu melanozomlar, melanosit dendritleri boyunca ilerleyerek keranositlere taşırlar. Epidermiste sürekli bir deskuamasyon olduğundan melanositlerde melanozom sentezinin ve keratinositlere transferlerinin sürekliliğine gerek vardır. Normalde, güneş görmeyen bölgelerde, gövde epiderminde melanositler her 10 keratosit hücresine 1 tane melanosit olacak şekilde bazal tabakada yerleşirler (20,21,22).

Melanositler hemen hemen tüm dokularda bulunurlar. Ancak en fazla bulunduğu dokular epidermis, kıl folikülleri, kan damarları etrafında, sempatik zincirde ve iç kulakta bulunurlar (20,21).

Yaş ilerledikçe melanosit sayısında azalma görülmektedir. Melanosit yoğunluğu her dekada % 6-8 azalmaktadır (20,21).

MELANOCYTE



Şekil 4. Melanosit Yapısı

2.2.1 Melanozomlar

Melanosit sitoplazmasında bulunan zarla çevrili organellerin içerisinde melanin sentezi olmaktadır. Melanozomlar aynı zamanda lizozomlar içerisinde olan protein ve enzimleri içerdiklerinden lizozomların değişik versiyonu oldukları düşünülmektedir. Melanozomlar ve lizozomlar ortak olan proteinler lipozom-ilişkili membran proteini (LAMPs) ve lizozomlar için belirteç olan asid fosfatazdır. Bu iki organel hücreyi koruma görevinde bulunmaktadır; lizozomlar lipid membran oksidasyonu yapan proteinazlardan, melanozomlar ise melanin öncüllerinden (fenoller, kinonlar gibi) korurlar (21,22).

2.2.2 Melanosit proteinler

Tirozinaz, tirozinaz ilişkili protein-2 (TRP-2), protein kinaz C- β gibi enzimler; Premelanosome Protein117 (gp100), MART-1/Melan A gibi yapısal proteinler; mikroftalmi transkripsiyon faktörü (Mitf) gen ve proteini ve melanokortin-1 reseptörü (MC1R) gibi düzenleyici proteinler melanogenik proteinlerdir(21,22).

Mikroftalmi transkripsiyon faktörü (Mitf) gen ve proteini; melanosit yaşamı için önemli bir gendir ve tirozinaz, TRP-1, TRP-2, PKC- β ve MART-1 gibi majör melanogenik proteinlerin transkripsiyonun anahtar düzenleyicileridir. Mitf ekspresyonu fosforilasyonla olacağı gibi siklik AMP (cAMP) yoluyla da olmaktadır(21,22).

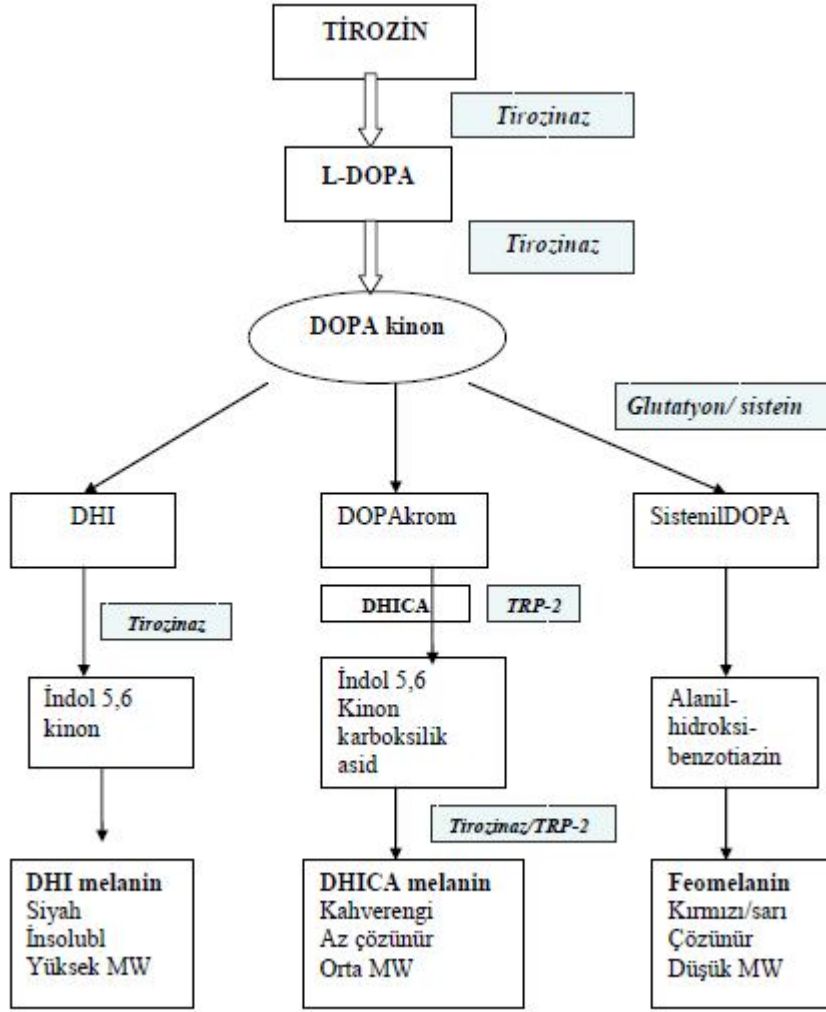
2.2.3 Melanin Sentezi

İki tip melanin sentezlenmektedir ve bunlar melanozomlar içinde gerçekleşmektedirler (21,23).

1-) Feomelanin: Açık renk, kırmızı-sarıdır. Sülfür içermektedir ve suda çözünür yapısı vardır.

2-) Ömelanin: Koyu renklidir, kahverengi-siyah renge sahiptir. Suda çözünmezler.

Melanin sentezinin başlaması için gerekli olan aminoasit tirozindir. Düzenleyici enzim olarak görev alan tirozinaz enzimidir. Tirozinaz enzimi, tirozin hidroksilaz, DOPA oksidaz ve dihidroksiindol oksidaz aktivitesine sahiptirler. Melanin sentezinde tirozinaz enzimi birden fazla basamağı katalizler. Tirozinaz enziminin yaptığı işleve ek olarak bu yolağın sentez basamağının ilk basamağını kontrol eder ve bu basamakta tirozin L-DOPA'ya dönüşmektedir. Bu basamak melanin sentezi için hız sınırlayıcı basamaktır. Bu basamağın inhibisyonu ile melanin sentezi engellenir (21,23).



Şekil 5. Melanin Sentezi

2.2.4 Melanosit Dentritleri

Melanosit dentritleri dallanan sitoplazmik uzantılar olarak bilinirler ve keratinositler ile temas haldedirler. Aktin, melanosit dentritlerinin en önemli bileşenidir. Bu bileşenin bozulması dentrit kaybına yol açar. Rho protein ailesi melanosit dendritlenmesinde yol oynar. Rho proteinleri g proteini bağlayıcı protein yapısındadır. Rho proteinleri guanozin trifosfata bağlanınca aktif hale gelir. Rho proteininin aktif hale gelmesiyle melanosit dendritlerinde retraksiyon olur. Aynı g protein ailesinden olan RAC proteini aktivite olduğunda ise dentritler oluşur. α -MSH, cAMP'yi artırarak Rho'yu inhibe eder, böylece melanosit dendritlenmesini artırır. RAC ve Rho proteinlerin arasındaki dengenin melanosit dendritlenmesi için önemli olduğu görülmektedir (21,22,23,24).

2.3 Melanogenik İnhibitörler

Çok sayıda endojen olan melanogenik inhibitör olduğuna dair çok sayıda rapor olmasına rağmen bu inhibitörlerin çok azı gösterilebilmiştir. Bunlar, sfingolipidler ve kemik morfogenik proteindir(21,23,24).

Sfingolipidler, membran ilişkili bir grup sinyal iletici olarak görev alırlar. Mitf degradasyonunu artırarak melanogenezi azaltırlar (21,23,24).

2.4 Vitiligo Hastalığının Klinik Özellikleri

Vitiligo; beyaz renkte, yuvarlakı erpidermal değişikliğin oluşmadığı maküllerle karakterizedir(18,25).

Vitiligo hastalığı görünümüne göre farklı şekillerde isimlendirilmektedir:

1-)Trikrom vitiligo,üç ayrı renk maküller için kullanılan terimdir ve makül rengi normal deri rengi ile açık kahverengi içerir(26,27).

2-)Kvadrikom vitiligo, dört ayrı renk içeren maküllerdir. Özellikle koyu renk deri tipinde görülür(26,27).

3-)İnflamatuar vitiligo, eritem güneş alan lezyonlar üzerinde oluşuru, tek başına vitiligo lezyonları dermatozlara benzemezler(26,27).

2.4.1 Vitiligonun Sınıflandırılması

Vitiligo hastalığı lezyonların dağılımına ve tutulan alanların yaygın olmasına göre sınıflandırılmaktadır(28).

1)Lokelize vitiligo:

-Fokal: Bir alanda bir veya daha çok makül, fakat segmental yayılımı açık değildir.

-Segmental olarak vücudun unilaterale segmenti içeren bir veya daha çok makül

-Mukozal olarak ise sadece mukus membranlarından oluşur.

2)Jeneralize Vitiligo

-Vulgaris geniş olarak yayılmış yamalara şeklidir.

-Akrofasiyal olarak distal ekstremiteler ve yüz

-Karışik akrofasiyal ve vulgaris yada segmental ve akrofasiyal veya vulgaris şeklinde olur.

3)Universal

-Tamamen veya tamama yakın depigmentasyon şeklindeki tipidir.

-Bu tipler arasında en yaygın olarak görüleni yaygın olan tipidir (28).

2.4.2 Vitiligo Hastalığı ile görülebilecek olan hastalıklar

Vitiligo hastalığında en sık görülen sistemik hastalık tiroid hastalığıdır. Hipotiroidi, hipertiroidi, basedow-graves hastalığı vitiligoyla beraber görülen en sık tiroid hastalıklarıdır. (18,27,29).

Vitiligo hastalığında diabetes mellitusun insidansı %1-7,1 arasında değişmektedir. Diabet hastalarında ise vitiligo hastalığının gelişim gösterdiği oran %4,8 olarak belirlenmiştir (18,27).

Vitiligolu hastalarda addison hastalığı ve pernisiyöz anemi hastalığı normal populyasyondan daha sık olarak görülen hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır (18,27).

Vitiligo hastalarında romatoid artrit, sarkodiyoz, crohn hastalığı, primer bilyer siroz, sistemik skleroz, myastenia gravis ve otoimmün poliglandüler sendrom normal populyasyondan daha sık görülen hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır (30,31,32).

2.5 Östrojen Hormonu

Östrojen hormonu, estradiol, estron ve estriolden oluşan üç şekilde bulunur. Estradiol kadınlarda östrojenik etkiye sahip ana hormondur. Fenolik yapıya sahip hormondur. 18 karbonlu steroid yapıdadır.

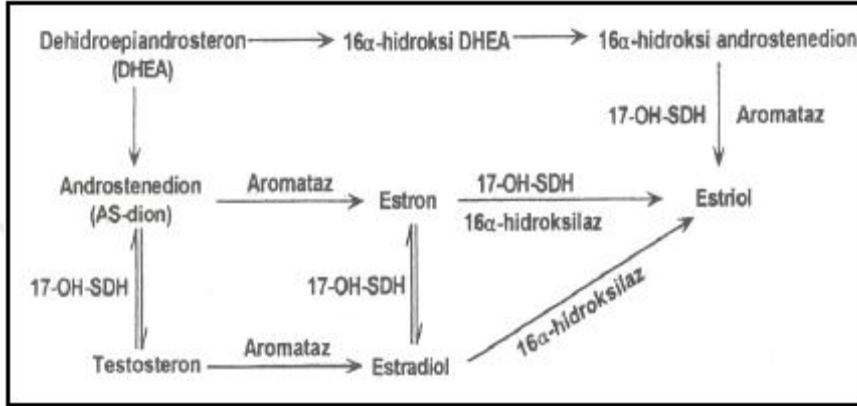


Şekil 6. Estriol, estradiol ve estronun moleküler yapıları

Steroid hormonlar arasında en etkin olanı östrojen hormondur çok düşük düzeylerde bile etkisini gösterebilen yapıdadırlar. Erkekler de ise taban düzeyde olmakla beraber bulunmaktadır(33).

2.5.1 Östrojen sentezi

Östrojenlerin büyük bir bölümü bazı durumlar hariç dışı cinste bulunan overlerde graaf folikülünde sentez edilirler. Overlerdeki sentezde prekürsör görevi, teka hücrelerinde sentezlenip ganuloza hücrelerine sunulan androjenik maddedir. Overlerdeki estron kısmında testesterona dönüştürülür. Testesteron ise aromatazasyon ve dimetilasyon işlemiyle estradiole dönüştürülür(34).



Şekil 7. Östrojen sentezi

2.5.2 Östrojen reseptörleri

Nükleer reseptör süperfamilyasının bir üyesi olan östrojen reseptörleri çeşitli dokuların diferansiyon ve poliferasyonu, üreme fonksiyonları seksüel davranışları ve gelişiminde rol oynar(35).

1960 yılında ortaya çıkarılan östrojen reseptörü (ER), ER α iken 1990 yıllarında ise ER β reseptörü tanımlanmıştır (36,37). Östrojen reseptörleri ligand ile indüklenen transkripsiyon faktörleri olarak kabul edilmektedir. Lipofilik östrojen hücre membranını serbest olarak geçer ve östrojen reseptörlerine bağlanır. Reseptörlerde konformasyonel değişikliğe yol açar, östrojen-ER kompleksinin nükleer translokasyon ve homo/heterodimerizasyonuna izin verir. Bunlar hedef genlerin promotör bölgesi üzerindeki östrojen yanıt elementine bağlanırlar (ERE)(36). Östrojen yanıt elementinin promotör bölgesinde SP1 veya aktivatör protein 1 (AP1) ile protein-protein etkileşimi yoluyla direkt veya indirekt bağlanırlar. Böylece transkripsiyon mekanizması ile etkileşimi yoluyla gen ekspresyonu düzenlenir, mRNA seviyelerinde artış veya azalma ve ilişkili protein üretimi ve fizyolojik yanıtlarla sonuçlanır(38).

2.6 G Protein Kenetli Reseptörler (GPER)

Sinyal iletim sisteminde görev alan G proteinleri Martin Rodbell'in laboratuvarında 1960 yılında glukagon bağlanma deneyleri sırasında keşfedilmiştir. Guanin nükleotid bağlamaları nedeniyle G proteinlerine bu isim verilmiştir. Adenilat siklaz enziminin etkinliği incelenirken G proteinin ATP'den daha fazla rol aldığı anlaşılmış ve G protein üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmıştır. Yapılan araştırmalarda Mg^{+2} iyonunun G proteininin etkinliğini arttırdığı kanıtlanmıştır(46)

Reseptörlerden hücre içindeki efektör enzimlere sinyal aktarımını sağlayan G proteinleri GTP-bağlayan bir α , β ve γ alt birimlerinden oluşmaktadır. β ve γ alt birimleri $\beta\gamma$ dimeri halinde kompleks haldedirler. Üç alt birimde fenilasyon mekanizmasıyla üzerlerindeki bir amino asiti yan zincire bağlanmış bir yağ asiti ile membrana tutunurlar. G proteinlerinin membran iç yüzeyinde serbest bir şekilde difüze olduğu düşünülmektedir. Bu öngörüde hücre içinde bulunan bir G protein popülasyonunun birden fazla reseptör ve efektör ile fazla seçici olmayan bir tepkimeye girebileceği öneren anahtar özelliği durumundadır(47).

İsim	Doku	Efektör
<u>α-Altbirimleri</u>		
$G\alpha_s$ ailesi		
$G\alpha_s$	Her yerde	AC (tüm tipleri) ↑
$G\alpha_{sXL}$	Nöroendokrin	AC ↑
$G\alpha_{olf}$	Koku epitelyumu, beyin	AC ↑
$G\alpha_{i/o}$ ailesi		
$G\alpha_{i1}$	Oldukça yaygın	AC (tip I,III,V,VI,VIII,IV) ↓ (Direkt düzenlenme)
$G\alpha_{i2}$	Her yerde	$G\beta\gamma$ aracılığı ile diğer bazı efektörler düzenlenir.
$G\alpha_{i3}$	Oldukça yaygın	Uyarılmış $G\alpha_{i3}$ 'den serbestlenir.
$G\alpha_o$	Nöronal, nöroendokrin	VDCC ↓, GIRK ↑ ($\beta\gamma$ aracılığı ile)
$G\alpha_z$	Nöronal, trombositler	AC (e.g., V,VI) ↓ (direkt düzenlenir); Rap1GAP
$G\alpha_{\text{guat}}$	Tat hücreleri, saç hücreleri	PDE ↑ ? : ($G\beta\gamma$ aracılığı ile diğer efektörler ?)
$G\alpha_{t-r}$	Retinal çubuklar, tat hücreleri	PDE 6 (γ altbirim çubuk) ↑
$G\alpha_{t-c}$	Retinal koniler	PDE 6 (γ altbirim çubuk) ↑
$G\alpha_{q/11}$ ailesi		
$G\alpha_q$	Her yerde	PLC- β 1-4 ↑
$G\alpha_{11}$	Hemen hemen her yerde	PLC- β 1-4 ↑
$G\alpha_{14}$	Böbrek, karaciğer,	PLC- β 1-4 ↑
$G\alpha_{15/16}$	Hematopoietik hücreler	PLC- β 1-4 ↑
$G\alpha_{12/13}$ ailesi		
$G\alpha_{12}$	Her yerde	PDZ-RhoGEF/LARG, Btk, Gap1m, cadherin
$G\alpha_{13}$	Her yerde	p115RhoGEF, PDZ-RhoGEF/LARG, radixin

Şekil 8. G protein α alt birimi sınıfları

β Altbirimleri

β ₁	Retinal çubuklar
β ₂	Oldukça yaygın
β ₃	Retinal koniler
β ₄	Oldukça yaygın
β ₅	Esas olarak beyin

γ Altbirimleri

γ ₁ , γ _{rod}	Retinal çubuklar, beyin
γ ₁₄ , γ _{conc}	Retinal koniler, beyin
γ ₂ , γ ₆	Yaygın
γ ₃	Beyin, kan
γ ₄	Beyin ve diğer dokular
γ ₅	Yaygın
γ ₇	Yaygın
γ ₈ , γ ₉	Koku/vomer nazal epitelyum
γ ₁₀	Yaygın
γ ₁₁	Yaygın
γ ₁₂	Yaygın
γ ₁₃	Beyin, tat tomurcukları

AC tip 1 ↓ AC tip II,IV,VII ↑ PLC-β
(β3>β2>β1) ↑ GIRK1-4 (Kir3.1-3.4) ↑
kinazlar (GIRK 2 ve 3) ↑ PI-3-K, β, γ ↑ T tip
VDCC (Ca_v3.2) ↓ (Gβ₂γ2) N-,P/Q-,R-tip VDCC
(Ca_v2.1-2.3) ↓

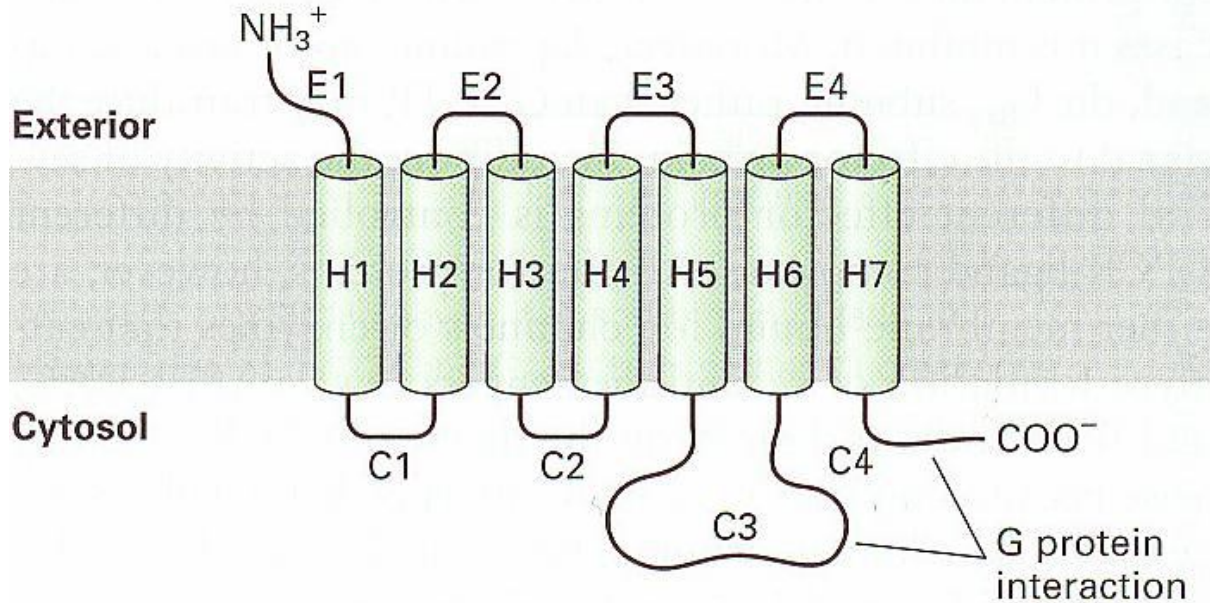
AC, adenilat siklaz; PDE fosfodiesteraz; PLC, fosfolipaz C; GIRK, G proteini ile düzenlenen dışarı düzeltilmiş potasyum kanalı; VDCC, voltaj-bağımlı Ca²⁺ kanalı; PI-3-K, fofoinositol 3-kinaz; GRK, G proteini ile düzenlenen kinaz; RhoGEF, Rho guanin nükleotit değiş-tokuş faktörü

Şekil 9. β ve γ alt birimleri sınıfları

Sinyal iletiminde görevli olan G proteinleri iki sınıfa ayrılırlar.

1) Heterotrimerik G Proteinleri

2) Tek bir α subunit içeren küçük G proteinleri (39)



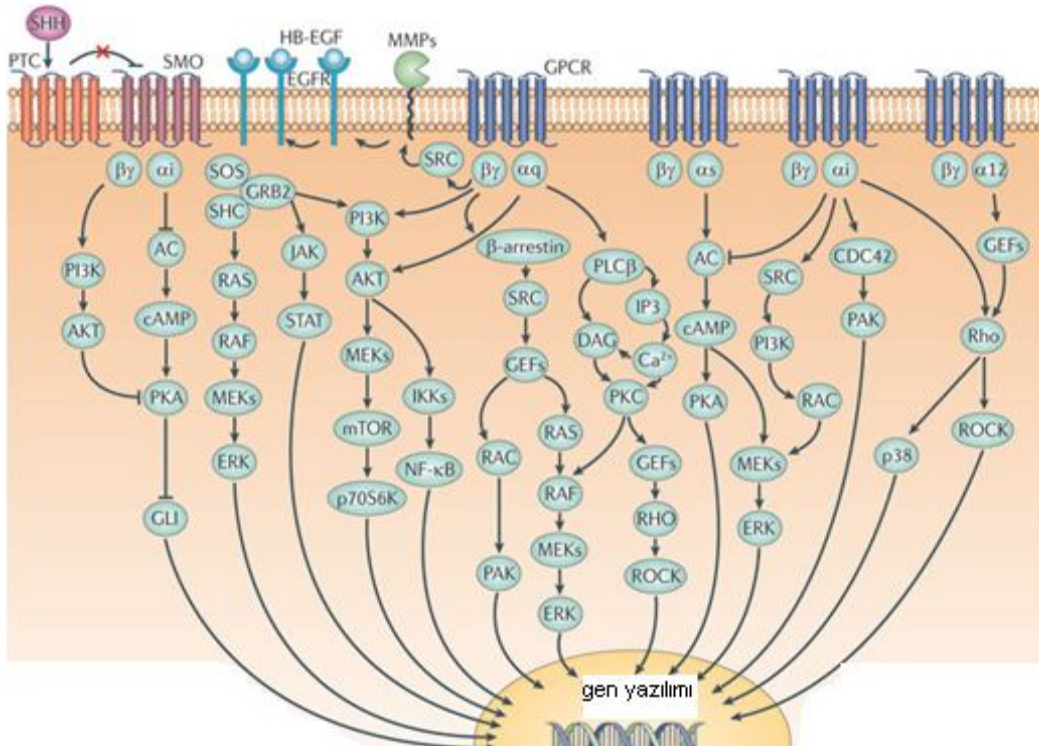
Şekil 10. G Proteini Yapısı

2.6.1 Heterotrimerik G Proteinleri

Hücre membranından hücre içerisine sinyal iletiminde anahtar rol oynayan moleküllerdir. Hücre membran reseptörü bir agonist ile etrafı sarıldığında, reseptör aktivitesinde değişiklikler oluşturulur. Buradan oluşan sinyaller ilgili G proteinini etkili hale getirirler. Sonra efektör aktif hale gelir. G proteini bağlantılı sinyal iletim sistemi sinyalin amplifikasyonunu içermektedir (39).

2.6.2 Küçük G Proteinleri

Küçük Guanin nükleotidi bağlayan proteinler molekül ağırlıkları yaklaşık olarak 20-40 kDA olan monomerik G proteinleri olarak adlandırılırlar. 100'den fazla familyası vardır. Ancak yapısal olarak sırasıyla Ras, Rho/Rac/Cdc 42, Rab, Sarl/Arf, Ran olmak üzere 5 familyaya ayrılmaktadır (40,41,42,43).

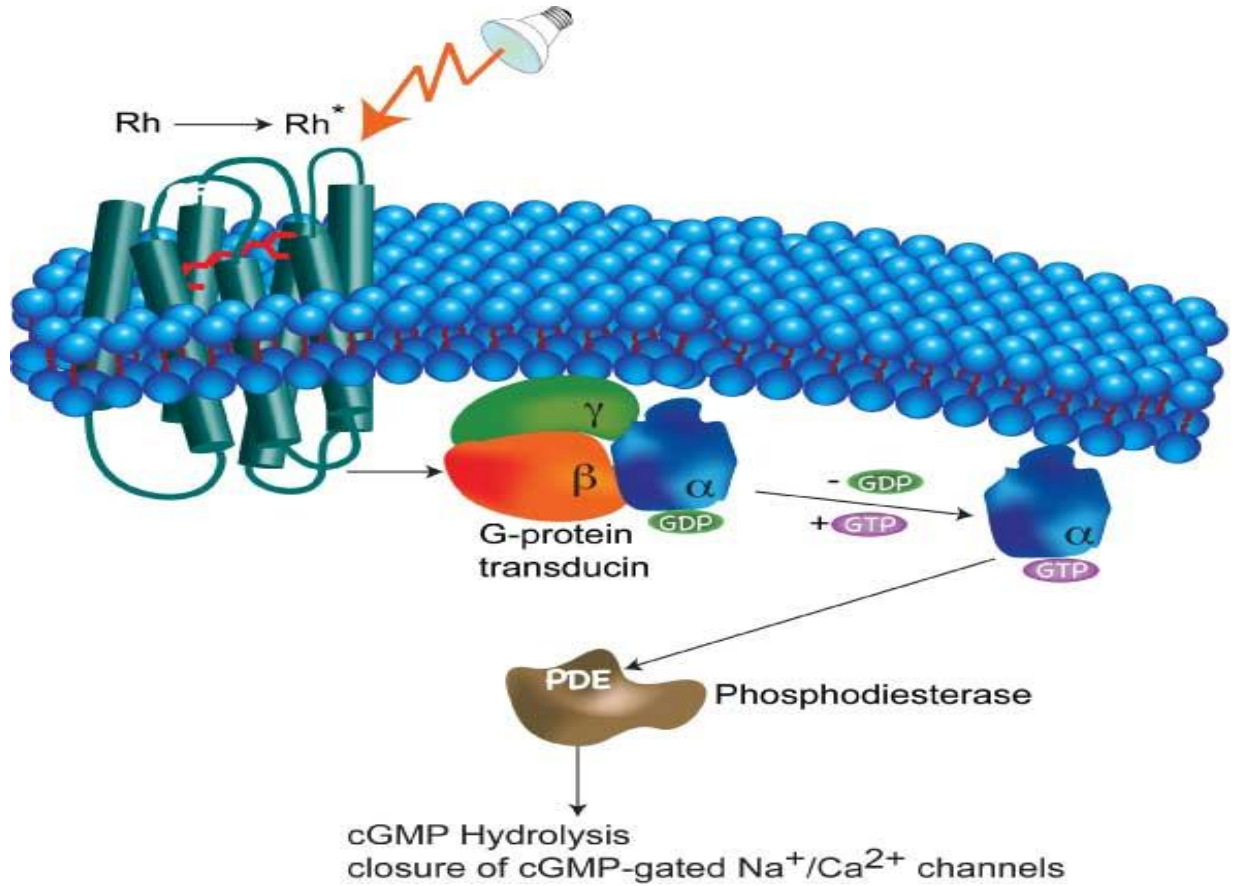


Şekil 11. G proteini hedefleri

GPER-1 ilk olarak 1996 yılında klonlanmış ve başlangıçta GPR-30 adı verilmiştir. Haas ve arkadaşları, 2007 yılında insan arter ve ven düz kaslarında GPR-30 ekspresyonunu göstermişlerdir. GPER-1'in, plazma zarı ve endoplazmik retikulum da lokalize olduğu ve insan vücudunda beyin, karaciğer, kalp, akciğer, pankreas, plasenta, kan damarları, kemik, lenfoid doku, endometrium, over ve meme kanseri dokularında eksprese edildiği gösterilmiştir(43,44).

2.6.2.1 Rho

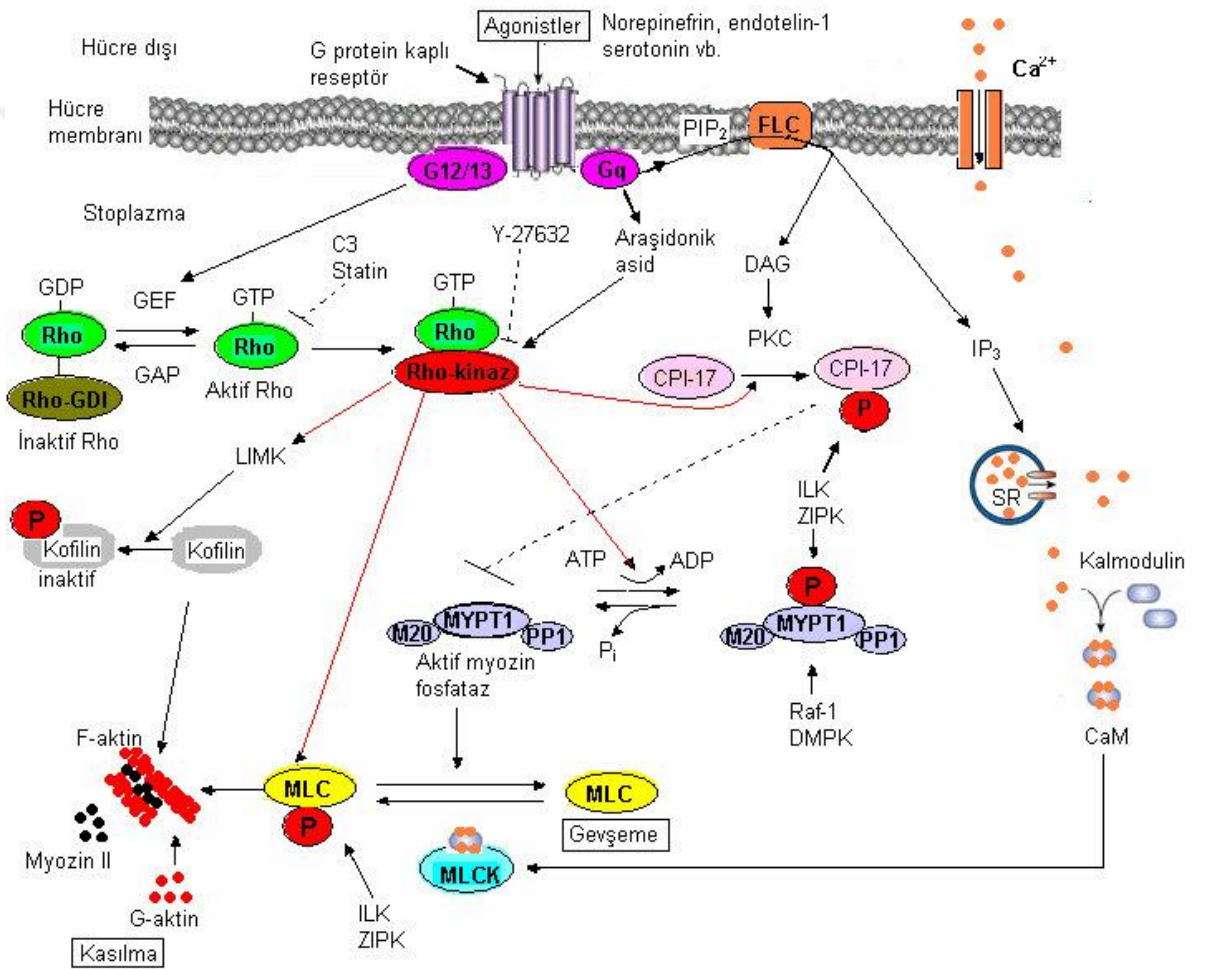
1985 yılında Aplysia'dan bir Ras homoloğu olarak klonlanmış Rho geni kısa süre içerisinde üç insan homoloğu RhoA, RhoB, RhoC olarak bulunmuştur (43). RhoA, Ras superfamilyasının küçük bir G proteinidir. Aktif bir GTP bağlı formuyla inaktif GDP bağlı formu arasında değişir. RhoA'nın hücresel işlevleri; proliferasyon, farklılaşma ve gen regülasyonu gibidir(44).



Şekil 12. Rhodopsin Yapısı

2.6.2.2 Rho/Rho-Kinaz Yolağı

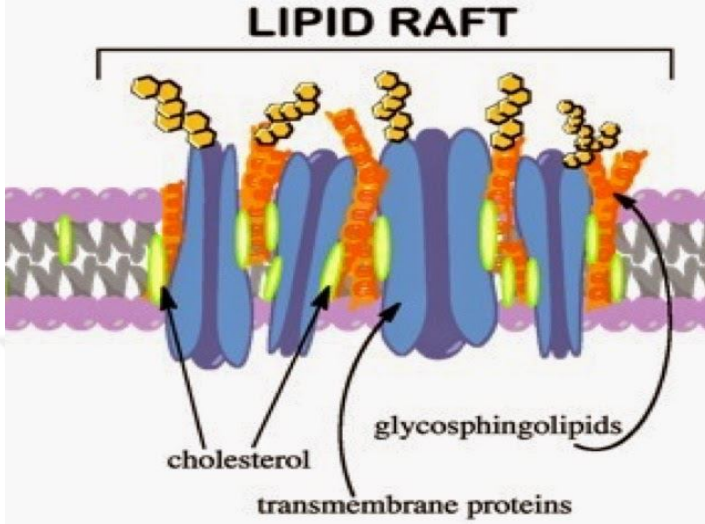
Rho-kinazın ROK α ve ROK β iki önemli yolağı mevcuttur. Rho-kinazlar serin/treonin protein kinazlardır. Bir amino-terminal katalitik kinaz bölgesi, Rho-GTP bağlanan bir kıvrılmış sarmal bölgesi ve sisteinden zengin bir parça ile ayrılmış C-terminal plekstrin homoloji bölgesi içerirler(45).



şekil 13. Rho/Rho Kinaz yolağı

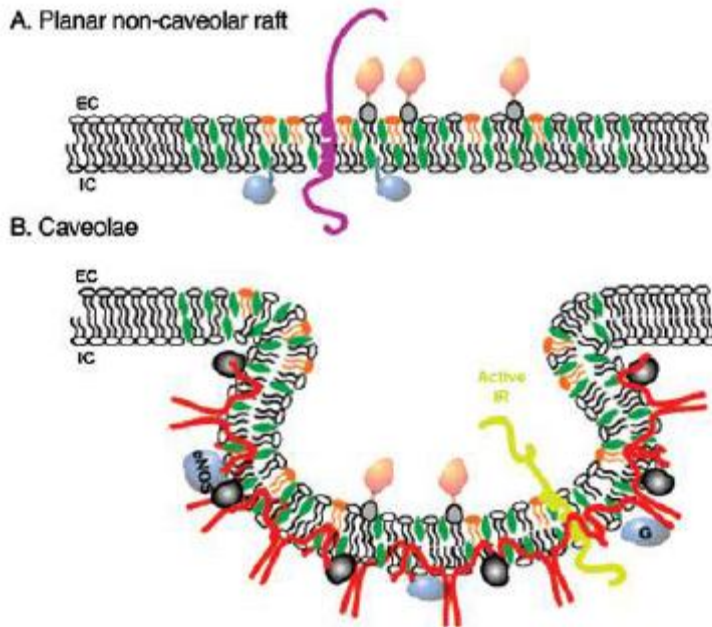
2.7 Raftlin(Lipid Raft)

Glikoproteinlerden (sflngolipid) ve kolesterolden zengin, içinde reseptör proteinleri bulunan bölgelere lipid raft adı verilmektedir(63).



Şekil 14. Raftlin Yapısı

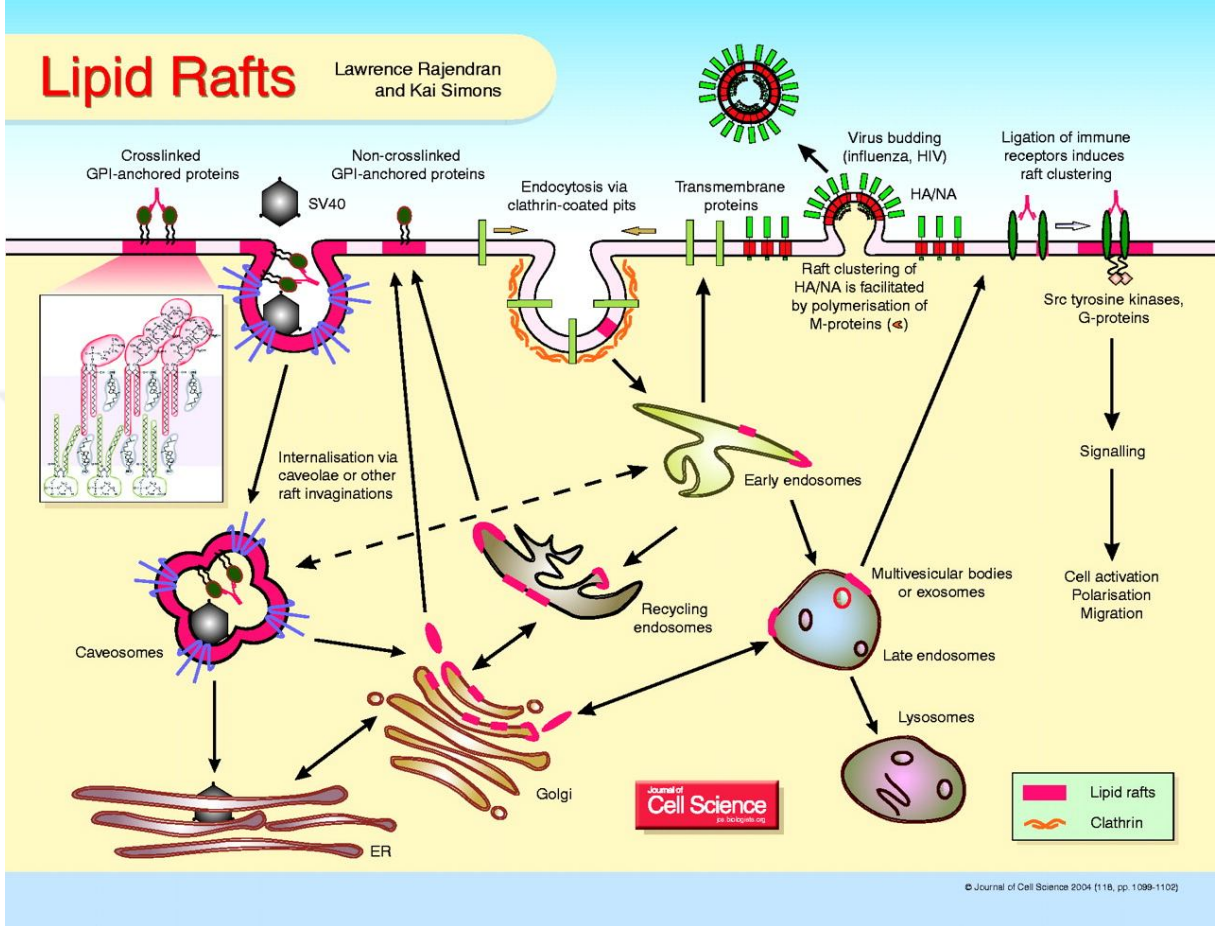
İki tip lipid raft gözlenmektedir(63).



Şekil 15. Raftlin Sınıflandırılması

Lipid raftlar, membran mikrodomanler olarak bilinir ve çeşitli reseptör sinyallerinin başlaması için platformlar olarak hareket ettiği gösterilmiştir. Proteomik analizler sayesinde,

lipit raft protein Raftlin olarak rastlanılmıştır. Son yıllarda Raftlin üzerine oldukça fazla araştırma yapılmaktadır. Lipid raflar membran domainleri kolesterol ve sfingolipidlerde bol bulunur. Lipid rafların heterojenliği, protein bileşimi ile ilgilidir (63).



Şekil 16. Raftlin Hedefleri

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. GEREÇ

3.1.1. Araştırma Sırasında Kullanılan Aygıtlar

-Cam Kalem	Faber Castel
-Enjektör	-
-Hassas Teraz	Radwag
-Kronometre	-
-Lam	-
-Lamel	-
-Manyetik Karıştırıcı	-
-Mezür (25ml,50 ml,100 ml,250 ml,500 ml)	-
-Otomatik pipet	Gilson
-Soğutmalı santrifüj	Hettich
-ELIZA	ChemWell
-Su Banyosu	Wise Bath
-Vorteks	-
-Buzdolabı	Samsung
-Buz Makinesi	Scotsman
-Distile Su Cihazı	Merck
-Biyokimya tüpü	-

-Vacutenier	-
-Etüv	Memmert
-Balon Joje	-
-Beher	-
-Ependorf	-

3.1.2. Araştırma sırasında kullanılan kimyasallar

-GPER-1 Elisa Kit 96 well	LSBiO
-Raftlin Elisa Kit 96 Well	Cusabio
-Distile su	-
-Etanol	Sigma
-Serum Fizyolojik(% 0,9 NaCl)	-

3.1.3. Denekler

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu onayı alınarak Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından, KSÜ Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Dermatoloji Polikliniğine gelen vitiligo hastalarından (25 vitiligo hastası: 12 kadın ve 13 erkek; yaş aralığı:18-45) ve sağlıklı bireylerden (25 kontrol grubu: 14 kadın ve 11 erkek; yaş aralığı:18-45) alınan 50 venöz kan örneği biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar santrifüj edilerek serum örneklerine ayrıştırıldı. Ayrıştırılan serum örnekleri analiz gerçekleşinceye kadar -20 °C 'de saklandı. Rutin hormon testleri ise Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında çalışıldı.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Deney grupları

Bu çalışmada, 50 kişiden (25 vitiligo+ 25 sağlıklı birey) biyokimya tüplerine alınan kanlar 4000 rpm'de santrifüj edildi ve serum örnekleri ayrıştırıldı. Ayrılan serum örneklerinde GPER-1(LSBiO) ve Raftlin düzeyleri (Cusabio) ticari kitler ile ELIZA cihazında ölçüldü.

3.3 Vitiligo Hastalarında ve Kontrol Grubunda ELIZA Metodu İle GPER-1 Tayini

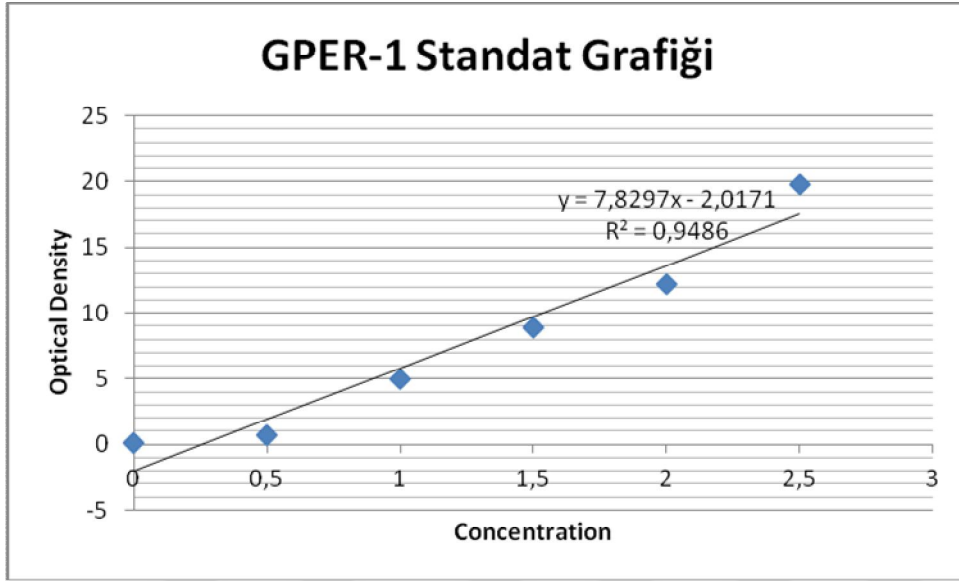
GPER-1 aktivite tayini LSBiO Human GPER-1 ELİZA kit ile yapıldı. Çalışma yapılırken kit içeriğinde bulunan Yöntem Prosedürü dikkate alındı.

3.3.1. Kit içeriğinde bulunan avıraçlar

- 96'lık kaplamalı kuyucuk
- Standart(Liyofilize)
- Belirleme Reaktif A (Green)
- Belirleme Reaktif B (Red)
- A Reaktif için Seyreltme Çözeltisi
- B Reaktif için Seyreltme Çözeltisi
- TMB Substrat
- Yıkama Tamponu (Wash Buffer) (30x konsantre)

Prensibi: Örneklerde GPER-1 düzeyleri kantitatif sandviç immünoassay tekniği (ELİZA) ile ölçüldü. Mikrotitre plakası GPER-1'e özgü bir antikor ile önceden kaplandı. Standartlar ve numuneler daha sonra GPER-1'e özgü bir biyotin-konjuge antikor ile uygun bir mikro-titre plaka oyuklarına ilave edildi. Daha sonra, Avidin bağlı horseradish peroksidaz (HRP) her bir mikropalakaya ilave edildi ve inkübe edildi. TMB substrat çözeltisi GPER-1, biyotin-konjuge antikor ve enzim-konjüge avidin içeren kuyucuklara ilave edildikten sonra bir renk değişimi oluştu. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve renk değişimi 450 nm bir dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

Numunelerde GPER-1 konsantrasyonu, Standart eğride numune O.D.lerin karşılaştırılmasıyla saptandı.



Şekil 17. GPER-1 Standart Grafiği

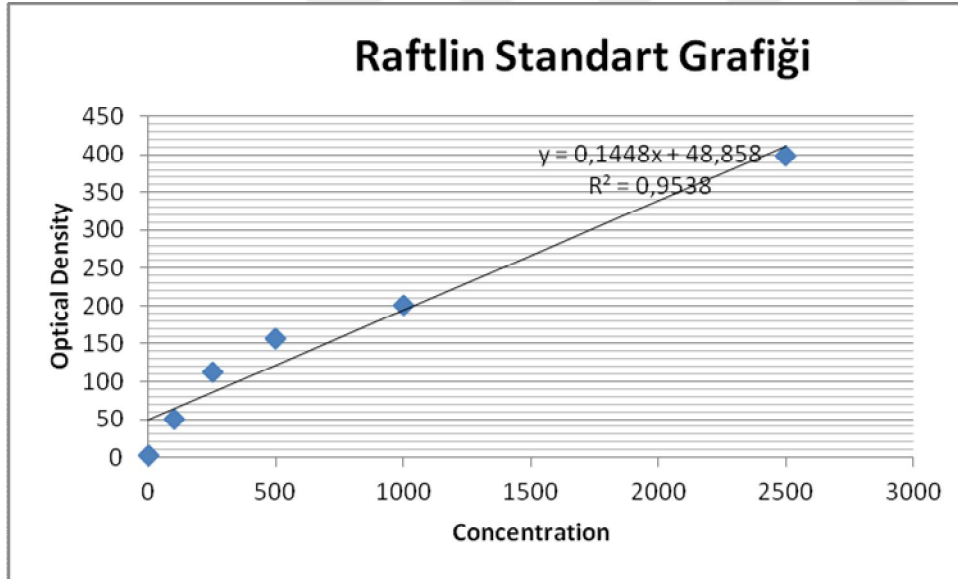
Kit Prosedürü

1. Tüm reaktifler, örnekler ve standartlar hazırlandı.
2. Standart ve örneklerden ilgili her kuyucuğa 100µL eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
3. Aspirasyon işlemi yapıldı ve her kuyucuğa Belirleme Çözeltisi A'dan 100µL eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
4. 3 kez aspirasyon ve yıkama işlemi yapıldı.
5. Aspirasyon işlemi yapıldı ve her kuyucuğa Belirleme Çözeltisi B'dan 100µL eklendi. 30 dakika 37 °C'de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
6. 5 kez Aspirasyon ve yıkama işlemi yapıldı.
7. Her kuyucuğa 90µL Substrat Solüsyonu eklendi. 15-25 dakika 37°C'de inkübasyon işlemi yapıldı.
8. Her kuyucuğa 50µL Stop Solüsyonu eklendi. 450nm'de okuma yapıldı..

3.4 Vitiligo Hastalarında ve kontrol grubunda ELIZA metodu ile Raftlin Tayini

Raftlin aktivite tayini Cusabio Human Raftlin Elisa kit ile yapıldı. Çalışma esnasında kit kitapçığındaki Assay Procedure dikkate alınarak çalışıldı.

Prensibi: Örneklerde Raftlin düzeyleri kantitatif sandviç immünoassay tekniği (ELİZA) ile ölçüldü. Mikrotitre plakası Raftlin'e özgü bir antikor ile önceden kaplandı. Standartlar ve numuneler daha sonra Raftlin'e özgü bir biyotin-konjuge antikor ile uygun bir mikro-titre plaka oyuklarına ilave edildi. Daha sonra, Avidin bağlı horseradish peroksidaz (HRP) her bir mikropalakaya ilave edildi ve inkübe edildi. TMB substrat çözeltisi Raftlin, biyotin-konjuge antikor ve enzim-konjüğe avidin içeren kuyucuklara ilave edildikten sonra bir renk değişimi oluştu. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve renk değişimi 450 nm bir dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerde Raftlin konsantrasyonu, Standart eğride numune O.D.lerin karşılaştırılmasıyla saptandı.



Şekil 18. Raftlin Standart Grafiği

Kit Prosedürü

- 1) Tüm örnekler ve standartlar hazırlandı.
- 2) Standart ve örneklerden ilgili her kuyucuğa 100µL eklendi. 2 saat 37 °C'de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
- 3)Kuyucukta bulunan bütün sıvılar boşaltıldı.(Yıkama işlemi yapılmadı).
- 4)Kuyucukların her birine Biotin-Antibody (1x) çözeltisinden 100 µL eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyon yapıldı .
- 5)3 kez yıkama solüsyonu ile aspirasyon işlemi yapıldı.
- 6)Kuyucukların her birine HRP-Avidin (1x) çözeltisinden 100 µL eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyon yapıldı
- 7) 5 kez yıkama solüsyonu ile aspirasyon işlemi yapıldı.
- 8)Kuyucukların her birine TMB Substrate çözeltisinden 100 µL eklendi. 15-30 dakika 37 °C'de inkübasyon yapıldı
- 9) Kuyucukların her birine Stop Solution çözeltisinden 50 µL eklendi
- 10) 5 dakika içerisinde 450 nm'de okuma yapıldı.

3.4.2 Ayrıraçlar

- Standart(Lyophilized)
- Biotin-Antibody (20x)
- HRP-Avidin (20X)
- Örnek seyreltme çözeltisi
- Yıkama tamponu
- Reaktif hazırlama tamponu
- TMB Substrate
- Stop Solution(Sonlandırma Çözeltisi)

3.5 Vitiligo ve Kontrol Grubunda Hormon Testleri

Vitiligo ve kontrol grubundan alınan venöz kanlar santrifüj edilip serum örnekleri alındıktan sonra hormon testleri (TSH, Folik Asit, B12 Vitamini) KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında Electrochemiluminescence Immunassay yöntemiyle analiz edildi.

3.6. İstatistik

Sonuçlar ortalama \pm SD olarak verildi ve istatistik değerlendirmeler için gruplar arasındaki ikili karşılaştırmaların değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı, $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

4.BULGULAR

Çalışmamızda 25 vitiligo hastası ve kontrol grubu olarak 25 sağlıklı birey olmak üzere 50 katılımcı dahil edildi. Vitiligo hasta grubu 13 kadın ve 12 erkek hastadan oluşurken, kontrol grubu 14 kadın ve 11 erkekten oluşuyordu. Hastaların ve kontrol grubunun hepsi 18-45 yaş aralığında değişmekteydi. Tüm vitiligo hastalarda ve kontrol grubunda GPER-1 ve Raftlin aktiviteleri ELIZA yöntemi ile ölçüldü.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımları (n=kişi sayısı)

	Tüm vitiligo hasta grubu (n=25)	Kontrol grubu (n=25)
Cinsiyet (Kadın/erkek)	13/12	14/11
Hastalık süresi ortalaması	3,00	-
Yaş Ortalaması	25,00	28,50

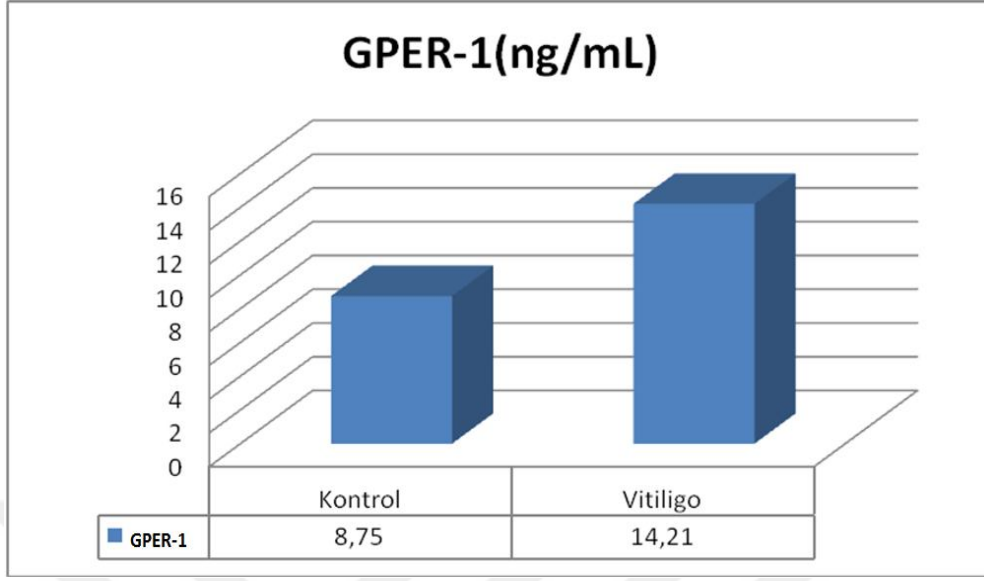
4.1 GPER-1 Aktiviteleri

Tüm grupların GPER-1 aktiviteleri Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Tüm grupların GPER-1 aktiviteleri

	GPER-1		
	n	Ort \pm SD	p değeri
GRUP 1 (Vitiligo)	25	*14,21 \pm 6,55	0,001
GRUP 2 (Kontrol)	25	8,75 \pm 3,54	

*Grup 1 ve 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı (Mann-Whitney U test)



Şekil 19. Gruplar arası GPER-1 aktivite düzeyleri

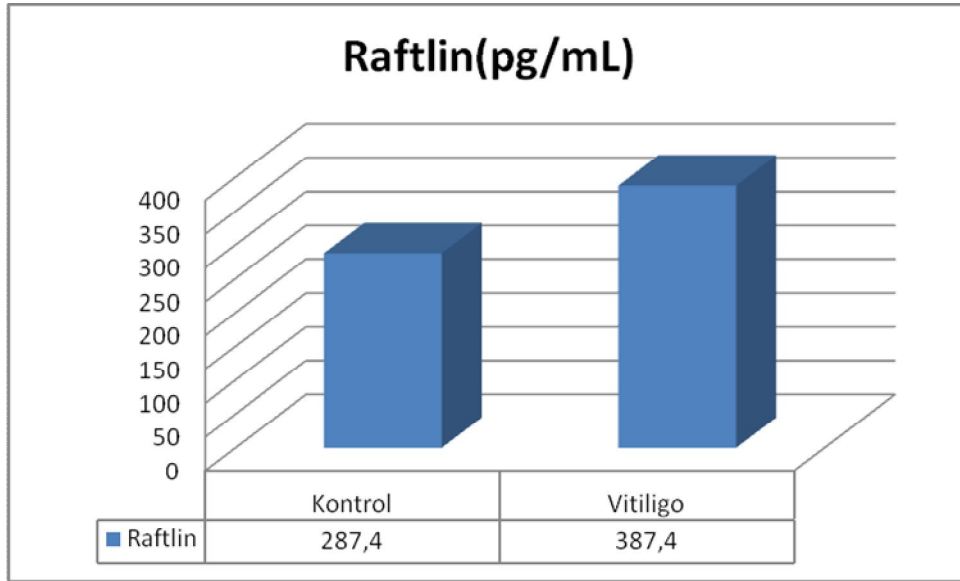
4.2. Raftlin Aktiviteleri

Tüm grupların Raftlin aktiviteleri Tablo 1.'de gösterilmiştir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.

Tablo 3. Tüm grupların Raftlin aktiviteleri

Gruplar	n	Raftlin	
		Ort±SD	p değeri
Grup 1 (Vitiligo)	25	*387,4±143,0	0,001
Grup 2 (Kontrol)	25	247,8±98,4	

*Grup 1 ve 2 arasında raftlin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı (Mann-Whitney U test)



Şekil 20. Gruplar arası Raftlin aktivite düzeyleri

Tablo 4. Vitiligo Hastalarının Biyokimyasal Verileri

	Cinsiyet	Yaş	TSH	Folik Asit	Vitamin B12
1	E	24	0,92	8,51	472
2	K	21	1,5	9,56	563
3	E	30	0,88	15,4	203
4	E	26	1,14	12,22	195
5	K	19	1,4	10,8	498
6	K	27	1,38	11,9	563
7	E	18	0,98	6,75	680
8	E	23	0,75	7,85	254
9	E	29	0,91	12,15	356
10	K	34	0,9	14,01	457
11	K	31	1,64	8,82	324
12	K	22	1,52	9,12	193
13	E	25	2,8	6,99	254
14	E	26	1,54	7,02	325
15	K	20	2,14	14,06	398

16	E	23	1,6	12,08	378
17	K	21	0,918	10,099	402
18	K	22	2,22	12,09	201
19	E	20	1,72	11,05	323
20	K	19	1,36	9,51	325
21	E	26	1,42	13,25	198
22	K	23	2,02	14,28	248
23	K	24	2,01	15,01	451
24	E	28	1,76	14,06	378
25	K	38	0,88	10,98	261

Tablo 5. Kontrol Grubunun Biyokimyasal Verileri

	Cinsiyet	Yaş	TSH	Folik Asit	Vitamin B12
1	E	36	1,72	14,01	373
2	K	25	1,36	8,82	198
3	E	40	1,42	9,12	202
4	E	29	2,02	6,99	324
5	K	27	2,01	7,02	378
6	K	19	1,76	14,06	422
7	E	22	0,88	12,08	320
8	K	24	1,4	10,099	351
9	E	25	1,38	12,09	252
10	K	26	0,98	11,05	243
11	K	25	0,75	9,51	324
12	K	25	0,91	13,25	203
13	E	26	0,9	14,28	365
14	E	28	1,64	15,01	387
15	K	32	1,52	8,51	421

16	E	31	2,8	9,56	199
17	K	25	1,54	15,4	456
18	K	21	2,14	12,22	687
19	E	22	1,6	10,8	702
20	K	20	0,918	14,06	888
21	E	18	2,22	10,98	654
22	K	22	0,92	11,9	602
23	K	23	1,5	6,75	452
24	E	25	0,88	7,85	365
25	K	27	1,14	12,15	421



5.TARTIŞMA

Bu çalışmada vitiligo hastalığının sinyal yollarında etkili olan GPER-1 ve Raftlin aktiviteleri üzerine etkisini araştırdık. Bu çalışma sonucunda GPER-1'in Rho protein ailesinden olan G proteinin melanosit hasarına sebep verdiğini bilerek, GPER-1'inde aynı etkiye sahip olabileceğini düşündük. Sfingolipid yapıdaki Raftlinin ise melangonik inhibitör olması muhtemel olabileceğini düşünmekteyiz. Sfingolipidler, membran ilişkili bir grup tarafından sinyal iletici olarak görev alırlar. Mitf degradesyonunu artırarak melanogenez azaltırlar. Mitf geninde melanositlerin yaşamı için önemli bir gen dir ve melanogenik proteinlerin transkripsiyonunun anahtar düzenleyicisi olarak görev alır. Mitf ekspresyonu fosforilasyonla olacağı gibi siklik AMP(cAMP) yoluyla da sinyal iletimini yaparlar. Bu bilgiler ışığında GPER-1 ile Raftlinin cAMP yolağında etkisi Mitf geni tarafından olabilir.

Vitiligo hastalığı kalıtsal olan, dünya üzerinde sıkca rastlanan, herhangi bir yaşta beliren ve ilerleyici olan bir pigment bozukluğudur. Klinik açıdan bakıldığında büyüklükleri ve sayıları farklı, beyaz renkli makül ve yamalar ile karakterizedir(48-52). Vitiligonun etyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır(48). Birbirinden farklı genetik, çevresel ve immunolojik faktörler suçlanmaktadır. Vitiligo hastalığında depigmente maküllerde hiç melanosit bulunmadığı için patogenez üzerine düşünülen teoriler melanositlerin hasarlanması üzerine odaklanılmıştır. Tanımlanmamış melanosit büyüme faktörlerinin eksikliği ve melanositlerin yapısında veya fonksiyonunda intrinsik defekt varlığı da diğer olası etiyolojik faktörlerdir (53-56).

Vitiligo hastalığı ile beraberinde görülen en sık hastalık B12 vitamini eksikliğidir. B12 vitamini eksikliği tanısı bir çok çalışmayla belirlenmiş olup B12 vitamini eksikliğinin görüldüğü vitiligo ile pernisiyöz anemi beraberliğidir. Vitiligo ile pernisiyöz anemi arasındaki ilişki pek çok çalışmada irdelenmiştir(64,65,66,67). Bizim çalışmamızda ise folik asit ile B12 vitamin düzeyleri kontrol grubuna göre kıyasladığımızda vitiligo hastalarında normal sınırlarda bulunmuştur.

İnterlökin-1 α , İnterlökin -6 ve TNF- α epidermal keratinositler ve Langerhans hücreleri tarafından sentezlenirler ve normal insan melanositleri üzerine benzer biyolojik etkilere sahiptirler. İnterlökin -1 α , İnterlökin -6, TNF- α ve TGF- β insan melanosit proliferasyonu ve melanogenezin parakrin inhibitörleridir ve tirozinaz enzimini de azaltırlar (57,58). TNF- α , İnterlökin -1 α , İnterlökin -1 β , İnterlökin -6, İnterlökin -8 ve GM-CSF'nin, vitiligonun etyopatogenezindeki rolü ortaya konmuştur(59). Bizim çalışmamızda ise GPER-1'in insan melanosit proliferasyonu ve melanogenezin parakrin inhibitörü olabileceğini öngörmekteyiz ve tirozinaz enziminde azaltabileceği kanısındayız.

Rhodopsin protein ailesi melanosit dendritlenmesinde yol oynar. Rho proteinleri g proteini bağlayıcı protein yapısındadır. Rho proteinleri guanozin trifosfata bağlanınca aktif hale gelir. Rho proteininin aktif hale gelmesiyle melanosit dendritlerinde retraksiyon olur. Aynı g protein ailesinden olan RAC proteini aktivide olduğunda ise dendritler oluşur. α -MSH, cAMP'yi artırarak Rho'yu inhibe eder, böylece melanosit dendritlenmesini artırır. RAC ve Rho proteinlerin arasındaki dengenin melanosit dendritlenmesi için önemli olduğu görülmektedir (21,22,23,24).

Vitiligolu keratinosit ve melanositlerde kalsiyum transportunun hasarlı olduğunu savunan çalışma yapılmıştır(60,61). Sağlıklı insan keratinositlerinde β_2 -adrenoreseptor'lerinin stimülasyonu adenilat siklaz/cAMP yolağını kullanarak gerçekleştirir. Burada ki sistemde regülasyon hücre içi kalsiyum iyonlarının kritik derecede önemli olduğunu göstermektedir. Bu araştırmanın bulgularına göre vitiligo keratinositlerde kalsiyum alınımı kontrol keratinositlerine göre yaklaşık olarak 4-5 kat azalmış durumdadır(60). Kalsiyum hemostazisindeki hasar sonucunda β_2 -adrenoreseptörünün gen ekspresyonunda kontrolü sağlanamamaktadır(62). Bunun sonucunda oluşan aşırı gen ekspresyonu artışıyla keratinositlerde farklılaşma meydana gelmektedir. Aynı araştırmacılar bu bilgilerin yanında vitiligoda keratinositlerde olduğu kadar melanositlerde de kalsiyum transport bozukluğunun söz konusu olduğunu saptamışlardır(61). Bizim çalışmamız ile bu çalışmayı kıyasladığımızda GPER-1'in stimülasyonunun adenilat siklaz/cAMP yolağını kullanarak gerçekleştirdiğini ve vitiligo hastalarındaki GPER-1 aktivitelerindeki artış bu hastalıkta melanositlerle ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Aynı şekilde Raftlin düzeyindeki artışın ise adenilat siklaz yolağı ile alakalı olabileceğini öngörmekteyiz. Sonuç olarak bu çalışma ile kıyaslama yaptığımızda vitiligo hastalarının kalsiyum hemostazisinde de bozukluk GPER-1 ve Raftlin ile alakalı olabileceğinin olabileceğini ön görmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Vitiligo Hastlarında çalıştığımız GPER-1 ve Raftlin'in birbiriyle aynı yolakları kullanabileceği kanısındayız. Bulgularımıza göre GPER-1 ve Raftlin düzeyleri serum düzeylerinde benzer oranlarda artış göstermektedir.

2- GPER-1'in stimülasyonunun adenilat siklaz/cAMP yolağını kullanarak gerçekleştirdiğini ve vitiligo hastalarındaki GPER-1 aktivitelerindeki artış bu hastalıkta melanositlerle ilgili olabileceği kanısına varmış bulunmaktayız. Aynı şekilde Raftlin düzeyindeki artışın ise adenilat siklaz yolağı ile alakalı olabileceğini öngörmekteyiz. Sonuç olarak bu çalışma ile kıyaslama yaptığımızda vitiligo hastalarının kalsiyum hemeostazisinde bozukluk GPER-1 ve Raftlin ile alakalı olabileceğine rasladık.

3- Vitiligo Hastalarında istatistiksel veriler doğrultusunda GPER-1 ve Raftlin'in vitiligo hastalarında kontrol grubuna göre artmış olması aralarında ki ilişkinin olduğu ancak daha detaylı bir araştırma ile moleküller teknikler kullanarak GPER-1'in gen ekspresyonu üzerinde Raftlin'in etkisine bakılmasının GPER-1 ile Raftlin arasındaki ilişkiyi irdelemekte anlamlı olacağını öngörmekteyiz.

4.Bu çalışmada sonucunda Vitiligolu hastalarda Mitf geni üzerindeki GPER-1 ile Raftlin bu gene etkiside çalışılmasının yapılması daha anlamlı veriler vererek vitiligo hastalığının etiyojisine ve patogenezinine daha fazla katkı sağlayabileceğini düşünmemiz ikinci öngörümüzdür.

5.Çalışmamızda elde ettiğimiz biyokimyasal veriler neticesinde B12 vitamini, TSH, Folik Asit değerleri kontrol grubuna göre vitiligo hastalarını kıyasladığımızda iki grupta bütün biyokimyasal değerlerin normal sınırlarda olduğunu tespit edilmiştir. Bundan dolayı hastalarımızda vitiligo hastalığı ile beraber görülen tiroid hastalığı, pernisiyöz anemi hastalığının olmadığı görülmüştür.

7.KAYNAKLAR

- 1.Kovacs, OS. Vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 1998; (38), 647-66.
- 2.Lerner, AB. Vitiligo. *J Inverst Dermatol*. 1959; (32), 285-310.
- 3.Bolognia J.L, Pawelek, JM. Biology of hypopigmentation. 1999; (23), 127-189.
4. Katia O, Nanny VG, Jean-Marie N. Evidence for an Autoimmune Pathogenesis of Vitiligo. *Pigment Cell Res* 2003;16:90-100.
5. Schwartz RA, Janniger CK: Vitiligo. *Cutis* 1997; 239-44.
6. Bleehen SS, Anstey AV. Vitiligo. *Rook's Textbook of Dermatology*. Ed. Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Oxford, Blackwell Science, 2004; 39.1–39.65
7. Ongenaes K, Geel NV, Naeyaert JM. Evidence for an Autoimmune Pathogenesis of Vitiligo. *Pigment Cell Res* 2003; 90-100.
8. Ortonne JP. Vitiligo and Other Disorders of Hypopigmentation. In: Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP (eds). *Dermatology*, 1st ed. Edinburg: Mosby-Elsevier Science 2003; 947-973
9. Gawkrödger DJ, Ormerod AD, Shaw L, Mauri-Sole I, Whitton ME, Watts MJ, Anstey AV, Ingham J, Young K. Guideline for the diagnosis and management of vitiligo. *Br J Dermatol* 2008; 159(5): 1051-1076
10. Alkhateeb A, Fain PR, Thody A et al. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res*. 2003; 16(3): 208-214
11. Nath SK, Majumder PP, Nordlund JJ. Genetic epidemiology of vitiligo: multilocus recessivity cross-validated. *Am J Hum Genet*. 1994; 55(5): 981-990.
12. Liu JB, Li M, Yang S ve ark. Clinical profiles of vitiligo in China: an analysis of 3742 patients. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30: 327-33.
13. Majumder PP, Nordlund JJ, Nath SK. Pattern of familial aggregation of vitiligo. *Arch Dermatol* 1993; 129: 994-998
14. Arıcan Ö, Koç K, Ersoy L. Türk popülasyonunda vitiligo. XVIII. Ulusal Dermatoloji Kongresi. Poster Kitabı, Antalya, 2000; 1-119
15. Jaisankar TJ, Baruah MC, Garg BR: Vitiligo in children. *Int J Dermatol* 1992; 31: 621-623.
16. Spencer JM, Nossa R, Ajmeri J. Treatment of vitiligo with the 308-nm excimer laser: a pilot study. *J Am Acad Dermatol*, 2002; 46(5): 727-731

17. Handa S, Dogra S. Epidemiology of childhood vitiligo: a study of 625 patients from North India. *Pediatric Dermastol* 2003; 20: 207-210
18. Le Poole IC, Das PK, van den Wijngaard RMJGJ, Bos JD, Westerhof W. Review of the etiopathomechanism of vitiligo: A convergence theory. *Exp Dermatol* 1993; 2: 145-153
19. Aringer M, Smolen JS. The role of tumor necrosis factor-alpha in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2008; 10: 202
20. Bleehen SS, Anstey AV. Vitiligo. *Rook's Textbook of Dermatology*. Ed. Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Oxford, Blackwell Science, 2004; 39.1–39.65
21. Park HY, Pongpudpunth M, Lee J, Yaar M. Biology of Melanocytes. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7th ed. New York: Mc Graw- Hill Book Company, 2008: 591-616
22. Alhaidari Z, Olivry T, Ortonne JP. Melanocytogenesis and melanogenesis: genetic regulation and comparative clinical diseases. *Veterinary dermatology* 1999; 10: 3-16.
23. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007; 445: 843-850
24. Bolognia JL, Orlow SJ. Melanocyte Biology. *Dermatology*. In: Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP (eds). *Dermatology*, 1st ed. Edinburg: Mosby-Elsevier Science 2003: 935-944
25. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007; 445: 843-850
26. Forschner T, Buchholtz S, Stockfleth E. Current state of vitiligo therapy-evidence-based analysis of the literature. *JDDG*; 2007; 5: 467-476
27. Bhatnagar A, Kanwar AJ, Parsad D, De D. Psoralen and ultraviolet A and narrow- band ultraviolet B in inducing stability in vitiligo, assessed by vitiligo disease activity score: an open prospective comparative study. *JEADV* 2007; 21: 1381-1385
28. Ortanne JP. Vitiligo and Other Disorder of Hypopigmentation. In Bolognia Jorizzo JL, Rapini RP, EDS. *Dermatology*. 1 st ed. Philadelphia: Elsevier;2004. P :947-973
29. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007; 445: 843-850
30. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC. Disorders of melanin pigmentation. *Dermatology*. Berlin, Springer Verlag, 2000; 1013- 1042
31. Herane MI: Vitiligo and leukoderma in children. *Clin Dermatol* 2003; 21: 283-295
32. Ongenaes K, Geel NV and Naeyaert JM. Evidence for an autoimmune pathogenesis of vitiligo . *Pigment Cell Res* 2003; 16: 90-100

- 33.** Veerasingham SJ, Raizada MK. Brain renin-angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *Br J Pharmacol*, 2003;139:191-202.
- 34.** Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti, 2002;10.Baskı, 1314-1340..
- 35.** Ellmann S, Sticht H, Thiel F, et al. Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets. *Cell Mol Life Sci*, 2009;66:2405-2426.
- 36.** Fu XD, Simoncini T. Extra-nuclear Signaling of Estrogen Receptors. *IUBMB Life*, 2008;60:502-510.
- 37.** Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996;93:59:25-30.
- 38.** Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest*, 2006;116:561-570.
- 39.** Edited by John C Foreman, DSc, PhD, Torben Johansen, MD. Text book of Reseptör Pharmacology. 2003; 123-142.
- 40.** Bourne HR, Sanders DA, and McCormick F. The GTP'ase superfamily: a coserved switch for diverse cell functions. *Nature*, 1990; 348:125-132. **41.** Hall A. The cellular functions of small GTP binding proteins. *Science*, 1990; 249:635-640
- 42.** Takai Y, Kaibuchi K, Kikuchi A, and Kawata M. Small GTP- binding proteins. *Int Rev Cytol*, 1992; 133:187-230.
- 43.** Madaule P and Axel R. A novel ras-related gene family. *Cell*, 1985; 41:31-40.
- 44.** Christine Barandier, Xiu-Fen Ming, Sandro Rusconi and Zhihong Yang. PKC is required for activation of ROCK by RhoA in human endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003; 304:714-719.
- 45.** Havva Kubat. Kronik Alkol Alan Farelerde Rho/Rho-Kinaz Yolagının _ncelenmesi. 2007 Uzmanlık Tezi.
- 46.** Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, Yamamori B, Feng J, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kiabuchi K. Regulation of miyosin phosphatase by Rho and Rhoassociated kinase (Rho-kinase) *Science*, 1996;273:245-248.
- 47.** Sah VP, Seasholtz TM, Sagi SA, Brown JH. The role of Rho in G-protein coupled receptor signal transduction. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000;40:459-489

- 48.** Halder RM, Taliaferro SJ. Vitiligo. In: Wolf K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ (eds). Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine, 7th ed. New York: Mc Graw- Hill Book Company, 2008: 616-622.
- 49.** Denli Y, Acar MA, Sönmezoğlu Maraklı S, Yücel A. Vitiligo. Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL (ed.ler). Dermatoloji, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 1465-1490 .
- 50.** Braun-Falco O, Plewing G, Wolff HH, Burgdorf WHC. Dermatology. 2nd ed. Berlin: Springer Verlag, 2000: 1033-1042.
- 51.** Ortonne JP. Vitiligo and Other Disorders of Hypopigmentation. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP (eds). Dermatology, 1st ed. Edinburg: Mosby-Elsevier Science 2003; 947-973.
- 52.** Arıcan Ö. Vitiligoda etyoloji, patogenez ve klinik. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Derg, 2004; 15: 55-60 .
- 53.** Kovacs OS. Vitiligo. J Am Acad Dermatol 1998; 38: 647-666 .
- 54.** Le Poole IC, Das PK, van den Wijngaard RMJGJ, Bos JD, Westerhof W. Review of the etiopathomechanism of vitiligo: A convergence theory. Exp Dermatol 1993; 2: 145-153
- 55.** Karıncaoğlu Y., Doğan G. Vitiligo: Etiyopatogenez, Klinik ve Tedavi. T Klin Tıp Bilimleri 2001; 21: 200-209 .
- 56.** Ongenaes K, Geel NV, Naeyaert JM. Evidence for an Autoimmune Pathogenesis of Vitiligo. Pigment Cell Res 2003; 16: 90-10.
- 57.** Moretti S, Spallanzani A, Amato L, Hautmann G, Gallerani I, Fabiani M, Fabbri P. New Insights into the Pathogenesis of Vitiligo: Imbalance of Epidermal Cytokines at Sites of Lesions. Pigment Cell Res 2002; 15: 87-92.
- 58.** Swope VB, Abdel-Malek Z, Kassem LM, Nordlund JJ. Interleukins 1 α and 6 and Tumor Necrosis Factor- α are Paracrine Inhibitors of Human Melanocyte Proliferation and Melanogenesis. J Invest Dermatol 1991; 96: 180-185
- 59.** Tu CX, Gu JS, Lin XR. Increased interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor levels in the sera of patients with non-segmental vitiligo. J Dermatol Science 2003; 31:73-78.
- 60.** Schallreuter KU, Pittelkow MP. Defective calcium uptake in keratinocyte cell cultures from vitiliginous skin. Arch Dermatol Res. 2006; (280), 137-140.

- 61.** Schallreuter KU, Pittelkow MP, Swanson NN. Defective calcium transport in vitiliginous melanocytes. Arch Dermatol Res. 1996 ;(288), 11-14.
- 62.** Schallreuter KU, Wood JM, Lemke R. Production of catecholamines in the human epidermis. Biochem Biophys Res Commun. 1992; (189), 72-78.
- 63.** Lee W, Yoo H, Ku S, Kim S, Bae J. Raftlin: a New Biomarker in Human Sepsis. 2014; (37) 706-711
- 64.** Held JL, Kohn SR. Vitiligo and pernicious anemia presenting as congestive heart failure. Cutis 1990; 46: 268-70.
- 65.** Allison JR, Curtis AC. Vitiligo and pernicious anemia. Arch Dermatol 1955;72:407-8.
- 66.** Grunnet I, Howitz J, Reymann F, Schwartz M. Vitiligo and pernicious anemia. Arch Dermatol 1970;101:82-5.
- 67.** Gulden KD. Pernicious anemia, vitiligo and infertility. J Am Board Fam Pract 1990;3:217-8.

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

ŞEKİLLER

Şekil 1: Vitiligo Hastalığı	1
Şekil 2: Vitiligo Hastalığının Dünya Üzerindeki Prevalansı	2
Şekil 3: Vitiligo Hastalığının Etiyolojisi	5
Şekil 4: Melanosit Yapısı.....	7
Şekil 5: Melanin Sentezi	8
Şekil 6: Estriol, Estradiol ve Estron'un Moleküler Yapıları	11
Şekil 7: Östrojen Sentezi.....	12
Şekil 8: G protein α alt birimi sınıfları	13
Şekil 9: β ve γ alt birimleri sınıflandırılması	14
Şekil 10: G proteinin yapısı	14
Şekil 11: G proteinin hedefleri	15
Şekil 12: Rhodopsin yapısı	16
Şekil 13: Rho/Rho kinaz yolağı	17
Şekil 14: Raftlin yapısı	18
Şekil 15: Raftlin sınıflandırılması	18
Şekil 16: Raftlin'in hedefleri	19
Şekil 17. GPER-1 Standart Grafiği.....	23
Şekil 18. Raftlin Standart Grafiği.....	24
Şekil 19: Gruplar arası GPER-1 aktivite düzeyleri	27
Şekil 20: Gruplar arası Raftlin aktivite düzeyleri.....	27

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı	26
Tablo 2: GPER-1 Aktiviteleri	26
Tablo 3: Raftlin Aktiviteleri	27
Tablo 4. Vitiligo Hastalarının Biyokimyasal Verileri.....	28
Tablo 5. Kontrol Grubunun Biyokimyasal Verileri.....	29



EKLER DİZİNİ

Sayfa No

Etik Kurul formu..... 35



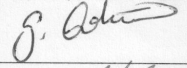
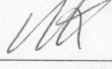
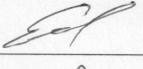
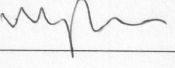
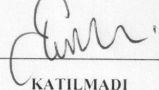
EKLER

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Vitiligo Hastalarında G Protein İlişkili Östrojen Reseptör 1 (GPER-1) Düzeyleri Üzerine Raftlin'in (RFTB-2) Etkisi		
	Sorumlu Araştırmacı	Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ		
	Başvuru Tarihi	02.07.2015		
	Protokol No	135		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilen kan, idrar, doku, radyolojik görüntü veya benzeri materyalle yapılacak araştırmalar			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2015/09	Karar No: 15	Tarih: 06.07.2015	
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası; araştırmının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmının gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel yönden sakınca bulunmadığı toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile KABUL EDİLMİŞTİR.			

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
			E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR Başkan	Göz Hastalıkları	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Metin KILINÇ Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU Üye	Genel Cerrahi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE Üye	Noroloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Perihan ÖZTÜRK Üye	Dermatoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	ARAŞTIRMACI
Doç. Dr. Kamile GÜL Üye	Endokrinoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Doç. Dr. Ekrem KİREÇCI Üye	Tıbbi Mikrobiyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hamide SAYAR Üye	Patoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. B. Nurten SERINGEÇ Üye	Fizyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
ŞERH (VARSA)							

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Erkan ÖNER

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 01.04.1990

Medeni hali : Evli

Telefon : 0507 421 54 00

Yabancı dil : İngilizce

e-posta : erkanoner0803@gmail.com

Hobileri : Basketbol, futbol, yüzme, kitap okumak, yürüyüş yapmak

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ, Sağlık Bilimleri, Tıbbi Biyokimya AD	2016
Lisans	İnönü Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü	2014
Lise	Turgut Özal Lisesi (Merkez/MALATYA)	2007

YAYINLAR

Öner E, Kurutaş EB, Sümer P, Aksoy A, Yüzbaşıoğlu F, Doran F. Deneysel Serebral İskemi Reperfüzyon Oluşturulmuş Ratlarda Anestezik Maddelerin Etkileri. 15. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, Poster Sunum, Fethiye/Muğla, 23-26 Nisan 2015.

Oner E, Kurutas B. E. Evaluation Of The Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein-1 and 8-iso-Prostaglandin F₂ α Concentrations In Four Families With Hemoglobin D Los Angeles Trait. Kahramanmaraş Talasemi Sempozyumu I, Sözlü Sunum, Kahramanmaraş/Ramada, 7-9 Nisan 2016.

Kadifeci N.A, Oner E, Kurutas B.E. Evaluation Of The Levels Reduced Glutathione and Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase Concentrations Transfusion In Patients With Non-associated β -thalassemia. Kahramanmaraş Talasemi Sempozyumu I, Sözlü Sunum, Kahramanmaraş/Ramada, 7-9 Nisan 2016.

Kurutas B.E, Oner E, Citil M, Curuk A.M. Hemoglobin C Trait In Kahramanmaras: A Case Report About Hb SC Disease. Kahramanmaraş Talasemi Sempozyumu I, Sözlü Sunum, Kahramanmaraş/Ramada, 7-9 Nisan 2016.

Demirel MH, Oner E, Ozcan I, Vural S, Koytepe S, Seckin T. Synthesis, Characterization and Magnetic Properties of the Fe₃O₄ based Magnetic Coloring Materials,Elazığı, Poster Sunum, 2014 NanoNG.

Sümer P, Kurutaş BE, Öner E, Yüzbaşıoğlu F, Taner SŞ, Doran F. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında alıç ve goji berry'nin etkileri. 15. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, Poster Sunum, Fethiye/Muğla, 23-26 Nisan 2015.

Sümer P, Kurutaş EB, Öner E, Güler S. Kronik Hepatit B ve C'li hastalarda oksidatif stres. XXVII. Ulusal biyokimya kongresi, Sözlü Sunum, Belek-Antalya/Susesi Luxury Resort, 3-6 Kasım 2015.

Öner E, Kurutaş BE, Kalender M, Çıralık H, Gök Y. Ratlarda kırık iyileşmesinde NHC'nin Kouyucu Etkisinin Araştırılması. XXVII. Ulusal biyokimya kongresi, Poster Sunum, Belek-Antalya/Susesi Luxury Resort, 3-6 Kasım 2015.

Oner E, Altun H, Kurutas BE, Sahin N. Evaluation of levels of erythropoietin and erythropoietin receptor in children with autism spectrum disorder. 8. International Congress on Psychopharmacology&4.International Symposium on Child an Adolescent Psychopharmacology, Award Candidates, April 20-24 th 2016,Kervansaray Hotel,Lara-Antalya.

Kurutas BE, Findikli E, Oner E.The levels of erythropoietin and erythropoietin receptor in patients with anxiety disorders. 8. International Congress on Psychopharmacology&4.International Symposium on Child an Adolescent Psychopharmacology, Award Candidates, April 20-24 th 2016,Kervansaray Hotel,Lara-Antalya.

Kurutas BE, Altun H, Oner E.The levels of erythropoietin and erythropoietin receptor in children with attention-deficit hyperactivity disorders. 8. International Congress on Psychopharmacology&4.International Symposium on Child an Adolescent Psychopharmacology, Award Candidates, April 20-24 th 2016,Kervansaray Hotel,Lara-Antalya.