



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VİTİLİGODA
GLUTATYON-S-TRANSFERAZ, N-ASETİLTRANSFERAZ,
SİTOKROM P-450 GEN POLİMORFİZMLERİ**

**DR. DİLEK ÜSTÜNŞOY
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
DR. AYÇA CORDAN YAZICI**

MERSİN - 2008

TEŞEKKÜR

Her asistanın sahip olmak isteyeceği çok değerli hocam, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı ve Dermatoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Güliz İkizoğlu'na öncelikle mesleki, insani, ahlaki değerleri ve bilgileri ile her zaman yanımda olduğu için sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Tezimin planlanması ve sürdürülmesinde tecrübelerinden ve bilgilerinden faydalandığım, benden her türlü ilgisini, yardımını esirgemeyen, sabır ve titizlikle yanımda olan değerli hocam Doç. Dr. Ayça Cordan Yazıcı'ya;

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Doç.Dr. Tamer İ. Kaya, Doç.Dr. Ayşın Köktürk, Doç.Dr.Ümit Türsen, Doç. Dr. Kıymet Baz'a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım; Dr. Ulaş Güvenç, Dr. Ayşegül Güney, Dr. Anıl Bahalı, Dr. Pınar İnandıoğlu, Dr. Ruken Alp ve Dr. Deniz Kaya'ya, yardımlarından dolayı ultraviyole tedavi ünitesinden sorumlu Hemşire Özgül Bayburtlu'ya;

Kliniklerinde rotasyon yaptığım İç Hastalıkları ile Enfeksiyon ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın saygıdeğer hocalarına;

Tezimin biyokimyasal çalışmalarını yürüten Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Lülüfer Tamer ve araştırma görevlisi Hatice Yıldırım'a, istatistiksel analizleri yürüten Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Bahar Taşdelen'e;

Bu çalışmaya ilgi ve sevgiyle katılan tüm hastalarım; teşekkürlerimi bir borç bilir ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca beni yetiştirip, bugüne gelmemi sağlayan değerli anne ve babama, sonsuz destek ve sabırlarından dolayı sevgili eşim Dr. A. Bora Üstünsoy'a teşekkür ederim.

Dr. Dilek Üstünsoy

2008

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa No |
|---|----------|
| ÖZET..... | 5 |
| İNGİLİZCE ÖZET..... | 6 |
| GİRİŞ VE AMAÇ..... | 8 |
| GENEL BİLGİLER..... | 9 |
| Vitiligo..... | 9 |
| İnsidans ve Epidemiyoloji..... | 9 |
| Etyopatogenez..... | 9 |
| Klinik Özellikler..... | 17 |
| Vitiligoya Eşlik Eden Bulgular..... | 18 |
| Sistemik Hastalıklarla Birliktelik..... | 18 |
| Histoloji..... | 18 |
| Tanı..... | 19 |
| Ayırıcı Tanı..... | 19 |
| Prognoz..... | 19 |
| Tedavi..... | 20 |
| Glutasyon-S-transferaz..... | 20 |
| N-Asetiltransferaz..... | 22 |
| Sitokrom P- 450 Monooksidaz Enzim Sistemleri..... | 24 |

| | |
|--|----|
| GEREÇ VE YÖNTEMLER..... | 26 |
| Kan Örnekleri ve DNA İzolasyonu..... | 26 |
| GSTT1, GSTM1 ve GSTT1 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi..... | 28 |
| NAT2 Gen Polimorfizminin Belirlenmesi..... | 29 |
| CYP2C9 ve CYP2C19 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi..... | 29 |
| İstatistiksel Analiz..... | 29 |
| BULGULAR..... | 30 |
| TARTIŞMA..... | 38 |
| SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 46 |
| KAYNAKLAR..... | 48 |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | 61 |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | 63 |
| TABLolar DİZİNİ..... | 64 |

ÖZET

Vitiligo, sık rastlanan, melanosit kaybı ile ortaya çıkan depigmente maküllerle karakterize bir deri hastalığıdır. Hastalığın nedeni bilinmemekle birlikte otoimmünite, otositotoksikite ve nöral teoriler ileri sürülmektedir. Histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar perilezyonel deride hücrel immünite aktivasyonunu işaret etmektedir. Vitiligo hastalarında, serumda dolaşan çeşitli az ya da çok spesifik otoantikolar tanımlanmıştır ve hastalığın otoimmün hastalıklar ve organ spesifik otoantikolarla ilişkisi iyi bilinmektedir. Vitiligo patofizyolojisinde; deride epidermiste oksidatif stres ve oluşan serbest radikallerin etkileri gösterilmiştir. Glutasyon-S-transferaz (GST), n-asetiltransferaz (NAT) ve sitokrom P-450 (CYP) polimorfizmlerinin, oksidatif DNA hasarı üzerinde etkisi gösterilmiştir.

Biz çalışmamızda, vitiligo ile GST, NAT ve CYP gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi inceledik. Çalışmamıza vitiligolu 102 hasta (61 kadın ve 41 erkek) ve 70 sağlıklı kontrol (43 kadın ve 27 erkek) alındı. Etilendiamin tetraasetikasit içeren tüplerde venöz kan örnekleri toplandı. Her iki grubun venöz kanlarından alınan DNA örneklerinden GST (GST T1, GST M1, GST P1 ile/ile, ile/val, val/val), NAT (NAT1, NAT2), CYP (CYP2C9, CYP2C19) genotiplenmeleri 'Light-Cycler real time' polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle yapıldı.

GST T1 negatif genotip, GST M1 negatif genotip, GST P1 genotip, NAT2*5A, NAT2*7A/B, CYP2C9*2, CYP2C9*3 CYP2C19*2, CYP2C19*3 gen polimorfizmlerinin vitiligoda önemli bir risk faktörü oluşturmadığını saptandı. Ancak hasta grubunda, NAT2*6A mutant genotipi sıklığının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek olduğu ($p=0,038$, OR= 4,85, 95% CI= 1,089-21,597) gözlemlendi.

Sonuç olarak, NAT2*6A genetik polimorfizmi vitiligoya yatkınlıkta önemli bir rol oynar gibi görünmekle birlikte, kesin sonuçların daha geniş ve yeni serilerde farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Glutasyon-S-transferaz (GST), n-asetiltransferaz (NAT), polimorfizm , sitokrom P-450 (CYP), vitiligo.

ABSTRACT

Glutathione-S-transferase, N-acetyltransferase, Cytochrome P-450 Gene Polymorphisms In Vitiligo

Vitiligo is a relatively common skin disease characterised by development of patchy depigmented macules. The destruction of melanocytes is the cause of depigmented maculae. Although the cause is unknown, various theories such as the autoimmune, autocytotoxic, and neural hypotheses have been proposed. Histopathological and immunohistochemical studies in perilesional skin suggest the involvement of cellular immunity in vitiligo. A variety of more or less specific circulating autoantibodies in sera of vitiligo patients are described and the association with autoimmune diseases and organ specific autoantibodies is well known. Oxidative stress and accumulation of free radicals in the epidermal layer of affected skin have been shown to be involved in the pathophysiology of vitiligo. Glutathione-S-transferase (GST), n-acetyltransferase (NAT), cytochrome P₋₄₅₀ (CYP) polymorphisms have been shown to influence the level of oxidative DNA damage.

In our study, we investigated the relationship between vitiligo and GST, NAT, CYP gen polymorphisms. 102 patients (61 female and 41 male) with vitiligo and 70 healthy control subjects (43 female and 27 male) were enrolled in the study. Venous blood samples were collected in ethylenediaminetetraacetic acid containing tubes. DNA samples obtained from venous blood of both groups were used for GST (GSTT1, GSTM1, GSTP1 ile/ile, ile/val, val/val), NAT (NAT1, NAT2) and CYP (CYP2C9, CYP2C19) genotyping by 'Light-Cycler real time' polymerase chain reaction method.

GSTT1 null genotype, GSTM1 null genotype, GSTP1 genotype, NAT2*5A, NAT2*7A/B, CYP2C9*2, CYP2C9*3 CYP2C19*2, CYP2C19*3 gene polymorphisms were not significant risk factors for vitiligo. But we observed the frequency of the NAT2*6A mutant genotype in the patient group was higher than in comparison with that of the control group in a statistically significant manner ($p=0,038$, OR= 4,85, 95% CI= 1,089-21,597).

In conclusion, NAT2*6A genetic polymorphism may play an important role in vitiligo susceptibility. To obtain more precise results, further studies with more participants must be conducted.

Key Words: Glutathione-S-transferase (GST), n-acetyltransferase (NAT), cytochrome P-₄₅₀ (CYP), polymorphisms, vitiligo.

GİRİŞ VE AMAÇ

Vitiligo, epidermiste melanosit kaybı ile karakterize, edinsel bir depigmentasyon hastalığıdır¹. Vitiligo hastalarında ve ailelerinde genetik geçişin otozomal dominant veya otozomal resesif olmadığı gösterilmiştir. Kalıtımda multifaktöriyel genetik bir zemin düşünülmektedir. Ailesinde vitiligo hastalığı olan bireylerin hastalığa yakalanma olasılığı kontrol gruplarına göre dört kez artmıştır².

Epidermiste melanosit kaybı sonucu oluşan vitiligonun etyopatogenezi tam olarak anlaşılammakla beraber, üç temel teori ileri sürülmüştür. Bunlardan otoimmün teori; en sık kabul edilen, en popüler teoridir. Otoantikörlerin gösterilmesi ve vitiligonun otoimmün hastalıklarla birlikteliği bu teoriyi desteklemektedir. Nörolojik teori; nöron sonlanmalarından salınan bazı mediyatörlerin melanin sentezini azaltması ile gündeme gelmiştir. Ototoksik (otoyıkım=oksidatif stres) teorisi ise, melanosit yıkımına sebep olan toksik maddeleri uzaklaştıran doğal korunma mekanizmasında defekt olduğunu ileri sürmektedir. Etyolojide diğer nedenler arasında; melanosit büyüme faktörlerinde defekt, melanositlerde yapısal/fonksiyonel bir defekt ya da genetik faktörler de suçlanmaktadır. Bu teorilerin tek başına etyopatogenezi açıklayamadığı düşünülerek; hepsini kapsayan 'birleşik teori' tanımlanmıştır³.

Oksidatif stresin melanosit yıkımında tetikleyici rol oynadığı, otoimmünitenin, hastalığın oluşumunu belirgin derecede etkilediği düşünülmektedir. Deride çok sayıda enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır.

Son yıllarda vitiligo etyopatogenezinde genetik araştırmaların arttığı hatta bazı gen polimorfizmlerinin otoyıkım ve otoimmün teori gibi temel teorileri desteklediği görülmektedir. Özellikle antioksidan mekanizmada yer alan veya detoksifikasyonda görevli olan enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizm ile vitiligo arasındaki ilişki dikkat çekmektedir. Biz de bu nedenle vitiligolu hastalarda ve kontrol grubunda detoksifikasyonda görevli enzimler olan glutatyon-S-transferaz, n-asetiltransferaz ve sitokrom P-450'nin genetik polimorfizmlerini araştırdık. Bu gen polimorfizmlerinin vitiligoya yatkınlıktaki rolünü belirlemeye çalıştık.

GENEL BİLGİLER

Vitiligo

Vitiligo kelimesi Latince "vitium" (leke) veya "vitellus" (derinin beyaz lekesi) kelimelerinden köken almaktadır⁴. Antik çağlardan beri vitiligo hastaları, toplum tarafından dışlanmış ve vitiligo "beyaz lepra" olarak tanımlanmıştır⁵.

Vitiligo, diğer yönlerden sağlıklı olan deride idyopatik, edinsel veya kalıtsal nedenlerle ortaya çıkan bir pigment kaybıdır⁶. Deri ve saçın en sık görülen depigmentasyon hastalığıdır. En çok ikinci ve üçüncü dekatlarda ortaya çıkar. Etnik, sosyokültürel veya ırksal farklılık göstermez⁷. Klinik olarak, genellikle simetrik, keskin sınırlı, depigmente, değişik büyüklük ve lokalizasyonlarda maküllerle karakterizedir. Mukozalar da tutulabilir. Plakların içindeki kıllarda da pigment kaybına bağlı beyazlaşma olabilir⁶.

İnsidans ve Epidemiyoloji

Beyaz ırkta görülme sıklığı %1-4 arasındadır⁸⁻⁹. Bazı araştırmacılar, vitiligonun etnik kökenle ilişkisini ileri sürmekle birlikte^{10,11}; çoğu araştırmada fark olmadığı bulunmuştur¹². En sık 10-30 yaş arasında görülmektedir. Hastaların % 25-30'unda ailede vitiligo öyküsü mevcuttur¹³.

Vitiligo, genç erişkinlerde ve kadınlarda daha sık görülmektedir¹³. Gupta ve arkadaşları ise, görülme sıklığının her iki cinsiyette eşit olduğunu bildirmişlerdir¹⁴. Türkiye'deki sıklık Turgut tarafından % 0.5 olarak tespit edilmiş ve bu araştırmada da kadın-erkek oranları eşit olarak saptanmıştır¹⁵.

Vitiligonun koyu deri tipine sahip bireylerde ve güneşe maruz kalan alanlarda daha sık ortaya çıktığı ileri sürülmüştür. Fakat bu durumun bölgesel özelliklerden değil, kolay tanıdan kaynaklandığı düşünülmektedir¹⁶.

Etyopatogenez

Vitiligo epidermiste melanosit kaybı ile karakterizedir⁷. Sağlıklı deride melanin sentezi bazal tabakadaki melanositler tarafından yapılır. Melanin sentezi, melanozom adı verilen spesifik organellerde, başta aminoasit olarak hidroksifenilalanin veya tirozinin olduğu ve tirozinazın anahtar enzim olarak yer

aldığı bir dizi reaksiyon sonucu gerçekleşir. Melanositler, dentritik uzantıları ile ürettikleri melanini keratinositlere transfer ederler¹⁷. Melanin, ultraviyoleyi (UV) absorbe ederek güneş ışınlarının zararlı etkilerini azaltır¹⁸. Melanositler sadece bazal tabaka ve kıl köklerinde değil, uvea ve iç kulakta da bulunur. Bu durum, vitiligoya eşlik eden görme ve işitme bozukluklarını açıklamaktadır¹⁹.

Sağlıklı bir erişkinde epidermal hücre topluluğunun yaklaşık % 3 - 5'i melanositlerden oluşur ve güneş gören yerlerde sayı iki kat daha fazladır. Deri rengindeki ırksal fark, melanosit sayısı ile değil, her hücredeki melanozom sayısı ve her melanozomdaki melanin içeriği ile ilişkilidir²⁰.

Asıl görevi canlıyı UV ışığından korumak olan melanositlerin, immün sistemle bağlantısı yeni yeni anlaşılmaktadır. Melanositler, majör histokompatibilite kompleksi klas - I ve II moleküllerini, intersellüler adezyon molekülü (ICAM)-1, vasküler hücre adezyon molekülü -1 (VCAM-1) ayrıca interlökin (IL)-1, IL-6, IL-8 gibi sitokinleri ve transforme edici büyüme faktörü - β 1'i eksprese ederler. Melanositlerin fagositoz yeteneklerinin yanı sıra T hücrelerine antijen ve antijenik peptitlerin sunulmasında da görev aldıkları düşünülmektedir¹⁹.

Vitiligo etyolojisi ile ilgili üç teori ileri sürülmüştür²¹⁻²³.

1. Otoimmün teori; hastalarda antimelanositik otoantikörlerin gösterilmesine ve vitiligonun otoimmün hastalıklarla birlikteliğine dayanır.
2. Nöral teori; nöron sonlanmalarından salınan bazı mediyatörlerin melanin üretiminde azalmaya yol açması nedeniyle gündeme gelmiştir.
3. Otoyıkım (otositotoksik=oksidatif stres) teorisi; melanosit yıkımına sebep olan toksik maddeleri uzaklaştıran doğal korunma mekanizmasında defekt olduğunu savunur.

Etyolojide; melanosit büyüme faktörlerinde defekt, melanositlerde yapısal/fonksiyonel bir defekt ya da genetik faktörler de suçlanmaktadır^{22,24-26}.

Tüm bu teoriler güçlü delillere dayanır, ancak hiç biri kendini tam olarak kanıtlayamamıştır. Sonuç olarak; farklı etyolojik faktörlerin değişik yollardan

melanosit yıkımında bulunduğu ileri süren bir teori geliştirilmiş ve 'birleşik teori' olarak adlandırılmıştır²⁷.

1-Otoimmün Teori

Vitiligoda hücrel ve humoral immün sistemde anormallikler bildirilmiştir.

Vitiligoda Hücrel İmmün Yanıt

Jeneralize vitiligolu hastaların perilezyonel derilerinde CD3+, CD4+, CD8+ T hücreleri ile CD68+ makrofajların varlığı gösterilmiştir²⁸. Özellikle CD8+ T hücreleri, infiltrasyonun önemli bir kısmını oluşturmaktadır²⁹⁻³².

Son zamanlarda hastaların periferik dolaşımlarında da kutanöz lenfosit antijeni eksprese eden Melan-A/MART-1 spesifik CD8+ T hücreleri gösterilmiştir³⁰. Bu bulgu, lezyon etrafından alınan deri biyopsilerinde de gözlenmiştir³¹. CD8+ T lenfositlerinin melanositlere karşı sitotoksitesi de bildirilmiştir³³.

HLA-DR (HLA: Human Leucocyte Antigen; İnsan Lökosit Antijeni), IL-2 ve interferon- γ reseptör sentezinin arttığına dair kanıtlar da vardır³⁴. IL-6 seviyeleri yükselmiştir ve bu, melanositlerden ICAM-1 salınımını arttırmaktadır. IL-8 düzeyleri de yüksektir ve bunun vitiligo lezyonlarındaki nötrofil göçünün nedeni olabileceği düşünülmektedir. Mononükleer hücreler tarafından üretilen granülosit makrofaj - koloni stimulan faktör (GM-CSF) de artmış olarak saptanmıştır²⁸. Langerhans hücrelerinin sayılarının artmasının da melanosit hasarındaki immünolojik sürece katkısı olduğu düşünülmektedir³⁵.

Vitiligoda Humoral İmmün Yanıt

Vitiligo lezyonlarında, keratinositlerde ve bazal membran bölgesinde IgG ve C3 birikimlerine rastlanmıştır³⁶. Antikeratinosit intrasellüler antikorların hastalığın yaygınlığı ve aktivitesi ile ilişkili olduğu saptanmıştır³⁷.

Özellikle jeneralize hastalığı olanlarda IgG antimelanosit antikorların varlığı ve melanositlerde HLA-DR, ICAM-1 ile IL-8 ekspresyonunda artış gösterilmiştir. Hücre kültürlerinde, bu antikorların normal melanositlere ve melanoma hücrelerine de sitotoksik olduğu gösterilmiştir^{25,38,39}.

Antikorların serum düzeyi, hastalığın aktivitesi, depigmentasyonun şiddeti ve diğer otoimmün hastalıkların birlikteliğiyle ilişkili bulunmuştur⁴⁰. Ayrıca bu hasta gruplarının yaklaşık %80'inde 40-45 kilo Dalton (kDa) ve 75 kDa genel doku antijenleri ile, 65 kDa ve 90 kDa pigment hücrelerine spesifik antijenlere karşı da antikorlar saptanmıştır^{41,42}. Yakın zamanda 165, 68 ve 90 kDa proteinlerle belirlenen vitiligo antikorları da gösterilmiştir⁴³. Ancak antimelanositik antikorların patogenezdaki rolü halen tam aydınlatılamamıştır.

Tirozinaz ve tirozinaz ilişkili protein (TİP) 1 ve 2 melanin sentezinde anahtar enzimlerdir ve günümüzde otoantijenlere dahil edilmektedirler⁴⁴. Buna karşın, tirozinaz ile 65-75 kDa antijenler arasında ilişki gösterilmiş, hem lokal hem de jeneralize vitiligo hastalarda 'antitirozinaz antikorlar' saptanmıştır⁴⁵.

Özet olarak, melanosit ve melanoma hücrelerinde gp-100, TİP 1 - 2, MART-1/ Melan-A gibi antijenler sentez edilir. Bu antijenlere spesifik CD8 + T hücreleri melanosit yıkımına ve sonuçta vitiligo benzeri lezyonlara neden olur⁴⁶. Yani melanosit yıkımında humoral ve hücrel immünite birlikte rol oynamaktadır. B hücre yüzdesinin hastalığın başlangıcıyla eş zamanlı artış göstermesi, humoral immünitenin rolünü desteklemektedir. Dolaşımda melanosit spesifik sitotoksik T hücrelerinin yüksek oranda saptanması ve depigmente lezyonun histokimyasal analizinde görülen T hücre infiltrasyonu ise hücrel immünitenin ana mekanizma olduğunu düşündürmektedir⁴⁷.

2.Nöral Teori:

Nöral teori, sinir uçlarından salınan nörokimyasal mediyatörlerin pigment hücrelerinde hasarlanmaya neden olması esasına dayanmaktadır. Bu teoriyi destekleyen bulgular; vitiligo lezyonlarının paralizili ekstremiteler üzerinde yayılması, vitiligonun viral ensefalit, multipl skleroz ve Horner sendromuna eşlik etmesidir. Vitiligonun emosyonel stres sonrası başlaması ve segmental tutulumun olması da nöral teoriyi desteklemektedir^{16,21}.

Melanositler de, sinir hücreleri gibi nöral krestten köken alırlar. Vitiligo maküllerinde, yanındaki normal deriye göre terleme daha fazla, lokal ısı daha yüksek ve kanama zamanı daha uzundur. Ayrıca lezyon ortasında ve etrafında

otonomik sinir hücrelerinde dejeneratif ve rejeneratif değişiklikler ve dermal Schwann hücrelerinin %75' inde bazal membranda kalınlaşma gözlenmiştir²¹.

Nöral hipotezi destekleyen biyokimyasal bulgular ise; asetilkolinin depigmentasyona neden olması ve lezyon kenarındaki melanositlerde dopa oksidaz aktivitesinin baskılanmasıdır. Asetilkolin esteraz aktivitesi repigmente deride görülürken depigmente deride görülmemektedir^{16,48}.

Tirozin hem epinefrin, hem de melanin sentezinde bir substrattır. Epinefrinin ratlara enjekte edildiği zaman depigmentasyona neden olduğu gösterilmiştir. Epinefrin ve melanin prekürsörleri arasındaki kimyasal benzerlikler nedeniyle, epinefrin oluşumu esnasında sinir uçlarından salınan çeşitli ara ürünlerin melanositlerde hasara neden olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca depigmente alanlardaki keratinositlerde, beta adrenerjik reseptörlerle ilişkili kalsiyum transportunda defekt bulunmuştur. Bu hücreler presinaptik sinir sonlanmasından bağımsız olarak katekolamin sentezleyebilmektedirler. Vitiligolu hastalarda epidermal ve plazma norepinefrin düzeylerinin yüksek olduğu da gösterilmiştir^{16,21}.

İmmunohistolojik çalışmalarda, nöron belirleyicileri olan P maddesi, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), vazoaktif intestinal peptid (VIP), nöropeptid Y (NY)'ye karşı antikorlar incelenmiş, sadece NY'ye karşı belirgin reaktivite ve miktarında artış saptanmıştır. NY'de saptanan bu artışın melanosit hasarına neden olduğu ve immunolojik mekanizmaların aktivasyonunu başlatabileceği düşünülmektedir^{16,49}. İn vitro bir çalışmada melanositlerde nörotensin, nöropeptid, uyarılmış tümör nekrotizan faktör- α düzeylerinin normale göre 500 kat daha yüksek bulunması da, nörojenik kontrol olasılığını desteklemektedir⁵⁰.

3. Otoyıkım (otositotoksik=oksidatif stres) Teorisi:

Vitiligo etyopatogenezinde oksidatif stresin melanosit yıkımında tetikleyici rol oynadığı kabul edilmektedir. Melanin biyosentez aşamalarında melanositlere toksik olduğu bilinen ara ürünler oluşmaktadır⁵¹.

Melanin sentezinin tirozinaz basamağından sonra inhibe olması melanositler içinde önemli miktarda serbest radikallerin ve toksik ara maddelerin birikmesine neden olmaktadır. Bunun sonucunda melanosit hasarı ve yıkımı

ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bozulmuş melanogenez sonucu oluşan değişmiş melanositin kendi içindeki maddelere veya değişmiş yüzey antijenine karşı otoimmün yanıtı provoke ettiği de öne sürülmektedir⁵².

İn vitro koşullarda insan melanositleri hidrojen peroksit'e (H₂O₂) artmış duyarlılık gösterirler. Vitiligolu hastaların derilerinde artmış H₂O₂ seviyeleri gösterilmiştir. Epidermiste H₂O₂ birikiminin sonucu olarak oksidatif hasarlanma nedeniyle antioksidan bir enzim olan katalaz aktivitesinde bozulma olmaktadır.⁵³

Yapılan birçok çalışmada vitiligo hastalarında, antioksidan sistemde yetersizlik ve reaktif oksidatif stres'de (ROS) artış gösterilmiştir. Katalaz enziminin kan ve epidermiste azaldığı, glutatyon peroksidaz ve glutatyonun kanda azaldığı, TİP 1'in epidermiste azaldığı, monoamin oksidaz A'nın epidermiste arttığı yine nitrik oksit sentetazın (NOS) epidermiste arttığı bulunmuştur⁵⁴.

Diğer Teoriler

Üzerinde durulan bu 3 teori dışında ileri sürülen diğer olası mekanizmalar; genetik faktörler, viral enfeksiyonlar, melanosit büyüme faktöründe eksiklik, melanositlerde endoplazmik retikulum yapı ve fonksiyonunda bozukluk ve melanositlerde düzensiz apoptozdur¹⁶.

Kalıtsal faktörlerin vitiligo gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda vitiligolu hastaların akrabalarının dörtte biri ile üçte birinde hastalığın olduğu saptanmıştır^{21,55}. Genetik geçişin otozomal dominant veya otozomal resesif olmadığı gösterilmiştir. Fakat bu hastalarda eritrositler üzerinde kromozom 1 üzerindeki RH, kromozom 2 üzerindeki ACP1 ve kromozom 4 üzerindeki MN bölgeleri gibi çok sayıda otozomal alan tespit edilmiştir. Bu da multifaktöriyel, bir genetik geçişi desteklemektedir^{21,56}. Sonuç olarak, vitiligonun genetik aktarımının tek lokuslu basit Mendelyen geçişe uymayan, en az dört veya daha çok sayıda resesif bağımsız allelik yapıda olabileceği bildirilmiştir. Ailesinde vitiligo hastalığı olan bireylerin hastalığa yakalanma olasılığı kontrol gruplarına göre dört kez artmıştır^{21,55,56}. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, hastalığın ortaya çıkma yaşına göre 2 tür kalıtımın bir arada olabileceği vurgulanmaktadır. Erken yaşta ortaya çıkan

vitiligo (30 yaşından önce) hastalarında, inkomplet penetrans gösteren dominant kalıtım izlenmektedir. Geç ortaya çıkan olgulardaki (30 yaşından sonra) vitiligoya yatkınlık ise resesif bir genotip ve çevresel tetikleyici faktörlere maruziyetle açıklanmaktadır⁵⁷.

Spesifik HLA tipleri; aile öyküsü, hastalık şiddeti, ortaya çıkış yaşı ve toplum coğrafyasıyla kuvvetli ilişki göstermektedir⁵⁷. Çalışmalarda; HLA B 13, DR 4, BW 35, BW 60, A 2 antijen varlığı ile vitiligo arasında belirgin ilişki olduğu bildirilmiştir^{56,58}. Ailesel vitiligolu olgularda HLA BW 46 ve erişkin vitiligo olgularında ise BW 60 antijeni sık olarak bulunmuştur^{59,60}.

Son yıllarda bazı kromozomlar üzerinde (özellikle 1, 4, 7, 8 ve 17. kromozom), vitiligo için anlam taşıyan genler (4q13-q21, 1p31, 7q22, 8p12, 17p13, 6p, 6q, 14q, 9q, 13q, 19p ve 22q) saptanmıştır⁶¹. Vitiligoya yatkınlık oluşturan genetik zemin, çeşitli çalışmalarda öne sürülmüştür. Katalaz geni, anjiyotensin dönüştürücü enzim geni, östrojen reseptör 1 geni ve sitotoksik T-lenfosit ilişkili antijen- 4 geni (STLA- 4) gibi pek çok gen vitiligoya yatkınlıkta rol oynayan genler olarak öne sürülmüştür⁶².

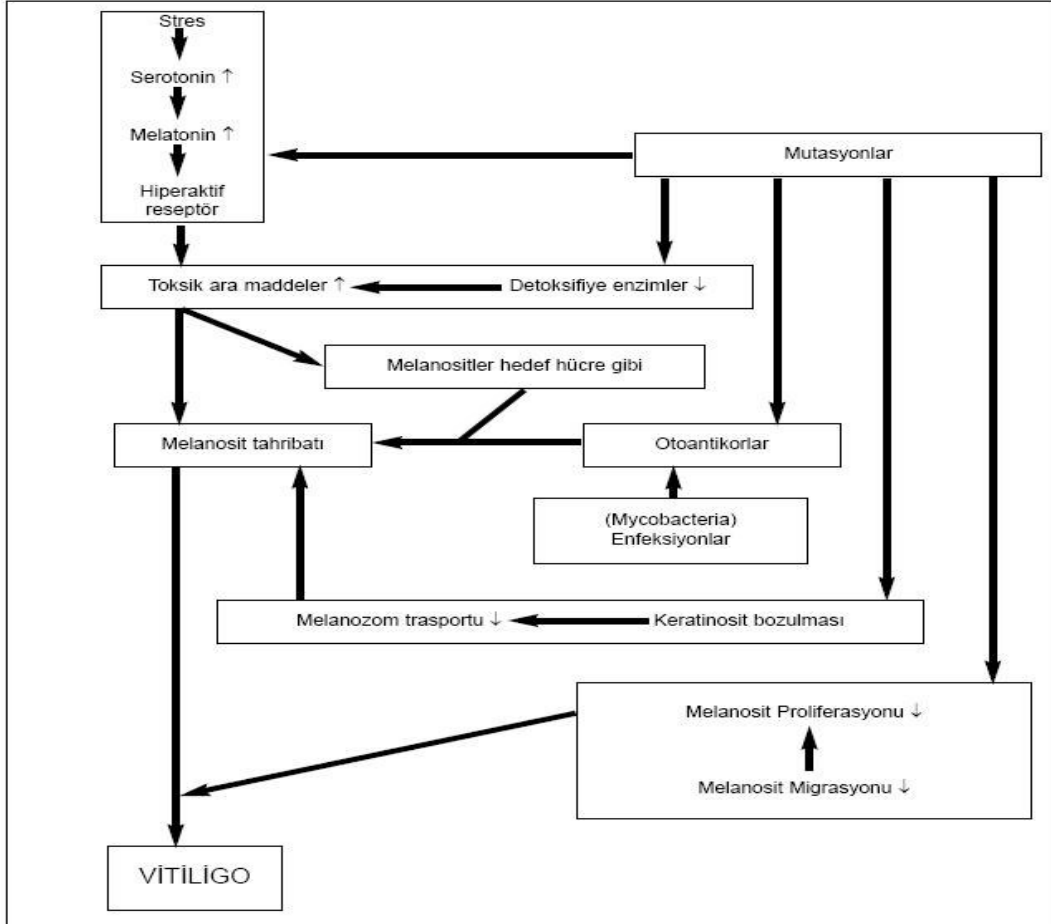
Vitiligo etyopatogenezinde bakterilerin rolü üzerinde de durulmuştur. Vitiligoda, enfeksiyon ajanlarına karşı gelişen immuniteye bağlı olarak tahrip edilen enfektif ajan veya ajanın etkilediği hücrelerin antijenik olarak melanositi taklit edebileceği düşünülmektedir⁵².

Virüslerin de vitiligo etyopatogenezinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Grimes ve arkadaşları, 29 vitiligolu hastanın deri biyopsilerinin, %38'inde sitomegalovirus'e ait DNA varlığını göstermiş, kontrol grubunda ise rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Sitomegalovirüsün bazı vitiligo hastalarında tetikleyici olarak rol alabileceğini ileri sürmüşlerdir⁶³.

İn vitro olarak lezyonsuz ya da perilezyonel deriden alınan örneklerde, vitiligo melanositlerinin defektif büyüme ve pasaj kapasiteleri gösterilmiştir. Fetal akciğer fibroblast kökenli büyüme faktörlerinin eklenmesiyle vitiligo melanositlerindeki büyüme defektleri kısmen düzeltilmiştir. Ayrıca, tekrar pigmente olan vitiligo maküllerinden alınan melanositlerin, normal büyüme gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle, melanosit büyüme faktörlerinin

konsantrasyonlarındaki azalmanın vitiligo patogenezinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür²⁵. Kaba endoplazmik retikulumun dilatasyonu veya sirküler profilleri ve melanozomlarda membrana bağlı bölmeler gibi çeşitli anormallikler gösterilmiştir. Bu durum, melanositlerin doğuştan defekt gösterdiğini düşündürmektedir²⁵.

Le Poole ve arkadaşları, etyopatogenez ile ilgili çeşitli teorileri bir araya getirip birleşik tek bir teori önermişlerdir (Şekil 1). Stres, toksik bileşiklerin birikmesi, enfeksiyon, otoimmünite, mutasyon, değişmiş hücresel çevre ve bozulmuş melanosit migrasyonu ve/veya proliferasyonu gibi bir çok faktörün çeşitli oranda vitiligo etyopatogenezinde etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir²⁷.



Şekil 1: Vitiligo etyopatogenezinde 'birleşik teori' 27.

Klinik Özellikler:

Büyükükleri 5mm - 5cm arasında ya da daha büyük olan vitiligo makülleri, 'tebeşir' beyazı veya açık beyazdır. Keskin kenarlı yeni oluşmuş lezyonlar beyaza yakın renkte olabilir. Hastalık eski maküllerin yavaş yavaş genişlemesi veya yenilerinin oluşması ile ilerler. Trikrom vitiligo (3 renk: beyaz, açık kahverengi, koyu kahverengi) vitiligonun gelişimindeki değişik basamakları temsil eder. Beyaz makül içinde bir kıl folikülü çevresindeki pigmentasyon rezidüel pigmentasyonu veya pigmentasyonun geri dönüşünü gösterir. Konfeti büyüklüğünde hipomelanotik maküller de görülebilir. İnflamatuvar vitiligoda ise kabarık, eritematöz kenarlar vardır ve kaşıntı olabilir¹⁶.

El ve ayak dorsalleri, genital bölge, baş, boyun, aksilla ve meme başları gibi pigmente deri alanları daha sık tutulur. Erken lezyonlar sıklıkla periorifisyal yerleşimlidir. Tutulan alandaki kıllar da depigmente olabilir¹⁷.

Vitiligo yaygınlığına ve yerleşim bölgesine göre 4 tipe ayrılır. Lokalize, jeneralize, üniversal ve akrofasiyal tip. Lokalize tip, fokal veya segmental olabilir⁶⁴. Fokal tip, tek bir bölgede bir veya birkaç makülle karakterizedir¹⁶. Segmental form en seyrek görülenidir. Vücudun bir tarafında, tek bant üzerinde dermatomal paternde bir veya birkaç makülle karakterizedir. Nadiren de trigeminal sinir trasesi alanında tutulum yapar⁷. Bir kere ortaya çıktıktan sonra oldukça stabildir. Bu tipte uzak bölgelerde vitiligo makülleri ile birliktelik ve jeneralize vitiligoya geçiş oldukça nadir gözlenir¹⁶. En sık karşılaşılan tip jeneralize vitiligodur, depigmente maküller yaygın dağılım ve çoğu zaman belirgin bir simetri ile karakterizedir. Tipik maküller göz çevresi, ağız çevresi, parmaklar, dirsekler ve dizlerde, sırtın alt kısmında ve genital bölgelerde görülür. Akrofasiyal tipte, ağız çevresindeki deriye ek olarak el ve ayak parmaklarının distal kısımları tutulur. Dudaklar, meme başları, genital bölge (penis uç kısmı) ve anüs tutulabilir. Vitiligo plaklarının birleşmesi geniş, beyaz alanlar oluşturur ve üniversal vitiligo olarak tanımlanır. Hemen hemen vücudun tamamında depigmentasyon izlenen bu klinik tipte geriye normal deri renginde birkaç makül kalmıştır. Multipl endokrinopati sendromu ile ilişkisi mevcuttur. Mukozal tutulum siktir¹⁶.

Ruhsal veya fiziksel travmayı takiben vitiligonun meydana gelmesi sık rastlanılan bir durumdur. İşten ayrılma, bir yakının kaybı, kaza ve hastalık stres yükünü arttıran durumlardır. Isı ve UV ışını, basınç gibi fiziksel travmalar sonrasında lezyonların başlaması veya yeni lezyonların gelişmesi sık görülen bir olaydır. Bu vitiligoda köbner fenomeninin varlığı ile ilgili bir bulgudur¹⁶.

Vitiligoya Eşlik Eden Bulgular:

Vitiligo; lökotrişi, prematüre gri saç, halo nevüs ve alopesi areata ile birliktelik gösterebilir. Depigmente makülde yer alan kılların bir kısmında veya hepsinde beyaz renk değişikliği olabilir. Ancak saçlı deride depigmente makül olmaksızın da saçlarda lökotrişi oluşabilmektedir¹⁶.

Vitiligo hastalarında iris ve retinal pigment anomalilerine de rastlanmaktadır¹⁶.

Vitiligoya, göz bulgularının yanı sıra işitme bozuklukları da eşlik edebilmektedir. İç kulakta bulunan melanositlerin, çevresel faktörlere karşı nöroepiteli korudukları ve bir hasar meydana geldiğinde işitme kaybı oluştuğu ileri sürülmektedir⁶⁵.

Sistemik Hastalıklarla Birliktelik:

Vitiligo ile ilişkili sistemik hastalıklar; tiroid hastalıkları (hipertiroidi, hipotiroidi), pernisiyöz anemi, Addison hastalığı, diyabetes mellitus, hipoparatiroidi, myastenia gravis, alopesi areata, morfea, liken sklerozus, halo nevüs ve malin melanom'dur¹⁶.

Vitiligo asemptomatik bir hastalık olmakla birlikte, psikolojik sorunlara yol açabilir. Bunun dışında önemli bir komplikasyonu yoktur. Depigmente bölgeler UV ışınlarının zararlı etkilerine açık olmakla birlikte, deri kanseri ile belirgin bir ilişkisi gösterilememiştir²¹.

Histoloji

Vitiligoda temel olay, dermo-epidermal bileşkedeki melanosit yıkımıdır. Gümüş veya dopa reaksiyonu ile incelemede, vitiligo lezyonlarında total melanosit yokluğu tespit edilmiştir. Perilezyonel deride, dermoepidermal

bileşkede, fokal alanlarda vakuoler değişiklikler ve hafif mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenebilir⁶⁶. Vitiligo makülündeki keratinositlerde de anormallikler bildirilmiştir. Elektron mikroskobunda bazal tabakada; keratinosit dejenerasyonu ve Langerhans hücrelerinde artış gözlenmiştir¹⁶.

Tanı

Vitiligo tanısı öykü ve fizik muayene ile konulur. Vitiligo lezyonlarını diğer benzer lezyonlardan ayırmak için biyopsi gerekebilir. Deri biyopsisinde melanini tespit etmek için Fontana-Masson boyaması yapılarak vitiligo, diğer benzer lezyonlardan (derinin T- hücre lenfoması, diskoid lupus eritematozus (DLE), lepra, pinta, nevus anemikus, nevus depigmentozus, piebaldizm vb.) ayrılabilir⁶⁶.

Wood ışığı, süt beyazı renkte olan amelanotik vitiligo lezyonları ile, sarımsı veya grimsi beyaz renkte hipomelanotik lezyonların ayırımını sağlar. Güneşe maruz kalmayan deri lezyonları ve açık tenli fototip I ve II derilerde depigmentasyonun şiddetini belirlemek için de yararlıdır¹⁶.

Ayırıcı tanı

Kimyasal lökoderma, hipomelanotik lepra, idyopatik guttat hipomelanozis, lupus eritematozus, morfea, mikozis fungoides, nevus depigmentozis, piebaldizm, pitiriazis alba, post inflamatuvar lökoderma, tinea versikolor, tuberosklerozis ile ayırıcı tanının yapılması gerekir^{16,17}.

Prognoz

Total spontan remisyon nadirdir. Segmental vitiligo, genellikle stabildir. Repigmentasyon çoğunlukla kıl foliküllerinden başlar, eğer hastalık birkaç yıldır mevcut ise veya akral tutulum varsa spontan gerileme veya tedaviye yanıt olası değildir. Atopik dermatitli hastalarda vitiligo dirençli ve şiddetlidir. İyi prognostik faktörler; yüz, boyun, göğüs, kollar ve bacaklarda lokalize lezyonlar ve koyu renkli bireylerde hastalığın mevcudiyetidir. Kötü prognostik faktörler; lezyonların yaygın olması, kolları depigmentasyon, mukozal tutulum, el ve ayak parmaklarında lokalize lezyonların varlığıdır (lip-tip sendrom)^{16,17}.

Tedavi

Vitiligo tedavisinde öncelikle, tedavinin gerekli olup olmadığına karar verilmeli; hastanın tedaviyi isteyip istemediği sorgulanmalıdır. Tedavi başarısı; hastalığın tipi, yaygınlığı, kişinin deri rengi, yaşı, seçilen tedavi ve süresine bağlı olarak değişebilmektedir. Lezyonlarda spontan iyileşme görülebilmektedir²¹. Tedaviye başlamadan önce altta yatan otoimmün hastalıklar araştırılmalı ve hasta tedaviden yarar görmeme ihtimali açısından bilgilendirilmelidir⁶⁷.

Tedavi seçenekleri arasında; güneşten koruyucular, steroid tedavisi (topikal, intralezyonel, sistemik), ACTH, Methormon-F, melanotropin, UV ile birlikte kullanılan tedaviler (PUVA ve kombine tedaviler, dar-band UVB, UVB, mikrofototerapi-mikrofotoirradasyon), plasentadan köken alan ilaçlar (Melagenina I-II), psödokatalaz, melanosit stimüle edici hormon analogları, diğer medikal tedaviler (vitaminler, antioksidanlar, takrolimus, pimekrolimus), psikoterapi, davranış tedavileri, psikiyatrik tedavi, çok yaygın olgularda depigmentasyon tedavileri (Hidrokinon monobenzil ether-HMBE, 4 MP), kozmetik çözümler (kamuflej, makyaj, kalıcı makyaj, yalancı hiperpigmentasyon sağlayan ürünler), lazer uygulamaları, cerrahi tedavi seçenekleri yer alır^{16,68}.

Glutasyon- S- transferaz

Glutasyon-S-transferaz (GST), faz II ksenobiyotik metabolizan enzim ailesinin bir üyesidir. Bitkiler, hayvanlar, bakteriler dahil olmak üzere tüm yaşam formlarında bu enzimler saptanmıştır⁶⁹. Çoğu GST çözünen sitozolik bir enzimken, küçük bir mikrozomal GST ailesi de saptanmıştır⁷⁰. Yakın geçmişte, Pemble ve arkadaşları mitokondrial bir GST de tanımlamışlardır⁷¹. Enzimin farklı izoformları vardır ve farklı dokularda karakteristik özelliklerde sentez edilir⁷².

GST'in katalizlediği temel reaksiyon: $GST + R-X \rightarrow GSR + HX$, şeklindedir. Enzimin ana fonksiyonu, glutasyon (GSH) ve substratı aktif bölgesine bağlayarak birbirlerine yakınlaştırmak⁷³ ve GSH üzerindeki sülfidril grubunu aktive ederek GSH'un elektrofilik substratla reaksiyona girmesini sağlamaktır⁷⁴. Epoksit halka açılmaları, nükleofilik aromatik geçiş reaksiyonları,

α , β -doymamış aldehid ve ketonlara geri dönüşlü miçel eklenmeleri ve bazı peroksidaz reaksiyonları GST enzimlerince katalizlenen reaksiyonlardır⁷³.

GST, reaktif molekülleri vücuttan atılmadan önce glutatyonla konjuge eder. Aynı zamanda, lipid peroksitleri hidroksil formuna çevirirken GSH'u okside glutatyonu yani glutatyon disülfid (GSSG) 'ye çevirerek glutatyon peroksidaz gibi davranır. GST aktivitesine sahip proteinler iki ayrı süpergen ailesi tarafından kodlanır. Bunlardan en az 16 gen, dokulardaki sitozolik proteinleri kodlarken, en az 6 gen de membranlarda sentez edilir⁷⁵. Sitozolik GST aktivitesine sahip proteinleri kodlayan gen ailelerinin yerleşimi; alfa 6. kromozomda, zeta 14.kromozomda, mu 1.kromozomda, teta 22. kromozomda, pi 11. kromozomda, sigma 4. kromozomda, chi (diğer adıyla omega) 10. kromozomdadır. Kappa gen ailesinin kromozomal lokalizasyonu ise bilinmemektedir⁷⁶. Bu sitozolik enzimleri kodlayan gen ailelerinin çoğunda polimorfizm tanımlanmış olmasına rağmen bugüne kadar yapılan çalışmalarda genellikle mu, teta ve pi ailelerinin üzerinde durulmuştur^{75,77}. Bu enzimlerin fonksiyonu endojen (örneğin reaktif oksijen türevleri) ve ekzojen (örneğin polisiklik aromatik hidrokarbonlar) elektrofilik moleküllerin glutatyon konjugasyonu aracılığıyla detoksifiye edilmesidir⁷⁶.

GSTM genleri (M1-M5) kromozom 1p13.3 lokusunda haritalanmıştır⁷⁸. En çok karaciğer, testis, beyin, adrenal, böbrek, pankreas, kalpde ve az miktarda akciğerde sentezlenir⁷³. GSTM1' deki bireysel farklılıklar, hem gen delesyonu hem de allel varyasyonu nedeniyle olmaktadır. Bu allellerin sıklıklarında geniş etnik varyasyon vardır. GSTM1 geninin, GSTM1*0, GSTM1*A and GSTM1*B allelleri homo- ve heterodimerik kombinasyonlarıyla dört genel fenotipli polimorfizm göstermektedir. GSTM1*0 delesyondur ve homozigotlar ne mRNA ne de protein sentezlerler. GSTM1*A (G519) ve GSTM1*B (C519) allelleri GSTM1a/1a, GSTM1b/1b ve GSTM1a/1b fonksiyonel olarak benzer formdaki homo- ve heterodimerik enzimler olan monomerleri kodlamaktadır⁷². GSTM1 gen kaybı olan bireylerde detoksifikasyon oranının azalması nedeniyle, bazı dokularda karsinojen/DNA seviyeleri yüksek olmakta ve aynı zamanda kromozom düzensizlik oranları da artmaktadır. DNA ile reaksiyona girecek olan karsinojenlerin konsantrasyonu, detoksifikasyon ve aktivasyon oranıyla belirlenebilmektedir⁷⁹.

Lenste sentezlenen GST izoenzim aktivitelerinin yaklaşık % 80'ini GSTM1 oluştururken, % 20'sini de GSTM3 oluşturur⁸⁰. Dünyadaki farklı etnik grupların %20 - 60'ı GSTM1 geni için homozigot gen delesyonuna sahiptir⁸¹.

İnsan GSTT1 geni, kromozom 22q11.23 lokusunda haritalanmıştır⁸². Başlıca böbrek, karaciğer, intestinal sistem, beyin, dalak, prostat, pankreas, testis, kalp ve akciğerde sentezlenir⁷³. GSTM1' de olduğu gibi, GSTT1*0 alleli için homozigot bireyler mRNA ve dolayısıyla protein sentezleyemezler. GSTT1 negatif (-) polimorfizmi %16-40 sıklığında geniş etnik varyasyon gösterir. Bu polimorfizmin biyolojik önemi, detoksifikasyon ve aktivasyon reaksiyonların her ikisini birden içeren enzim olmasıdır⁸³.

İnsan GSTP1 geni kromozom 11(11q13) lokusunda haritalanmıştır⁸⁴. Başlıca beyin, akciğer, kalp, testis, adrenal bez, böbrek, pankreas ve karaciğerde sentezlenir⁷³. Ayrıca normal insan epitel dokusunda da yaygın olarak sentezlenmektedir. İnsan GSTP1 geni polimorfik olup, her ikisi de amino asit değişimiyle sonuçlanan iki genetik polimorfizm bulunmaktadır. GSTP1*A, GSTP1*B ve GSTP1*C allellerinin homo- ve heterodimerik kombinasyonlarıyla altı genel fenotip gösterir. Genetik değişikliğe, ekzon 5'de izolösinin valine (Ile105Val) ve ekzon 6'da alaninin valine (Ala114val) değişimi neden olmaktadır. Ekzon 5'deki izolösün valin polimorfizmine göre genotipler Ile / Ile (homozigot yabancıl tip), Ile / Val (heterozigot) ve Val / Val (homozigot mutant tip) ; ekzon 6'daki alanin valin polimorfizmine göre genotipler Ala / Ala, Ala / Val ve Val / Val şeklinde olmaktadır. Ekzon 5'deki değişiklik, enzimin aktif bölgesini kodlayan bölgeye lokalizedir. Dolayısıyla her iki amino asit değişikliklerinden yalnız ekzon 5'deki değişiklik enziminin elektrofil-bağlama aktif bölgelerinde olmaktadır. GSTP1 gen polimorfizmi fonksiyonel olarak farklı enzimatik aktiviteye sahip GSTP1 enzimlerin sentezine neden olmaktadır. Bu da ksenobiyotik metabolizmasıyla ilgili fonksiyonunu önemli ölçüde etkilemektedir^{84,85,86}.

N- Asetiltransferaz

İnsan n-asetiltransferaz (NAT)' ının farklı substrat spesivitesine sahip iki alt izoenzimden oluştuğu bilinmektedir. NAT çoğu memeli hücresinde vardır. NAT1 ve NAT2; farklı genler tarafından kodlanır. NAT1 geni birçok hücre

tarafından sentez edilirken, NAT2 karaciğer ve barsaklar tarafından sentezlenir⁸⁷.

Asetilasyon polimorfizmi; birçok ilaç ve diğer ksenobiotiklerin biyotransformasyonunda önemli bir basamaktır⁸⁷. NAT2, ilaç ve karsinojenlerin inaktivasyonu veya detoksifikasyonunda önemlidir. İnsanlarda NAT2'nin birçok genotipik varyasyonunun olduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında; NAT2*4, NAT2*5, NAT2*6, NAT2*7, NAT2*12, NAT2*13, NAT2*14, NAT2*17 ve NAT2*18 genotipleri yer almaktadır. Bunların bazılarının da kendi içinde alt tipleri tanımlanmıştır, örneğin NAT2*5' in A'dan, F'ye kadar 6 alt tipi, NAT2*6'nın A-D arasında 4 tipi, NAT2*7'nin A ve B olarak 2 tipi, diğerlerinin de benzer şekilde alt tipleri olduğu gösterilmiştir⁸⁸. NAT2 geni ve mutant formlarından oluşan wild-tip allel ile asetilasyon polimorfizmi ve bunun sonucunda hızlı ve serbest asetilatör oluşur. Bir araştırmacının sonuçlarına göre bir kişi NAT2 wild-tip allelinin en az bir genini taşıyorsa hızlı asetilasyon fenotipine sahip olurken, NAT2'nin her iki allelinde de mutasyon varsa yavaş asetilasyon fenotipine sahip olur^{89,90}. Bu polimorfizm; tedavide, kanser yatkınlığında⁹¹, sistemik lupus eritematozis (SLE)⁹² ve skleroderma⁹³ gibi otoimmün hastalıklarda önemlidir.

NAT2 asetilasyon statüsü ve SLE geliştirme riski arasındaki ilişki üzerinde tartışmalı sonuçlar vardır^{92,94}. Bazı araştırmacılar, NAT2 asetilasyon polimorfizminin asıl otoimmün hastalığa bağlı olduğunu savunmaktadır^{93,95}.

İnsanlarda farmasötikler ve çevresel kirleticiler gibi birçok ksenobiotiğin, otoimmün hastalıkları başlatabildiği ya da olan hastalığı daha da kötüleştirebildiği bilinmektedir⁹⁶. Nonreaktif düşük molekül ağırlıklı kimyasalların aksine bunların reaktif ara ürünleri doku proteinlerini etkileyerek güçlü bir şekilde otoimmüniteyi uyarmaktadır. Ekzojen düşük molekül ağırlıklı kimyasallara maruziyet ya da NAT2 defekti ile endojen reaktif ara ürünlerin birikimi sonucu asetile edilmemiş ksenobiotikler otoimmüniteyi indükleyebilir^{92,97,98}.

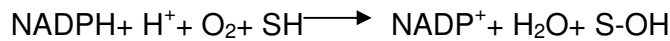
Asetillenmemiş ksenobiotiklerin, yavaş asetilatörlerde biriktiği ve diğer enzimler tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürüldüğü tahmin edilmektedir. Bu reaktif ara ürünlerin immün sisteme kendi proteinlerini sunarak T hücrelerini

aktive edip otoimmünitede patolojik süreci başlattığı ve otoimmünitenin klinik görüntüsünü oluşturduğunu tahmin edilmektedir⁹⁹.

Sitokrom P-450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri

Sitokrom P-450 (CYP) monooksijenaz enzim sistemleri, matür eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında tüm memeli hücre tiplerinde ve prokaryotlarda bulunan hem-protein ailesidir. Bu enzimler, yapısal olarak farklı çeşitli bileşiklerin oksidasyonunu katalize ederler. Endojen sentezlenen birçok bileşik, CYP enzimlerinin substratı olarak görev yapar. Bu bileşikler: prostaglandin ve lökotrienler dahil yağ asitleri, steroidler, yiyecek katkı maddeleri, ilaçlar olup ayrıca besinlerle, enjeksiyonla, havadan inhalasyonla ya da deriden absorpsiyonla vücuda giren endüstriyel maddelerdir. Bu sistem indüksiyon veya inhibisyon gibi sayısız mekanizmalarla değişime uğrayabilir ve bireyler arasında oldukça farklı formları ortaya çıkabilir. CYP enzimleri, 400-530 aminoasitten yapılmış proteinlerdir. Bazı dizilimi benzerliklerine göre, CYP sistemi 40 farklı aile içinde sınıflandırılır. CYP sisteminin tıpta çok önemli etkileri vardır. Bunlar; terapötik maddeleri inaktive veya aktive etme, kimyasal maddeleri oldukça yüksek derecede reaktif moleküllere dönüştürme ve istenmeyen hücre hasarı, hücre ölümü veya mutasyon gibi olaylara neden olma, steroid hormon sentezindeki bazı adımlara katılma, yağ asidi ve bunların türevlerinin metabolizması gibi olaylardır^{100,101}.

CYP enzimleri ile katalizlenen genel reaksiyon aşağıdaki gibidir.



Buradaki substrat (S); bir steroid, yağ asidi, ilaç ya da oksijen bağlama yeri olarak görev yapan alkan, alken, aromatik halka veya heterosiklik halka ekleri olan diğer kimyasal maddeler olabilir. Substrata iki oksijen atomundan sadece biri katıldığı için bu reaksiyona monooksijenasyon reaksiyonu ve bu enzimlere de sitokrom P-450 monooksijenaz enzimleri adı verilmektedir¹⁰⁰.

CYP enzimlerinin özellikleri; birçok dokuda işlev görmeleri, hepatositlerde en yüksek derişimde bulunmaları, primer olarak oksidatif metabolizmayı düzenlemeleri olarak özetlenebilir. Hücre içinde bulunduğu yere göre:

mitokondride bulunan steroidojenik CYP enzimleri ve endoplazmik retikulumda bulunan ksenobiyotik CYP enzimleri olmak üzere iki grupta incelenirler^{101,102}.

CYP enzimleri ilk numaradan itibaren; CYP1, CYP2 ve CYP3 olarak ailelere ayrılmıştır. Bunlar da kendi içinde alfabetik harfler ile alt grup ailelere ayrılmaktadır. En son numara ise enzimi kodlayan genin numarasıdır^{101,103,104}.

Örnek;

CYP + numara + harf + numara
(aile) (alt aile) (gen)

CYP 2 C 9

En önemli CYP izoenzimleri CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 ve CYP2C19'dur^{103,104}.

CYP2C9'da oluşan genetik polimorfizm enzim aktivitesi üzerinde önemlidir. Wild tip allele (CYP2C9*1) ek olarak CYP2C9'da nokta mutasyonlar sonucu iki allelik varyant oluşur. CYP2C9*2 ekzon 3'de 144. kodonda arjininin sisteinin ile yerdeğiştirmesiyle, CYP2C9*3 ekzon 7'de 359. kodonda izolösinin lösin ile yerdeğiştirmesiyle oluşur¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

CYP2C19'un genetik eksikliği, birkaç tek nükleotid polimorfizmine göre tanımlanmıştır. CYP2C19*2 allelinin, m1 bağlantı yeri mutasyonu sonucu; CYP2C19*3 allelinin, m2 kodonun erken sonlanması ile; CYP2C19*4'ün, m3 başlangıç kodonunda A-G baz değişimi nedeniyle; CYP2C19*5'in, m4 Arg 433 Trp aminoasit mutasyonu sonucunda oluştuğu gösterilmiştir¹⁰⁸.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındıktan sonra (27.03.2006 tarih, B.30.2.MEÜ.0.01.00.00/1424 no'lu, 03/10 sayılı onay belgesi) Nisan 2006-Haziran 2007 tarihleri arasında yapıldı. Tüm hastalara çalışma protokolü anlatıldıktan sonra hasta onay formu imzalatıldı. Çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dermatoloji polikliniğine başvuran 102 vitiligo hastası (61 kadın, 41 erkek) ve kontrol grubu olarak 70 sağlıklı birey (43 kadın, 27 erkek) dahil edildi. Kontrol grubuna seçilen bireylerde; kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon, kronik dejeneratif nörolojik hastalık, kronik obstruktif akciğer hastalığı, atopi, otoimmün hastalık ve hepatit olmaması şartı arandı. Hastalar yaş, cinsiyet, ailede vitiligo öyküsü, eşlik eden otoimmün hastalık (tiroidit, pernisiyöz anemi, alopesi, addison) ve vitiligo tipi açısından değerlendirildi. Vitiligo tanısı klinik olarak konuldu. Fizik muayenede, vitiligo lezyonlarının vücut yüzeyine dağılımı jeneralize, akrofasiyal ve segmental olarak değerlendirilip kaydedildi.

Kan Örnekleri ve DNA izolasyonu

Çalışma ve kontrol grubundan steril silikonize 2 ml'lik %7.5 etilendiamintetraasetikasit içeren vakumlu tüplere venöz kan örnekleri alındı ve alınan kan örnekleri DNA izolasyonu yapılmaya kadar +4 °C'de saklandı.

Tam Kandan DNA İzolasyonu

Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir koatropik tuz (guanidin-HCl) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalandı. Hücresel nükleik asitler çok saf pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber glas yapıya seçici olarak bağlandı. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırıldı. Özel bir inhibitör temizleyici tampon ile bu işlem gerçekleştirildi. Son olarak düşük yoğunluklu tuz elüsyonu ile nükleik asitlerin fiber glastan ayrılması sağlandı. DNA izolasyonu için 'High Pure PCR Template Preparation' kiti (Roche Diagnostics, GmbH, Germany) kullanıldı.

Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) hedef DNA'daki nükleotid dizisi bilinen nokta mutasyon ya da delesyon içeren bir bölgesinin amplifiye edilerek mutasyonun tespit edilmesi amacıyla kullanıldı. Analiz denatürasyon,

amplifikasyon, melting ve cooling olmak üzere dört basamakta yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce Taq polimeraz, iki primer ve prob, dört çeşit deoksiribonükleotid fosfat (dNTP), belirli derişimde magnezyum klorür ve üzerinde çalışılacak DNA'dan oluşan karışım hazırlandı. Denatürasyon basamağında sıcaklık arttırıldı ve DNA zincirindeki nükleotidler arasındaki bağlar kopararak amplifikasyon işlemine hazır hale getirildi. DNA denatüre edildikten sonra oligonükleotid yapısındaki primerlerin sentezlenecek hedef bölgeyi belirleyecek şekilde ayrılan DNA zincirlerine yapışması sağlandı. Termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan saflaştırılan Taq polimeraz enzimi yardımıyla belirlenen bölgenin dört çeşit dNTP kullanılarak sentezlenmesi sağlandı. Annealing (uzama) adı verilen sentez işlemi sırasında mutasyon olan diziye uygun olarak sentezlenmiş olan mutasyon probu (mutation probe) mutasyon bölgesine, diğer prob olan çapa probu (anchor probe) ise mutasyon probunun 5' ucu tarafına ve arada en fazla 5 nükleotidlik mesafe kalacak şekilde yerleşip amplifikasyon işlemi ortalama 40-50 kez tekrar edilerek yaklaşık 2^{40-50} sayıda ürün elde edilmiş oldu.

Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Melting Curve Analizi ile Genotip Belirlenmesi:

Bir DNA molekülünün erime ısı (Melting temperature: T_m) içerdiği G+C (guanin+sitozin) miktarına, uzunluğuna ve iki zincir arasında gösterdiği homolojiye bağlı olarak değişir. Melting curve analizi ile genotip belirlenmesi iki hibridizasyon probu kullanılarak yapılır. Hibridizasyon problelerinden ilki mutasyon olan diziye bağlanan ve 5' ucundan LightCycler-Red (LC-Red) fluorophore (LC-Red 640 yada LC-Red 705) ile işaretlenmiş olan mutasyon probudur. Diğer hibridizasyon probu ise 3' ucundan fluorescein ile işaretlenmiş olan çapa probudur. İki hibridizasyon probu hedef dizilere yapıştıktan sonra verici prob olan çapa probundaki fluorescein maddesi LightCycler cihazının ışık kaynağı tarafından eksite edilir ve eksitasyon enerjisinin bir kısmı mutasyon probunda bulunan LC-Red'e transfer edilir (Fluorescence Resonance Transfer Energy: FRET). LC-Red tarafından saçılan floresan LightCycler cihazı tarafından ölçülür. Melting basamağında sıcaklık yavaş yavaş ($0.1 \text{ sn}^{\circ}\text{C}$) arttırılır. Mutasyon probunun bağlandığı bölgede mutasyon varsa nükleotidlerin eşleşmesi tam olarak gerçekleşmediği için T_m daha düşük olacak ve prob

bağlandığı yerden daha düşük sıcaklıkta ayrılacaktır. Eğer mutasyon yoksa prob daha yüksek sıcaklıkta ayrılacaktır.

Mutasyon probunun bağlandığı diziden kopmasıyla iki prob arasındaki FRET gerçekleşemez, cihaz tarafından ölçülen floresan düzeyi azalır ve ekrana bir pik olarak yansır.

GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 Gen Polimorfiziminin Belirlenmesi

DNA örneklerinden GST genotiplenmeleri, 'Light-Cycler real time' PZR yöntemiyle (Roche diagnostics, GmbH, Germany) Ko ve arkadaşlarının¹⁰⁹ önerdiği şekilde yapıldı. GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 için primer ve prob dizileri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: GSTT1, M1 ve P1 polimorfizmi için primer ve prob dizileri

| GEN | PCR Primerleri | Hybridizasyon Probları |
|----------|-------------------------------|--|
| GSTM1 | 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3' | 5'-LCR640-ATGGCCGCTTCCCAGAAACTCTG-3' |
| | 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3' | 5'-TCACTCCTCCTTTACCTGTTTCCTGCAAA-FL-3' |
| GSTT1 | 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' | 5'-LCR640-TCDAAGCCGACCCAAGCTGGC-3' |
| | 5'-TCCAGGTCAACCGGATCAT-3' | 5'-CCGTGGGTGCTGGCTGCCAAGT-FL-3' |
| GSTP1 | 5'-ACCCCAGGGCTCTATGGGAA-3' | 5'-LCR640-TGTGAGCATCTGCACCAAGGGTTGGGG-3' |
| | 5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3' | 5'-TGCAAATACATCTCCCTCATCTACACAAC-FL-3' |
| β globin | 5'-CAACTTCATCCACGTTCAAC-3' | |
| | 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3' | |

NAT2 Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

NAT2'nin NAT2*5A, NAT2*6A, NAT2*7A/B polimorfizimleri 'Light-Cycler NAT2 Mutasyon Belirleme' kiti (Roche diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) kullanılarak bakıldı. NAT2'nin iki allelinde de mutasyon varsa yavaş asetilasyon fenotipi, wild tip ve heterozigot olan hızlı asetilatör olarak adlandırılmıştır.

CYP2C9 ve CYP2C19 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

PCR ve mutasyon görüntüleme için, 'Light-Cycler CYP2C9 ve CYP2C19 Mutasyon Belirleme' kiti (Roche diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) paket programından yararlanıldı, p değeri < 0,05 olduğunda sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Yaş bakımından grupların karşılaştırılmasında 'student t' test kullanıldı. Cinsiyet bakımından grupların karşılaştırılmasında 'ki-kare' testi kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarında GSTT1, GSTM1, GSTP1, NAT2*5A, NAT2*6A, NAT2*7A/B, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2, CYP2C19*3 genotiplerinin dağılımını göstermek için 'ki-kare' testi kullanıldı. GST, NAT2, CYP2C9 ve CYP2C19 polimorfizmi ile hastalık arasındaki ilişkinin ORs (odds ratios = olasılık oranı) ve CIs (confidence intervals = güvenirlilik aralığı) hesaplamaları binary logistic regression analizi kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Vitiligo tanısı alan toplam 102 hasta ve kontrol grubuna dahil edilen 70 kişinin verilerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında yaş, cinsiyet gibi sürekli değişkenlerin gruplara göre ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı.

Hastaların 61'i kadın (%59,8), 41'i erkek (%40,2), kontrol grubunun 43'ü kadın (%61,4), 27'si erkekti (%38,6). Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet açısından karşılaştırılmasında 'ki-kare' testi kullanıldı; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,83$). Sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet açısından karşılaştırılması

| Cinsiyet | Hasta | Kontrol | Toplam |
|----------|------------|------------|-------------|
| Kadın | 61 (%59,8) | 43 (%61,4) | 104 (%60,5) |
| Erkek | 41 (%40,2) | 27(%38,6) | 68 (%39,5) |
| Toplam | 102 | 70 | 172 |

Hastaların yaş ortalaması $35,08\pm 15,44$; kontrol grubunun yaş ortalaması $34,54\pm 9,87$ idi. Hasta ve kontrol grubunun yaş açısından karşılaştırılmasında 'student t' testi kullanıldı. Gruplar arasında yaş değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,78$). Sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3: Yaş ve gruplar arasında ilişki

| | GRUP | n | Ortalama | Standart sapma | p |
|-----|---------|-----|----------|----------------|-------|
| YAŞ | Kontrol | 70 | 34,54 | 9,871 | 0,782 |
| | Hasta | 102 | 35,08 | 15,448 | |

n: birey sayısı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

Hastaların cinsiyeti ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiye bakıldığında CYP2C19*2'nin kadınlarda daha fazla olduğu gösterildi (p= 0,04). Sonuçlar Tablo 4'da verilmiştir.

Tablo 4: Cinsiyet ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişki

| GENOTİP | | Erkek | | Kadın | | p |
|-----------|--------------------|-------|------|-------|------|--------------|
| | | n | % | n | % | |
| GST-T1 | + | 27 | 40,3 | 40 | 59,7 | 0,977 |
| | - | 14 | 40 | 21 | 60 | |
| GST-M1 | + | 35 | 40,7 | 51 | 59,3 | 0,811 |
| | - | 6 | 37,5 | 10 | 62,5 | |
| GST-P1 | İle/ile | 17 | 42,5 | 23 | 57,5 | 0,926 |
| | İle/val | 20 | 38,5 | 32 | 61,5 | |
| | Val/val | 4 | 40 | 6 | 60 | |
| NAT2*5A | Wild | 22 | 48,9 | 23 | 51,1 | 0,258 |
| | Heterozigot | 15 | 34,9 | 28 | 65,1 | |
| | Mutant | 4 | 28,6 | 10 | 71,4 | |
| NAT2*6A | Wild | 23 | 36,5 | 40 | 63,5 | 0,339 |
| | Heterozigot | 8 | 38,1 | 13 | 61,9 | |
| | Mutant | 10 | 55,6 | 8 | 44,4 | |
| NAT2*7A/B | Wild | 23 | 35,9 | 41 | 64,1 | 0,255 |
| | Heterozigot+mutant | 18 | 47,4 | 20 | 52,6 | |
| CYP2C19*2 | Wild | 37 | 45,1 | 45 | 54,9 | 0,040 |
| | Heterozigot | 4 | 20 | 16 | 80 | |
| CYP2C19*3 | Wild | 41 | 41 | 59 | 59 | 0,149 |
| | Heterozigot | 0 | 0 | 2 | 100 | |
| CYP2C9*2 | Wild | 35 | 39,3 | 54 | 60,7 | 0,639 |
| | Heterozigot | 6 | 46,2 | 7 | 53,8 | |
| CYP2C9*3 | Wild | 30 | 39 | 47 | 61 | 0,655 |
| | Heterozigot | 1 | 44 | 14 | 56 | |

n: birey sayısı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

102 hastanın 24'ünde (% 23,5) ailede vitiligo öyküsü vardı. Aile öyküsü ve gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiye bakıldığında aralarında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Sonuçlar Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5: Aile öyküsü ve gen polimorfizmleri arasındaki ilişki

| GENOTİP | | AİLE ÖYKÜSÜ | | | | p |
|-----------|--------------------|-------------|------|-----|------|-------|
| | | Yok | | Var | | |
| | | n | % | n | % | |
| GST-T1 | + | 52 | 77,6 | 15 | 22,4 | 0,957 |
| | - | 27 | 77,1 | 8 | 22,9 | |
| GST-M1 | + | 66 | 76,7 | 20 | 23,3 | 0,692 |
| | - | 13 | 81,3 | 3 | 18,8 | |
| GST-P1 | İle/ile | 29 | 72,5 | 11 | 27,5 | 0,467 |
| | İle/val | 41 | 78,8 | 11 | 21,2 | |
| | Val/val | 9 | 90 | 1 | 10 | |
| NAT2*5A | Wild | 37 | 82,2 | 8 | 17,8 | 0,084 |
| | Heterozigot | 29 | 67,4 | 14 | 32,6 | |
| | Mutant | 13 | 92,9 | 1 | 7,1 | |
| NAT2*6A | Wild | 45 | 71,4 | 18 | 28,6 | 0,130 |
| | Heterozigot | 19 | 90,5 | 2 | 9,5 | |
| | Mutant | 15 | 83,3 | 3 | 16,7 | |
| NAT2*7A/B | Wild | 47 | 73,4 | 17 | 26,6 | 0,208 |
| | Heterozigot+mutant | 32 | 84,2 | 6 | 15,8 | |
| CYP2C19*2 | Wild | 63 | 76,8 | 19 | 23,2 | 0,761 |
| | Heterozigot | 16 | 80 | 4 | 20 | |
| CYP2C19*3 | Wild | 78 | 78 | 22 | 22 | 0,391 |
| | Heterozigot | 1 | 50 | 1 | 50 | |
| CYP2C9*2 | Wild | 71 | 79,8 | 18 | 20,2 | 0,142 |
| | Heterozigot | 8 | 61,5 | 5 | 38,5 | |
| CYP2C9*3 | Wild | 61 | 79,2 | 16 | 20,8 | 0,453 |
| | Heterozigot | 18 | 72 | 7 | 28 | |

n: birey sayısı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

Hastalar klinik olarak vitiligo tipleri açısından değerlendirildi. 102 hastanın 92'si jeneralize, 9 tanesi akrofasiyal ve 1 tanesi segmentaldi. Vitiligo tipi ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiye bakıldı. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı saptandı. Sonuçlar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Vitiligo tipi ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişki

| GENOTİP | | VİTİLİGO TİPİ | | | | | | P |
|-----------|--------------------|---------------|------|-------------|------|-----------|-----|-------|
| | | Jeneralize | | Akrofasiyal | | Segmental | | |
| | | n | % | n | % | n | % | |
| GST-T1 | + | 61 | 91 | 6 | 9 | 0 | 0 | 0,34 |
| | - | 31 | 88.6 | 3 | 8.6 | 1 | 2.9 | |
| GST-M1 | + | 78 | 90.7 | 8 | 9.3 | 0 | 0 | 0,144 |
| | - | 14 | 87.5 | 1 | 6.3 | 1 | 6.3 | |
| GST-P1 | İle/ile | 37 | 92.5 | 3 | 7.5 | 0 | 0 | 0,823 |
| | İle/val | 46 | 88.5 | 5 | 9.6 | 1 | 1.9 | |
| | Val/val | 9 | 90 | 1 | 10 | 0 | 0 | |
| NAT2*5A | Wild | 40 | 88.9 | 4 | 8.9 | 1 | 2.2 | 0,682 |
| | Heterozigot | 40 | 93 | 3 | 7 | 0 | 0 | |
| | Mutant | 12 | 85.7 | 2 | 14.3 | 0 | 0 | |
| NAT2*6A | Wild | 56 | 88,9 | 7 | 11.1 | 0 | 0 | 0,133 |
| | Heterozigot | 19 | 90.5 | 2 | 9.5 | 0 | 0 | |
| | Mutant | 17 | 94.4 | 0 | 0 | 1 | 5.6 | |
| NAT2*7A/B | Wild | 58 | 90.6 | 6 | 9.4 | 0 | 0 | 0,361 |
| | Heterozigot+mutant | 34 | 89.5 | 3 | 7.9 | 1 | 2.6 | |
| CYP2C19*2 | Wild | 73 | 89 | 8 | 9.8 | 1 | 1,2 | 0,615 |
| | Heterozigot | 19 | 95 | 1 | 5 | 0 | 0 | |
| CYP2C19*3 | Wild | 90 | 90 | 9 | 9 | 1 | 1 | 0,812 |
| | Heterozigot | 2 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| CYP2C9*2 | Wild | 79 | 88,8 | 9 | 10,1 | 1 | 1,1 | 0,237 |
| | Heterozigot | 13 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| CYP2C9*3 | Wild | 68 | 88,3 | 8 | 10,4 | 1 | 1,3 | 0,424 |
| | Heterozigot | 24 | 96 | 1 | 4 | 0 | 0 | |

n: birey sayısı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

Hastalar, eşlik edebilecek otoimmün hastalıklar açısından sorgulandı. 102 hastanın 13'ünde tiroidit, 7'sinde pernisiyöz anemi, 2'sinde tiroidit+pernisiyöz anemi, 1'inde alopesi areata vardı. Vitiligoya eşlik eden bu otoimmün hastalıklar ve gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7: Eşlik eden otoimmün hastalık ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişki

| GENOTİP | | EŞLİK EDEN OTOİMMÜN HASTALIK | | | | p |
|-----------|--------------------|------------------------------|------|-----|------|-------|
| | | Yok | | Var | | |
| | | n | % | n | % | |
| GST-T1 | + | 51 | 76,1 | 16 | 23,9 | 0,656 |
| | - | 28 | 80 | 7 | 20 | |
| GST-M1 | + | 68 | 79,1 | 18 | 20,9 | 0,364 |
| | - | 11 | 68,8 | 5 | 31,3 | |
| GST-P1 | İle/İle | 30 | 75 | 10 | 25 | 0,890 |
| | İle/val | 41 | 78,8 | 11 | 21,2 | |
| | Val/val | 8 | 80 | 2 | 20 | |
| NAT2*5A | Wild | 37 | 82,2 | 8 | 17,8 | 0,274 |
| | Heterozigot | 30 | 69,8 | 13 | 30,2 | |
| | Mutant | 12 | 85,7 | 2 | 8,7 | |
| NAT2*6A | Wild | 47 | 74,6 | 16 | 25,4 | 0,664 |
| | Heterozigot | 17 | 81 | 4 | 19 | |
| | Mutant | 15 | 83,3 | 3 | 16,7 | |
| NAT2*7A/B | Wild | 48 | 75 | 16 | 25 | 0,442 |
| | Heterozigot+mutant | 31 | 81,6 | 7 | 18,4 | |
| CYP2C19'2 | Wild | 65 | 79,3 | 17 | 20,7 | 0,374 |
| | Heterozigot | 14 | 70 | 6 | 30 | |
| CYP2C19'3 | Wild | 78 | 78 | 22 | 22 | 0,391 |
| | Heterozigot | 1 | 50 | 1 | 50 | |
| CYP2C9'2 | Wild | 68 | 76,4 | 21 | 23,6 | 0,492 |
| | Heterozigot | 11 | 84,6 | 2 | 15,4 | |
| CYP2C9'3 | Wild | 61 | 79,2 | 16 | 20,8 | 0,453 |
| | Heterozigot | 18 | 72 | 7 | 28 | |

n: birey sayısı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

Vitiligo hastaları ve kontrol grubunda GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 polimorfizmleri Tablo 8'de gösterilmiştir. GSTT1 (-), GSTM1 (-) ve GSTP1 ile/val (heterozigot) ve GSTP1 val/val (homozigot mutant tip) olan bireylerde hastalık riskinin artmadığı, p değerlerinin (p= 0,09, p= 0,98, p= 0,66 ve p= 0,38) anlamlı olmadığı görülmüştür.

Tablo 8: Vitiligo ile GST polimorfizmleri arasındaki ilişki

| GST | Vitiligo (n=102) n(%) | Kontrol (n=70) n(%) | p | OR(%95 CI) |
|---------|--------------------------|------------------------|-------|---------------------|
| GSTT1 | | | | |
| + | 67 (%65,7) | 54 (%77,1) | | 1 (referans)* |
| - | 35 (%34,3) | 16 (%22,9) | 0,090 | 0,544 (0,270-1,099) |
| GSTM1 | | | | |
| + | 86 (%84,3) | 58 (%82,9) | | 1 (referans)* |
| - | 16 (%15,7) | 12 (%17,1) | 0,984 | 0,991 (0,428-2,297) |
| GSTP1 | | | | |
| İle/İle | 40 (%39,2) | 30 (%42,9) | | 1 (referans)* |
| İle/Val | 52 (%51,0) | 35 (%50,0) | 0,663 | 1,155 (0,604-2,206) |
| Val/Val | 10 (%9,8) | 5 (%7,1) | 0,383 | 1,708 (0,513-5,689) |

n: birey sayısı, OR: Odds Oranı, %95 CI: güven aralığı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

*GST T1 ve M1'de (+) genotipi GST P1'de İle/İle genotipi referans olarak alınmıştır.

NAT2 polimorfizmine bakıldığında ise; NAT2*5A'nın vitiligo riskini arttırmadığı, p değerlerinin sırasıyla heterozigot ve mutant olanlarda p= 0,83, p= 0,59 olarak saptandığı ve anlamlı olmadığı görülmüştür. NAT2*6A'nın heterozigot genotipinin hastalık riskini arttırmadığı (p= 0,49) ancak mutant genotipinin vitiligo riskini 4,85 kat arttırdığı ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p= 0,03) saptanmıştır. NAT2*7A/B polimorfizminin ise vitiligo riskini arttırmadığı bulunmuştur (p= 0,38). Sonuçlar Tablo 9'de verilmiştir.

Tablo 9: NAT2 polimorfizmleri ve vitiligo arasındaki ilişki

| NAT2 | Genotip | Vitiligo (n=102) n (%) | Kontrol (n=70) n (%) | p | OR (% 95CI) |
|-----------|--------------------|------------------------------|----------------------------|--------------|---------------------------|
| NAT2*5A | | | | | |
| | Wild | 45 (%44,1) | 31 (%44,3) | | 1 (referans) ^a |
| | Heterozigot | 43 (%42,2) | 31 (%44,3) | 0,834 | 1,138(0,340-3,809) |
| | Mutant | 14 (%13,7) | 8 (%11,4) | 0,593 | 1,471(0,358-6,038) |
| NAT2*6A | | | | | |
| | Wild | 63 (%61,8) | 46 (%65,7) | | 1 (referans) ^a |
| | Heterozigot | 21 (%20,6) | 19 (%27,1) | 0,499 | 1,572(0,424-5,829) |
| | Mutant | 18 (%17,6) | 5 (%7,1) | 0,038 | 4,85(1,089-21,597) |
| NAT2*7A/B | | | | | |
| | Wild | 64 (%62,7) | 42 (%60,0) | | 1 (referans) ^a |
| | Hetero + Mutant | 38 (%37,3) | 28 (%40,0) | 0,387 | 0,555(0,146-2,109) |

n: birey sayısı, OR: Odds Oranı, %95 CI: güven aralığı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

^aWild genotip referans olarak alınmıştır

CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2, CYP2C19*3 gen polimorfizmleri ile vitiligo arasındaki ilişki araştırıldığında da, vitiligo görülme sıklığının artmadığı (p değerleri sırasıyla p= 0,16, p= 0,22, p= 0,41 ve p= 0,50) saptanmıştır. Sonuçlar Tablo 10'de verilmiştir.

Tablo 10: CYP2C9, CYP2C19 polimorfizmleri ile vitiligo arasındaki ilişki

| CYP2C | Genotip | Vitiligo (n=102) n (%) | Kontrol (n=70) n (%) | p | OR (%95 CI) |
|-----------|-------------|------------------------------|----------------------------|-------|---------------------------|
| CYP2C9*2 | Wild | 89 (%87,3) | 58 (%82,9) | | 1 (referans) ^a |
| | Heterozigot | 13 (%12,7) | 12 (%17,1) | 0,163 | 0,449(0,146-1,383) |
| CYP2C9*3 | Wild | 77 (%75,5) | 55 (%78,6) | | 1 (referans) ^a |
| | Heterozigot | 25 (%24,5) | 15 (%21,4) | 0,222 | 1,829(0,694-4,817) |
| CYP2C19*2 | Wild | 82 (%80,4) | 53 (%75,7) | | 1 (referans) ^a |
| | Heterozigot | 20 (%19,6) | 17 (%24,3) | 0,416 | 0,729(0,340-1,562) |
| CYP2C19*3 | Wild | 100 (%98,0) | 69 (%98,6) | | 1 (referans) ^a |
| | Heterozigot | 2 (%2,0) | 1(%1,4) | 0,500 | 2,43(0,185-31,745) |

n: birey sayısı, OR: Odds Oranı, %95 CI: güven aralığı, p: gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesi.

^aWild genotip referans olarak alınmıştır

TARTIŞMA

Vitiligo, lokal veya yaygın depigmente maküllerle karakterize, edinsel bir deri hastalığıdır²¹. Hastanın yaşam kalitesini oldukça etkilediği bilinen hastalığın etyolojisi günümüzde hâlâ karanlıktır ve birkaç farklı teori söz konusudur¹. Hastaların aile üyelerinde de vitiligonun varlığı, hastalığın monozigot ikizlerde gözlenmesinin yanı sıra başta HLA-DR4 olmak üzere bazı HLA grupları ile sık birliktelik göstermesi genetik bir zemin olasılığının ortaya atılmasına neden olmuştur^{1,53}. Hastalığın etyolojisine dair ileri sürülen güçlü teorilerden biri otoimmün teoridir^{16,53}. Otoimmünitenin, hastalığın oluşumunu belirgin derecede etkilediği düşünülmektedir. Genetik yatkınlık, bazı HLA grupları ile birliktelik, hücre aracılı immünite ve humoral immünite defektleri ile birlikte vitiligo üzerine etkili olmaktadır. Otoantikorların gösterilmesi dışında, aktif vitiligoda etkilenmiş deride T hücrelerinin gösterilmesinin depigmentasyon için tetikleyici mekanizma olabileceği düşünülmektedir¹¹⁰. Bunun dışında derideki sinirlerden salınan nörokimyasal mediyatörlerin melanosit yıkımına yol açtığı (nöral teori), melanin sentezi sırasında ortaya çıkan bir kısım ara ürünlerin toksik olduğu veya melanositlere zarar veren aşırı H₂O₂ üretimi (otoyıkım teorisi) gibi faktörler, ayrıca viral kökenli olabileceği gibi görüşler de yer yer ileri sürülmüştür^{1,53}.

Deri sürekli olarak ROS'a maruz kalır. Bunların bir kısmı aktive nötrofiller ya da enzim aktivitesi sonucu oluşan radikaller gibi endojen kaynaklar, bir kısmı da prooksidatif uyarı olan UV ışınları gibi ekzojen kaynaklardır. ROS aracılı oksidatif hasar çok sayıda biyomoleküllü etkileyerek DNA modifikasyonu, lipid peroksidasyonu, inflamatuvar sitokin salınımı gibi etkiler oluşturur. Bu etkilerden korunmak için memeli derisi çok sayıda antioksidan savunma mekanizması geliştirmiş, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlarla donatılmıştır. Enzimatik antioksidanlar içerisinde glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) yer alır. Hücrelerdeki nonenzimatik antioksidanlar ise; alfa tokoferol, koenzim Q10 (ubikinon), beta karoten, askorbat ve glutatyondur¹¹¹.

ROS oluşumu, antioksidan savunma mekanizması, prooksidatif membran hasarı ve inflamatuvar ya da dejeneratif patolojik süreçler arasında yakın bir ilişki olduğu varsayılmaktadır¹¹¹. Oksidatif stresin melanosit yıkımında tetikleyici rol oynadığı kabul edilmektedir⁵¹.

Vitiligolu hastalarda psikolojik stres veya fiziksel olaylar gibi çeşitli travma öyküleri sıktır. Bu durum presinaptik hücrelerden genellikle katekolamin salınımının artmasına neden olur. Artmış katekolamin sonucu vazokonstriksiyon ve epidermal-dermal hipoksi gelişir. Ardından re-oksijenizasyon meydana gelir. Bu da serbest oksijen radikallerinin ve toksik maddelerin artmasına neden olur. Hücresel hipoksi ve reoksijenizasyonun hasar düzeyi hücresel antioksidan düzeyine bağlıdır¹¹². Bu görüşü destekler şekilde, Schallreuter ve arkadaşları vitiligo hastalarının lezyonlu ve normal derilerinde katalaz enziminin azaldığını bulmuşlardır⁵⁰. Passi ve arkadaşları aktif vitiligolu hastaların epidermisinde ubikinin, vitamin E, indirgenmiş glutatyon ve fosfolipidin poliansatüre yağ asitlerinin kontrol grubuna göre belirgin derecede azalmış olduğunu ve bunun sonucunda lipoperoksidatif olayın geliştiğini saptamışlardır. Bundan dolayı aktif vitiligolu hastalarda ubikinin, vitamin E, selenyum ve metionin gibi antioksidan kullanımının hem sirkülasyondaki hem de epidermal havuzdaki antioksidan konsantrasyonlarını artırarak tedavi edici rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir¹¹³.

Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada¹¹⁴, vitiligo ve kontrol grubunda dokuda malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) düzeyi, SOD ve GSH-Px aktivitesi araştırılmıştır. SOD endojen üretilen süperoksit radikallerin toksik etkilerinden koruyucu metalloenzimdir ve süperoksitleri H_2O_2 ' ye dönüştürür. Daha önce yapılan birkaç çalışmada; eritrositlerde¹¹², epidermisde¹¹³ ve melanosit kültürlerinde¹¹⁵ SOD düzeyleri hasta ve kontrol grubunda farklı bulunmazken, bu çalışmada¹¹⁴; vitiligo hastalarının doku SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Dokudaki yüksek SOD aktivitesini, süperoksit anyonlarının aşırı üretiminin tetiklediği ya da melaninin kendisinin antioksidan etkisinin ortadan kalkması sonucu SOD aktivitesinin arttığı düşünülmektedir¹¹⁴. Yine Koca ve arkadaşlarının¹¹⁶ yaptığı bir çalışmada, vitiligo hastalarının kan SOD aktivite düzeyi önemli derecede düşük bulunmuştur. Bu birbirinden farklı çalışma sonuçları, hastalığın aktivitesi, süresi ve farklı laboratuvar teknikleri kullanılmasına bağlanmıştır¹¹⁶.

Diğer bir antioksidan enzim olan GSH-Px ise H_2O_2 ve diğer peroksitleri suya indirger. Yapılan birçok çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında GSH-Px düzeyleri açısından fark bulunamazken^{112,113} ya da hastalarda kan GSH-Px aktivitesi düşük bulunurken¹¹⁷. Yıldırım ve ark. çalışmasında¹¹⁴; vitiligo

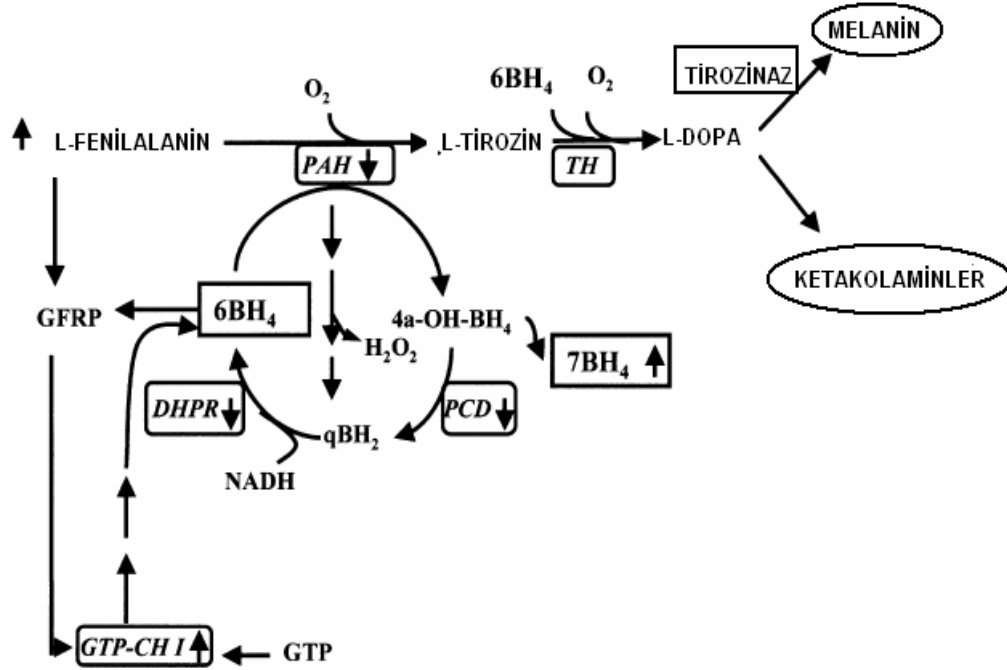
hastalarında kan enzim aktivitesinin istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir.

MDA oksidatif stresi tetikleyen, lipid peroksidasyon reaksiyonunun son ürünüdür¹¹⁸. Lipoperoksidasyon da oksidatif stresin önemli sebeplerindendir¹¹². Yıldırım ve ark.¹¹⁴, vitiligo hastalarının derilerinde MDA düzeyinin daha yüksek olduğunu bulmuşlar ve yüksek SOD ve GSH-Px aktivitesinin, yüksek MDA düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir¹¹⁴.

NO, serbest radikal olup, L-arjininden NO sentetaz enzimi ile sentezlenir¹¹⁴. Ivanova ve ark.¹¹⁹, in vivo NO oluşumunun inflamasyon boyunca deride melanosit adezyonunu engellediği bu sayede depigmentasyon oluştuğunu göstermişlerdir. Rocha ve Guillo¹²⁰, normal insan melanosit kültürlerinde NO üretimini araştırmışlar ve NO'nun melanositlerde otoyıkıma neden olduğunu saptamışlardır. Yıldırım ve ark. ise doku NO düzeylerini hasta ve kontrol grubunda farklı bulamamışlardır¹¹⁴.

NO, serbest radikal etkisini kritik metabolik enzimlere hasar vererek ve daha güçlü bir reaktif olan peroksinitrite dönüşüp SOD ile etkileşerek oluşturur. NO, melanositlerin kendilerinden ya da ekstrasellüler bölgeden kaynaklanıyor olabilir. NOS, NO sentezinde kofaktör olarak tetrahidrobiopterin (BH₄) gereksinim duyar¹²¹. Keratinositler ve melanositler esansiyel kofaktör olan 6-BH₄ bulundurlar. 6-BH₄; L-fenilalanin, L-tirozin, L-triptofan hidrosilasyonunda, nitrik oksit oluşumunda ve çeşitli immün modülasyonlarda kritik rol oynar¹²². Vitiligolu hastalarının epidermislerinde 6-BH₄ düzeyi yüksek bulunmuştur. Buna ek olarak NO sentezinin katalaz ile inhibisyonu 6-BH₄ eklenerek tersine çevrilebilir. Vitiligolu hastaların melanositlerindeki NO birikiminin nedeninin, esansiyel kofaktörü olan 6-BH₄ sentezindeki, geri dönüşümündeki ya da regülasyonundaki defekt olabileceği ileri sürülmüştür¹²¹. 6-BH₄'ün de novo sentez, yeniden döngü ve regülasyonu Şekil 2'de verilmiştir⁵⁴. Melanin sentezleyen hücreler Guanozin trifosfatdan (GTP) ,GTP-siklohidrolaz I (GTP-CH I) enzimi ile BH₄ oluşturabilirler ve anlamlı derecede fenilalanin hidrosilaz (PAH) aktivitesi gösterirler. Vitiligolu hastaların epidermislerinde hastalıklı bölgeler ile sağlam alanlar karşılaştırıldığında; GTP-CH I aktivitesinin hastalıklı bölgelerde 3-5 kat arttığı görülmüştür. 6BH₄ birikimi yüksek NOS aktivitesine

sebepler olarak NO düzeylerini artırır. NO'nun vitiligo patofizyolojisinde tetikleyici ajan olarak önemli bir oynayabileceği düşünülmektedir¹²¹.



Şekil 2: Melanogenezis ve katekolamin sentezinde substrat olan L-tirozinaz üretiminde 6BH₄'ün de novo sentez, yeniden döngü ve regülasyonu⁵⁴. (BH₄: tetrahydrobiopterin, DHPD: Dihidropteridin redüktaz, GFRP: GTP-CH I feedback regulator protein, GTP: Guanozine trifosfat, GTP-CH I: GTP-siklohidrolaz I, NADH: Nikotinamid dehidrogenaz, PAH: Fenilalanin hidroksilaz, PCD: Pterin-4a-carbinolamine dehidrataz, qBH₂: quinonoid dihidropterin, TH: Tirozin hidroksilaz).

Sonuç olarak otoyıkım teorisi; oksidatif stres sonucunda melanositlerde toksik bileşiklerin birikimi ve detoksifikasyon mekanizmalarının inhibisyonu nedeniyle vitiligolu deride melanosit yıkımı oluştuğunu ileri sürmektedir⁵³. Son zamanlarda bu çalışmalar daha çok hız kazanmış hatta oksidatif stres, otoimmünite ve genetik araştırmaların kombine edildiği ve birbirini desteklediği yeni çalışmalar etyopatogenez araştırmalarını farklı bir boyuta sürüklemiştir⁶².

Vitiligoya yatkınlık oluşturabileceği düşünölen genetik polimorfizm ile ilgili çalışmalar arasında; TAP1 (transporter associated with antigen processing protein-1: transportla ilişkili antijen özelliğli protein) ve STLA- 4 geni çalışmaları yer almaktadır. TAP1 gen polimorfizmi ile erken başlangığlı vitiligo arasında ve ayrıca STLA- 4 gen polimorfizmi ile vitiligo arasında anlamlı bir ilişki saptanmış, bu olumlu sonuçlar otoimmün etyolojiye dayandırılmıřtır⁶². Le Poole ve arkadařları¹²³, yaptıkları bir çalışmada VIT1 geninden söz etmektedirler. Vitiligo melanositlerinde artan VIT1 transkript ekspresyonu ile artan hatalı eşleşmiş tamir geni hMSH6'nın ekspresyonu arasında bağ vardır. Bu ikisinin yüksek seviyelerinin vitiliginöz melanositlerdeki artan DNA hasarından sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Katalaz gen polimorfizmi ile vitiligo arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda, gende oluşan mutasyonlar ile katalaz enzim aktivitesinin azaldığı ve bunun sonucunda hastaların epidermislerinde H₂O₂ düzeyinin arttığı gösterilmiştir^{124,125}. Daha öncede belirtildiği gibi katalaz enzimi epidermisde önemli bir antioksidan mekanizmadır¹¹¹, H₂O₂'yi su ve oksijene çevirerek serbest oksijen radikallerinin oluşturabileceği hücrenel hasarlanmayı ortadan kaldırır¹²⁵.

KOMT (katekol-O-metiltransferaz) geni, ilaç ve nötotransmitter metabolizmasında önemli rol oynayan ve biyolojik olarak aktif veya toksik katekollerin O-metilasyonunu katalizleyen bir enzimi kodlar. KOMT, melanin sentezi boyunca meydana gelen toksik ara ürünlerin oluşumunu da engellemektedir. Türsen ve arkadaşları, vitiligolu hastalarda KOMT gen polimorfizmini araştırmışlar, akrofasial vitiligo ve KOMT gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki tespit etmiřlerdir¹²⁶.

Uhm ve arkadaşları ise, detoksifikasyon enzimlerinin en önemlilerinden biri olan GST'nin gen polimorfizmi ile vitiligo arasındaki ilişkiyi incelemişler. GSTT1 (-) ve GSTM1 (-) genotiplerinde enzim aktivitesinin ortadan kalktığını ve daha önce bu polimorfizmlerin kanser, solunum yolu hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklarda gösterildiğini ve oksidatif stresle ilişkili hastalıklara yatkınlık oluşturabileceğini düşünmüřlerdir⁶².

Vitiligo etyopatogenezinin aydınlatılmasına yönelik yapılan tüm bu çalışmaların ışığı altında, biz de vitiligo hastalarında ve kontrol grubunda, en önemli detoksifikasyon enzimlerinden olan GST, NAT ve CYP gen polimorfizmlerini araştırdık.

Önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST ile oksidatif stres arasındaki ilişki bilinmektedir. GST, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen ürünlerinin detoksifiye edilmesini sağlamaktadır. GSTT1 ve GSTM1 genlerinin (-) genotiplerinde ise enzim aktivitesi izlenmemektedir⁶². Uhm ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, GSTT1 (-) genotipi ile vitiligo arasında, hastalık riskini arttırması açısından anlamlı bir ilişki saptamamışlardır⁶². GSTT1 polimorfizmi ile vitiligo arasındaki ilişkiye bakıldığında bizim çalışmamızda da onlarınkine benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu araştırmacılar, çalışmalarında GSTM1 (-) genotipinin hastalık riskini arttırdığını göstermişlerdir⁶². Biz ise çalışmamızda GSTM1 (-) genotipinin vitiligo hastalığı riskini arttırmadığını saptadık. Ayrıca Uhm ve arkadaşları, çalışmalarında GSTM1 (-) hastalarda vitiligo tipinin jeneralize ve fokal olduğunu, segmental tip vitiligo ile GSTM1 polimorfizmi arasında ilişki olmadığını göstermişlerdir⁶². Biz ise, vitiligo tipi ile GST polimorfizmleri arasında ilişki saptamadık. Ayrıca, GSTP1 ile/val (heterozigot) ve val/val (mutant) genotipinin hasta ve kontrol grubunda farklı olmadığını ortaya koyduk.

CYP enzim aktivitesinin kalıtsal eksikliği sonucunda oluşan pro- ve antioksidan sistem arasında dengesizlik, serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Bu radikaller oksidatif hücre hasarı ile sonuçlanan inflamatuvar ve immun reaksiyonların önemli mediyatörleridir. CYP ailesi 3'e ayrılmaktadır; bunlar da kendi içinde alt ailelere ayrılır. CYP2C en karışık ve en büyük alt ailedir¹²⁷. CYP polimorfizminin, SLE¹²⁸ ve skleroderma¹²⁹ gibi otoimmün hastalıklara yatkınlık oluşturduğunu gösteren çalışmalar vardır. Yine Behçet gibi otoimmün bir hastalığa sahip hastaların dolaşımında artmış olan pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6), CYP enzim aktivitesi ile azaltıldığı gösterilmiştir^{130,131}. Buradan yola çıkarak, etyopatogenezinde otoimmünitenin rol aldığı ve yine diğer bir teori olarak oksidatif stresin yer aldığı vitiligo hastalarında CYP polimorfizmi ve vitiligo arasındaki ilişkiye baktık. CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2 ve

CYP2C19*3 genotipik varyasyonlarının hasta ve kontrol grubunda farklı olmadığını gösterdik.

NAT asetilasyon polimorfizmi; birçok ilaç ve diğer ksenobiotiklerin biyotransformasyonunda önemlidir⁸⁷. Enzim, NAT1 ve NAT2 olarak farklı genler tarafından kodlanır⁸⁹. Daha önce yapılan çalışmalarda NAT2 polimorfizmi ile SLE⁹² ve skleroderma⁹³ gibi bazı otoimmün hastalıklar arasında ilişki gösterilmiştir. NAT2 ksenobiyotik metabolizmasında önemli bir enzimdir ve asetile edilmemiş ksenobiyotiklerin otoimmunitiyi tetikleyebileceği düşünülmektedir^{97,98}. Bu noktadan hareketle Behçet gibi otoimmün olduğu bilinen bir hastalıkta NAT2 polimorfizminin hastalığa yatkınlık oluşturup oluşturmadığı araştırılmış, NAT2*5A ve NAT2*6A yavaş asetilatör genotiplerinin Behçet hastalığı için risk faktörü oluşturabileceği sonucuna varılmıştır¹²⁷. NAT2, wild-tip allelinin en az bir genini taşıyorsa hızlı asetilasyon fenotipine sahip olurken, NAT2'nin her iki allelinde de mutasyon varsa serbest asetilasyon (yavaş asetilatör) fenotipine sahip olur^{89,90}. Biz çalışmamızda, vitiligo hastalarında NAT2*6A'nın mutant (yavaş asetilatör) genotipinin hastalık riskini 4,85 kat arttırdığını gösterdik.

Vitiligo, her iki cinsten ve genellikle eşit sıklıkta görülmeyle birlikte, kadınlarda daha sık görüldüğünü bildiren çalışmalar mevcuttur^{64,132,133}. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak hastaların %59,8 kadın, %40,2si erkekti.

Vitiligonun en sık 10-30 yaş arasında görüldüğü bildirilmiştir⁶⁴. Scherschun ve arkadaşlarının çalışmasında¹³⁴, hasta yaşları 19 ile 59 arasında değişirken, El Mofty ve arkadaşlarının çalışmasında¹³³ hasta yaşlarının 12 ile 60 arasında olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda hastaların yaşlarının 20 ile 50 arasında değiştiği saptandı.

Genetik faktörlerin vitiligo gelişimi üzerindeki rolünü araştıran çalışmalar, vitiligolu hastaların akrabalarının dörtte biri ile üçte birinde hastalık olduğunu göstermiştir^{21,55}. Bizim çalışmamızda da hastaların %23,5'inde aile öyküsü mevcuttu.

Vitiligo etyopatogenezinde GST, NAT, CYP gen polimorfizmlerinin araştırılmasına yönelik yapmış olduğumuz çalışma sonucunda NAT gen polimorfizminin hastalık riskini 4,85 kat gibi oldukça yüksek bir oranda arttırdığını saptadık. Yavaş asetilatörler nedeniyle asetillenmemiş ksenobiotikler birikmekte ve bunlar diğer enzimler tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülmektedir. Bu reaktif ara ürünlerin otoimmünitede patolojik süreci başlattığı tahmin edilmektedir⁹⁹. Bazı otoimmun hastalıklarla NAT arasındaki anlamlı ilişkiye bakılınca, NAT2*6A mutant genotipinin vitiligo hastalarında yüksek çıkması, vitiligo etyopatogenezinde hem otoimmun hem de oksidatif stres teorisini ön plana çıkarmaktadır. Daha geniş hasta serilerinde ve farklı populasyonlarda yapılabilecek yeni çalışmaların, vitiligo etyopatogenezinde bu gen polimorfizmlerinin rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlayacağı inancındayız. Ayrıca henüz NAT, CYP gen polimorfizmi ile vitiligo arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışma olmadığı için yapmış olduğumuz araştırmanın daha sonra yapılacak çalışmalara örnek oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız, kliniğimizde vitiligo tanısı alan 102 hasta ve 70 sağlıklı kontrol grubu ile yapıldı.

- Gruplar arasında yaş değişkeni açısından farklılık izlenmedi.
- Gruplar arasında cinsiyet açısından fark yoktu.
- Hastaların cinsiyeti ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiye bakıldığında sadece CYP2C19*2 heterozigot genotipinin kadınlarda daha fazla olduğu gösterildi (p= 0,040).
- Hastaların % 23,5'de ailede vitiligo öyküsü vardı. Aile öyküsü ve gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.
- Vitiligo tipi ile gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.
- Hastaların % 14,7'sine tiroidit, % 8,8'ine pernisyöz anemi gibi otoimmün hastalıkların eşlik ettiği görüldü.
- Vitiligoya eşlik eden bu otoimmün hastalıklar ve gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.
- Her iki grupta GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 polimorfizmleri belirlendi; GSTT1 (-), GSTM1 (-), GSTP1 ile/val ve GSTP1 val/val genotiplerinin hastalık riskini arttırmadığı saptandı.
- Her iki grupta NAT2 polimorfizmleri belirlendi: NAT2*5A ve NAT2*7A/B heterozigot veya mutant genotiplerinin ayrıca NAT2*6A'nın heterozigot genotipinin vitiligo riskini arttırmadığı ancak NAT2*6A mutant genotipinin vitiligo riskini 4,85 kat arttırdığı ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p= 0,038) saptandı.
- CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2, CYP2C19*3 gen polimorfizmleri ile vitiligo arasındaki ilişkiye bakıldığında, vitiligo görülme sıklığını arttırmadığı saptandı.

Sonuç olarak; vitiligo etyopatogenezinde temel teorilere genetik çalışmalar ile destek verilmesi veya farklı çalışmalar ile etyopatogenezin anlaşılmasına çalışılması için bu çalışmayı gerçekleştirdik. GST gen polimorfizmi ile vitiligo arasındaki ilişkiyi gösteren, daha önce yapılmış bir çalışma ile karşılaştırdığımızda farklı sonuçlar elde ettik. Ayrıca hasta grubunda NAT2*6A mutant genotipinin yüksek olduğunu gösterdik. Ksenobiyotik metabolizmasında önemli bir enzim olan NAT enziminin genetik polimorfizmi sonucu oluşan yavaş asetilasyon fonksiyonu ile biriken ksenobiyotikler otoimmün mekanizmaları başlatabilmektedir. Elde edilen sonuçların vitiligonun otoimmün bir hastalık olduğunu desteklediği ayrıca etyopatogenezde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı görülmektedir.

Kesin sonuçlar için farklı popülasyonlarda, daha geniş gruplarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız. Bunun dışında henüz NAT, CYP gen polimorfizmi ile vitiligo arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışma olmadığı için yapmış olduğumuz araştırmanın daha sonra yapılacak çalışmalara örnek oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Njoo MD, Westerhof W. Vitiligo: Pathogenesis and treatment. *Am J Clin Dermatol* 2001; 2:167-81.
- 2- Majumder PP, Das SK, Li CC. A genetical model for vitiligo. *Am J Hum Genet.* 1988 Aug;43(2):119-25.
- 3- Gauthier Y, Cario Andre M, Taïeb A. A critical appraisal of vitiligo etiologic theories. Is melanocyte loss a melanocytorrhagy? *Pigment Cell Res.* 2003 Aug;16(4):322-32.
- 4- Slominski A, Paus R, Bomirski A. Hypothesis: possible role for the melatonin receptor in vitiligo: discus paper. *J Royal Soc Med* 1989; 82:539-41.
- 5- Mattoo SK, Handa S, Kaur I, Gupta N, Malhotra R. Psychiatric morbidity in vitiligo: prevalence and correlates in India. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002, 16(6):573-578.
- 6- Ortonne JP. Psoralen therapy in vitiligo. In: Mackie RM eds. *Clinics in Dermatology. Disorders of pigmentation.* Philadelphia, Lippincott, vol 7, 1989:120-135.
- 7- Hann SK, Nordlund JJ. *Vitiligo.* Oxford: Blackwell Science, 2000.
- 8- Bologna JL, Pawelek JM. Biology of hypopigmentation. *J Am Acad Dermatol* 1988,19:217-255.
- 9- Handa S, Kaur I. Vitiligo: clinical findings in 1436 patients. *J Dermatol* 1999, 26(10):653-657.
- 10- Howitz J, Brodthagen H, Schwartz M, Thomsen K. Prevalence of vitiligo. Epidemiological survey on the Isle of Bornholm, Denmark. *Arch Dermatol* 1977, 113(1):47-52.

- 11- Mehta NR, Shah KC, Theodore C, Vyas VP, Patel AB. Epidemiological study of vitiligo in Surat area, South Gujarat. *Indian J Med Res* 1973, 61(1): 145-154.
- 12- Nordlund JJ, Halder RM, Grimes P. Management of vitiligo. *Dermatol Clin* 1993, 11(1):27-33.
- 13- Moschella SL, Hurley HJ. *Dermatology*. W.B. Saunders Company, third edition volume two, Philadelphia, 1992; 1442-1474.
- 14- Gupta G, Gupta N, Singh V. Efficacy of homoeopathic drugs in cases of leucoderma: A clinical study. *The Homoeopathic Heritage*, 2002.
- 15- Turgut K. Vitiligoda psikolojik araştırma ve 250 vaka'nın tetkiki. *Haseki Tıp Bülteni* 1971;9:152-156.
- 16- Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB. Hypomelanoses and hypermelanoses. In: Ortonne JP, Bahadoran P, Fitzpatrick TB, Mosher DB, Hori Y, eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 6th ed. by the McGraw-Hill New York, 2003:836-881.
- 17- Braun-Falco O, Plewig G, Wolf HH, Burgdorf WHC. Disorders of melanin pigmentation. In: *Dermatology*. 2nd ed. Berlin: Springer, 2000; 1013-42.
- 18- Hearing VJ. Biochemical control of melanogenesis and lysosomal organization. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 1999; 4:24-8.
- 19- Van der Wijngaard R, Wankowicz-Kalinska A, Pals S, Weening J, Das P. Autoimmune melanocyte destruction in vitiligo. *Lab Invest* 2002; 81:1061-7.
- 20- Bleehen SS. Disorders of skin colour. In: Champion RH, Bruten JL, Burns DA, Breathnach SM (eds). *Textbook of Dermatology*, London: Blackwell Sci. 1998:1753-815.
- 21- Kovacs SO. Vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38:647-666.
- 22- Castanet J, Ortonne JP. Pathophysiology of vitiligo. *Clin Dermatol* 1997; 15:845-51.

- 23- Shaffrali F, Gawkrödger D. Management of vitiligo. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25:575-9.
- 24- Kemp EH, Waterman EA, Weetman AP. Autoimmune aspects of vitiligo. *Autoimmunity* 2001; 34 65-77.
- 25- Ortonne JP, Bose SK. Vitiligo: where do we stand. *Pigment Cell Res* 1993; 6:61-72.
- 26- Norris DA, Horikawa T, Morelli JG. Melanocyte destruction and repopulation in vitiligo. *Pigment Cell Res* 1994; 7:193-203.
- 27- Le Poole IC, Das PK, van der Wijngaard RMJGJ, Bos JD, Westerhof W. Review of ethiopathomechanism of vitiligo: a convergence theory. *Exp Dermatol* 1993; 2:145-153.
- 28- Kemp EH, Waterman EA, Weetman AP. Immunological pathomechanisms in vitiligo. *Expert Rev Mol Med* 2001; 3:1- 22.
- 29- Badri AM, Todd PM, Garioch JJ, Gudgeon JE, Stewart DG, Goudie RB. An immunohistological study of cutaneous lymphocytes in vitiligo. *J Pathol* 1993; 170:49-55.
- 30- Ogg GS, Rod Dunbar P, Romero P, Chen JL, Cerundolo V. High frequency of skin-homing melanocyte-specific cytotoxic T lymphocytes in autoimmune vitiligo. *J Exp Med* 1998; 188:1203-8.
- 31- Van der Wijngaard R, Wankowicz-Kalinska A, Le Poole C, Tigges B, Westerhof W, Das P. Local immune response in skin of generalized vitiligo patients: Destruction of melanocytes is associated with the predominant presence of CLA⁺ T cells at the perilesional site. *Lab Invest* 2000; 80:1299-309.
- 32- Gross A, Tapia FJ, Mosca W, et al. Mononuclear cell subpopulations and infiltrating lymphocytes in erythema dyschromicum perstans and vitiligo. *Histopathol* 1987; 2:227-83.
- 33- Le Poole IC, Wankowicz-Kalinska A, van der Wijngaard R, Nickoloff BJ. Autoimmune aspects of depigmentation in vitiligo. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2004; 9:68-72.

- 34- Abdel-Naser MB, Kruger-Krasagakes S, Krasagakis K, Gollnick H, Abdel-Fattah A, Orfanos CE. Further evidence for involvement of both cell mediated and humoral immunity in generalized vitiligo. *Pigment Cell Res* 1994; 7:1-8.
- 35- Riley PA. A study of the distribution of epidermal dendritic cells in pigmented and unpigmented skin. *J Invest Dermatol* 1967; 48:28-38.
- 36- Önarıslan G, Ersoy L. Vitiligolu hastalarda immunperoksidaz yöntemle IgG ve C3 birikiminin araştırılması. *Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi* 1991; 25:97-102.
- 37- Yu HS, Kao CH, Yu CL. Coexistence and relationship of antikeratinocyte and antimelanocyte antibodies in patients with non-segmental type vitiligo. *J Invest Dermatol* 1993; 100:823-8.
- 38- Yi YL, Yu CH, Yu HS. IgG anti-melanocyte antibodies purified from patients with active vitiligo patients induce HLA-DR and intercellular adhesion molecule-1 expression and increase in interleukin-8 release by melanocytes. *J Invest Dermatol* 2000; 115:969-73.
- 39- Naughton G, Eisinger M, Bystryń J. Detection of antibodies to melanocytes in vitiligo by specific immunoprecipitation. *J Invest Dermatol* 1983; 81:540-2.
- 40- Park YK, Kim NS, Hann SK, Im S. Identification of autoantibody to melanocytes and characterization of vitiligo antigen in vitiligo patient. *J Dermatol Sci* 1996; 11:111-120.
- 41- Naughton G, Reggiardo D, Bystryń J. Correlation between vitiligo antibodies and extent of depigmentation in vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15:978-81.
- 42- Harning R, Cui J, Bystryń J. Relation between the incidence and level of pigment cell antibodies and disease activity in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1991; 97:1078-80.
- 43- Rocha IM, Oliveira LJ, de Castro LC, de Araujo Pereira LI, Chaul A, Guerra JG. Recognition of melanoma cell antigens with antibodies present from patients with vitiligo. *Int J Dermatol* 2000; 39:840-843.

- 44- Takechi Y, Hara I, Naftzger C, Xu Y, Houghton AN. A melanosomal membrane protein is cell surface target for melanoma therapy. *Clin Cancer Res* 1996; 2:1837-1842.
- 45- Hann SK, Shin HK, Park SH, Reynolds SR, Bystryn JC. Detection of antibodies to melanocytes in vitiligo by western blotting. *Yonsei Med J* 1996; 37:365-370.
- 46- Cui J, Chen D, Misfeldt ML, Swinfand RW, Bystryn JC. Antimelanoma antibodies in swine with spontaneously regressing melanoma. *Pigment Cell Res* 1995; 8:60.
- 47- Orgenae K, Van Geel N, Naetaert JM. Evidence for an autoimmun pathogenesis of vitiligo. *Res* 2003; 16:90-100.
- 48- Morrone A, Picardo M, De Luca C, Terminali O, Passi S, Ippolito F. Catecholamines and vitiligo. *Pigment Cell Res* 1992; 5:65-9.
- 49- Al'Abadie MSK, Senior HJ, Bleehen SS, Gawkrödger DJ. Neuropeptide and neuronal marker studies in vitiligo. *Br J Dermatol* 1994; 131:160-5.
- 50- Schallreuter KU, Wood J, Berger J. Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol* 1991; 97:1081-85.
- 51- Ines D, Sonia B, Riadh BM, Amel EG, Slaheddine M, Hamida T, Hamadi A, Basma H. A comparative study of oxidant-antioxidant status in stable and active vitiligo patients. *Arch Dermatol Res* 2006; 298:147-152.
- 52- Karıncaoğlu Y, Doğan G. Vitiligo: Etiyopatogenez, Klinik ve Tedavi T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:200-209.
- 53- JP. Vitiligo and other disorders of hypopigmentation. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP et al (eds). *Dermatology*, Mosby, ABD, 2003; 947-73.
- 54- Hasse S, Gibbons NC, Rokos H, Marles LK, Schallreuter KU. Perturbed 6-tetrahydrobiopterin recycling via decreased dihydropteridine reductase in vitiligo: more evidence for H₂O₂ stress. *J Invest Dermatol*. 2004; 122 (Suppl 2): 307-13.

- 55- Lerner AB. Vitiligo. *J Invest Dermatol* 1959; 32:285-310.
- 56- Majumder PP, Nordlund JJ, Nath SK. Pattern of familial aggregation of vitiligo. *Arch Dermatol* 1993; 129: 994-8.
- 57- Huggins RH, Schwartz RA, Krysicka Janniger C. Vitiligo. *Acta Dermatoven APA Vol* 14, 2005, No 4.
- 58- Venneker GT, Van Meegen M, Westehof W, DeWall LP, Asgar SS. An HLA haplotype A2, DRW6, DRW52, DQW1. Without associated C4-null alleles may be the predisposition factor of vitiligo. *Abstr Book 3rd Annu Meet Eur Soc Pigment Cell Research*. Amsterdam, 1991:92.
- 59- Ando I, Chi IH, Nakagawa H, Otsuka F. Difference in clinical features and HLA antigens between familial and non-familial vitiligo of non-segmental type. *Br J Dermatol* 1993; 129:408-10.
- 60- Schallreuter KU, Kühnl P, Löliger C, Hohl-Tehari M, Berger J. Histocompatibility antigens in vitiligo: Hamburg study on 102 patients from Northern Germany. *Dermatology* 1993; 187:186-92.
- 61- Zhang XJ, Chen JJ, Liu JB. The genetic concept of vitiligo. *J Dermatol Sci* 2005; 39:37-146.
- 62- Uhm YK, Yoon SH, Kang IJ, Chung JH, Yim SV, Lee MH. Association of glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) of vitiligo in Korean population. *Life Sci*. 2007 Jun 27; 81(Suppl 3) :223-7.
- 63- Grimes PE, Sevall JS, Vojdani A. Cytomegalovirus DNA identified in skin biopsy specimens of patients with vitiligo 1996; 35 (Suppl 1):21- 6.
- 64- Odom RB, James WD, Berger IG. *Andrews Diseases of the skin*, 9th ed, W.B. Saunders. Philadelphia 2000; 1065-1068.
- 65- Anadolu R, Anadolu RY, Erdem C, Taşpınar A, Aktürk T. Vitiligoda odyolojik bozukluklar. XIII. Ulusal Dermatoloji Kongresi, 1990 Adana. *Kogre Özet Kitabı*, 643-647.

- 66- Elder D, Elenitsas R, Jaworsky C, Johnson B. Vitiligo. In *Lever's Histopathology of The Skin*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publish; 1997:620-623.
- 67- Lebowitz M, Heymann WR, Berth-Jones J, Coulson I. *Treatment of Skin Disease*. London, Mosby 2002; 653-657.
- 68- Antoniou C, Katsambas A. Guidelines for the treatment of vitiligo. *Drugs* 1992; 43(4):490-8.
- 69- Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1995; 30 (Suppl 6):445-600.
- 70- Andersson C, Mosialou E, Weinander R, Morgenstern R. Enzymology of microsomal glutathione S-transferase. *Adv Pharmacol*. 1994;27:19-35.
- 71- Pemble SE, Wardle AF, Taylor JB. Glutathione S-transferase class Kappa: characterization by the cloning of rat mitochondrial GST and identification of a human homologue. *Biochem J*. 1996 Nov 1;319 (Suppl 3):749-54.
- 72- Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, et al. Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem J*. 1992 Feb 15;282 (Suppl 1):305-6.
- 73- Eaton DL, Bammler TK. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci*. 1999 Jun; 49 (Suppl 2):156-64.
- 74- Armstrong RN. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem Res Toxicol*. 1997 Jan;10 (1):2-18.
- 75- Hayes JD, Strange RC. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*. 2000 Sep;61 (3):154-66.
- 76- Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat Res*. 2001 Oct 1; 482 (1-2):21-6.

- 77- Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997 Sep;6 (9):733-43.
- 78- Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, et al.:Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. *Am J Hum Genet* ,1993; 53:220-233.
- 79- Autrup H. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutation Research*, 2000; 464:65-76.
- 80- Sekine Y, Hommura S, Harada S. Frequency of glutathione-S-transferase 1 gene deletion and its possible correlation with cataract formation. *Exp Eye Res* 1995; 60:159-163.
- 81- Harada S, Abei M, Tanaka N, Agarwal DP, Goedde HW. Liver glutathione S-transferase polymorphism in Japanese and its pharmacogenetic importance. *Hum Genet* 1987; 75:322-325.
- 82- Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, et al. Human glutathione-S transferase Theta (GSTT1) : cDNA cloning and characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; 300:71-93.
- 83- Thier R, Pemble SE, Kramer H, Taylor JB, Taylor PP. Human glutathione S-transferase TI-1 enhances mutagenicity of 1,2-dibromoethane in *Salmonella typhimurium*, *Carcinogenesis* 1996; 17:63-166.
- 84- Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX and Buolamwini J. Molecular cloning, characterization and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase π variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem* 1997; 272:10004-11112.
- 85- Hu X, Ji X, Srivastava SK, Xia H et al. Mechanism of differential catalytic efficiency of the two polymorphic forms of the human glutathione S-transferase PI-1 in the glutathione conjugation of carcinogenic diol epoxide of chrysene. *Arch. Biochem. Biophys* 1997; 345:32-38.

- 86- Sundberg K, Johansson AS, Stenberg G, et. al. Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase PI-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons . *Carcinogenesis* 1998;19:433-6.
- 87- Sim E, Pinter K, Mushtag A, et al. Arylamine N-acetyltransferases: a pharmacogenomic approach to drug metabolism and endogenous function. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:615-9.
- 88- Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SJ, Xiao GH, Devanaboyina US, Nangju NA, Feng Y. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000 Jan; 9(Suppl 1): 9-42.
- 89- Lutz W. N-acetyltransferase genetic polymorphism and its role in the development of neoplastic disease. *Med Prac* 2000; 51:277-84.
- 90- Shibuta K, Nakashima T, AbeMet al. Molecular genotyping for N-acetylation polymorphism in Japanese patients with colorectal cancer. *Cancer* 1994; 15:3108-12.
- 91- Hickman D, Pope J, Patil SD et al. Expression of arylamine N-acetyltransferase in human intestine. *Gut* 1988; 42:402-9.
- 92- Von Schmiedeberg S, Fritsche E, Ronnau AC et al. Polymorphisms of the xenobiotic-metabolizing enzymes CYP1A1 and NAT-2 in systemic sclerosis and lupus erythematosus. *Adv Exp Med Biol* 1999; 455:147-52.
- 93- May DG, Black CM, Olsen NJ et al. Scleroderma is associated with differences in individual routes of drug metabolism: a study with dapsone, debrisoquin, and ephenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 48:286-95.
- 94- Baer AN, Woosley RL, Pincus T. Further evidence for the lack of association between acetylator phenotype and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 29:508-14.
- 95- Gurler A, Boyvat A, Tursen U. Clinical manifestations of Behcet's disease; an analysis of 2147 patients. *Yonsei Med J* 1997; 38:423-7.

- 96- Pieters R, Albers R. Assessment of autoimmunogenic potential of xenobiotics using the popliteal lymph node assay. *Methods* 1999; 19:71-7.
- 97- Barnes CG, Yazici H. Behcet's syndrome. *Rheumatology* 1999; 48:1171-4.
- 98- Aynacioglu AS, Bozkurt A, Nacak M et al. N-acetyltransferase polymorphism in patients with Behcet's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57:659-62.
- 99- Uetrecht JP. The role of leukocyte-generated reactive metabolites in the pathogenesis of idiosyncratic drug reactions. *Drug Metab Rev* 1992; 24:299-366.
- 100- Özerol E, Cytochrome P450-containing monooxygenase enzyme systems, *Journal of Turgut Özal Medical Center*; 1996; 3(33):257-275.
- 101- Çetin M. Drug Interactions in Psychiatric Practice. *Bull Clin Psychopharmacol* 1999; 9 (Suppl 2):78-92.
- 102- Nemeroff CB, DeVane CL, Pollack BV. Newer antidepressants and the cytochrom P450 system. *Am J Psychiatry* 1996; 153:311-320.
- 103- Rogers JF, Nafziger AN, Bertino JS. Pharmacogenetics affects dosing, efficacy and toxicity of cytochrome P450 metabolised drugs. *Am J Med* 2002; 113:746-750.
- 104- Linder MW, Looney S, Adams JE, et al. Warfarin dose adjustments based on CYP2C9 genetic polymorphisms. *J. Thromb Thrombolysis* 2002; 14 (Suppl 3):227-232.
- 105- Herman D, Dolzan V, Breskvar K: Genetic polymorphism of Cytochrome P450 2C9 and 2C19 in Slovenian population. *Zdrav Vestn* 2003; 72:347-51.
- 106- Ablin J, Cabili S, Eldor A, Lagziel A, Peretz H. Warfarin therapy is feasible in CYP2C9*3 homozygous patients. *European Journal of Internal Medicine* 2004; 15:22- 27.
- 107- Tabrizi AR, Zehnbauer BA, Borecki IB, McGrath SD, Buchman TG, Freeman BD. The Frequency and Effects of Cytochrome P450(CYP)2C9

Polymorphisms in Patients Receiving Warfarin. *J Am Coll Surg* 2002; 194:267-273.

108- Zhou HH. CYP2C19 genotype determines enzyme activity and inducibility of S-mephenytoin hydroxylase. *Clin Chim Acta* 2001; Nov; 313(1-2):203-8.

109- Ko Y, Koch B, Harth V, et al. Rapid analysis of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms using real-time polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics* 2000; 10:1-4.

110- Virendra N. Sehgal, Govind Srivastava. Vitiligo: Auto-immunity and immune responses. *International Journal of Dermatology* 2006; 45:583-590.

111- Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. 2003 European Academy of Dermatology and Venereology *JEADV* 2003; 17:663-669.

112- Picardo M, Passi S, Morrone A, Grandýnetti M, Di Carlo A, Ippolito F. Antioxidant status in the blood of patients with active vitiligo. *Pigment Cell Res* 1994; 7:110-5.

113- Passi S, Grandinetti M, Maggio F, Stancato A, De Luca C. Epidermal oxidative stress in vitiligo. *Pigment Cell Res* 1998; 11:81-5.

114- Yıldırım M, Baysal V, Inaloz HS, Can M. The role of oxidants and antioxidants in generalized vitiligo at tissue level. *European Academy of Dermatology and Venereology JEADV* 2004; 18:683-686.

115- Maresca V, Roccella M, Roccella F et al. Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1997; 109 :310-313.

116- Koca R, Armutcu F, Altinyazar HC, Gürel A. Oxidant-antioxidant enzymes and lipid peroxidation in generalized vitiligo. *Clin Exp Dermatol* 2004 Jul;29 (Suppl 4):406-9.

117- Beazley WD, Gaze D, Panske A et al. Serum selenium levels and blood glutathione peroxidase activities in vitiligo. *Br J Dermatol* 1999; 141:301-303.

- 118- Taieb A. Intrinsic and extrinsic pathomechanism in vitiligo. *Pigment Cell Res* 2000; 13 (Suppl. 8):41-47.
- 119- Ivanova K, Le Poole IC, Gerzer R et al. Effects of nitric oxide on the adhesion of human melanocytes to extracellular matrix components. *J Pathol* 1997; 183:469-476.
- 120- Rocha IM, Guillo LA. Lipopolysaccharide and cytokines induce nitric oxide synthase and produce in cultured normal human melanocytes. *Arch Dermatol Res* 2001; 293 (Suppl 5):245-248.
- 121- Hazneci E, Karabulut AB, Oztürk C, et al. A comparative study of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities and nitrate levels in vitiligo patients. *Int J Dermatol* 2005 Aug; 44 (Suppl 8):636-40.
- 122- Schallreuter KU, Moore J, Tobin DJ, et al. Alpha-MSH can control the essential cofactor 6-tetrahydrobiopterin in melanogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1999 Oct 20; 885:329-41.
- 123- Le Poole IC, Sarangarajan R, Zhao Y, et al. VIT1., a novel gene associated with vitiligo. *Pigment Cell Res* 2001; 14:475-84.
- 124- Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, et al. In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H₂O₂) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1999; 4:91-6.
- 125- Casp CB, She JX, McCormack WT. Genetic association of the catalase gene (CAT) with vitiligo susceptibility. *Pigment Cell Res* 2002; 15:62-6.
- 126- Türsen U, Kaya TI, Erdal ME, Derici E, Gündüz O, Ikizoğlu G. Association between catechol-O-methyltransferase polymorphism and vitiligo. *Arch Dermatol Res*. 2002 May; 294 (Suppl 3):143-6.
- 127- Tursen U, Tamer L, Api H, Yildirim H, Baz K, Ikizoglu G, Atik U. Cytochrome P450 polymorphisms in patients with Behcet's disease. *Int J Dermatol*. 2007 Feb; 46 (Suppl 2):153-6.

- 128- McKinnon RA, Nebert DW. Possible role of cytochromes P450 in lupus erythematosus a related disorders. *Lupus* 1994; 3:473-478.
- 129- Povey A, Guppy MJ, Wood M, et al. Cytochrome P2 polymorphisms and susceptibility to scleroderma following exposure to organic solvents. *Arth Rheum* 2001; 44:662-665.
- 130- Akdeniz N, Esrefoglu M, Keles MS, et al. Serum interleukin-2, interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and nitric oxide levels in patients with Behcet's disease. *Ann Acad Med Singap* 2004; 33:596-599.
- 131- Frye RF, Schneider VM, Frye CS, et al. Plasma levels of TNF-alpha and IL-6 are inversely related to cytochrome P450-dependent drug metabolism in patients with congestive heart failure. *J Card Fail* 2002; 8 :315-319.
- 132- Westerhof W, Nieuweboer-Krobotova L. Treatment of vitiligo with UV-B radiation vs. psoralen plus UV-A. *Arch dermatol* 1997; 133:1525-1528.
- 133- El Mofty M, Mostafa W, Esmat S, Youssef O, Azam N. Narrow band UVB in the treatment of vitiligo: two right-left comparison studies. *Photodermatol Photoimmunol photomed* 2006; 22:6-11.
- 134- Scherschun L, Kim JJ, Lim HW. Narrow-band UVB is a useful and well-tolerated treatment for vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44:999-1003.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-------------------------------|---|
| BH ₄ | : Tetrahidrobiopterine |
| CGRP | : Kalsitonin gen ilişkili peptid |
| CYP | : Sitokrom P ₋₄₅₀ |
| dNTP | : deoksiribonükleotid fosfat |
| DLE | : Diskoid lupus eritematozus |
| GM-CSF | : Granülosit makrofaj - koloni stimülan faktör |
| GSH | : Glutatyon |
| GSH-Px | : Glutatyon peroksidaz |
| GSSG | : Glutatyon disülfid |
| GST | : Glutatyon-S-transferaz |
| GTP | : Guanozine trifosfat |
| GTP-CH I | : GTP-siklohidrolaz I |
| HLA | : Human Leucocyte Antigen (İnsan Lökosit Antijeni) |
| H ₂ O ₂ | : Hidrojen peroksit |
| ICAM -1 | : İntersellüler Adezyon Molekülü |
| IL | : İnterlökin |
| kDa | : kilo Dalton |
| KOMT | : Katekol-O-metiltransferaz |
| MDA | : Malondialdehit |

| | |
|--------|--|
| NAT | : N-Asetiltransferaz |
| NO | : Nitrik oksit |
| NOS | : Nitrik oksit sentetaz |
| NY | : Nöropeptid Y |
| PAH | : Fenilalanin hidroksilaz |
| PZR | : Polimeraz zincir reaksiyonu |
| ROS | : Reaktif oksidatif stres |
| SLE | : Sistemik lupus eritematozis |
| SOD | : Süperoksit dismutaz |
| STLA-4 | : Sitotoksik T-lenfosit ilişkili antijen-4 |
| TAP1 | : Transporter associated with antigen processing protein-1 (Transportla ilişkili antijen özellikli protein-1) |
| TIP | : Tirozinaz ilişkili protein |
| UV | : Ultraviyole |
| VCAM-1 | : Vasküler hücre adezyon molekülü -1 |
| VIP | : Vazoaktif intestinal peptid |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekiller | Sayfa No |
|---|----------|
| Şekil 1 (Vitiligo etyopatogenezinde 'birleşik teori')..... | 16 |
| Şekil 2 (Melanogenezis ve katekolamin sentezinde substrat olan L-tirozinaz üretiminde 6BH4'ün de novo sentez, yeniden döngü ve regülasyonu)..... | 41 |

TABLULAR DİZİNİ

| Tablolar | Sayfa No |
|---|----------|
| Tablo 1 (GSTT1, M1 ve P1 polimorfizmi için primer ve prob dizileri)..... | 28 |
| Tablo 2 (Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet açısından karşılaştırılması)..... | 30 |
| Tablo 3 (Yaş ve gruplar arasında ilişki)..... | 30 |
| Tablo 4 (Cinsiyet ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişki)..... | 31 |
| Tablo 5 (Aile öyküsü ve gen polimorfizmleri arasındaki ilişki)... | 32 |
| Tablo 6 (Vitiligo tipi ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişki)..... | 33 |
| Tablo 7 (Eşlik eden otoimmün hastalık ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişki)..... | 34 |
| Tablo 8 (Vitiligo ile GST polimorfizmleri arasındaki ilişki)..... | 35 |
| Tablo 9 (NAT2 polimorfizmleri ve vitiligo arasındaki ilişki)..... | 36 |
| Tablo 10 (CYP2C9, CYP2C19 polimorfizmleri ile vitiligo arasındaki ilişki)..... | 37 |