



**VİTİLİGO PATOGENEZİNDE ADENOSİN DEAMİNAZ
VE KSANTİN OKSİDAZ ENZİMLERİ İLE
PROTEİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ**

**Büşra DALMAN
1148203101**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet GÜREL
Tez No: 2015/102**

2016- TEKİRDAĞ

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VİTİLİGO PATOGENEZİNDE ADENOZİN DEAMİNAZ
VE KSANTİN OKSİDAZ ENZİMLERİ İLE PROTEİN
OKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ**

**BÜŞRA DALMAN
1148203101**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet GÜREL**

Tez No: 2015/102

2016- TEKİRDAĞ

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmam sırasında deneyimlerinden yararlandığım, bana rehberlik eden danışman hocam, Namık Kemal Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet GÜREL'e, yardımlarından dolayı Namık Kemal Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Savaş GÜZEL'e, Doç. Dr. Feti TÜLÜBAŞ'a, Doç. Dr. Murat AYDIN'a; Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin YANIK'a ve laboratuvar çalışmalarımda yardımları için Araş. Gör. Ahsen YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.



KABUL ve ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
Çerçevesinde Prof. Dr. Ahmet GÜREL danışmanlığında yürütülmüş
bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

07/03/2016

Prof. Dr. Ahmet GÜREL
Namık Kemal Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sadık SÖĞÜT
İstanbul Medeniyet Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Murat AYDIN
Namık Kemal Üniversitesi
Üye

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Büşra DALMAN'ın "Vitiligo Patogenezinde Adenozin Deaminaz, Ksantin Oksidaz ve Protein Oksidasyon Ürünlerinin Tayini" başlıklı tezi 07.03.2016 tarihinde Pazartesi günü saat 09.30'da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Burhan TURGUT
Enstitü Müdürü

ÖZET

Dalman, B. Vitiligo Patogenezinde Adenozin Deaminaz ve Ksantin Oksidaz Enzimleri ile İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Tayini, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2015. Vitiligo melanosit hücrelerinde oluşan fonksiyon bozukluğuna bağlı gelişen genel bir cilt rahatsızlığıdır. Deri üzerinde beyaz yamalar, saçlarda, kaş ve kirpiklerde beyazlama şeklinde kendini belli eder. Ciltteki bazı beyazlamalar vitiligonun türüne göre kaşıntılı ve ağrılı olabilir. Oksidatif stres ve ultraviyole ışınlarla uzun süre maruz kalınması bu hastalığın gelişmesinde önemli bir rol oynar.

Bu çalışma, vitiligolu hastaların serum adenozin demainaz (ADA), ksantin oksidaz (XO) aktiviteleri ile karbonil protein (KP), ileri oksidasyon protein ürünleri (İOPÜ), total tiyol (TT) , nitrik oksit (NO) ve ürik asit (ÜA) düzeyleri değerlendirilerek, bu parametrelerin vitiligo hastalığının patogenezindeki rolünü araştırmak amacıyla planlandı. Çalışmaya 40 sağlıklı erişkin ve 40 vitiligo hastası alındı. Çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllülerin serum örneklerinde ADA, XO, NO, ÜA, TT, İOPÜ, KP, spektrofotometrik yöntemler ile çalışıldı. Serum ADA ve XO aktiviteleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Serum NO, İPOÜ ve KP düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptanırken, TT ve ÜA düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü.

Sonuç olarak, vitiligolu hasta grubunda proteinlerin oksidasyonun bir göstergesi olarak kullanılan PK ve İOPÜ değerlerinin kontrol grubundan yüksek saptanırken antioksidan sistemin bir bileşeni olan TT düzeyindeki azalma hastalığın patogenezinde oksidatif stresin etkili olduğunu, ADA aktivitesindeki artışın hastalığın immünolojik temelinde önemli rol oynadığını, hastalığın patogenezinde etkili bir faktör olan hidrojen peroksidin en önemli kaynağı olan XO inhibitörlerinin kullanımıyla tedavide etkili olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adenozin Deaminaz, Ksantin Oksidaz, Nitrik Oksit, Protein Oksidasyonu, Total Tiol, Ürik Asit ve Vitiligo.

ABSTRACT

Dalman, B. The Determination of Adenosine Deaminase and Xanthine Oxidase Enzymes via Advanced Oxidation Protein Products In Vitiligo Pathogenesis. Namık Kemal University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biochemistry Master's Thesis, Tekirdağ, 2015. Vitiligo is a common skin disorder which forms with melanocyte cell dysfunction. It comes out white patches on skin, hair and eyebrow. In terms of type of vitiligo, some of the white lesions can be itchy and painful. Oxidative stress and exposing UV light play a crucial role on the evaluation of the disease.

This research was planned for investigation of enzymatic activation levels of ADA (adenosine deaminase) and XO (xanthine oxidase) and determination of serum levels of carbonyl protein (CP), AOPP (advanced oxidation protein products), TT (total thiol), NO (nitric oxide), UA (uric acid). For this purpose, 40 healthy people and 40 patients who have vitiligo disease, were selected. In the volunteer people's serum samples ADA, XO, NO, UA, TT, AOPP and CP levels were measured by spectrophotometric methods. In patients group, the activation of serum ADA and XO were found higher than healthy group. While NO, AOPP and CP were found higher in patients group, UA and TT levels were identified less in patients' serum samples.

As a consequence, in patients' group, the levels of CP and AOPP that are used as a sign of any protein oxidation, also they were found higher than control group. Moreover, decreasing of serum TT level which is a part of antioxidant system, the low level of TT shows that the oxidative stress is effective on vitiligo pathogenesis process. Also, increased activation of ADA proves that ADA plays important role on immun system. Furthermore, XO inhibitors block the producing of hydrogen peroxide radicals which have critical role on process of the disease. Thus, these inhibitors can be thought as a treatment way for the vitiligo pathogenesis.

Key Words: Adenosine Deaminase, Nitric Oxide, Protein Oxidation, Total Thiol, Uric Acid, , Vitiligo and Xanthine Oxidase.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	v
KABUL ve ONAY.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.1. Tanımı	2
2.1.2. Tarihçesi	2
2.1.3. Epidemiyoloji	2
2.1.4. Etyolojisi	2
2.1.5. Patogenezi	3
Vitiligo Patogenezi İle İlgili Teoriler.....	4
a)Nöral Teori	4
b)Otoimmün Teori.....	5
c) Özyıkım Teorisi.....	5
2.1.6. Histopatogenez	6
2.1.7. Vitiligo'nun Kliniği ve Sınıflandırılması	6
a) Kliniği	6
b) Sınıflandırması	7
2.1.8.Tedavisi	7
2.2. Adenozin Deaminaz	10
2.3.Ksantin Oksidaz (XO).....	12
2.4. Oksidatif Stres ve Protein Oksidasyonu.....	14
2.5. Antioksidan Sistem	15
Enzimatik Antioksidanlar	15
Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	16
3. MATERYAL METOT.....	17

3.1. Olgu Seçimi	17
3.2. Biyokimyasal Analizler	17
3.2.1. Ksantin Oksidaz (XO) Enzimi Aktivite Ölçümü	17
3.2.2. ADA (EC 3.5.3.3) Aktivite Tayini	18
3.2.3. İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Tayini (İOPÜ)	20
3.2.4. Karbonil Protein Gruplarının Tayini (KP).....	20
3.2.5. Total Tiol Gruplarının Tayini (TT).....	21
3.2.6. Nitrik Oksit (NO) Miktarının Tayini	21
3.2.7. Ürik Asit Analizi.....	24
3.3. İstatistiksel Analiz	25
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	37
ETİK KURUL ONAYI.....	47

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADA	Adenozin Deaminaz
COMT	Katekol o-metil Transferaz
IL	İnterlökin
İOPÜ	İleri Oksidasyon Protein Ürünleri
KP	Karbonil Protein
MAO-A	Monoamin Oksidaz
MDA	Malondialdehit
mL	Mililitre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
nm	Nanometre
NO	Nitrik Oksit
NSV	Nonsegmental Vitiligo (Segmental Olmayan Vitiligo)
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SV	Segmental Vitiligo
BH4	Tetrahidrobiopterin
TT	Total Tiyol
ÜA	Ürik Asit
XO	Xanthine Oksidase (Ksantin Oksidaz)
TRP-1	Tirozinaz İlgili Protein
UVA	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Adenozin Deaminaz Enzimi.	10
Şekil 2.2. Ksantin Oksidaz Enzimi.	12



TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. XO aktivite ölçümünün deney aşamaları.....	18
Tablo 3.2. ADA aktivite ölçümünün deney aşamaları.....	19
Tablo 3.3. Total tiyol düzeyi tayininin çalışma prosedürü.....	21
Tablo 3.4. Nitrit çalışma tablosu	24
Tablo 4.1. Çalışmaya alınan kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı... 26	
Tablo 4.2. Kontrol ve vitiligo gruplarına ait PK,İOPÜ,NO ve TT değerleri	27
Tablo 4.3. Kontrol ve vitiligo gruplarına ait serum ADA ve XO aktiviteleri ve ÜA düzeyleri.....	28

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Vitiligo çok eski dönemlerden beri insan hayatını etkileyen önemli bir cilt rahatsızlığıdır. Yaklaşık olarak toplum nüfusunun %1 lik kısmını etkiler. Her ırktan, cinsiyetten ve yaştan insanlarda görülebilir. Deride, saçlarda ve vücut kıllarında da görülebilen beyazlamayla kendini gösterir. Hastalığın majör sebebi deriye rengini veren melanin pigmentinin vitiligolu bölgelerde aktifliğini kaybetmesidir. (Derviş 2011).

Vitiligo patogenezinde melanosit dejenerasyonu nedeni hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte bazı in vivo ve in vitro çalışmalar oksidatif stresin patagenez seyrinde önemli rolü olduğunu ortaya koymuştur. (Maresca ve diğ. 1997)

Oksidatif stres hem hücrelerin DNA' sına hem de lipid peroksidasyonuna sebep olduğundan birçok rahatsızlığın en temel sebebi olmuştur. Oksidatif stres ve ultraviyole ışınlarla maruz kalan melanosit hücrelerinin fonksiyon bozukluğuna dayalı olan bu rahatsızlığın maalesef günümüze kadar bulunmuş herhangi kesin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Yapılan çalışmaların çoğunda melanosit hücrelerindeki fonksiyon bozukluğunun nedenleri araştırılmaya çalışılmıştır.

Hastalığın nedenini açıklamak için çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Bunlar; genetik, otoimmünite, sinir sistemi ve kendi kendini yok etme hipotezleridir. (Borlu 2009).

Bu çalışmanın amacı ise, vitiligo patogenezinde, adenzin deaminaz, ksantin oksidaz, karbonil proteini, ileri protein oksidasyon ürünleri, nitrik oksit ve tiyol serum seviyelerini, kontrol ve hasta gruplarını karşılaştırarak aralarındaki farkı tespit etmektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.1. Tanımı

Vitiligo deri ve saçlarda görülebilen, deriye rengini veren melanin pigmentini salgılayan melanosit hücrelerinin bozulmasından dolayı oluşan bir renk kaybıdır. Sağlıklı bir kişide melanositler tarafından salgılanan melanin pigmenti deriyi ultraviyole ışınların zararlı etkilerinden korur. (Ortonne ve diğ. 1997, Spielvogel ve Kantor 1997).

2.1.2. Tarihçesi

İlk tanımı 3000 yıldan daha fazla bir zaman önce antik Hint ve Mısır metinlerinde karşımıza çıkar. Erken çağlarda tanımlanmış olmasına rağmen o dönemlerde cüzzam hastalığı ile karıştırılır ve bu durum vitiligo hastalarının toplumda damgalanmasına sebep olur.

Vitiligo latince leke anlamına gelen “vitium” dan türemiştir. Bir başka kaynakta da dana manasına gelen “vitelius” kelimelerinden türediğine inanılmaktadır. (Millington ve Levell 2007). Vitiligodaki depigmente alanlar benekli danalardaki beyaz yamalara benzetilmiştir. (Kovacs ve diğ. 1997). Tarihte insanlar hastalığın tedavisi için fototerapiden yararlanmışlardır. Fakat bu tedavi yöntemi 20. yüzyılın yarısından sonra yalnızca batıda olup, ultraviyole A ve B nin geliştirilmesiyle uygulanmıştır. (Millington ve Levell 2007).

2.1.3. Epidemiyoloji

Araştırmalara göre, vitiligo bütün ırklarda, her yaştan ve cinsiyetten insanlarda görülebilen, dünya nüfusunun %0.5-4 lük kısmını etkileyen cilt rahatsızlığıdır. (Taieb ve Picardo 2009, Szczurko ve Boon 2008). Her yaşta gelişebilmesine rağmen çoğunlukla 20’li yaşlardan önce hızla gelişip daha sonraki yıllarda yavaş bir büyüme ve yayılma seyredir. (Kovacs 1998, Mosher ve diğ.1999).

2.1.4. Etyolojisi

Vitiligo antik çağlardan beri bilinen bir hastalık olmasına karşın hastalığın nedeni tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte çeşitli hipotezler öne

sürülmüştür. Bu hipotezler; genetik, otoimmünite, sinir sistemi ve kendi kendini yok etme hipotezleridir. (Borlu 2009).

2.1.5. Patogenezi

Vitiligonun patogenezi tam olarak henüz aydınlatılamamıştır. Fakat hastalığın melanositlerin fonksiyon bozukluğu ve /veya melanosit yokluğundan kaynaklandığı açıklanmıştır.

Doğuştan gelen cilt depigmentasyonları irsi olmakla birlikte zaman içerisinde bir yayılma, ilerleme göstermez. Bu tür cilt depigmentasyonlarının vitiligo ile ayrımı ancak klinik bulgularla anlaşılabilir. Yapılan çalışmalar ile derideki lezyonel ve perilezyonel bölgelerde histolojik değişiklikler iki farklı durum içerebilir. Yapılan bir araştırmada vitiligolu 100 hastadan lezyonel ve perilezyonel bölgelerinden alınan melanositler, melanin miktarları, doğuştan cilt depigmentasyonu olan 30 hasta ile karşılaştırılıyor. Histolojik açıdan lezyonel depigmentasyonu olan hastalarda dermal enflamasyon ile basal hipopigmentasyonun, perilezyonel normal deriye göre daha fazla olduğu görülüyor. Bununla birlikte doğuştan gelen depigmentasyonda da melanin azalması söz konusudur. Fakat bu azalma vitiligodaki kadar çok değildir. (Choi ve diğ. 2008).

Vitiligonun idiyopatik olmasının iki biyokimyasal anormallikle ilgili olduğu bir araştırmayla açıklanmıştır. Bunlardan ilki, serumda ve idrarda artan katekolamin (epinefrin, norepinefrin ve dopamin) düzeyleri ve onların ilgili metabolitleri olan, 3-metoksi 4-hidroksifenil glikol, normetanefrin, metanefrin, vanilmandelik asit ve homovanilik asit ve aynı zamanda 5-hidroksiindol asetik asit seviyelerinin artmış olmasıdır. (Cucchi ve diğ., 2000, Morrone ve diğ., 1992, Schallreuter ve diğ., 1994). İkinci neden ise; epidermiste oluşan yüksek seviyedeki hidrojen peroksit aktivitesinin antioksidan savunma sistemini tehdit etmesi olarak gösterilmiştir. (Schallreuter ve diğ., 1999).

Daha ileri düzeyde başka bir çalışma da insan melanositlerinin, norepinefrinin otokrin sentezi için tüm mRNA türlerini ve gerekli enzimleri ekspire edebildiği fakat epinefrin üretiminde yetersiz olduğunu ortaya koymuştur. Vitiligolu hastaların GTP-siklohidroksilaz I aktivitelerinin beş kata kadar daha fazla olduğu ve bu durumunda (6R) tetrahydrobiopiterinlerin (6-BH4), de novo sentezlerini artırdığı görülmüştür. 6-

BH4' in devam eden üretimi ilk olarak, epidermiste 7-tetrahidropiterin (7-BH4)' in enzimatik olmayan yan ürünlerinin birikmesine sebep olur. İkinci olarak da keratinositlerde katekolamin üretiminin artmasına sebep olur. Bu durumun, norepinefrin sentez seviyesinin, hem plazmada hem de idrarda artışına sebep olduğu ortaya konmuştur. (Schallreuter ve diğ.,1994).

Vitiligo hastalarda artan 6-BH4 sentezi norepinefrinin yüksek oranlarda üretilmesini ve bunun da direkt olarak hem monoamin oksidazların (MAO-A) düzenlenmesini, hem de katekol o- metil transferazların (COMT) düzenlenmesini sitimüle ettiği görülmüştür. (Schallreuter ve diğ. 1996, Le Poole ve diğ., 1994). Epidermiste MAO-A aktivitesinin artması ve 6-BH4' in anormal dönüşümünün başka bir sonucu da hidrojen peroksit birikiminin artmasıdır. (Schallreuter ve diğ., 1994).

Vitiligo Patogenezi İle İlgili Teoriler

a)Nöral Teori

Nöral hipotez ilk olarak 1959 yılında Lerner tarafından ortaya atılmıştır. Lerner segmental vitiligonun aşırı terleme ve duygusal çöküntüyle bağlantılı olduğunu savunmuştur. (Lerner 1959, Koga ve Tango 1988, Manolache ve Benea 2007).

Sempatik Sinir Sisteminin Rolü

Sempatik sinir sisteminde oluşan fonksiyon bozukluğu melanin üretimini olumsuz yönde etkileyerek depigmentasyona yol açar. Bu durumu engellemek için iyontoforez ve lazer tedavisiyle sempatik sinir sisteminin uyarılması mümkündür. (Wu ve diğ. 2000)Araştırmaya göre segmental vitiligo hastalarda, lezyonlarda ki kan akış hızının sağlıklı cilde göre üç kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fakat bu fark segmental olmayan vitiligo türleri için söylenemez. (Ghada ve diğ. 2015).

Nöropeptid ve Nöronal Belirteçler

Araştırmada nöropeptid Y' nin, lezyonların marjinal bölgelerinde noradrenaline bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. (Al'Abadie ve diğ. 1994). Stres gibi, zamanla birikim gösteren faktörler önemli derecede nöropeptid üretimine neden olur ve oluşan nöropeptid Y, vitiligo hastalığını indükler. (Lazarova ve diğ. 2000, Yehuda ve diğ. 2006). Ayrıca yapılan bir kohort çalışmada sinir büyüme faktörünün vitiligo

hastalarda arttığı gözlenmiştir. (Rateb ve diğ. 2005).

Stresin yükselmesi saç foliküllerinde sinir büyüme faktörünün, NGF (nerve growth factor) ifadesini artırır. (Peters ve diğ. 2004).

b) Otoimmün Teori

Otoimmünitenin vitiligo gelişiminde güçlü bir etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu yüzden hastalığın kendisi de otoimmün bir hastalık olarak kabul edilmiştir. (Le Poole ve Luiten 2008).

Vitiligoda vücut sıvılarının verdiği cevap otoantikörlerin melanositik antijenlere sirkülasyonu ile tespit edilmiştir ve bu durumun hastalığın aktivitesiyle korelasyon gösterdiği görülmüştür. (Harning ve diğ. 1991, Kemp ve diğ. 1998).

Bazı otoantikörlerin immünglobülin G sınıfı ile ilgili olduğu ve lezyonel vitiligo epidermisinin bazal tabakasında görüldüğü ve komponent C3 ün birikimi ile ilişkisi olduğu bulunmuştur. (Uda ve diğ. 1984).

Tirozinaz, tirozinaz-İlgili protein-1 (TRP-1), TRP-2, Pmel17 gibi proteinler ve SOX9, SOX10, tip 1 membran reseptör gibi transkripsiyonel faktörler melanin konsantre edici hormon ile ilişkilidir. (Okamoto ve diğ. 1998, Kemp ve diğ. 2002).

Yapılan yeni bir araştırmayla düzenleyici T hücrelerinin (Tregs) vitiligo patogenezinde önemli bir rolü olduğu saptanmıştır. (Dwivedi ve diğ. 2015). Bu hücrelerin fonksiyonu periferal toleransı sağlamaktır. Kendi kendine reaktif olabilen ve kendini onarabilen bu hücrelerin vitiligolu hastalarda kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir. (Lili ve diğ. 2012, Dwivedi ve diğ. 2013).

c) Özyıkım Teorisi

Vitiligoda melanositler kendi hücre ölümlerini engellemeye çalışırlar. Farklı anormallikler gösterebilirler. Örneğin, anormal granüllü endoplazmik retikuluma sahip olma, tanımlanamamış melanosit büyüme faktörlerinin yokluğu (fibroblast büyüme faktörü gibi) ve lezyonel bölgede c-kit reseptörlerinin ekspirasyonunu sağlayan melanositlerin sayısındaki azalma bu anormalliklere örnektir. (Boissy ve diğ. 1991, Norris ve diğ. 1996).

Melanositler devamlı olarak keratinosit türevli c-kit sitimülasyonuna ihtiyaç duyarlar. Böylece keratinosit türevli c-kit faktörün zayıf ifadesi (stem cell factor gibi)

pasif melanosit ölümüne neden olabilir. Bu durum Koebner hadisesi olarak açıklanmıştır. (Lee ve diğ. 2005).

Bu hipotezlerin yanısıra vitiligolu hastalar hastalıklarını yaşamlarının bir bölümünde karşılaştıkları zorlu durumlara (ölüm, kaza vb.) bağlayabilirler. Bunların yanında ruhsal sağlık, stresli bir hayata sahip olma durumları da hastalığın ortaya çıkmasında gösterilebilecek nedenler arasındadır. Aynı zamanda güneş ışığına maruz kalındığında ve sıcak aylarda vitiligo lezyonlarının daha belirgin hale geldiği de görülmüştür. (Gupta ve diğ. 2002).

Vitiligonun sıkça birlikte görüldüğü hastalıklar ise; Hashimoto tiroiditi, diabetes mellitus, Crohn hastalığı, Addison hastalığı, Alopesia areata ve biliyer sirozla beraber karşılaşılabılır. Aynı zamanda malign melanom ile beraber de görülmesi anlamlıdır.

Vitiligolu hastalar melanin yokluğundan dolayı diğer hastalıklara açık hale gelirler. Vitiligolu hastaların %40' ında retinanın koroid tabakasında ya da pigment epitelinde melanositlerin yıkımı görülmüştür. (Özdemir 2009).

2.1.6. Histopatogenez

Vitiligo patogenezinin altında yatan en temel sebep melanositlerin hasarı ve fonksiyon bozukluklarıdır. Vitiligolu bölgelerdeki melanosit yoksunluğuna karşılık lezyonun bitiminde bulunan melanositler kolaylıkla ayırt edilebilir. Bu kısımlar melanositçe zengin dendritik uzantılar oluşturur. (Spielvogel ve diğ. 1997). Lezyon sonlarında dendrit sayısı ile beraber melanositlerin boyutlarında artış söz konusudur. Aynı zamanda bu bölgelerde lenfosit sayılarında da artış görülebilir. Vitiligonun inflamatuvar olması durumunda dermisteki lenfosit sayısında artış olur. (Weedon 2002, Norlund ve Lerner 1982).

2.1.7. Vitiligo'nun Kliniği ve Sınıflandırılması

a) Kliniği

Genellikle asemptomatik bir rahatsızlık olan vitiligo bazen kaşıntılı olabilir. Güneş yanığı durumunda ağrılı bir hal alabilir. Vitiligolu lezyonlar üzerindeki kıllarda beyazlaşma görülür. Bazı durumlarda bu beyazlaşmalar sadece saçlarda veya kıllarda da görülebilir. Lezyonlar vücudun çeşitli yerlerinde görülebilir. Yaygın

olarak yüzde, göz ve ağız çevresinde, ellerde, göbük ve genital bölgede görülür. (Özdemir 2009, Shelley ve Ohman 1969, Ortonne ve diğ. 1983).

b) Sınıflandırması

Vitiligonun sınıflandırılmasında temel olarak iki form karşımıza çıkar. Bunlar segmental vitiligo (SV) ve segmental olmayan (non-segmental, NSV) vitiligo formlarıdır. İleri bir sınıflandırma olarak da alt gruplarda; genel vitiligo, akrofasiyal vitiligo ve universal vitiligo olarak incelenmiştir. (Taieb ve Picardo 2007). Segmental vitiligo spesifik bir bölge ile sınırlandırılabilirken, segmental olmayan vitiligo birkaç bölgede birden görülebilir.

Segmental olmayan vitiligo zamanla dağılma ve büyüme olarak gelişme gösterir. Bu durum fokal vitiligo ile ilişkilendirilebilir. Fokal vitiligo ise segmental vitiligo (SV), non-segmental vitiligo (NSV) veya tek bir türüyle sınıflandırılmayan vitiligo türüyle (SV/NSV) birliktelik içerisinde gelişim gösterebilir. (Ezzedine ve diğ. 2012).

NSV ilk olarak akrofasiyal olarak sınıflandırılmasına rağmen daha sonra genel vitiligo içerisinde sınıflandırılmıştır. (Ezzedine ve diğ. 2011).

Bir başka çalışmada ise vitiligo, lokalize ve genel vitiligo olarak ikiye ayrılmıştır. Lokalize vitiligonun alt gruplarında, fokal, segmental ve mukosal türleri bulunurken; genel vitiligonun alt gruplarında akrofasiyal, vulgaris ve universal türleri bulunmaktadır. (Ghada ve diğ. 2015).

Fokal (Lokalize) Vitiligo: Depigmente olan küçük lezyonların olduğu vitiligo tipidir. Tipik bir segmental dağılım göstermez. Non-segmental ve segmental olabilir. (Ezzedine ve diğ. 2012).

Mukosal Vitiligo: Ağız veya genital bölgede görülür. (Ezzedine ve diğ. 2012).

Universal Vitiligo: Derinin tamamı veya tamamına yakın bir kısmında dağılım gösteren çeşididir. (Ezzedine ve diğ. 2012).

Genel Vitiligo: Vitiligo vulgaris olarak bilinen bu tür en yaygın vitiligo türüdür. Ellerde, kol ve bacaklarda, yüzde görülür. (Sehgal and Srivastava 2007).

Akrofasiyal Vitiligo: Çoğunlukla el ve ayak parmaklarıyla sınırlandırılmıştır.

2.1.8.Tedavisi

Kişilerde hem cilt bozukluklarına hem de duygusal çöküntüye sebep olan

sosyal bir problem olduğundan, vitiligo için eski zamanlardan beri çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmıştır. (Sayrak ve diğ. 1995). Fakat vitiligo için şu ana kadar bulunan etkili bir ilaç yoktur. (Sehgal ve Srivasta 2006).

Yaş ve vitiligonun tipi tedavinin türü için önemlidir. Uygulanacak tedavinin başarısı ise lezyon büyüklüğüne, yaygınlığına, derinin rengine ve hastanın yaşına göre değişir. (Kovacs 1998).

Özellikle genel vücut sağlığı için iyi beslenme ve hastalığın altındaki sebeplerin giderilmesi, değişik reaktiflerle herhangi bir bölgedeki depigmentasyonun baskılanması ve repigmentasyonun ise uyarılması için gereklidir. (Sehgal ve Srivasta 2006).

Cerrahi girişimlerin nihai sonuç verdiği vitiligo tipi ise inatçı ama ilerlemeyen tipidir. Yaygın, ilerleme gösteren, inatçı ve repigmentasyonun mümkün olmadığı hastalarda, hastanın isteğine göre geride kalan deriye depigmentasyon uygulanabilir. (Sehgal ve Srivasta 2006).

Tedaviye başlamadan önce hastanın otoimmün bir hastalığının olup olmadığı araştırılmalıdır. Aynı zamanda hastanın tedaviden yarar göremeyebileceği noktada hasta bilgilendirilmelidir. (Lebwohl ve diğ. 2002).

Güneş ışığından korunma vitiligo lezyonlarının yayılmasını engelleyen önemli bir faktördür. Bunun için SPF 30 un üzerinde olan güneş koruyucular kullanılabilir. Özellikle çinko oksit ve titanyumdioksit içeren koruyucular UVA ya karşı etkilidir. Bunun yanında kimyasal koruyucularda kullanılabilir. Fakat paraaminobenzoik asit (PABA) ve esterlerini içeren koruyucular UVA ya karşı koruyucu özelliğe sahip değildir. (Hazneci 1998).

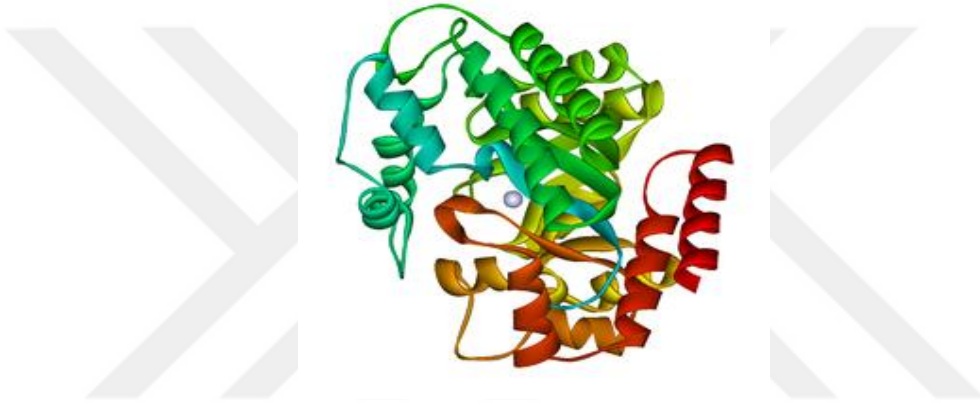
Repigmentasyonu stimüle etmek için uygulanan tedaviler; topikal steroidler, vitamin D analogları, kalsineürin inhibitörleri, fototerapi, lazer terapi ve cerrahi operasyonları kapsar. Bununla birlikte US FDA onayı olan vitiligo repigmentasyon oranını artıran, herhangi bir topikal ürün bulunmamaktadır. Dahası günümüzde uygulanan tedavi yöntemleri yavaş olabilir, yeterli olmayabilir ve yan etkilerden dolayı sınırlandırılmış olabilir. (Szczurko ve Boon, 2008, Kostopoulou ve diğ. 2009, Xiao ve diğ. 2015). Dolayısıyla, tedavi amaçlı tamamlayıcı ek gıdaların (herbal ve vitamin takviyeleri gibi) kullanılması için, hastalar ve doktorlar arasında ortak bir kanıya varılmıştır. (Szczurko ve Boon, 2008).

L-Fenilalanin: L-fenilalaninin esansiyel bir aminoasit olmasının yanında melanin sentez yolağında tirozinin öncüsüdür. Oral yolla alınan fenilalanin vitiligo tedavisinde ultraviole A (UVA) fototerapisi ile beraber kullanılır. (Brandon ve diğ. 2015). Araştırmaya göre altı ayda hastaların en az %75 inde oral yolla alınan fenilalanin sonucu repigmentasyon gözlenmiştir. (Antoniou ve diğ. 1989).

Lazer Terapisi: Lazer terapisi vitiligo tedavisinde son on yılda popüler olan yeni bir tedavi yöntemidir. Çalışma mekanizması konvensiyonel ışın tedavisi ile aynı düşünülebilir. Sağlıklı deri üzerinde daha az etkili ve böylece vücudun tamamının daha az radyasyona maruz kaldığı bir yöntemdir. Monochromatic excimer laser (MEL) UV aralığında ışın yayar ve vitiligo tedavisinde en çok kullanılan lazer terapi türüdür. (Hadi ve diğ. 2004).

2.2. Adenozin Deaminaz

Adenozin deaminaz (ADA), pürin metabolizmasında görevli olup, geri dönüşsüz bir reaksiyonla adenozinin ve deoksiadenozinin sırasıyla inozine ve deoksiinozine dönüşümünü katalizler. (Cristalli ve diğ. 2001). Enzim alfa e beta ikincil yapılar içerir. Alfa heliks yapılar daha çok periferde yer alırken beta tabakalar daha çok iç bölgede bulunmaktadır. Enzimin aktif merkezinde kofaktör olarak çinko iyonu bulunur. (Şekil 2.1). (Cooper ve diğ. 1997). Çinko atomu bu bölgede His15, His17, His214, Asp295 aminoasitleri ile ilişkilidir. ADA geni 20. Kromozomun uzun kolunda (q) lokalizedir.



Şekil 2.1. Adenozin Deaminaz Enzimi. Adenozin deaminazın kristal yapısı. Ortadaki gri küre çinko iyonu. (<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2ADA>)

ADA'nın ADA-1 ve ADA-2 olmak üzere iki formu vardır. ADA-1 çoğunlukla vücut hücrelerinde makrofaj ve lenfositlerde bulunur. Sadece sitozolde ve çekirdekte bulunmayıp aynı zamanda hücrenin dışında hücre zarının yüzeyinde dipeptidil peptidaz-4' e bağlanarak bulunabilir. ADA-1 çoğunlukla hücre içi olaylarda aktivite gösterir. Hem küçük form (monomer) ve hem de büyük form (dimer) şeklinde bulunabilir. (Cristalli ve diğ. 2001). Küçükten büyüğe olan form değişimi hücrede dönüşüm faktörü (conversion factor) tarafından akciğerde düzenlenir. (Schrader ve Stacy 1977).

ADA-2 ise ilk olarak insan dalağında keşfedilmiştir. (Schrader ve diğ. 1978). Daha sonra sırasıyla diğer dokularda da bulunmuştur. Aynı zamanda makrofaj hücrelerinde ADA-1 ile beraber bulunur.

İki izoform da adenozinin deoksiadenozine oranını düzenleyerek parazitlerin

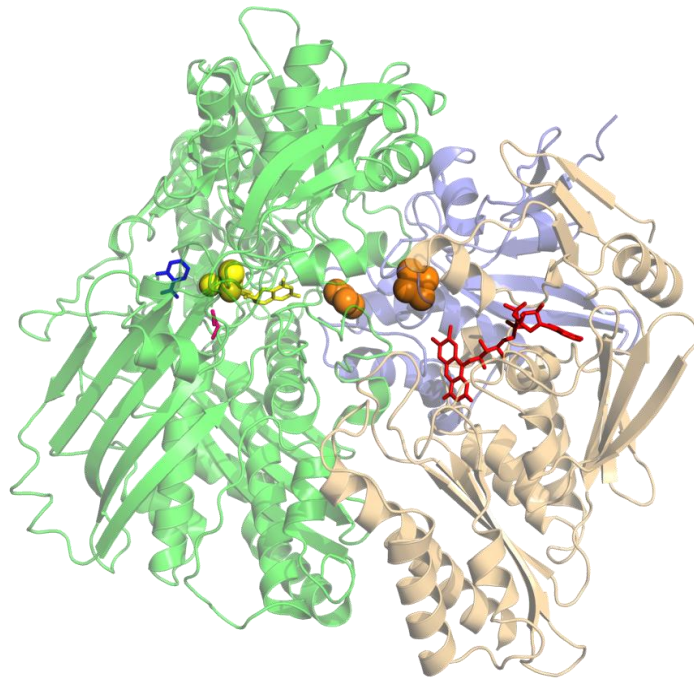
öldürülmesinde etkilidir. (Zavialov ve Engström 2005).

Temelde bu enzim immün sistemin devamı ve gelişmesi için gereklidir. Aynı zamanda epitelyal hücre farklılaşması, sinirsel iletim ve hamileliğin devamında da etkili olduğu görülmüştür. (Moriwaki ve diğ. 1999).

Azalan ADA aktivitesi pulmoner inflmasyona, timüsle ilgili hücre ölümüne ve T hücreleri reseptör sinyallerinin kusurlu olmasına sebep olabilir. (Blackburn and Kellems 2005, Apasov ve diğ. 2001). Ayrıca AIDS (Salvatore ve diğ. 1987), tuberküloz (Ungerer ve diğ. 1989), bazı tümörler (Trotta ve diğ. 1982, Mahajan ve diğ. 2013), bakteriyel menenjit (Chala ve diğ. 1991), bazı cilt hastalıklarında (Koizumi ve diğ. 1983, Koizumi ve diğ. 1985), romatizmal hastalıklarda (Yuksel ve Akoglu 1988), karaciğer hastalıklarında (Kobayashi ve diğ. 1993) ve multibil skleroz (Kopff ve diğ. 1993) gibi birçok hastalıkta enzim aktivitesinde değişiklikler gözlenmektedir. Özellikle tüberküloz tanı ve takibinde aktivite değişikliklikleri faydalı bir parametre olarak kullanılmaktadır. (Segura ve diğ. 1989).

2.3.Ksantin Oksidaz (XO)

Enzim 146 kDa ağırlığındadır ve 1330 aminoasit rezidüsü içerir. (Enroth ve diğ. 2000). XO molibden içeren bir flavoenzimdir. Enzimin ksantin oksidaz (XO, EC 1.1.3.22) ve ksantin dehidrogenaz (XD, EC 1.1.1.204) olmak üzere iki farklı formu bulunur. XO izoformu XD enziminin sülfidril gruplarının oksidasyonu ya da proteolizi ile oluşur. (Harrison 2002). XO yapısında kofaktör olarak iki molibden (melibdoprotein) ve sekiz demir atomu (2Fe-2S yapısında) ile iki adet FAD molekülü bulunur. (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Ksantin Oksidaz. XO enziminin kristallografik yapısı. FAD kırmızı renkli bileşik, FeS-merkezleri portakal, molibden içeren kofaktör molibdoprotein sarı renkli ve salisilat mavi ile gösterilmiştir. (http://en.wikipedia.org/wiki/Xanthine_oxidase).

Enzimin dehidrogenaz formu hem oksijeni hemde FAD'yı indirgerken, oksidaz formu sadece oksijeni indirger. Her iki formda aynı gen tarafından kodlanır. (McManaman ve Bain 2002). Sitozolik bir enzim olan XO pürin ve pirimidin bazlarının oksidasyonunu sağlayarak, bu bazların katabolizmasında önemli rol oynar. (Hille 2005, Harrison 2002). Enzim hipoksantini ksantine, ksantini de ürik aside oksidasyonunu kataliz eder. Bu reaksiyonlar sırasında oksidan ürünler olan hidrojen peroksit ve süperoksit anyon radikali oluşur. (Ardan ve diğ. 2004). XO

ayrıca pterinler ve aldehidleride okside edebilir. Enzim tarafından kataliz edilen başka bir önemli reaksiyon da aerobik şartlarda nitrik oksitten peroksinitridin sentezidir. (Trujillo ve diğ. 1998).

İnsan endotelyal hücreleri yüksek XO enzim aktivitesine sahiptir. Ayrıca insanlarda bağırsak ve karaciğer hücreleri en fazla bu enzimin aktivite gösterdiği hücrelerdir. (Watts ve diğ. 1965, Sarnesto ve diğ. 1996).

XO'nun serum düzeyleri, kronik viral hepatik hastalarda, pnömoni vakalarında, tip 2 diabette, romatizmal hastalıklarda ve otoimmün hastalıklarda artış göstermektedir. (Mchale ve diğ. 1979, Yamamoto ve diğ. 1996, Ramboer ve diğ. 1972, Shamma'a ve diğ. 1973, Battelli ve diğ. 2001, Akyol ve diğ. 2001, Cosić ve diğ. 2001, Kuppusamy ve diğ. 2005, Miesel ve Zuber 1973).

Bu enzimin transkripsiyonel düzenlenmesi alınan besinlerle de ilgilidir. Örneğin; diyetdeki E-vitamini, selenyum, folik asit ve lipitten zengin gıdaların yokluğu, serum ksantin oksidaz seviyesinin yükselmesine ve bu durumda hücrelerin serbest radikal saldırılarına açık hale gelmesine sebep olur. (Schröder ve diğ. 2006, Zhang ve diğ. 2012).

İL-1 β gibi inflamatuvar sitokinler enzim aktivitesini artırırken, INF- γ enzimin mRNA sentezini ve post-translasyonel aktivasyonunu artırır. (Page ve diğ. 1998).

2.4. Oksidatif Stres ve Protein Oksidasyonu

Vitiligo patogenezinde melanosit dejenerasyonu nedeni hala tam olarak aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte bazı in vivo ve in vitro çalışmalar oksidatif stresin patogenez seyrinde önemli rolü olduğunu ortaya koymuştur. (Maresca ve diğ. 1997).

Vitiligolu hastalarda hidrojen peroksit ve peroksinitrit başta olmak üzere reaktif oksijen türlerinin yüksek epidermal seviyeleri tespit edilmiştir. (Schallreuter ve diğ. 1991, Schallreuter ve diğ. 1999).

Oksidatif stresi artırıcı yönde etkili olan ve hücre içinde enzim kofaktörü olarak görev yapan bioproteinler, melanosit oluşumunda görevli enzimlerin (fenilalanin, hidroksilaz ve tirozinaz) inhibitörü gibi davranır ve hidrojen peroksit oluşumunu uyarır. (Biol ve diğ. 2006, Wood ve diğ. 2004). Bioprotein metabolizmasının anormal fonksiyonu, yüksek seviyelerde tetrahidrobioprotein (6BH₄) ve onun izomeri olan 7BH₄'in vitiligo epidermisinde görülmesine sebep olur. (Schallreuter ve diğ. 1994, Hasse ve diğ. 2004).

Ek olarak reaktif oksijen türlerinin birikimi lipid peroksidasyonunu, DNA hasarını ve antimelanojenik sitokinlerin üretimini indükler. Bu etkiler melanosit oluşumunu azaltan faktörlerdir.

Sonuç olarak lokal ve sistemik hidrojen peroksit seviyelerinin yüksekliği kalsiyum homeostasisini etkiler. Bu da melanositlerdeki tirozinin prekürsörü olan L-fenilalanin aminoasidinin hücrelere alınımını tehdit eder. (Schallreuter ve diğ. 2007).

Klinik olarak oksidatif stresin en önemli indikatörleri lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu vitiligo da melanosit hasarında önemli etkiye sahiptir. Protein oksidasyonunun önemli bir parçası olan, karbonil grup ilavesi protein yan zincirlerinin kırılmasına ve proteolize neden olur. (Breusing ve Grune 2010, Dalle-Donne ve diğ. 2003).

İleri oksidasyon protein ürünleri (İOPÜ) bol miktarda ditirozin içerirler. Ditirozin molekülü proteini proteolize karşı koruyan iki tirozinden oluşan bir moleküldür. (DiMarco ve Giulivi 2007). Bu molekül çapraz bağlara (cross-link), disülfid köprülerine ve karbonil gruplarının oluşumuna fırsat oluşturur. Temelde ileri

protein oksidasyon ürünleri oksidanların klorinlenmesiyle (hipoklorik asit ve kloraminlerle) oluşur. (Cakatay ve diğ. 2008).

2.5. Antioksidan Sistem

Topikal ve oral antioksidanlar melanositleri reaktif oksijen türlerine karşı koruyup onların yapılarının bozulmasını engelleyebilir. Yapılan çalışmalar gösteriyor ki antioksidanlar hem ucuz olması hem de iyi tolare edilmesinden dolayı vitiligo tedavisinde etkili bir yöntem olarak kabul edilir. (Chu 2015).

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılabilir.

Enzimatik Antioksidanlar

Yapılarında esansiyel elementlerden olan çinko, selenyum ve bakır bulunan katalaz, süperoksid dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler enzimatik antioksidanlar sınıfına dahildir. (Yohn ve diğ. 1991).

Katalaz: Katalaz enzimi hidrojen peroksidi su ve oksijen molekülüne dönüştürür. Yapılan bir araştırmada vitiligolu hastaların lökositlerinde ki katalaz aktivitesinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. (Dell'anna ve diğ. 2003, Dell'anna ve diğ. 2001). Başka bir araştırmada ise vitiligolu melanositlerin katalazsız ortamda 2-3 hafta içinde öldüklerini fakat katalazlı kültür ortamında daha uzun süre yaşayıp hatta pigment üretmeye başladığı görülmüştür. (Medrano ve Nordlund 1990). Ayrıca diğer bir araştırmada, segmental vitiligolu hastalarda katalaz aktivitesinin düşük olduğu görülürken; segmental olmayan vitiligolu hastalarda katalaz aktivitesinin normal olduğu görülmüştür. (Shajil ve diğ. 2006). Katalaz aktivitesinin lokalize vitiligolu hastaların eritrositlerinde önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. (Maresca ve diğ. 1997).

Süperoksit Dismutaz: Bu enzim süperoksit anyonlarını, daha az zararlı olan moleküler oksijene ve hidrojen perokside katalizler. Hücreleri süperoksit radikalinin toksik etkilerine karşı korur. (Saha ve diğ. 1982). Araştırmada aktif lokalize vitiligolu hastalarda eritrositlerdeki SOD aktivitesi önemli derecede yüksek

bulunmuştur. Sonuç olarak artan SOD aktivitesi hidrojen peroksit oluşumunu artırmış olur. (Prasad ve Kundu 1995).

Glutasyon Peroksidaz: Bu enzimin rolü eritrositlerin oksidasyon sonucu hemolizini engellemektir. (Mills 1957). Glutasyon peroksidaz (GPX) aynı zamanda hidrojen peroksidi ve diğer organik peroksitleri (kolesterol ve uzun zincirli yağ asitleri gibi) metabolize eder. (Sunde 198?). Yapılan araştırmalarda, hem lezyonel hem de lezyonel olmayan aktif vitiligolu hastalarda glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinin düşük olduğu görülmüştür. (Schallreuter ve diğ. 1994, Thannickal ve diğ. 1993).

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

İnsan vücudunda enerji kaynağı olarak kullanılmayan vitaminler, bazı enzimlerin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlardan vitamin A, C ve E antioksidan özelliğe sahiptirler. Aynı zamanda ubiquinol ve ferritin gibi yapılar da bu vitaminler gibi hücreleri oksidatif strese karşı koruyup serbest radikallerin zararlarını azaltmış olurlar. (Pinnell 2003).

Vitamin E: Tokoferol ailesinden olan bu vitamin genelde vitamin C ile birlikte çalışır. Reaktif oksijen türlerinin lipit metabolizmasına olan zararını bertaraf ederek hücrelerin lipit peroksidasyonunu engeller. (Podda ve diğ. 2001, Fusco ve diğ. 2007). Alfa, beta, gama ve sigma formları bulunan tokoferollerin en etkili ve besinlerde en yoğun oranda bulunan formu alfa tokoferoldür.

Vitamin C: C vitaminin indirgenmiş hali olan askorbik asit serbest radikallerdeki elektronu yakalayarak kendini daha kararlı bir form olan askorbata dönüştürür. (Pinnell 2003). Oksijen tutma özeliği olduğundan vitamin E ile beraber hücreleri serbest radikallere karşı savunmuş olur. (Podda ve diğ. 2001, Fusco ve diğ. 2007).

Vitamin A: Öncüsü olan beta-karoten ile sentezlenmiş olur. Güçlü bir antioksidan olmasının yanında yapılan çalışmalarla UVA' ya bağlı cilt kanseri gelişiminin önlenmesinde de önemli derecede etkili olduğu görülmüştür. (Alberts ve diğ. 2004).

Bütün bunların yanında koenzim Q-10, polifenoller, lipoik asit, glutasyon ve selenyum gibi antioksidanlar da serbest radikal saldırılarına karşı hücreleri korumuş olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. (Derviş 2011).

3. MATERYAL METOT

Bu çalışma için Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 01.10.2015 tarih ve 2015/102 sayı ile onay alınmıştır.

3.1. Olgu Seçimi

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Deri ve Zührevi Hastalıklar Polikliniğinde vitiligo tanısı alan toplam 40 olgu hasta grubu olarak seçildi. Herhangi bir cilt hastalığı bulunmayan 40 sağlıklı kişi de kontrol grubu olarak alındı. Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, diabetes mellitus ve serabrovasküler hastalık gibi sistemik ve kronik hastalık olan öyküsü olan olgular çalışma dışı bırakıldı.

3.2. Biyokimyasal Analizler

3.2.1. Ksantin Oksidaz (XO) Enzimi Aktivite Ölçümü

Aktivite ölçüm prensibi: XO (EC 1.1.3.22) aktivitesi Prajda ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (Prajda, 1975). Bu metot numune tüpüne konan ksantin numunede bulunan XO tarafından ürik asite dönüştürülmesi ve oluşan ürik asitin spektrofotometrede 293 nm dalga boyunda absorbansını ölçülmesi esasına dayanır.

Deneyin yapılışı: Tablo 3.1.' de ifade edildiği gibi şekilde deney gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası TCA ilave edildikten sonra tüpler vortekslendi. Sonra 3500 devirde 30 dk soğutmalı santrifüjde santrüj edildi. Süpernatantlar 293 nm dalga boyunda okundu. Böylece 30 dakika içerisinde üretilen ürik asit miktarı belirlendi ve aktivite IU cinsinden hesaplandı.

XO

Ksantin \longrightarrow Ürik asit

Kullanılan reaktifler:

Fosfat tamponu: 50 mM, pH 7.5, 0.5mM Na₂EDTA'lı hazırlandı.

4 mM Ksantin çözeltisi: 6 mg ksantin üzerine son hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi.

TCA (%100, w/v): 100 gr TCA alındı son hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

Tablo 3.1. XO aktivite ölçümünün deney aşamaları

	Kör	Numune
Fosfat Tamponu (mL)	2.8	2.8
Ksantin (μL)	50	50
Numune (μL)	-	50

37°C'de 30 dakika inkübasyonu biten tüplere hemen;

Numune (μL)	50	-
TCA (μL)	100	100

3.2.2. ADA (EC 3.5.3.3) Aktivite Tayini

Aktivite ölçüm prensibi: ADA aktivitesi Guisti (1974) tarafından tanımlanan yöntemle yapıldı. Bu metotta ADA aktivitesinin ölçümü için substrat olarak adenzin kullanılır. ADA adenzinden inozin oluşumunu katalizler. Bu sırada açığa çıkan amonyak, sodyum hipoklorit ve fenol/nitroprussid ile birlikte alkali çözeltide koyu mavi indofenol şeklini alır. Oluşan ürünün spektrofotometrede 628 nm'de distile suya karşı absorbansı ölçülmesi esasına dayanır. 75 μM 'lık $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ çözeltisi standart çözelti olarak kullanılır.

Deneyin yapılışı: Tablo 3.2.' de ifade edildiği gibi şekilde deney gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası numune, standart ve körlerinin absorbansları 628 nm'de distile suya karşı okundu. Absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine konuldu ve sonuçlar U/L olarak hesaplandı.

$$\text{ADA Aktivitesi (IU/L)} = \frac{(\text{Numune Absorbansı} - \text{Numune Körü Absorbansı})}{(\text{Standart Absorbansı} - \text{Standart Körü Absorbansı})} \times 50$$

Kullanılan reaktifler ve deney aşamaları aşağıda verilmiştir.

Kullanılan reaktifler:

-Fosfat tamponu: pH 6.5, 50 mM hazırlandı.

-Adenozin solüsyonu (pH 6.5, 20 mM): 0.560 gr Adenozin alındı 60 mL 50 mM pH 6.5 fosfat tamponunda çözüldü.

-Alkali hipoklorit solüsyonu: 11 mM NaOCl ve 125 mM NaOH çözeltilerden 100 ml hazırlandı.

-Fenol-nitroprussid solüsyonu: 106 mM fenol ve 0.17 mM Na-Nitroprussid çözeltilerinden 250 ml hazırlandı.

-Amonyum sülfat standartı: 75 µM 10 ml hazırlandı.

Tablo 3.2. ADA aktivite ölçümünün deney aşamaları

	Standart Körü (mL)	Standart (mL)	Numune Körü (mL)	Numune (mL)
Fosfat tamponu	1.0	-	-	-
Adenozin solüsyonu	-	-	1.0	1.0
Amonyum sülfat standartı	-	1.0	-	-
Serum	-	-	-	0.05
Distile su	0.05	0.05	-	-

Karıştırıldı, parafilm ile kapatılıp, 37°C'de su banyosunda 60 dakika inkübe edildi. Sonra

Fenol-nitroprussid solüsyonu	3.0	3.0	3.0	3.0
Serum	-	-	0.05	-
Alkali Hipoklorit solüsyonu	3.0	3.0	3.0	3.0

3.2.3. İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Tayini (İOPÜ)

Witko-Sarsat ve ark.'ın (1996) tanımladığı ve Kayalı ve ark.'ın (2007) düzenleme yaptığı yöntemle belirlenmiştir. Lityum heparinli plazma fosfat tamponu içinde 1:5 oranında dilue edilmiştir (200 µl plazma + 800 µl fosfat tamponu pH:7.4). Üzerine 20 µl asetik asit (%100'lük) ilave edilmiştir ve iki dakika sonra 10 µl potasyum iyodür (1.16 M KI) ilave edilerek vortekslenmiştir. Elde edilen karışımın absorbansı 340 nm'de köre karşı (1000 µl fosfat tamponu, 20 µl asetik asit ve 10 µl KI) hemen okundu.

Bu yönteme göre İOPÜ oluşumu klorine oksidanların (kloraminler ve hipokloröz asit gibi) oluşumu ile indüklenmektedir. Bu sebeple konsantrasyonu da bunlara paralel olarak değişir. İOPÜ konsantrasyonu tayininde bu ilişki nedeni ile kloramin-T standart olarak kullanılmıştır (0-100 mmol/L; R²=0,99) (Öztürk, 2008; Witko-Sarsat ve ark., 1998) ve İOPÜ konsantrasyonu Kloramin-T eşdeğerliği dikkate alınarak hesaplanmıştır. Sonuçlar mmol/L olarak verildi.

3.2.4. Karbonil Protein Gruplarının Tayini (KP)

Serum KP düzeyi Reznik ve Packer'in (1994) tarafından tanımlanan, Çakatay ve ark. (2005)'nin düzenleme yaptığı yöntemle saptandı. Deney tüpüne 300 µl plazma, 700 µl %0,9'lük NaCl ilave edildi, üzerine 2,5 M HCl içinde 10 mM DNPH'den (2,4-dinitrofenilhidrazin) 4 mililitre (ml) eklendi. Tüpler oda sıcaklığında her 15 dk'da bir vortekslenmek suretiyle karanlıkta 1 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra %20'lik (w/v) TCA'dan (Triklorasetik asit) 5 ml ve %10 TCA'dan 4 ml ilave edildi. 3555 x g'de 12 dk santrifüj edildi. Santrifüjleme işleminin sonunda elde edilen çökelti 4 ml etanol-etil asetat (2 ml: 2 ml) karışımı ile 3 kez vortekslemek ve santrifüjlemek suretiyle yıkandı. Elde edilen yıkanmış çökelti 2 ml 6M Guanidin-HCl solüsyonu içinde 37⁰C'deki sıcak su banyosunda 10 dakika süre ile bekletilerek çözdürüldü. Çözdürülme sonrası numunenin 360 nm dalga boyundaki absorbansı, spektrofotometrik olarak okundu. DNPH'in ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak plazma karbonil protein konsantrasyonu µmol/L olarak hesaplandı.

3.2.5.Total Tiol Gruplarının Tayini (TT)

Serum TT miktarı, kromojenik disülfid 5-5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asid (DTNB, Ellman's reagent) ile -SH grupları arasındaki exchange oranının ölçülmesi esasına dayanan Sedlak ve Lindsay (1968) tarafından geliştirilen yöntemle çalışıldı.

Kullanılan Reaktifler;

1.Tampon solüsyonu (0,2 M Tris baz, 0,02 M EDTA, pH: 8,2): 6,057 gr Tris baz ve 1,4612 gr EDTA tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra pH 8,2' ye getirildi ve çözelti miktarı balon jodede 250 mL' ye tamamlandı.

2. DTNB (0,01 M Ellman's reagent): 0,198 gr DTNB tartılıp bir miktar metanolde çözüldükten sonra çözelti miktarı metanol ile balon jodede 50 mL' ye tamamlandı.

3. Metanol

4. Standart glutasyon (1000 µmol/L): 0,03072 gr glutasyon tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra çözelti miktarı balon jodede 100 mL' ye tamamlandı.

Tablo 3.3.Total tiyol düzeyi tayininin çalışma prosedürü

	Numune	Standart	Kör
Süpernatant	0,1 mL	-	-
Standart	-	0,1 mL	-
Deiyonize su	-	-	0,1 mL
Tampon	0,3 mL	0,3 mL	0,3 mL
DTNB	20 µL	20 µL	20 µL
Metanol	1,58 mL	1,58 mL	1,58 mL

Tüpler karıştırıldı, 15-20 dakika bekletildi ve sonrasında 3000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant kısmı 412 nm' de köre karşı okutuldu. Sonuçlar µmol/L olarak hesaplandı.

3.2.6. Nitrik Oksit (NO) Miktarının Tayini

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, pek çok çalışmada nitrit ve nitrat olarak ifade edilmiştir. (Mueller ve diğ. 1994). Çünkü nitrik oksit, üretildiği bölgede saniyeler içinde okside olarak önce nitrite (NO_2^-) daha sonra da nitrate (NO_3^-) dönüşür. Bununla beraber proteinden

zengin homojenat, serum ve plazma gibi solüsyonlarda spesifik olmayan reaksiyonlar meydana gelebileceğinden, Griess reaksiyonu ile ölçümlerde belli bazı sıkıntılar yaşanmaktadır. Bu açıdan nonspesifik reaksiyonların önüne geçebilmek için örnekleri önce deproteinize edip daha sonra nitrit ve nitrat konsantrasyonları ölçüldü. Zor olmakla birlikte *in vivo* olarak direkt NO ölçümü de mümkündür. Bu amaçla NO propları geliştirilmiştir ama bunların *in vitro/ex vivo* şartlarda çalışması mümkün değildir. (Malinski ve Taha 1992).

Numunedeki nitrit ve nitrat miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlenir. (Cortas ve Wakid 1990). Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirildi. pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune (homojenat, serum, eritrosit) süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitrat redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit; sülfanilamid ve buna bağlı N-naphthylethylene diamine (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlendi. Sonuçta elde edilen nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat miktarı belirlendi.

Kullanılan Kimyasal ve Reaktifler:

- **Kadmiyum granülleri:** Cd, MERCK 1.02001.250, W=112.40 g/mol
- **Glisin-NaOH Tamponu (pH 9.7):** 7.5 gr glisin 100 mL deiyonize suda çözülür. 2 mol/L NaOH ile pH'sı 9.7' ye ayarlanır ve son hacim 1000 mL'ye deiyonize su ile tamamlanır. Tampon +2-8 °C'de 1 ay saklanabilir.
- **Sülfanilamid:** 5 gr sülfonilamid tartılır, → 500 mL 3 M HCl içerisinde ısıtılarak çözülür. Oda ısısında 1 yıl korunur.
- **N-Naphthylethylene diamine (NNDA):** 50 mg NNDA alınıp → 250 mL distile suda çözüldü.
- **5 mmol/L CuSO₄ Solüsyonu:** 1.2434 gr CuSO₄ alınır → 1000 mL distile suda çözüldü.
- **0.1 mol/L H₂SO₄ Solüsyonu:** 2.8 mL H₂SO₄ alınıp → hacim 500 mL'ye distile suyla tamamlandı.
- **Standart solüsyonu:** (0.1 mol/L NaNO₂ (Sodyum nitrit, W=69 gr/mol): 0.345 gr NaNO₂ al → 300 mL 10 mmol/L Na₂B₄O₇ (W=381.4 gr/mol olup; 1.144 gr alınıp → 300 mL distile su ile tamamla) içinde çözüldü.

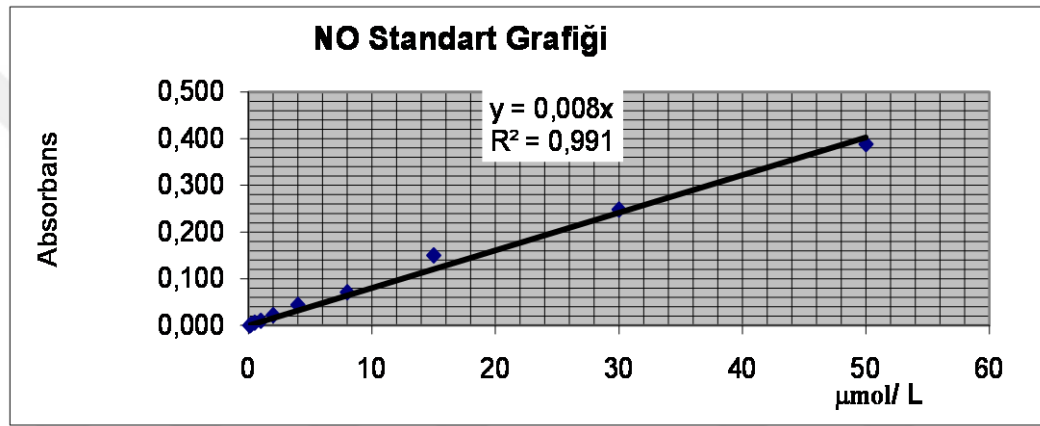
- **75 mmol/L ZnSO₄**: 12,108 gram çinko sülfat alındı, son hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı.

- **55 mmol/L NaOH**: 2,2 gram sodyum hidroksit alındı, son hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı.

Nitrit Standart Grafiğinin hazırlanması

Stok solüsyon: 0.1 mol/L KNO₃ hazırlanır (Oda ısısında 9 ay stabildir).

Standart solüsyonları: 0.1, 0.2, 0.5, 1, 4, 8, 15, 30, 50 µmol/L konsantrasyonlarda hazırlanır. Hazırlanan standart solüsyonundan elde edilen “Optik Dansite (OD) – µmol/L” grafiği ile numune sonuçları hesaplanır (Grafik NO₁).



Grafik NO: Nitrit Standart Grafiği.

Kadmiyum granüllerinin aktifleştirilmesi: Kadmiyumlar 2.5-3 gr olarak 20 cc kapaklı plastik tüplere dağıtıldı. Granüller deiyonize su ile 3 defa yıkandı (süzgeç kağıdından süzdürülerek). 1-2 dakika 5 mmol/L CuSO₄ solüsyonu içinde bekletildi ve solüsyon süzülerek döküldü (Cd'lar CuSO₄ ile kaplanarak siyah renkte görülürler). Granüller 1-2 mL glisin tamponu ile yıkanarak aktive Cd'lar 10 dakika içinde deneyde kullanıldı. Granüller deneyde kullanıldıktan sonra distile su ile hemen yıkandı ve 0.1 mol/L H₂SO₄ solüsyonu içinde en az 1 gün ara ara alt-üst ederek karanlık ortamda saklandı. Cd'lar böylece gümüş gibi parlak renk alırlar. Tekrar aktifleştirmek için basamak 1'den işleme başlanır.

Deneyin Çalışılması: Deproteinizasyon işlemi: 500 µL numune + 2 mL 75 mmol/L ZnSO₄ ile vortekslendi. 1.250 mL 55 mmol/L NaOH ilâve edilip tekrar vortekslendi [(200 µL numune + 800 µL 75 mmol/L ZnSO₄ vorteksle) + 1 mL 55 mmol/L NaOH vorteksle] ve 3500 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Berrak süpernatant nitrat tayininde deproteinize numune olarak kullanıldı.

Nitrat Tayini: Glisin tamponu ile yıkanmış aktif kadmiyum granüllü tüplerinin üzerine 1 mL glisin tamponu ilave edildi. Üzerine 1 mL deproteinize numune ve 2 mL deiyonize su ilâve edilip, tüplerin ağzı kapatıldı. 90 dakika oda ısısında karanlık ortamda ara ara kadmiyumlu tüpler alt-üst edilerek inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüplerdeki numuneler ve standartlar Nitrit Çalışma Tablosunda (Taplo 3.4) numune veya standart olarak kullanıldı. Tabloda belirtilen miktarda bu tüplerden numuneler ve standartlar ayrı tüplere pipetlendi üzerlerine tablodaki miktarda süfanilamid solüsyonu ve NNDA çözeltisi ilave edildi. Vortekslendi. 20-60 (45) dakika oda ısısında karanlıkta inkübe edildi ve 545 nm’de köre karşı okundu. Standart absorbans konsantrasyon grafiği çizildi (Şekil 3.1). Numunelerdeki nitrat miktarı bu grafiğe göre mmol/L olarak hesaplandı.

Tablo 1. Nitrit çalışma tablosu

	Kör (mL)	Deprot. Örnek (mL)	St1	St2	St3
Deproteinize örnek	-	2	-	-	-
St1	-	-	2	-	-
St2	-	-	-	2	-
St3	-	-	-	-	2
Distile su	2.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sulfanilamid solution	1	1	1	1	1
NNDA	1	1	1	1	1

3.2.7. Ürik Asit Analizi

Serum ÜA düzeyi enzimatik kolorometrik yöntemi ile çalışan ticari kit (Roche, Alman) kullanılarak Namık Kemal Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı’nda otoanalizör kullanılarak yapıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Versiyon 13.0) programı kullanılarak yapıldı. Bütün sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Ölçümle belirtilen değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov- Smirnov testi ile incelendi. Ölçümle belirtilen değişkenlerin normal dağılım gösterdiği saptandı. Grup karşılaştırması Student-t testi ile yapıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmaya alınan vitiligo hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı uyumlu olup, istatistiksel farklılık gözlenmedi (Tablo 4.1). Vitiligo hasta grubunun yaklaşık %47,5'u kadın, %52,5'i erkeklerden oluşuyordu. Kontrol grubunu içinde benzer oran saptandı. Tüm grubun yaş ortalaması $37,0 \pm 9,65$ yıl olarak saptanırken, erkeklerin yaş ortalaması $34,9 \pm 10,9$ yıl, kadınların yaş ortalaması $39,1 \pm 8,6$ yıl olarak saptandı. Kontrol grubu ile vitiligo grubunu yaş ortalamaları birbirine benzerdi. Ayrıca grupların cinsiyet dağılımı da benzerlik gösteriyordu.

Tablo4.1. Çalışmaya alınan kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı

Grup	Toplam n	Cinsiyet		Yaş (yıl)		
		Kadın n (%)	Erkek n (%)	Kadın ort ± ss	Erkek ort ± ss	Toplam ort ± ss
Kontrol	40	19 (47,5)	21 (52,5)	$37,4 \pm 8,5$	$35,2 \pm 11,5$	$36,3 \pm 10,0$
Hasta	40	19 (47,5)	21 (52,5)	$40,8 \pm 8,7$	$34,5 \pm 9,9$	$37,7 \pm 9,3$
Toplam	80	38 (47,5)	42 (52,5)	$39,1 \pm 8,6$	$34,9 \pm 10,9$	$37,0 \pm 9,65$

Ort: ortalama, ss:standart sapma

Kontrol ve vitiligolu hasta grubuna ait PK, İOÜP, NO ve TT değerlerinin ortama, standart sapma ve p değerleri tablo 4.2 de verilmiştir.

PK değeri, kontrol grubunda $9,49 \pm 2,61$ $\mu\text{mol/L}$, vitiligo grubunda ise $11,51 \pm 3,77$ $\mu\text{mol/L}$ olarak tespit edildi. Kontrol ve vitiligo grupları PK değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olduğu görüldü. ($p < 0,01$).

İOPÜ değeri, kontrol grubunda $4,02 \pm 1,08$ mmol/L , vitiligo grubunda ise $4,78 \pm 1,36$ mmol/L olarak tespit edildi. Kontrol ve hasta grupları İOPÜ değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olduğu görüldü. ($p < 0,01$).

Kontrol grubu serum NO düzeyi $59,83 \pm 5,83$ mmol/L olarak saptanırken, vitiligo grubu serum NO düzeyi $67,26 \pm 9,30$ mmol/L olarak tespit edildi. Kontrol ve hasta grupları NO değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olduğu görüldü. ($p < 0,01$).

TT değeri, kontrol grubunda 265 ± 57 $\mu\text{mol/L}$, hasta grubunda ise 224 ± 51 $\mu\text{mol/L}$ olarak tespit edildi. Kontrol ve hasta grubu TT değerleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olduğu görüldü ($p < 0.01$).

Tablo4.2. Kontrol ve vitiligo gruplarına ait PK, İOPÜ, NO ve TT değerleri (ort \pm ss)

Parametre/Grup	Kontrol Grubu	Vitiligo Grubu
PK($\mu\text{mol/L}$)	$9,49 \pm 2,61$	$11,51 \pm 3,77^a$
İOPÜ(mmol/L)	$4,02 \pm 1,08$	$4,78 \pm 1,36^a$
NO (mmol/L)	$59,83 \pm 5,83$	$67,26 \pm 9,30^a$
TT($\mu\text{mol/L}$)	265 ± 57	224 ± 51^a

PK: Protein karbonil, İOPÜ:İleri oksidasyon protein ürünü, TT:Total tiyol, Ort:Ortalama, ss:Standart sapma, ^a $p < 0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırınca

Hasta ve kontrol grubuna ait serum ADA ve XO aktiviteleri ve ürik asit düzeyleri gruplar arası karşılaştırma sonuçları Tablo 4.3' de topluca verilmiştir.

Vitiligo hasta grubu ADA aktivitesi 169 ± 39 U/L iken, sağlıklı kontrol grubunda bu değer 151 ± 37 U/L olarak saptandı. Buna göre serum ADA aktivitesi hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. ($p < 0.05$).

Vitiligo hasta grubu serum XO aktivitesi $0,125 \pm 0,077$ U/L iken, sağlıklı kontrol grubunda bu değer $0,056 \pm 0,030$ U/L olarak saptandı. Buna göre serum XO aktivitesi hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. ($p < 0.001$).

Vitiligo hasta grubu serum ÜA düzeyi $4,28 \pm 0,70$ mg/dL iken, sağlıklı kontrol grubunda bu değer $4,68 \pm 0,72$ mg/dL olarak saptandı. Buna göre serum ÜA düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p < 0.01$).

Tablo 4.3. Kontrol ve vitiligo gruplarına ait serum ADA ve XO aktiviteleri ve ÜA düzeyleri(ort ± ss)

Grup	n	ADA (U/L)	XO (U/L)	ÜA (mg/dL)
Kontrol	40	151 ± 37	0,056 ± 0,030	4,68 ± 0,72
Vitiligo	40	169 ± 39	0,125 ± 0,077	4,28 ± 0,70
p		0.038	0.000	0,008

ADA: Adenozin deminaz, XO: Ksantin oksidaz, ÜA: Ürik asit, Ort:Ortalama, ss:Standart sapma

5. TARTIŞMA

Deri insan vücudunun çevre etkilerine en çok açık olan organıdır. Bu nedenle fiziksel, kimyasal ve biyolojik birçok etkene maruz kalır. Bu etkenler reaktif oksijen türevi (ROT) bileşiklerin sentezinde artışa neden olur. Buda oksidatif stres olarak isimlendirilen ve doku hasarında önemli rol oynayan patolojik bir sürecin başlamasını uyarır. Vitiligo patogenezindeki major hipotezlerden biri de oksidatif hasardır. Oksidatif hasar hipotezi, bozulmuş melanosit metabolizması sırasında oluşan ROT gibi bazı toksik metabolitlerin oluşumu gerçeğine dayanmaktadır. (Hann 2000, Glassman 2011, Jain ve diğ. 2011).

XO organizmada önemli bir oksidan enzimdir. Enzimin yaygın bir doku dağılımı vardır. Shalhaf ve ark. (2008) yaptıkları deri hücre kültürü çalışmasında ilk kez melanosit ve keratonositlerde de XO varlığını göstermişler ve bu sonucun vitiligo patogenezinde ki oksidatif stres görüşünü desteklediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada pürin katabolizmasının son basamağını katalizleyen XO'nun serum aktivitesinde vitiligo hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış saptanmıştır. Literatürde (pubmed) vitiligo hasta grubunda XO aktivitesi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Koca ve diğ (2004) çalışmalarında bizim sonuçlara benzer şekilde vitiligolu hasta serum örneklerinde XO aktivitesinde artış saptadıklarını bildirilmişlerdir. Ayrıca kuş tüyleri ile ilgili yapılan bir çalışmada da vitiligolu tüylü kuşlarda XO aktivitesinde kontrol grubuna göre artış saptandığı rapor edilmiştir. (Bowers ve diğ. 1999). XO aktivitesi sırasında önemli bir oksidan molekül olan hidrojen peroksit üretimi olur. Vitiligoda XO aktivitesi dışında başka metabolik yolların aktivitesi sırasında da ROT üretiminde artış olduğu görülmektedir. Pradhan ve diğ (2014) hem aktif hemde stabil vitiligolu hasta eritrosit örneklerinde ROT üretimini sağlıklı kişi eritrositlerine göre daha yüksek oranda saptamışlardır. Benzer şekilde Dell'Anna ve diğ. (2001) de yaptıkları çalışmada periferik kan mononükleer hücrelerinde ROT üretiminde vitiligolu hasta grubunda kontrol grubuna göre artış saptamışlardır. Akoglu ve diğ. (2013) organizmanın oksidan kapasitesinin bir göstergesi olarak kullanılan serum total oksidan durumun vitiligolu hastalarda kontrol grubuna göre artmış olduğunu rapor etmişlerdir. Prignano ve diğ. (2009) de vitiligolu hasta deri örneklerinden yaptıkları hücre kültürü çalışmasında intrasellüler

ROT üretiminde ve lipit peroksidasyon ürünü olan 8-isoprostan düzeyinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları vitiligolu hastalarda hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türü bileşiklerin arttığını göstermektedir. ROT bileşikleri buldukları ortamda başta lipitler olmak üzere proteinler ve nükleik asitler gibi yapısal ve hayati fonksiyonları olan bileşikler ile reaksiyona girer. Özellikle membran yapısında bulunan doymamış yağ asitlerini okside ederek lipit peroksidasyonu olarak tanımlanan reaksiyon zincirinin aktivasyonunu tetiklerler. Okside olan lipitler malondialdehit (MDA) olarak tanımlanan lipit peroksidasyonu son ürünlerini oluştururlar. Bu bileşiklerin serum/doku düzeyleri ölçülerek lipit peroksidasyonu değerlendirilir. Agrawal ve diğ. (2014) vitiligolu hastalarda serum MDA düzeyinin kontrol gruplarına göre daha yüksek saptadıklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Khan ve diğ. (2009) yaygın ve lokal vitiligo hasta grubunda serum MDA düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Karslı ve diğ. (2014) ise vitiligolu hasta eritrosit MDA düzeyini kontrol grubuna göre yüksek saptadıklarını fototerapi sonrasında azalma gözlediklerini bildirmişlerdir. Membran lipitleri dışında diğer hücre bileşenleri de oksidatif hasara maruz kalmaktadır. Eskandani ve diğ. (2010) vitiligolu hastalarda oksidatif DNA hasarını değerlendirmek için yaptıkları çalışmada periferik kan lökositlerinde oksidatif hasara maruz kalan DNA düzeyinin vitiligolu hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptamışlardır. Salem ve diğ. (2009) de serum ve doku örneklerinde okside DNA'dan salınan 8-oksoguanin düzeylerini yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Giovannelli ve diğ. (2004) de bazal DNA hasarının vitiligo hasta grubunda anlamlı derecede yüksek saptarken gruplar arası DNA çift kırılmaları arasında anlamlı fark saptamadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmalar vitiligolu hastalarda ROT bileşiklere maruz kalan biyomoleküllerin oksidan ürün düzeylerinde artış olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte tersi sonuçların saptandığı veya oksidan ürün düzeylerinde sağlıklı kişilerle vitiligolu kişiler arasında fark gözlenmediği çalışmalarda bulunmaktadır. Shin ve diğ. (2010) vitiligolu hasta eritrosit MDA düzeyinin kontrol grubu eritrosit MDA düzeyinden farklı olmadığını saptamışlardır. Araştırmacılar sonuçlarındaki bu farklılığı eşlik eden komplikasyonların varlığı ile ya da örneklem büyüklüğünün yetersizliği ile açıklamışlardır.

Bu çalışmada vitiligolu hasta grubunda serum İOPÜ düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Literatürde (PubMed) ileri İOPÜ ile ilgili sadece iki çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birisinde bizim sonuçlara benzer şekilde vitiligo hasta grubunda serum İOPÜ düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandığı bildirilmiştir (Turkcu ve diğ. 2014). Diğer çalışmada ise vitiligo hasta grubunda serum İOPÜ düzeyinin kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadığı rapor edilmiştir. (Güntaş ve diğ. 2015). Araştırmacılar iki grup arasında farklılık saptanmamasında kontrol grubu ile hasta grubu yaş ve cinsiyet dağılımının anlamlı derecede farklı olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Nitekim bu çalışmada kontrol grubu yaş ortalamasının ve erkek gönüllü sayısının hem hasta grubu yaş ortalamasına hemde erkek sayısına göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir. Dolayısı ile vitiligolu hasta grubunda İOPÜ düzeyinin yüksek saptanması literatür sonuçları ile uyum gösterdiği gibi oksidatif stres ile ilgili diğer çalışma sonuçları ile de uyum göstermektedir.

Bu çalışmada protein oksidasyon ürünü olarak kabul edilen KP düzeyi vitiligolu hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Bu sonuç vitiligolu hastalarda sentezi/üretimi artan oksidan ürünlerin lipitler dışında proteinleri de okside ettiklerini göstermektedir. Proteinlerin hücrelerin yapısal elemanı olduğu gibi metabolik olayları kontrol eden enzimlerde protein yapıdadır. Dolayısı ile bu moleküllerin oksidasyonu doğrudan doku hasarına yol açabileceği gibi hücre metabolizmasını olumsuz etkileyerek de hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve sonuçta doku hasarının gelişmesine neden olur. Literatürde (PubMed) vitiligolu hasta serum veya diğer örneklerde KP ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle literatürle karşılaştırma imkanı olmamıştır. KP düzeyindeki artışta artmış ROT üretiminin etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca İOPÜ olduğu gibi organizmada oksidatif hasarın göstergesi olarak kullanılan MDA, 8-oksoguanin gibi lipit ve DNA oksidasyon ürünleri bu biyomoleküllerin ROT'ların zararlı etkisinde kaldığını göstermektedir. Lipitlerin ve DNA'nın etkilendiği bir ortamda aynı ortamı paylaşan ve oksidasyona duyarlı olan proteinlerin de etkilenmesi beklenir.

ROT üretimindeki artış biyomoleküllerin oksidasyonuna neden olduğu gibi TNF-alfa gibi sitokinlerin salınımını artırarak inflamasyona neden olabilir. (Dell'Anna ve diğ. 2001). Yao ve diğ. (2012) subtoksik düzeyde hidrojen peroksit ile muamele edilen melanositlerde IL-6 mRNA düzeyinin ve IL-6 protein sentezinin arttığını yaptıkları hücre kültürü çalışması ile göstermişlerdir. Dolayısıyla melanosit hasarının baş sorumlusu olarak kabul edilen hidrojen peroksitin hem doğrudan biyomolekülleri okside ederek hücre hasarı oluşturup, hem de dolaylı yoldan inflamatuvar süreci tetikleyerek de hücre hasarının şiddetlenmesine neden olabilir.

ADA immun sistemin gelişmesinde ve devamlılığında kritik rol oynayan bir enzimdir. Bundan dolayı serum ADA aktivitesindeki değişiklikler herhangi bir immünolojik dengesizlikler ile ilişkili olabilir. Bu çalışma ile ilk kez vitiligolu hastaların serum ADA düzeyleri değerlendirildi. Hasta grubu serum ADA aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek saptandı. ADA aktivitesindeki artışın vitiligo patogenezinde gözlenen metabolik ve immünolojik değişikliklerden sorumlu olduğunu, patogeneizde etkili rol oynadığını düşünüyoruz. Yapılan çalışmalar da ADA'nın IL-6, IL-8 gibi hem proinflamatuvar sitokin üretiminde rol aldığı hem de vitiligoda gözlenen hücrelerarası etkileşim moleküllerinin ifadesinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. (Toosi ve diğ. 2012, Bouma ve diğ. 1996). ADA aktivitesindeki artışın vitiligolu hastaların immun sistemlerinde gözlenen değişikliklerle uyum gösterdiğini düşünüyoruz.

Vitiligo patogenezinin önemli bileşenlerinden olan oksidatif stresde, oksidan bileşiklerin sentezindeki artış kadar bunları ortamdan uzaklaştıran, zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidan savunma sisteminde de yetersizlik olduğu düşünülmektedir. Antioksidan savunma sistemi süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimatik ve glutatyon (GSH), vitamin E, selenyum gibi nonenzimatik sistemden oluşmaktadır. Vitiligoda antioksidan sistem bileşenleri ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Bazı çalışmalarda vitiligolu hasta örneklerinde enzim antioksidanlardan SOD, KAT, GSH-Px ve paraoksanaz aktivitelerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. (Karlı ve diğ. 2014, Ramadan ve diğ. 2013, Yeşilova ve diğ. 2012, Briganti ve diğ. 2012). Jalel ve diğ. (2009) C57BL/6 fareler ile yaptıkları deneysel vitiligo çalışmasında hasta fare

örneklerinde antioksidan enzim aktivitelerini kontrol grubuna göre düşük saptadıklarını bildirmişlerdir. Sravani ve diğ. (2009) ise vitiligolu hasta grubu deri örneklerinde SOD aktivitesini kontrol grubuna göre yüksek saptarken, KAT aktivitesinde azalma gözlediklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Dammak ve diğ. (2009)'de vitiligolu hasta deri örneklerinde SOD ve GSH-Px aktivitesinde artış saptarken, KAT aktivitesinde azalma saptadıklarını rapor etmişlerdir. Hazneci ve diğ. (2005) ise vitiligolu hasta eritrosit ve serum GSH-Px aktivitesi ve eritrosit KAT aktivitesinin hasta grubunda kontrol grubundan farklı olmadığını fakat eritrosit SOD aktivitesinde hasta grubunda kontrol grubuna göre artış saptadıklarını bildirmişlerdir. Enzim aktiviteleri dışında son yıllarda yapılan çalışma sonuçları özellikle KAT geni ile vitiligo arasında ilişki olabileceğini desteklemektedir. Nonenzimatik antioksidanlardan serum Vit E düzeyinde vitiligolu hasta grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmazken, selenyum düzeyinin hasta grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. (Ines ve diğ. 2006). Boisseau-Garsaud ve diğ (2002) de hem total antioksidan durumu hem de önemli antioksidan özelliğe sahip bir mineral olan selenyumun serum düzeyini hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptadıklarını bildirmişlerdir. Jian ve diğ. (2014) yaptıkları çalışmada önemli bir antioksidan enzim olan hemoksijenaz 1 aktivitesinin vitiligolu hasta melonositlerinde kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu; bu durumun hücreyi hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif hasara daha yatkın hale getirdiğini ileri sürmektedirler.

Bu çalışmada vitiligolu hasta grubunda antioksidan sistemin bir bileşeni olarak kabul edilen ve organizmanın bir anlamda antioksidan kapasitesinin göstergesi olan TT miktarında kontrol grubuna göre azalma olduğu saptanmıştır. Literatürde (PubMed) vitiligolu hasta grubunda TT düzeylerinin değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır. Park ve diğ. (2007) yaptıkları hücre kültürü çalışmasında önemli bir tiol kaynağı olan GSH'ın vitiligo patagenezinden sorumlu tutulan dopamin kaynaklı oksidatif toksisiteye karşı melonositleri koruduğunu saptamışlardır. GSH ve redoks potansiyelinin bir göstergesi olarak kullanılan GSG/GSSG oranının vitiligo hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunması bizim çalışma sonuçları ile uyum göstermektedir. (Briganti ve diğ. 2012). Tiol grupları doğrudan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırdığı gibi özellikle antioksidan enzimlerden GSH-Px'in kosubstratı olarak hidrojen peroksit ve lipit peroksitlerin detoksifiye edilmesinde de

önemli rol oynamaktadırlar. Sin ve diğ. (2010) vitiligolu hasta eritrositlerinde önemli bir tiol grubu taşıyıcısı olan GSH düzeyini kontrol grubundan düşük saptamışlardır. Arican ve Kurutas (2008) yaptıkları çalışmada okside glutatyonun redüksiyonunda gerekli olan NADPH'ın üretimini sağlayan glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitesinde anlamlı bir azalma saptadıklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Farahi-Jahromy ve diğ. (2014) hem yaygın hemde segmente vitiligolu hastaların eritrosit G6PD aktivitesini kontrol grubuna göre düşük saptamışlardır. Yıldırım ve diğ. (2003) ise yaptıkları çalışmada hem bizim hem de diğer araştırmacıların sonuçları ile uyum göstermeyen bir sonuç elde etmişler; hem vitiligolu hasta serum GSH düzeyini hem de eritrosit GSH-PX aktivitesini kontrol grubuna göre yüksek saptamışlardır. Bazı çalışmalarda da proteinlerin oksidasyona en duyarlı rezidüsü olan ve önemli bir sülfidril grup kaynağı olan metiyonin okside formunu redükte ederek tekrar ROT bileşiklerinin detoksifiye edilmesi için fonksiyonel özellik kazanmasını sağlayan metiyonin sülfoksit redüktaz aktivitesini vitiligolu hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır. (Zhou ve diğ. 2009, Schallreuter ve diğ. 2008).

Bu çalışmada vitiligolu hasta serum NO düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. NO, L-Arjinin aminoasitinden nitrik oksit sentaz enziminin katalizi ile sentezlenen sitotoksik özelliğe sahip bir mediatördür. İnflamatuar hücrelerde ve Langerhans hücrelerinde sentez edilen ve çok yüksek difüzyon kapasitesine sahip olan NO'nun melanositleri etkileme potansiyeli bulunmaktadır. Aşırı miktarda üretilen NO'nun melnosit toksisitesine neden olabileceği ve melonositlerin hücre dışı matrikse tutunmasını engelleyerek melonosit kaybına neden olabileceği ileri sürülmektedir. (Luga ve diğ. 2004, Ivanova ve diğ. 1997). Rashed ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada vitiligolu hasta serum örneklerinde nitrat düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptadıklarını, vitiligo klinik tipleri arasında ise serum nitrat düzeylerinin benzer olduğunu, aralarında fark saptanmadığını bildirmişlerdir. Baysal ve diğ. (2003) vitiligolu hasta serum örneklerinde NO düzeyini yüksek saptarken, vitiligolu hasta ile sağlıklı kişilerin doku NO düzeyleri arasında anlamlı fark saptayamadıklarını (Baysal ve diğ. 2004) bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, nitrik oksitin vitiligo patofizyolojisinde, tetikleyici bir biyomolekül olarak çok önemli rol oynayabilir.

ÜA, pürin katabolizmasının son ürünü ve antioksidan kapasiteye sahip olan bir metabolittir. Bu çalışmada vitiligolu hasta grubu serum ÜA düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır. Literatürde bizim sonuçla uyum gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Jain ve diğ. (2008) 11-20 yaş arası vitiligolu hasta grubunda serum ÜA düzeyini sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük saptamışlardır. Bu çalışmada pürin katabolizması enzimlerinden hem ADA hem de XO aktivitesinin artmış olmasına rağmen serum ÜA düzeyinde vitiligolu hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük saptanması bir çelişki gibi görülmektedir. Bu durum, XO aktivitesi ile sentezlenen hidrojen peroksitin ürik asiti okside etmiş olması ile açıklanabilir. Nitekim Shalhaf ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada vitiligolu hasta doku örneklerinde yaptıkları çalışmada XO aktivitesi sırasında üretimi artan hidrojen peroksitin ürik asiti allantoinine okside ettiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada KAT negatif grupta ÜA oluşum hızının zamana bağlı olarak düşüş gösterdiğini, KAT pozitif grupta ise ÜA oluşumunun zamana bağlı olarak arttığını saptamışlardır.

Sonuç olarak, vitiligolu hasta grubunda proteinlerin oksidasyonun bir göstergesi olarak kullanılan PK ve İOPÜ değerlerinin kontrol grubundan yüksek saptanırken, antioksidan sistemin bir bileşeni olan TT düzeyindeki azalma hastalığın patagonezinde oksidatif stresin etkili olduğunu, ADA aktivitesindeki artışın hastalığın immünolojik temelinde önemli rol oynadığını, hastalığın patagonezinde etkili bir faktör olan hidrojen peroksitin en önemli kaynağı olan XO inhibitörlerinin tedavide etkili olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Vitiligolu hasta grubu serum XO aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı. XO aktivitesindeki yükseklik oksidan ortamın oluşmasına dolayısı ile oksidatif stres ile birlikte inflamasyonun gelişmesinde önemli rol oynayabilir.
2. Vitiligolu hastalarda ADA aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek saptandı. ADA aktivitesindeki yükseklik vitiligolu hastalarda gözlenen immünolojik değişikliklerden sorumlu olabilir.
3. Vitiligolu hastalarda serum ÜA düzeyinin kontrol grubuna göre düşük saptandı.
4. Vitiligolu hastalarda serum NO düzeyi kontrol grubuna göre yüksek saptandı.
5. Vitiligolu hastalarda serum KP düzeyi kontrol grubuna göre yüksek saptandı.
6. Vitiligolu hastalarda serum İOPÜ düzeyi kontrol grubuna göre yüksek saptandı.
7. Vitiligolu hastalarda serum TT düzeyi kontrol grubuna göre düşük saptandı.
8. XO inhibitörleri vitiligo tedavisinde bir seçenek olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- AGRAWAL, S., KUMAR, A., DHALÍ, T.K., MAJHÍ, S.K. 2014. Comparison of oxidant-antioxidant status in patients with vitiligo and healthy population. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*. 12(46):132-6.
- AKOGLU, G., EMRE, S., METİN, A., AKBAS, A., YORULMAZ, A., İSİKOGLU, S., SENER, S., KİLİNC, F. 2013. Evaluation of total oxidant and antioxidant status in localized and generalized vitiligo. *Clin Exp Dermatol*. 38(7):701-6.
- AKYOL, O., GOKBULUT, I., KOKSAL, N., AKIN, H., OZYURT, H., YILDIRIM, Z. 2001. The activities of purine catabolizing enzymes in plasma and bronchial washing fluid in patients with lung cancer and pneumonia. *Clin. Biochem*. 34. 251–254.
- AL'ABADIE, M.S., SENIOR, H.J., BLEEHEN, S.S., GAWKRODGER, D.J. 1994. Neuropeptide and neuronal marker studies in vitiligo. *Br J Dermatol*. 131: 160-165.
- ALBERTS, D., RANGER- MOORE, J., EINSPAHR, J. 2004. Safety and efficacy of dose-intensive oral vitamin A in subjects with sun-damaged skin. *Clinical Cancer Research*. 1875-1880.
- AL-KHALIDI, U.A.S., NASRALLAH, S., KHACHADURIAN, A.K., SHAMMAA, M.H. 1965. A sensitive method for the determination of xanthine oxidase activity, *Clin. Chim. Acta* 11. 72–77.
- ANTONIOU, C., SCHULPIS, H., MICHAS, T., KATSAMBAS, A., FRAJIS, N., TSAGARAKI, S., STRATIGOS, J. 1989. Vitiligo therapy with oral and topical phenylalanine with UVA exposure. *Int J Dermatol*. 28(8):545–7.
- APASOV, S.G, BLACKBURN, M.R., KELLEMS, R.E., SMITH, P.T., SITKOVSKY, M.V. 2001. Adenosine deaminase deficiency increases thymic apoptosis and causes defective T cell receptor signaling. *The Journal of Clinical Investigation* 108 (1):131-141.
- ARDAN, T., KOVACEVA, J., CEJKOVÁ, J. 2004. Comparative histochemical and immunohistochemical study on xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in mammalian corneal epithelium. *Acta Histochem* 106 (1): 69–75.
- ARİCAN, O, KURUTAS, E.B. 2008. Oxidative stress in the blood of patients with active localized vitiligo. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 17(1):12-6.
- BATTELLI, M.G., MUSIANI, S., VALGIMIGLI, M., GRAMANTIERI, L., TOMASSONI, F., BOLONDI, L., STIRPE, F. 2001. Serum xanthine oxidase in human liver disease, *Am. J. Gastroenterol*. 96. 1194–1199.
- BATTELLI, M.G., BUONAMICI, L., ABBONDANZA, A., VIRGILI, M., CONTESTABILE, A., STIRPE, F. 1995. Excitotoxic increase of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase in the rat olfactory cortex. *Dev. Brain Res*. 86. 340–344.
- BİROL, A., KISA, U., KURTİPEK, G.S., KARA, F., KOCAK, M., ERKEK, E., CAGLAYAN, O., 2006. Increased tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 1 alpha (IL1- α) levels in the lesional skin of patients with nonsegmental vitiligo. *International Journal of Dermatology*, vol. 45, no. 8, pp. 992–993.
- BLACKBURN, M.R., KELLEMS, R.E. 2005. Adenosine deaminase deficiency: metabolic basis of immune deficiency and pulmonary inflammation. *Advances in Immunology*. 86: 1–41.
- BORLU M. 2009. Vitiligo etyopatogenezi. Türkiye Klinikleri. *Journal of Dermatology- Special Topics*. 2(1): 1-7.
- BOÏSSEAU-GARSAUD, A.M., GARSAUD, P., LEJOLY-BOÏSSEAU, H., ROBERT, M., QUÏST, D., ARVEÏLER, B. 2002. Increase in total blood antioxidant status and selenium levels in black patients with active vitiligo. *Int J Dermatol*. 41(10):640-2.
- BOISSY, R.E., LIU, Y.Y., MEDRANO, E.E., NORDLUND, J.J. 1991. Structural aberration of the rough endoplasmic reticulum and melanosome compartmentalization in long-term cultures of melanocytes from vitiligo patients. *J Invest Dermatol*. 97: 395-404.

- BOUMA, M.G., VAN DEN WILDENBERG, F.A., BUURMAN, W.A. 1996. Adenosine inhibits cytokine release and expression of adhesion molecules by activated human endothelial cells. *Am J Physiol.* 270(2 Pt 1):C522-9
- BOWERS, R.R., NGUYEN, B., BUCKNER, S., GONZALEZ, Y., RUIZ, F. 1999. Role of antioxidants in the survival of normal and vitiliginous avian melanocytes. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 45(7):1065-74.
- BRANDON, C., NADA, E., EUPHEMIA, M., SETH, O. 2015. Alternative Systemic Treatments for Vitiligo: A Review . *Am J Clin Dermatol*. DOI 10.1007/s40257-015-0153-5.
- BREUSING, N., GRUNE, T. 2010. Biomarkers of protein oxidation from a chemical, biological and medical point of view. *Exp Gerontol.* 45:733-737.
- BRIGANTI, S., CARON-SCHREINEMACHERS, A.L., PICARDO, M., WESTERHOF, W. 2012. Anti-oxidant defence mechanism in vitiliginous skin increases with skin type. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 26(10):1212-9.
- CAKATAY, U., KAYALI, R., UZUN, H. 2008. Relation of plasma protein oxidation parameters and paraoxonase activity in the ageing population. *Clin Exp Med.* 8:51-57.
- CHALA, R. K., SETH, R. K., RAJ, B., SAİNĪ, A. S. 1991. Adenosine deaminase levels in cerebrospinalfluid of patients with confirmed tuberculosis and bacterial meningitis. *Tubercles* 72:190±192.
- CHOI, C.W., CHANG, S.E., BAK, H., CHOI, J.H., PARK, H.S., HUH, C.H., KIM, C.W., KIM, S.E., MUN, S.K., KIM, B.J., KIM, M.N. 2008. *J Dermatol.* 35(8):503-7.
- CHU, E.C.Y. 2015. Treatment of vitiligo: medical treatment, phototherapy and surgical treatment. *J.Dermatol Venereol* 23. 113-117.
- CHALA, R. K., SETH, R. K., RAJ, B., SAİNĪ, A. S. 1991. Adenosine deaminase levels in cerebrospinalfluid of patients with confirmed tuberculosis and bacterial meningitis. *Tubercles* 72:190±192.
- CORTAS, N.K., WAKĪD, N.W. 1990. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 36:1440-1443.
- COSIĆ, V., ANTIĆ, S., PESIĆ, M., JOVANOVIĆ, O., KUNDALIĆ, S., DJORDJEVIĆ, V.B. 2001. Monotherapy with metformin: does it improve hypoxia in type 2 diabetic patients? *Clin. Chem. Lab. Med.* 39. 818–821.
- CRISTALLI, G., COSTANZI, S., LAMBERTUCCI, C., LUPIDI, G., VITTORI, S., VOLPINI, R., CAMAIONI, E. 2001. Adenosine deaminase: Functional implications and different classes of inhibitors. *Med. Res. Rev.* 21: 105–128.
- CUCCHI, M.L., FRATTINI, P., SANTAGOSTINO, G., ORECCHIA, G. 2000. Higher plasma catecholamine and metabolite levels in the early phase of nonsegmental vitiligo. *Pigment Cell Res.* 13(1):28-32.
- DALLE-DONNE, I., ROSSI, R., GIUSTARINI, D., MILZANI, A., 2003. Colombo Evaluation of Oxidative Stress in Vitiligo Vol. 27, No. 2, 2015 183 R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta.* 329:23-38.
- DAMMAK, I., BOUDAYA, S., BEN ABDALLAH, F., TURKĪ, H., ATTĪA, H., HENTATĪ, B. 2009. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation at the tissue level in patients with stable and active vitiligo. *Int J Dermatol.* 48(5):476-80.
- DELL'ANNA, M.L., MARESCA, V., BRIGANTI, S., CAMERA, E., FALCHĪ, M., PICARDO, M. 2001. Mitochondrial impairment in peripheral blood mononuclear cells during the active phase of vitiligo. *J Invest Dermatol.* 117(4):908-13.
- DELL'ANNA, M.L., URBANELLI, S., MASTROFRANCESCO, A., CAMERA, E., IACOVELLI, P., LEONE, G., MANINI, P., D'ISCHIA, M., PICARDO, M. 2003. Alterations of

- mitochondria in peripheral blood mononuclear cells of vitiligo patients. *Pigment Cell Res.* 16:553–9. 4.
- DERVİŞ, E. 2011. Oral Antioksidanlar. *Dermatoz.* 2(1) 263-267.
- DIMARCO, T., GIULIVI, C. 2007. Department of Molecular Biosciences, University of California, Davis, USA. *Mass Spectrom Rev.* 26(1):108-20.
- DWIVEDI, M., KEMP, E.H., LADDHA, N.C., MANSURI, M.S., WEETMAN, A.P., BEGUM, R. 2015. Regulatory T cells in vitiligo: implications for pathogenesis and therapeutics. *Autoimmunity Reviews*, vol. 14, no. 1, pp. 49–56.
- DWIVEDI, M., LADDHA, N.C., ARORA, P., MARFATIA, Y.S., BEGUM, R. 2013. Decreased regulatory T-cells and CD4+/CD8+ ratio correlate with disease onset and progression in patients with generalized vitiligo. *Pigment Cell & Melanoma Research*, vol.26, no. 4, pp. 586–591.
- ESKANDANİ, M., GOLCHAİ, J., PİROOZNİA, N., HASANNİA, S. 2010. Oxidative stress level and tyrosinase activity in vitiligo patients. *Indian J Dermatol.* 55(1):15-9.
- EZZEDINE K., DIALLO, A., LÉAUTÉ-LABRÈZE, C., MOSSALAYI, D., GAUTHIER, Y., BOUCHTNEI, S., CARIO-ANDRÉ, M., SENESCHAL, J., BORALEVI, F., JOUARY, T., TAIEB, A. 2011. Multivariate analysis of factors associated with early-onset segmental and nonsegmental vitiligo: a prospective observational study of 213 patients. *Br J Dermatol.*
- EZZEDINE, K., LIM, H. W., SUZUKI, T., KATAYAMA, I., HAMZAVI, I., LAN, C. C. E., GOH, B. K., ANBAR, T., SILVA DE CASTRO, C., LEE, A. Y., PARSAD, D., VAN GEEL, N., LE POOLE, I. C., OISO, N., BENZEKRI, L., SPRITZ, R., GAUTHIER, Y., HANN, S. K., PICARDO, M., TAIEB, A. 2012. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference.
- FARAHİ-JAHROMY A, FALLAHZADEH MK, ASHKANİ-ESFAHANİ S, HAMİDİZADEH N, GHAVİPİSHEH M, NAMAZİ MR. 2014. Decreased glucose-6-phosphate dehydrogenase levels in vitiligo patients: Further evidence of oxidative stress. *Adv Biomed Res.* 9;3:34.
- FUSCO, D., COLLOCA, G., LO MONACO, M.R., CESARI, M. 2007. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clinical Interventions in Aging.* 2(3): 377-87.
- GHADA, F.M., GOMAA, A.H., AL-DHUBAIBI, M.S. 2015. Highlights in pathogenesis of vitiligo. *World J Clin Cases.*
- GHADA, F., MOHAMMED AMAL, H.A., AL-DHUBAIBI, G.M.S. 2015. *World J Clin Cases* 3(3): 221-230.
- GİOVANNELLİ, L., BELLANDİ, S., PİTOZZİ, V., FABBRİ, P., DOLARA, P., MORETTİ, S. 2004. Increased oxidative DNA damage in mononuclear leukocytes in vitiligo. *Mutat Res.* 556(1-2):101-6.
- GLASSMAN, S.J. 2011. Vitiligo, reactive oxygen species and T-cells. *Clin Sci (Lond).* 120(3):99-120.
- GUPTA, G., GUPTA, N., SINGH, V. 2002. Efficacy of homoeopathic drugs in cases of leucoderma: A clinical study. *The Homoeopathic Heritage.*
- GÜNTAŞ, G., ENGİN, B., EKMEKÇİ, Ö.B., KUTLUBAY, Z., EKMEKÇİ, H., SONGÜR, A., UZUNÇAKMAK, T.K., VEHİD, H.E., SERDAROĞLU, S., TÜZÜN, Y., UZUN, H. 2015. Evaluation of advanced oxidation protein products, prooxidant-antioxidant balance, and total antioxidant capacity in untreated vitiligo patients. *Ann Dermatol.* 27(2):178-83.
- HADI, S.M., SPENCER, J.M., LEBWOHL, M. 2004. The use of the 308 nm excimer laser for the treatment of vitiligo. *Dermatol Surg.* 30:983-6.

- HANN, S.K. 2000. Autocytotoxic hypothesis for the destruction of melanocytes as the cause of vitiligo. In: Hann SK, Nordlund JJ (eds) Blackwell, *Oxford*. pp 137-41.
- HARNING, R., CUI, J., BYSTRYN, J.C. 1991. Relation between the incidence and level of pigment cell antibodies and disease activity in vitiligo. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 97, no. 6, pp. 1078-1080.
- HARRISON, R. 2002. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic. Biol. Med.* 33 (6): 774-97.
- HASSE, S., GIBBONS, N.C.J., ROKOS, H., MARLES, L.K., SCHALLREUTER, K.U. 2004. Perturbed 6-tetrahydrobiopterin recycling via decreased dihydropteridine reductase in vitiligo: more evidence for H₂O₂ stress. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 122, no. 2, pp. 307-313.
- HAZNECİ, E., KARABULUT, A.B., OZTÜRK, C., BATÇIOĞLU, K., DOĞAN, G., KARACA, S., EŞREFOĞLU, M. 2005. A comparative study of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities and nitrate levels in vitiligo patients. *Int J Dermatol.* 44(8):636-40.
- HAZNECİ, E. 2002. Vitiligo tedavisinde yenilikler. *XIX Ulusal Dermatoloji Kongresi Kitabı*. İstanbul, Ege Reklamcılık, 235-250.
- HILLE, R. 2005. Molybdenum-containing hydroxylases. *Arch. Biochem. Biophys.* 433 (1): 107-16.
- INES, D., SONİA, B., RİADH, B.M., AMEL, E.L.G., SLAHEDDİNE, M., HAMİDA, T., HAMADİ, A., BASMA, H. 2006. A comparative study of oxidant-antioxidant status in stable and active vitiligopatients. *Arch Dermatol Res.* 298(4):147-52.
- IUGA, A.O., QURESHİ, A.A., LERNER, E.A. 2004. Nitric oxide is toxic to melanocytes in vitro. *Pigment Cell Res.* 17(3):302-6.
- IVANOVA, K., LE POOLE, I.C., GERZER, R., WESTERHOF, W., DAS, P.K. 1997. Effect of nitric oxide on the adhesion of human melanocytes to extracellular matrix components. *J Pathol.* 183(4):469-76.
- JAIN, D., MİSRA, R., KUMAR, A., JAİSWAL, G. 2008. Levels of malondialdehyde and antioxidants in the blood of patients with vitiligo of age group 11-20 years. *Indian J Physiol Pharmacol.* 52(3):297-301.
- JAIN, A., MAL, J., MEHNDIRATTA, V., CHANDER, R., PATRA, S.K. 2011. Study of oxidative stress in vitiligo. *Indian J Clin Biochem.* 26(1):78-81.
- JALEL, A., YASSINE, M., HAMDAR, M.H. 2009. Oxidative stress in experimental vitiligo C57BL/6 mice. *Indian J Dermatol.* 54(3):221-4.
- JIAN, Z., LI, K., SONG, P., ZHU, G., ZHU, L., CUI, T., LIU, B., TANG, L., WANG, X., WANG, G., GAO, T., LI, C. 2014. Impaired activation of the Nrf2-ARE signaling pathway undermines H₂O₂-induced oxidative stress response: a possible mechanism for melanocyte degeneration in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 134(8):2221-30.
- KARSLI, N., AKCALI, C., OZGOZTASI, O., KİRTAK, N., INALUZ, S. 2014. Role of oxidative stress in the pathogenesis of vitiligo with special emphasis on the antioxidant action of narrowband ultraviolet B phototherapy. *J Int Med Res.* 42(3):799-805.
- KEMP, E.H., GAWKRODGER, D. J., WATSON, P. F., WEETMAN, A. P. 1998. Autoantibodies to human melanocyte-specific protein Pmel17 in the sera of vitiligo patients: a sensitive and quantitative radioimmunoassay (RIA). *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 114, no. 3, pp. 333-338.
- KEMP, E.H., WATERMAN, E.A., HAWES, B.E., O'NEILL, K., GOTTUMUKKALA, V.S.R.K., GAWKRODGER, D.J., WEETMAN, A.P., WATSON, P.F. 2002. The melanin-concentrating

- hormone receptor 1, a novel target of autoantibody responses in vitiligo. *Journal of Clinical Investigation*, vol. 109, no. 7, pp. 923–930.
- KHAN, R., SATYAM, A., GUPTA, S., SHARMA, V.K., SHARMA, A. 2009. Circulatory levels of antioxidants and lipid peroxidation in Indian patients with generalized and localized vitiligo. *Arch Dermatol Res*. 301(10):731-7.
- KOBAYASHI, F., IKEDA, T., MARUMO, F., SATO, C. 1993. Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease. *Am J Gastroenterol*. 88(2):266-71.
- KOCA, R., ARMUTCU, F., ALTINYAZAR, H.C., GÜREL, A. Oxidant-antioxidant enzymes and lipid peroxidation in generalized vitiligo. *Clin Exp Dermatol*. 2004 Jul;29(4):406-9.
- KOGA, M., TANGO, T. 1988. Clinical features and course of type A and type B vitiligo. *Br J Dermatol*. 118: 223-228.
- KOIZUMI, H., LIZUKA, H., AOYAGI, T., MIURA, Y. 1983. Adenosine deaminase in human epidermis from healthy and psoriatic subjects. *Arch Dermatol Res*. 275:310±314.
- KOIZUMI, H., LIZUKA, H., AOYAGI, T., MIURA, Y. 1985. Characterization of adenosine deaminase from normal human epidermis and squamous cell carcinoma in the skin. *J Invest Dermatol*. 84:199-202.
- KOPFF, M., ZAKRZEWSKA, I., CZERMICKI, J., KLEM, J., STRZELCYK, M. 1993. Red blood cell adenosine deaminase activity in multiple sclerosis. *Clin Chim Acta*. 214:97-101.
- KOSTOPOULOU, P., JOUARY, T., QUINTARD, B., EZZEDINE, K., MARQUES, S., BOUTCHNEI, S., TAIEB, A. 2009. Objective vs. subjective factors in the psychological impact of vitiligo: the experience from a French referral centre. *Br J Dermatol*. 161(1):128–33..
- KOVACS, S.O. 1998. *Vitiligo*. *J Am Acad Dermatol*; 38: 647-666.
- KUPPUSAMY, U.R., INDRAN, M., ROKIAH, P. 2005. Glycaemic control in relation to xanthine oxidase and antioxidant indices in Malaysian Type 2 diabetes patients, *Diabet. Med*. 22. 1343–1346.
- MAHAJAN M, TIWARI N, SHARMA R, KAUR S, SINGH N. 2013. Oxidative stress and its relationship with adenosine deaminase activity in various stages of breast cancer. *Indian J Clin Biochem*. 28(1):51-4.
- MANOLACHE, L., BENEVA, V. 2007. Stress in patients with alopecia areata and vitiligo. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 21: 921-928.
- MCMANNAN, J. L., BAIN, D. L. 2002. Structural and conformational analysis of the oxidase to dehydrogenase conversion of xanthine oxidoreductase. *J. Biolog. Chem*. 14: 21261–21268
- MOSHER, D.B., FITZPATRICK, T.B. 1999. Hypomelanoses and hypermelanoses. In: Fitzpatrick's *Dermatology in General Medicine*, 5th edn, Vol. 1. New York: *McGraw-Hill* 945–1017.
- LAZAROVA, R., HRISTAKIEVA, E., LAZAROV, N., SHANI, J. 2000. Vitiligo-related neuropeptides in nerve fibers of the skin. *Arch Physiol Biochem*. 108: 262-267.
- LEBWOHL, M., HEYMANN, W.R., BERTH-JONES, J., Coulson I. 2002. *Treatment of Skin Disease*. London, Mosby, 653-657.
- LE POOLE, I.C., LUITEN, R.M. 2008. Autoimmune etiology of generalized vitiligo. *Current Directions in Autoimmunity*, vol.10, pp. 227–243.
- LEE, A.Y., KIM, N.H., CHOI, W.I., YOUM, Y.H. 2005. Less keratinocyte-derived factors related to more keratinocyte apoptosis in depigmented than normally pigmented suction-blistered epidermis may cause passive melanocyte death in vitiligo. *J Invest Dermatol*. 124: 976-983.
- LERNER, A.B. 1959. Vitiligo. *J Invest Dermatol*. 32: 285-310.
- LILI, Y., YI, W., JI, Y., YUE, S., WEIMIN, S., MING, L. 2012. Global activation of CD8+ cytotoxic T lymphocytes correlates with an impairment in regulatory T cells in patients with generalized Vitiligo. *PLoS ONE*, vol. 7, no. 5, Article ID e37513.

- MALİNSKÍ T, TAHA Z. Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic-based microsensor. *Nature* 1992; 358: 676-678.
- MARESCA, V., ROCCELLA, M., ROCCELLA, F., CAMERA, E., DEL PORTO, G., PASSI, S., GRAMMATICO, P., PICARDO, M. 1997. Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenetic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 109:310–313..
- MEDRANO, E.E., NORDLUND, J.J. 1990. Successful culture of adult melanocytes obtained from normal and vitiligo donors. *J Invest Dermatol.* 95: 441-5.
- MCHALE, A., GRIMES, H., COUGHLAN, M.P. 1979. Human serum xanthine oxidase: fluorometric assay applicable to the investigation of liver disorders. *Int. J. Biochem.* 10. 317–319.
- MIESEL, R., ZUBER, M. 1993. Elevated levels of xanthine oxidase in serum of patients with inflammatory and autoimmune rheumatic diseases. *Inflammation* 17. 551–56.
- MILLINGTON, G.W., LEVELL, N.J. 2007. Vitiligo: the historical curse of depigmentation. *Int J Dermatol.* 46(9):990-5.
- MILLS, G.C. 1957. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 229: 189–197.
- MORIWAKI, Y., YAMAMOTO, T., HIGASHINO, K. 1999. Enzymes involved in purine metabolism a review of histochemical localization and functional implications. *Histol Histopathol.* 14(4):1321-40.
- MUELLER, A.R., PLATZ, K.P., LANGREHR, J.M., HOFFMAN, R.A., NUSSLER, A.K., NALESNÍK, M., BÍLLIAR, T.R., SCHRAUT, W.H. 1994. The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. *Transplantation.* 58: 1309-1316.
- NORDLUND, J.J., LERNER, A.V. 1982. Vitiligo. It is important. *Arch Dermatol.* 118:5-8.
- NORRIS, A., TODD, C., GRAHAM, A., QUINN, A.G., THODY, A.J. 1996. The expression of the c-kit receptor by epidermal melanocytes may be reduced in vitiligo. *Br J Dermatol.* 134: 299-306.
- OKAMOTO, T., IRIE, R. F., FUJII, S. 1998. Anti-tyrosinase-related protein-2 immune response in vitiligo patients and melanoma patients receiving active-specific immunotherapy. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 111, no. 6, pp. 1034–1039.
- ORTONNE, J.P., BAHADORAN, P., FITZPATRICK, T.B. 2003. Hypomelanoses and hypermelanoses. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. McGraw-Hill.* 836-881.
- ORTONNE, J.P., MOSHER, D.B., FITZPATRICK, T.B. 1983. *Vitiligo and Other Hypomelanoses of Hair and Skin.* London: WB Saunders, 260-286.
- ÖZDEMİR, Ş. 2009. Vitiligonun kliniği. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology- Special Topics ;* 2(1): 1-7.
- OZEL TURKCU, U., TEKİN, N.S., EDGUNLU, T.G., KARAKAS, S.C., ONER, S. 2014. The association of Foxo3a gene polymorphisms with serum Foxo3a levels and oxidative stress markers in vitiligo patients. *Gene.* 536(1):129-34.
- PAGE, S., POWELL, D., BENBOUBETRA, M., STEVENS, C. R., BLAKE, D. R., SELASE, F., WOLSTENHOLME, A. J., HARRISON, R. 1998. Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial cells: activation in response to inflammatory cytokines. *Biochimica et Biophysica Acta,* 2:191-202
- PARK, E.S., KİM, S.Y., NA, J.I., RYU, H.S., YOUN, S.W., KİM, D.S., YUN, H.Y., PARK, K.C. 2007. Glutathione prevented dopamine-induced apoptosis of melanocytes and its signaling. *J Dermatol Sci.* 47(2):141-9.

- PETERS, E.M., HANDJISKI, B., KUHLMEI, A., HAGEN, E., BIELAS, H., BRAUN, A., KLAPP, B.F., PAUS, R., ARCK, P.C. 2004. Neurogenic inflammation in stress-induced termination of murine hair growth is promoted by nerve growth factor. *Am J Pathol.* 165: 259-271.
- PINNELL, S.R. 2003. Cutaneous photodamage oxidative stress and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol* 48:1-19
- PRADHAN, R., DE, S., CHOUDHARY, N., MUKHERJEE, S., CHATTERJEE, G., GHOSH, A., CHATTERJEE, M., CHATTERJEE, S. 2014. Can systemically generated reactive oxygen species help to monitor disease activity in generalized vitiligo? A pilot study. *Indian J Dermatol.* 59(6):547-51.
- PRASAD, T., KUNDU, M.S. 1995. Serum IgG and IgM responses to sheep red blood cells (SRBC) in weaned calves fed milk supplemented with Zn and Cu. *Nutrition.* 11:712-5.
- PODDA, M., GRUNDMANN-KOLLMANN, M. 2001. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology.* 26: 578-582.
- PRIGNANO, F., PESCIPELLI, L., BECATTI, M., DI GENNARO, P., FIORILLO, C., TADDEI, N., LOTTI, T. 2009. Ultrastructural and functional alterations of mitochondria in perilesional vitiligo skin. *J Dermatol Sci.* 54(3):157-67.
- RAMADAN, R., TAWDY, A., ABDEL HAY, R., RASHED, L., TAWFIK, D. 2013. The antioxidant role of paraoxonase 1 and vitamin E in three autoimmune diseases. *Skin Pharmacol Physiol.* 26(1):2-7.
- RAMBOER, C., PIESSENS, F., DE GROOTE, J. 1972. Serum xanthine oxidase and liver disease. *Digestion* 7. 183-195.
- RASHED, L., ABDEL HAY, R., MAHMOUD, R., HASAN, N., ZAHRA, A., FAYEZ, S. 2015. Association of Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Gene Polymorphism with Inflammation and Cellular Cytotoxicity in Vitiligo Patients. *PLoS One.* 10(7):e0132915.
- RATEB, A.A.H, AZZAM, O.A., RASHED, L.A., EL-GUINDY, N.M., EL-DIN, M.S. 2005. The role of nerve growth factor in the pathogenesis of vitiligo. *JEWDS* 1: 18-24.
- SAHA, N., AHMED, M.A., WASFI, A.I., EL MUNSHID, H.A. 1982. Distribution of serum proteins, red cell enzymes and hemoglobin in vitiligo. *Hum Hered.* 32:46-8.
- SALEM, M.M., SHALBAF, M., GIBBONS, N.C., CHAVAN, B., THORNTON, J.M., SCHALLREUTER, K.U. 2009. Enhanced DNA binding capacity on up-regulated epidermal wild-type p53 in vitiligo by H₂O₂-mediated oxidation: a possible repair mechanism for DNA damage. *FASEB J.* 23(11):3790-807.
- SALVATORE, D., CLAUDIO, M. M., ANNA, P. M. 1987. Adenosine deaminase activity and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Chem.* 33:1675-1682.
- SARNESTO, A., LINDER, N., RAIVIO, K.O. 1996. Organ distribution and molecular forms of human xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase protein, *Lab. Invest.* 74 . 48-56.
- SAYRAK, F., DERİN, T., KUTLAR, M. 1995. Vitiligo, lichen sclerosus et atrophicus ve lipomatosis' in birlikte görüldüğü bir olgu. *XII. Prof. Dr. A. Lütfü Tat Simpozyum Kitabı*, Ankara, Ayrıntı Ofset, 108-109.
- SEDLAK, J., LINDSAY, R.H. 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 25(1):192-205.
- SEGURA, R. M., PASCUAL, C., OCANA, Y. MARTÍNEZ – VÁZQUEZ, J.M., RIBERA, E., RUIZ, I., PELEGRÍ, MD. 1989. Adenosine deaminase in body fluids: a useful diagnostic tool in tuberculosis. *Clin Biochem.* 22:141-148.
- SEHGAL, V.N, SRIVASTAVA, G. 2006. Vitiligo treatment options: an evolving scenario. *J Dermatolog Treat,* 17(5): 262-275.

- SEHGAL, V., SRIVASTAVA, G. 2007. Vitiligo: Compendium of clinico-epidemiological features. Page: 149-156.
- SCHALLREUTER, K.U., GIBBONS, N.C.J., ZOTHNER, C., ABOU ELLOOF, M.M., WOOD, J.M. 2007. Hydrogen peroxide-mediated oxidative stress disrupts calcium binding on calmodulin: more evidence for oxidative stress in vitiligo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 360, no. 1, pp. 70–75.
- SCHALLREUTER, K.U., MOORE, J., WOOD, J.M. 1999. 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. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 4, 91–96.
- SCHALLREUTER, K.U., RÜBSAM, K., GIBBONS, N.C., MAITLAND, D.J., CHAVAN, B., ZOTHNER, C., ROKOS, H., WOOD, J.M. 2008. Methionine sulfoxide reductases A and B are deactivated by hydrogen peroxide (H₂O₂) in the epidermis of patients with vitiligo. *J. Invest. Dermatol.* 128(4):808-15.
- SCHALLREUTER, K.U., WOOD, J.M., PITTELKOW, M.R., GUTLICH, M., LEMKE, K., RODL, W. 1994. Regulation of melanin biosynthesis in the human epidermis by tetrahydrobiopterin. *Science*. 263:1444–6.
- SCHALLREUTER, K.U., MOORE, J., WOOD, J.M., BEAZLEY, W.D., GAZE, D.C., TOBIN, D.J., MARSHALL, H.S., PANSKE, A., PANZIG, E., HIBBERTS, N.A. 1999. 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. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 4(1):91-6.
- SCHALLREUTER, K.U., WOOD, J.M., BERGER, J. 1991. Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 97, no. 6, pp. 1081–1085.
- SCHALLREUTER, K.U., WOOD, J.M., ZIEGLER, I., LEMKE, K.R., PITTELKOW, M.R., LINDSEY, N.J., GUTLICH, M. 1994. Defective tetrahydrobiopterin and catecholamine biosynthesis in the depigmentation disorder vitiligo. *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1226, no. 2, pp. 181–192.
- SCHALLREUTER, K.U., WOOD, J.M., ZIEGLER, I., LEMKE, K.R., PITTELKOW, M.R., LINDSEY, N.J., GUTLICH, M. 1994. Defective tetrahydrobiopterin and catecholamine biosynthesis in the depigmentation disorder vitiligo. *Biochim. Biophys. Acta* 1226, 181–192.
- SCHRADER, W.P., POLLARA, B., MEUWISSEN, H.J. 1978. Characterization of the residual adenosine deaminating activity in the spleen of a patient with combined immunodeficiency disease and adenosine deaminase deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 75 (1): 446–50
- SCHRADER, W.P., STACY, A.R. 1977. Purification and subunit structure of adenosine deaminase from human kidney. *The Journal of Biological Chemistry* 252 (18): 6409–6415.
- SCHRODER, K., VECCHIONE, C., JUNG, O., SCHREIBER, J.G., SHIRI-SVERDLOV, R., VAN GORP, P.J., BUSSE, R., BRANDES, R.P. 2006. Xanthine oxidase inhibitor tungsten prevents the development of atherosclerosis in ApoE knockout mice fed a Western-type diet. *Free Radic. Biol. Med.* 41:1353–1360.
- SCHWARTZ, R.A., JANNIGER, C.K. 1997. Vitiligo. *Cutis*. 60(5):239-244.
- SHAJIL, E.M., BEGUM, R. 2006. Antioxidant status of segmental and non-segmental vitiligo. *Pigment Cell Res.* 19:179–80.
- SHALBAF, M., GIBBONS, N.C., WOOD, J.M., MAITLAND, D.J., ROKOS, H., ELWARY, S.M., MARLES, L.K., SCHALLREUTER, K.U. 2008. Presence of epidermal allantoin further supports oxidative stress in vitiligo. *Exp. Dermatol.* 17(9):761-70.
- SHAMMA'A, M.H., NASRALLAH, S.M., AI-KHALIDI, U.A.S. 1973. Serum xanthine oxidase. An experience with 2000 patients. *Am. J. Dig. Dis.* 18 15–22.

- SHELLEY, W.B., OHMAN, S. 1969. Epinephrine induction of white hair in ACI rats. *Journal of Investigative Dermatology*, 53(Suppl. 2):155-158.
- SHIN, J.W., NAM, K.M., CHOI, H.R., HUH, S.Y., KIM, S.W., YOUN, S.W., HUH, C.H., PARK, K.C. 2010. Erythrocyte malondialdehyde and glutathione levels in vitiligo patients. *Ann Dermatol*. 22(3):279-83.
- SPIELVOGEL, R.L., KANTOR, G.R. 1997. Pigmentary disorders of the skin. *Lever's Histopathology of the Skin. Jr B.*, Philadelphia, LippincottRaven,; 619-623.
- SRAVANI PV, BABU NK, GOPAL KV, RAO GR, RAO AR, MOORTHY B, RAO TR. 2009. Determination of oxidative stress in vitiligo by measuring superoxide dismutase and catalase levels in vitiliginous and non-vitiliginous skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 75(3):268-71.
- SUNDE, R.A. 198?. Selenium. In: *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*, vol. 18, pp. 493-556, O'Dell B. L. and Sunde R. A. (eds), Marcel Dekker, New York.
- SZCZURKO, O., BOON, H.S. 2008. A systematic review of natural health product treatment for vitiligo. *BMC Dermatol*. 8:2.
- TAIEB, A., PICARDO, M. 2009. Clinical practice. Vitiligo. *N Engl J Med*. 360(2):160-9.
- THANNICKAL, V.J., HASSOUN, P.M., WHITE, A.C., FANBURG, B.L. 1993. Enhanced rate of H₂O₂ release from bovine pulmonary artery endothelial cells induced by TGF- α 1. *Am J Physiol*. 265:L622-6.
- TOOSI, S., ORLOW, S.J., MANGA, P. 2012. Vitiligo-inducing phenols activate the unfolded protein response in melanocytes resulting in upregulation of IL6 and IL8. *J Invest Dermatol*. 132(11):2601-9.
- TROTTA, P. P., BALIS, E. E. 1982. Characterization of adenosine deaminase from normal colon and colon tumors. Evidence for tumor-specific variant. *Biochemistry*. 17:270-277.
- TRUJILLO, M., ALVAREZ, M. N., PELUFFO, G., FREEMAN, B. A., RADI, R. 1998. Xanthine Oxidase-mediated Decomposition of S-Nitrosothiols. *J Biol Chem*. 273(14): 7828-7834.
- UDA, H., TAKEI, M., MISHIMA, Y. 1984. Immunopathology of vitiligo vulgaris, Sutton's leukoderma and melanoma-associated vitiligo in relation to steroid effects. II. The IgG and C3 deposits in the skin. *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 11, no. 2, pp. 114-124.
- UNGERER, J. P. J., OOSTHUIZEN, H. M., RETIEF, J. H., BISSBORT, S. H. 1994. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. *Chest*. 106:33-37.
- WATTS, R.W., WATTS, J.E., SEEGMILLER, J.E. 1965. Xanthine oxidase activity in human tissues and its inhibition by allopurinol (4-hydroxypyrazolo[3,4-d] pyrimidine), *J. Lab. Clin. Med*. 66. 688-697.
- WEEDON, D. 2002. *Skin Pathology. Disorders of Pigmentation*. Ed. Second Edition, London, Churchill Livingstone; 321-325.
- WOOD, J.M., CHAVAN, B., HAFEEZ, I., SCHALLREUTER, K.U. 2004. Regulation of tyrosinase by tetrahydropteridines and H₂O₂. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 325, no. 4, pp. 1412-1417.
- WU, C.S., YU, H.S., CHANG, H.R., YU, C.L., YU, C.L., WU, B.N. 2000. Cutaneous blood flow and adrenoceptor response increase in segmental-type vitiligo lesions. *J Dermatol Sci*; 23: 53-62 .
- XIAO, B.H., WU, Y., SUN, Y., CHEN, H.D., GAO, X.H. 2015. Treatment of vitiligo with NB-UVB: a systematic review. *J Dermatolog Treat*. 26(4):340-6
- YAMAMOTO, T., MORIWAKI, Y., TAKAHASHI, S., TSUTSUMI, Z., YAMAKITA, J., NASAKO, Y., HIROISHI, K., HIGASHINO, K. 1996. Determination of human plasma xanthine oxidase activity by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B Biomed. Appl*. 681. 395-400.

- YEHUDA, R., BRAND, S., YANG, R.K. 2006. Plasma neuropeptide Y concentrations in combat exposed veterans: relationship to trauma exposure, recovery from PTSD, and coping. *Biol Psychiatry*. 59: 660-663.
- YOHN, J.J., NORRIS, D.A., YRASTORZA, D.G., BUNO, I.J., LEFF, J.A., HAKE, S.S. 1991. Disparate antioxidant enzyme activities in cultured human cutaneous fibroblasts, keratinocytes, and melanocytes. *J Invest Dermatol*. 97: 405-9.
- YAO, L., HU, D.N., CHEN, M., LI, S.S. 2012. Subtoxic levels hydrogen peroxide-induced expression of interleukin-6 by epidermal melanocytes. *Arch Dermatol Res*. 304(10):831-8.
- YESİLOVA, Y., TURAN, E., UCMAK, D., SELEK, S., HALİL YAVUZ, İ., TANRIKULU, O. 2012. Reduced serum paraoxonase-1 levels in vitiligo: further evidence of oxidative stress. *Redox Rep*. 17(5):214-8.
- YİLDİRİM M, BAYSAL V, INALOZ HS, KESİCİ D, DELİBAS N. 2003. The role of oxidants and antioxidants in generalized vitiligo. *J Dermatol*. 30(2):104-8.
- YİLDİRİM, M., BAYSAL, V., INALOZ, H.S., CAN, M. 2004. The role of oxidants and antioxidants in generalized vitiligo at tissue level. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 18(6):683-6.
- YUKSEL, H., AKOGLU, T. F. 1988. Serum and synovial fluid adenosine deaminase activity in patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis*. 47:492-495.
- ZAVIALOV, A.V., ENGSTRÖM, A. 2005. Human ada2 belongs to a new family of growth factors with adenosine deaminase activity. *The Biochemical Journal* 391 (pt 1): 51-57.
- ZHANG, Z.W., WANG, Q.H., ZHANG, J.L., LI, S., WANG, X.L., XU, S.W. 2012. Effects of oxidative stress on immunosuppression induced by selenium deficiency in chickens, *Biol. Trace Elem. Res*. 149. 352-361.
- ZHOU, Z., LI, C.Y., LI, K., WANG, T., ZHANG, B., GAO, T.W. 2009. Decreased methionine sulphoxide reductase A expression renders melanocytes more sensitive to oxidative stress: a possible cause for melanocyte loss in vitiligo. *Br J Dermatol*. 161(3):504-9.

ETİK KURUL ONAYI



T.C
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı:2015/102

01/10/2015

Sayın: Prof. Dr. Ahmet GÜREL

Namık Kemal Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna sunmuş olduğunuz **“Viteligo Patogenezinde Adenozin Deaminaz , Ksantin Oksidaz Enzimleri Ve Protein Oksidasyonunun Rolü”** başlıklı ve 2015/105/09/11 nolu retrospektif/prospektif araştırmanız, incelenmiş olup, ilgili kurumlardan gerekli izinlerin alınması şartıyla, yürütülmesine etik açıdan herhangi bir sakınca olmadığına oybirliği/oyçokluğu ile karar verilmiştir.

NKÜ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
	Var	Yok	Evet	Hayır	
Prof. Dr. Ahmet GÜREL	V <input checked="" type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	—
Prof. Dr. M. Metin DONMA	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	—
Doç. Dr. Cevat AKTAŞ	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Doç. Dr. Savaş GÜZEL	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Doç. Dr. Hayati GÜNEŞ	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Doç. Dr. Yakup ALBAYRAK	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Yrd. Doç. Dr. Birol TOPÇU	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Yrd. Doç. Dr. B. Cüneyt TURAN	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Yrd. Doç. Dr. Ertan ŞAHİN	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—
Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇEBER	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	—
Yrd.Doç.Dr. Özgür KARAKOYUN	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	—
Yrd. Doç. Dr. Ömer KURT	V <input type="checkbox"/>	Y <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	—

Başkanın Unvanı /Adı/ Soyadı /İmza: Prof. Dr. Ahmet GÜREL

Namık Kemal Mah. Kampüs Cad. No:1 59030
Telefon: (0 282) 250 59 04 - Faks: (0 282) 250 99 28
Elektronik Ağ: <http://tip.nku.edu.tr>

Ayrıntılı Bilgi İçin: Engin Deniz RENÇBER
e- posta: edrencber@nku.edu.tr