

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI

LOKALİZE SKLERODERMALİ HASTALARDA SERUM VİTAMİN D
DÜZEYLERİNİN VE VİTAMİN D RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Sema KOÇ YILDIRIM

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2017

**T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI**

**LOKALİZE SKLERODERMALİ HASTALARDA SERUM
VİTAMİN D DÜZEYLERİNİN VE VİTAMİN D RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Sema KOÇ YILDIRIM

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayşen KARADUMAN**

**ANKARA
2017**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimin ve tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen ve bana her konuda destek olan çok kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Ayşen KARADUMAN'a;

Tezimin fikir aşamasını destekleyen ve bu noktada çok önemli katkıları olan değerli hocam Prof. Dr. Sibel ERSOY EVANS'a;

Bilgi ve tecrübeleri ile uzmanlık eğitimime çok önemli katkıları olan, bilimsel, öğretici, yapıcı ve üretken bir çalışma ortamında eğitim almamı sağlayan ve her zaman desteklerini hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Z. Nilgün ATAKAN, Prof. Dr. Gonca ELÇİN ve Yrd. Doç. Dr. Sibel DOĞAN GÜNAYDIN'a;

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili asistan arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarımıza;

Tezimin Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılan basamaklarındaki katkıları için Doç. Dr. İncilay LAY ve Dr. Tahmina NAJAFOVA'ya;

Bana her zaman destek olan ve bugünlere gelmemi sağlayan değerli aileme ve her zaman olduğu gibi bu süreçte de desteğini esirgemeyen sevgili eşim Dr. Mahmut Şerif YILDIRIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamız Türk Dermatoloji Derneği tarafından Bilimsel Araştırma Projesi Destek Bursu ile desteklenmiştir.

Sema KOÇ YILDIRIM

Temmuz 2017

ÖZET

Koç Yıldırım S. Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Ankara, 2017. Lokalize skleroderma (morfea) deri ve deri altı dokuların etkilendiği, fibrozisle sonlanan ve nadir görülen inflamatuvar bir hastalıktır. Morfeanın patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Vasküler hasar, immün yanıt ve fibrozis morfea patogenezinde rol oynayan en önemli basamaklardır. Vitamin D'nin immün sistem ve fibrozis ilişkisine yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı morfea hastalarında serum 25(OH)D düzeylerini ve VDR ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin varlığını değerlendirmektir. Çalışmaya morfea tanısı ile takip edilmekte olan 41 hasta ile yaş ve cinsiyet uyumlu olarak 48 kontrol dahil edildi. Katılımcıların kan örneklerinde PCR ve elektroforez yöntemleri ile VDR polimorfizmleri ve sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi ile serum 25(OH)D düzeyleri ölçüldü. Hastaların 37'si kadın (%90,2), 4'ü erkekti (%9,8). Yaş ortalaması 38,68±17,54 yıl olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol gruplarında VDR ApaI ve TaqI polimorfizmleri arasında anlamlı farklılık bulunmamaktaydı. Her iki grupta da en sık görülen genotipler AA ve TT genotipleriydi. Progresif hastalığa sahip olan hastaların hepsinin TaqI polimorfizmi açısından genotipinin heterozigot olduğu ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Morfea grubunda ortalama serum 25(OH)D düzeyi 16,98±11,55 µg/L iken kontrol grubunda bu değer 18,02±14,30 µg/L idi. Bu değerler arasında anlamlı farklılık bulunmamaktaydı ($p=1,0$). Hastalık alt tipi, başlangıç yaşı, tedaviye yanıt ve eşlik eden otoimmün hastalıkların varlığı ile VDR polimorfizmleri ve vitamin D düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamaktaydı. Çalışmamızda VDR ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin morfeaya yatkınlık ile ilişkili olmadığı ve TaqI polimorfizminin hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Morfea, VDR gen polimorfizmi, vitamin D

Destekleyen kuruluş: Türk Dermatoloji Derneği, Bilimsel Araştırma Projesi Destek Bursu

ABSTRACT

Koç Yıldırım S. The investigation of serum Vitamin D levels and vitamin D receptor gene polymorphism in patients with localized scleroderma. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Dermatology and Venereology. Ankara, 2017. Localized scleroderma (morphea) is a rare inflammatory disease that affects skin and subcutaneous tissue and consequently ends with fibrosis. The exact pathogenetic mechanisms have not been fully elucidated. Vascular injury, immune response and fibrosis are the most important steps of the pathogenesis. There are numerous studies about relationship between immune system, fibrosis and vitamin D. The aim of this study was to investigate serum 25(OH)D levels and the presence of VDR ApaI and TaqI polymorphisms in patients with morphea. Forty-one morphea patients and 48 age- and sex-matched controls were included. PCR and gel electrophoresis were used to detect VDR polymorphisms and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to evaluate serum 25(OH)D levels in blood samples. There were 37 female (%90,2) and 4 male (%9,8) in the morphea group. The mean age of patients was 38,68±17,54 years. There was no significant difference in VDR ApaI and TaqI polymorphisms between patient and control groups. Most common genotypes were AA and TT in both groups. All of the patients with progressive disease found to be heterozygous for TaqI polymorphism and this was statistically significant. Mean serum 25(OH)D level of patients was 16,98±11,55 µg/L and control group was 18,02±14,30 µg/L, respectively ($p=1,0$). There was no significant difference between groups. There was no significant relationship between VDR polymorphisms and vitamin D levels and disease subtype, age of onset, treatment response and accompanying autoimmune diseases. In our study, we found that VDR ApaI and TaqI polymorphisms were not related to morphea susceptibility and TaqI polymorphism might be related to the severity of the disease.

Key words: Morphea, VDR gene polymorphism, vitamin D

This study was supported by Türk Dermatoloji Derneği

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Lokalize Skleroderma	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Epidemiyoloji	3
2.1.4. Etyopatogenez	4
2.1.5. Sınıflandırma	20
2.1.6. Klinik Özellikler	23
2.1.7. Morfea Alt Tipleri	24
2.1.8. Sistemik Tutulum	29
2.1.9. Tanı ve Değerlendirme	32
2.1.10. Ayırıcı Tanı	40
2.1.11. Tedavi	40
2.2. Vitamin D	51
2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi	51
2.2.2. Vitamin D Metabolizması	52
2.2.3. D Vitaminin Fizyolojik Önemi	55
2.2.4. D Vitamininin Etkileri	56
2.2.5. D Vitamini Eksikliği	63
2.2.6. Vitamin D ve Deri	67
2.2.7. Vitamin D ve Morfea	68

2.2.8. Vitamin D Reseptör (VDR) Geni ve VDR Gen Polimorfizmleri	71
3. GEREÇ VE YÖNTEM	75
3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi	75
3.2. Hasta Değerlendirme	76
3.3. Kan Örneklerinin Alınması	76
3.3.1. Kullanılan Kimyasal Bileşikler	76
3.3.2. Kullanılan Cihazlar	77
3.4. Kullanılan Yöntemler	78
3.4.1. Tam Kandan DNA İzolasyonu	78
3.4.2. DNA Saflığı ve Miktar Tayini	78
3.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	79
3.4.4. Restriksiyon Enzim Analizleri	80
3.4.5. Agaroz Jel Elektroforezi	82
3.4.6. NuSieve Agaroz Jel Elektroforezi	82
3.4.7. Vitamin D Düzeyi Ölçümü	82
3.5. İstatistiksel Yöntem	82
3.6. Etik Kurul Onayı	83
4. BULGULAR	84
4.1. Demografik ve Klinik Özellikler	84
4.2. VDR Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi	90
4.2.1. ApaI Gen Polimorfizmi	90
4.2.2. TaqI Gen Polimorfizmi	91
4.3. VDR Gen Polimorfizmleri ve Genetik Dağılımları	92
4.4. Serum Vitamin D Düzeyleri	97
5. TARTIŞMA	102
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	117
KAYNAKLAR	120
EKLER	
Ek-1	
Ek-2	
Ek-3	
Ek-4	

Ek-5

Ek-6

Ek-7

Ek-8

Ek-9

SİMGELER VE KISALTMALAR

AF-2	: Aktive edici fonksiyon-2
α -MSH	: Alfa melanosit stimule edici hormon
ANA	: Anti-nükleer antikor
Anti-ssDNA	: Anti-single stranded deoksiribonükleik asit
BCG	: Bacillus Calmette-Guérin
1,25(OH) ₂ D	: 1,25 dihidroksikolekalsiferol, kalsitriyol
CARRA	: Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance
CCL2	: Kemokin c-c motif ligand 2
CCL5	: Kemokin c-c motif ligand 5
CCL7	: Kemokin c-c motif ligand 7
CCL17	: Kemokin c-c motif ligand 17
CCL27	: Kemokin c-c motif ligand 27
CD	: Cluster of differantiation
CDLQI	: Çocuk dermatoloji yaşam kalite indeksi
CLASI	: Kütanöz lupus eritematozus aktivite ve yaygınlık indeksi
CO ₂	: Karbondioksit
CRP	: C-reaktif protein
CTGF	: Bağ doku büyüme faktörü
CXCL8	: C-X-C motif kemokin ligandı 8
CXCL10	: C-X-C motif kemokin ligandı 10
DBD	: NH ₂ -terminal DNA-bağlayıcı bölge
DBP	: D vitamini bağlayıcı protein
DC	: Dendritik hücre
DIET	: Dispigmentasyon, endurasyon, eritem, telenjektazi
DLQI	: Dermatoloji yaşam kalite indeksi
DM	: Diyabetes mellitus
DMBA	: 7,12 dimetil benzantrasen
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EEG	: Elektroensefalografi
ELISA	: Enzim bağlı immünassay
ENA	: Ekstrakte edilebilir nükleer antikor

ET-1	: Endotelin 1
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FGF-1	: Fibroblast büyüme faktörü 1
FGF-2	: Fibroblast büyüme faktörü 2
FGF-23	: Fibroblast büyüme faktörü 23
GM-CSF	: Granülosit makrofaj-koloni stimule edici faktör
GVHD	: Graft-versus-host hastalığı
HCV	: Hepatit C virüsü
HLA	: İnsan lökosit antijeni
HTLV-1	: İnsan T hücreli lenfoma/lenfotropik virüs tip 1
ICAM-1	: İnterselüler hücre adezyon molekülü 1
IFN	: İnterferon
IFN γ	: İnterferon gamma
IgE	: İmmünglobulin E
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IGF-2	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 2
IL-1	: İnterlökin 1
IL-1 β	: İnterlökin 1 beta
IL-2	: İnterlökin 2
IL-4	: İnterlökin 4
IL-5	: İnterlökin 5
IL-6	: İnterlökin 6
IL-8	: İnterlökin 8
IL-12	: İnterlökin 12
IL-12p70	: İnterlökin 12p70
IL-13	: İnterlökin 13
IL-17A-F	: İnterlökin 17A, B, C, D, E, F
IL-21	: İnterlökin 21
IL-22	: İnterlökin 22
IP-10	: İnterferon gamma ile indüklenen protein 10
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
LBD	: COOH-terminal ligand bağlayıcı bölge

LDF	: Lazer Doppler flowmetri
LOCUS	: Lokalize Skleroderma Klinik ve Ultrason Çalışma Grubu
LoSSI	: Lokalize skleroderma deri yaygınlık indeksi
LoSDI	: Lokalize skleroderma deri hasar indeksi
LoSCAT	: Lokalize skleroderma deri değerlendirme aracı
LSA	: Liken sklerozus et atrofikus
MBP	: Majör basic protein
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein-1
MHz	: Megahertz
MiR	: mikro ribonükleik asit
mLoSSI	: Modifiye lokalize skleroderma deri yaygınlık indeksi
MMF	: Mikofenolat mofetil
MMPs	: Matriks metalloproteinazlar
MMP-1	: Matriks metalloproteinaz 1
MMP-3	: Matriks metalloproteinaz 3
MMP-13	: Matriks metalloproteinaz 13
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
mRSS	: Modifiye Rodnan skorlaması
MSS	: Modifiye deri skorlaması
NF-AT	: DNA bağlı nükleer faktör
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NK	: Doğal öldürücü hücre
NLRP3	: Nükleotid bağlayıcı domain ve lösinden zengin tekrarlar içeren reseptör, pirin domaini içeren 3
NLRs	: Nükleotid bağlayıcı domain ve lösinden zengin tekrarlar içeren reseptörler
NOD2	: Nükleotid oligomerizasyon domain proteini 2
NURR1	: Nükleer reseptör ilişkili 1 protein
PAMPs	: Patogen ilişkili moleküler paternler
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

PGA	: Hekim global değerlendirme
PRRs	: Patern tanıma reseptörleri
PTH	: Parathormon
RANKL	: Reseptör aktivatör nükleer faktör- κ B ligand
RNA	: Ribonükleik asit
RNP	: Ribonükleoprotein
RF	: Romatoid faktör
RSS	: Rodnan deri skorlaması
RXR	: Retinoid-X reseptörü
SLE	: Sistemik lupus eritematozus
SnRNP	: küçük nükleer ribonükleoprotein
SRC-1, 2, 3	: Steroid reseptör koaktivatör kompleksleri 1, 2 ve 3
STAT-4	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 4
TGF- β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
TGF- β 1	: Transforme edici büyüme faktörü beta 1
Th	: Yardımcı T hücre
Th1	: Yardımcı T hücre 1
Th2	: Yardımcı T hücre 2
Th 17	: Yardımcı T hücre 17
TLR	: Toll benzeri reseptör
TLR-3	: Toll benzeri reseptör-3
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör alfa
Treg	: Düzenleyici T hücre
TTS	: Doku kalınlık skoru
Shh	: Sonic hedgehog
SSRI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörü
U-DA	: Ultrason hastalık aktivitesi
USG	: Ultrasonografi
Wnt	: Wingless in homolog
VAS	: Vizüel analog skala
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü 1

VDR	: Vitamin D reseptörü
VDREs	: Vitamin D yanıt elementleri
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
7-DHC	: 7-dehidrokolesterol
25(OH)D	: 25 hidroksikolekalsiferol, kalsidiol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.2.1.	Morfea patogenezi	20
Şekil 2.2.	Vitamin D metabolizması ve etkileri	63
Şekil 2.3.	VDR gen polimorfizmleri	73
Şekil 3.1.	<i>ApaI</i> restriksiyon enziminin kesim bölgesi	80
Şekil 3.2.	<i>TaqI</i> restriksiyon enziminin kesim bölgesi	81
Şekil 4.1.	Morfea alt tiplerinin dağılımı	85
Şekil 4.2.	Lezyonların anatomik dağılımları	86
Şekil 4.3.	<i>ApaI</i> polimorfizmi <i>ApaI</i> restriksiyon enzim analizi	91
Şekil 4.4.	<i>TaqI</i> polimorfizmi <i>TaqI</i> restriksiyon enzim analizi	91
Şekil 4.5.	<i>ApaI</i> polimorfizmi genotip dağılımları	93
Şekil 4.6.	<i>TaqI</i> polimorfizmi genotip dağılımları	94
Şekil 4.7.	Hasta ve kontrol gruplarında serum 25(OH)D'nin dağılımı	98

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Morfea sınıflandırılması (Peterson ve arkadaşlarına göre)	21
Tablo 2.2.	Morfea sınıflandırılması (Laxer ve arkadaşlarına göre)	22
Tablo 2.3.	Morfea sınıflandırılması (Kreuter ve arkadaşlarına göre)	23
Tablo 3.1.	VDR polimorfizm çalışmaları için tasarlanan primer dizileri	79
Tablo 3.2.	ApaI ve TaqI polimorfizmleri için PCR tepkime ortamı	79
Tablo 3.3.	PCR yöntemi için sıcaklık döngüleri	80
Tablo 3.4.	<i>ApaI</i> restriksiyon enzimi için hazırlanan tepkime ortamı	81
Tablo 3.5.	<i>TaqI</i> restriksiyon enzimi için hazırlanan tepkime ortamı	81
Tablo 4.1.	Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı	84
Tablo 4.2.	Hastaların aldıkları tedaviler	88
Tablo 4.3.	Morfea ve kontrol gruplarının Fitzpatrick deri fototiplerinin dağılımı	89
Tablo 4.4.	Morfea ve kontrol gruplarının güneş koruyucu kullanım sıklıkları	90
Tablo 4.5.	Morfea ve kontrol gruplarındaki ApaI ve TaqI gen polimorfizmlerinin dağılımı	92
Tablo 4.6.	Morfea ve kontrol gruplarındaki allel frekanslarının dağılımı	93
Tablo 4.7.	ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin Hardy-Weinberg dengesinin morfea ve kontrol gruplarındaki incelemeleri	94
Tablo 4.8.	Morfea alt tipleri ve ApaI polimorfizmi arasındaki ilişki	95
Tablo 4.9.	Morfea alt tipleri ve TaqI polimorfizmi arasındaki ilişki	95
Tablo 4.10.	Başlangıç yaşına göre ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin değerlendirilmesi	95
Tablo 4.11.	Hastalığın aktivite durumu ve polimorfizmler arasındaki ilişki	96
Tablo 4.12.	Morfea ve kontrol gruplarında serum 25(OH)D değerleri	97
Tablo 4.13.	Serum 25(OH)D düzeyleri ile Fitzpatrick deri fototipi arasındaki ilişki	99
Tablo 4.14.	Serum 25(OH)D düzeyleri ile güneş koruyucu kullanımları arasındaki ilişki	100
Tablo 4.15.	Serum 25(OH)D düzeyleri ile ApaI polimorfizminin ilişkisi	100
Tablo 4.16.	Serum 25(OH)D düzeyleri ile TaqI polimorfizminin ilişkisi	101

1. GİRİŞ

Morfea olarak da bilinen lokalize skleroderma, deri ve deri altı dokuların etkilendiği, skar benzeri fibrozis ile sonlanan inflamatuvar bir hastalıktır. Nadir görülen bir hastalık olan morfeanın insidansı 2,7/100,000 olarak bildirilmiştir. Tüm ırklarda görülebilmekle beraber beyaz ırkta daha sık görülür. Hastalığın kadınlarda erkeklerden 2,4-4,2 kat daha fazla görüldüğü rapor edilmiştir (1-4).

Morfeanın etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Morfea gelişiminin altta yatan predispozan ve çevresel faktörlerin rol oynadığı multifaktöriyel bir süreç olduğunu söylemek mümkündür. Morfeanın moleküler patogenezi ise temelde başlatıcı olayın vasküler hasar olabileceği ve vasküler hasar sonucu adezyon moleküllerinin ekspresyon artışı ile inflamatuvar hücrelerin toplanması ve bu inflamatuvar hücrelerin transforme edici büyüme faktörü (TGF-beta) gibi profibrotik sitokinlerin üretilmesini tetiklemesiyle kollajen üretiminde artış ve yıkımında azalma olduğu düşünülmektedir (5).

Vitamin D'nin kemik-mineral metabolizmasındaki bilinen önemli rollerinin yanı sıra son yıllarda yapılan araştırmalarda çeşitli biyolojik süreçlerde, immün yanıtın düzenlenmesinde, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında ve kanserlerin patogeneziinde yer aldığı gösterilmiştir. Vitamin D tüm bu etkilerini kromozom 12q13.11 üzerinde yer alan vitamin D reseptör geninin kodladığı nükleer reseptör süperailisinin bir üyesi olan vitamin D reseptörü (VDR) aracılığı ile gerçekleştirmektedir (6, 7).

Fibrozis morfea patogeneziinde rol oynayan en önemli basamaklardan biri olup temelde bu fibrozisten TGF- β 'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Vitamin D ve fibrozis ilişkisine yönelik çok sayıda hücre kültürü ve deneysel hayvan modeli çalışması bulunmaktadır (8, 9). Sistemik sklerodermalı hasta derisi, deneysel fibrozis modeli ve insan fibroblastlarında VDR ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada sklerodermalı lezyonlu deride ve deneysel skleroderma modelinde sağlıklı kontrollere göre VDR'nin mRNA düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (10). Aynı zamanda sistemik sklerodermalı hastalarda yapılan çalışmalarda sağlıklı kontrollere göre vitamin D düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiş olup osteopeni ve osteoporoz prevalansının yüksek olmasının da sklerodermada azalmış VDR sinyalizasyonunu dolaylı yoldan destekleyebileceği belirtilmiştir (11).

VDR proteininin sentezlendiği gen bölgesine ait çok sayıda mutasyon ve polimorfizm gösterilmiştir. Vitamin D ve VDR'nin immün sistem üzerindeki etkileri de göz önüne alındığında VDR genindeki varyasyonların otoimmün hastalıklar için bir risk faktörü olabileceği ve hastalık aktivitesini ve şiddetini arttırabileceği öne sürölmüş olup psoriasis, Behçet hastalığı, vitiligo ve sistemik skleroderma gibi hastalıklarda bazı polimorfizmlerle olan ilişkiler gösterilmiştir (12-14).

Literatürden edindiğimiz bilgiler dahilinde daha önce morfea hastalarında VDR polimorfizmi ve serum vitamin D düzeyleri ilişkisini konu alan bir çalışma bulunmamaktadır.

Merkezimiz etnik popöasyonlar açısından heterojen bir merkez olduğundan bu çalışmanın amacı Türk popöasyonunda morfea hastalığına duyarlılığın VDR ApaI ve TaqI gen polimorfizmleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi ve tespit edilebilen polimorfizmlerin hastalığın klinik alt tiplerine, şiddetine, tedaviye yanıtına ve serum vitamin D düzeyleri üzerine etkisinin olup olmadığının incelenmesidir. VDR polimorfizmlerinin gösterilmesi hastalığın tam aydınlatılamamış olan patogenetik mekanizmalarının anlaşılmasında ve tedavi yanıtını etkileyen faktörlerin anlaşılmasında rol oynayacak, özellikle Türk popöasyonunda hastalığa olan etnik duyarlılığın tespit edilmesine de yardımcı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lokalize Skleroderma

2.1.1. Tanım

Morfea olarak da bilinen lokalize skleroderma deri ve deri altı dokuları etkileyen fibrozis ile karakterize inflamatuvar bir hastalıktır (1, 2, 5).

2.1.2. Tarihçe

Skleroderma terimi Yunanca “skleros” ve “derma” kelimelerinden köken almıştır. Lokalize skleroderma ilk kez 1854’de Thomas Addison tarafından ayrıntılı bir şekilde tanımlanmıştır (1). Deride kollajen artışı ve damar duvarlarında kalınlaşmayı içeren sklerodermanın histopatolojik bulguları 1924’de Matsui tarafından tarif edilmiştir. Sistemik skleroz ve morfeanın birbirinden farklı özellikleri ise 1930 yılında O’Leary ve Nomland tarafından ortaya konulmuştur (1, 2).

2.1.3. Epidemiyoloji

Morfea klinik özellikleri iyi tanımlanmış ancak epidemiyolojik verilerin sınırlı olduğu nadir bir hastalıktır. Bu konudaki en kapsamlı bildirilerden biri Minnesota’nın Olmsted kasabasında yapılan 1960-1993 yılları arasındaki tüm hastaları kapsayan bir çalışma olup bu çalışmada insidans 100,000’de 2,7 olarak bildirilmiştir. Prevalans ise 18 yaşta milyonda 500; 80 yaşta ise milyonda 2200 olarak bildirilmiştir (4). Bir başka çalışmada ise prevalansın çocuklar ve erişkinler arasında farklılık göstermediği bildirilmiştir (15). Morfea tüm ırklarda görülebilmekle beraber beyaz ırkta daha sık görülür (16). Kadınlarda erkeklere oranla 2,4 ile 4,2 kat daha fazla görüldüğü rapor edilmiştir (16, 17). Lineer morfea alt tipinde ise cinsiyet farklılığı gözlenmemiştir (4). Başlangıç yaşı dikkate alındığında hem çocukluk döneminde hem de erişkinlik döneminde başlayan hastalık kadınlarda daha sık görülmektedir. Çocuklarda ortalama başlangıç yaşı 9 yıl, erişkinlerde ise 44 yıl olarak bildirilmiştir (16-18). Zulian ve arkadaşlarının (19) yaptığı bir çalışmada 750 juvenil sklerodermalı olgunun 6’sında (%0,8) doğumda lineer özellikte skleroderma ilişkili lezyonların görüldüğü rapor edilmiş olup bu olgular konjenital lokalize skleroderma olarak değerlendirilmiştir. Klinik özelliklere göre

değerlendirildiğinde erişkinlerde en sık sınırlı morfea, çocuklarda ise lineer tip morfea görülür (4, 16, 17). Morfeası olan erişkin ve çocukların aile bireylerinde morfeası olmayanların aile bireyelerine göre morfea ve otoimmün hastalıkların daha sık görüldüğü bildirilmiştir (15).

İlaçla indüklenen morfea olgularının incelendiği bir derlemede hastaların ortalama yaşlarının 57 yıl olduğu ve cinsiyet farklılığının gözlenmediği belirtilirken morfea ile birlikte sistemik skleroz gelişiminin de dahil edildiği başka bir derlemede ise hastaların ortalama yaşlarının 40 yıl olduğu ve kadın hastaların çoğunlukta olduğu belirtilmektedir (20, 21).

2.1.4. Etyopatogenez

Morfeanın etyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber gelişiminde altta yatan yatkınlık durumlarının ve çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir (22).

Travma

Çok sayıda dermatolojik hastalıkta travmaya uğramış deri alanlarında lezyon gelişimi olduğu bilinmektedir. Bu dağılımı açıklamak için “izomorfik” ve izotopik” terimleri kullanılmıştır (23, 24). Koebner’in izomorfik yanıtı tekrarlayan travma alanlarında deri lezyonlarının ortaya çıkışı olarak tanımlanmıştır (23). İzotopik yanıt ise daha önce var olan bir hastalığın iyileştiği yerlerde veya hasar görmüş ancak iyileşmiş olan yerlerde ilişkisiz ikincil bir hastalığın gelişimi olarak tanımlanmıştır (24).

Klinik olarak morfea ile benzer özellikler gösteren morfeaform kronik graft-versus-host hastalığında (GVHD) deri lezyonlarının travmaya açık alanlarda dağılım gösterdiği bildirilmiştir (25, 26). Morfeada da benzer bir ilişkinin olabileceğini öne süren Grabell ve arkadaşlarının (27) yaptığı bir çalışmada hastaların %9,5’inde izomorfik yanıt ve %6,2’sinde izotopik yanıt olmak üzere yaklaşık %16’sında travma alanlarında morfea geliştiği bildirilmiştir. Sekiz yüz seksen altı çocuk hastanın değerlendirildiği iki büyük retrospektif çalışmada ise hastaların yaklaşık %13’ünde hastalık öncesinde mekanik bir travmanın olduğu belirtilmiştir (16, 17). Morfeayı tetiklediği düşünülen travmatik olaylar arasında cerrahi, delici travma, enjeksiyon, radyasyon tedavisi, güneş yanığı ve böcek ısırığı bildirilmiştir (16, 17, 27).

Literatürde, farklı aşular sonrası aşulamadan birkaç hafta ile 2 yıl sonrasına kadar aşu yapılan yerlerde morfea geliştiğinin bildirildiği olgu raporları mevcuttur. Bu zamana kadar kızamık, kızamıkçık ve kabakulak; difteri, boğmaca ve tetanoz; BCG (bacillus Calmette-Guérin), hepatit B ve tetanoz aşularu sonrası morfea geliştiği bildirilmiştir (28-32). Bildirilen aşuların çeşitliliği nedeni ile morfeaya sebep olan faktörün aşunun kendisi ya da içeriğindeki koruyuculardan daha çok aşuya bağlı travma olabileceği düşünölmektedir (5).

Literatürde en çok K vitamini olmak üzere penisilin, pentazosin, progesteron, vitamin B12, interferon beta 1a, interferon beta 1b, enfuvirtide, etanercept, mepivakain ve silikon enjeksiyonlarını takiben geliştiği bildirilen morfea olguları da mevcuttur (33-47).

Travmanın morfeayı nasıl tetikleyebildiğine dair altta yatan mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Travma sonrası gelişen vasköler hasar doku hipoksisine neden olmakta ve takiben immün yanıt aktive olmaktadır (48). Grabell ve arkadaşlarının (27) çalışmasında Bhattacharyya ve arkadaşlarının (49) çalışmasına atıf yapılarak verilen bilgiye göre, travmaya bağlı doku hasarının, hasar ilişkili endojen toll benzeri reseptör (TLR) ligandlarının artışına neden olabileceği, bu artışın da fibrojenik yanıtın artışına neden olan doğal immüneyi aktive edebileceği ve anormal yara iyileşmesi yanıtını arttırabileceği belirtilmiştir.

Radyasyon

Radyasyon ile indöklenen morfea nadir görölen ancak morfea hastalarında sık rapor edilen bir tablodur (50, 51). Meme kanseri nedeni ile radyoterapi alan hastalarda radyoterapi sonrası gelişen morfea sıklığı %0,2 olarak bildirilmiştir (52). Altmış bir morfealı olgunun incelendiği bir derlemede 52 olgunun meme kanseri nedeniyle radyoterapi aldığı belirtilirken daha nadir olan diğer tanuların baş-boyun kanseri, serviks kanseri, endometriyum kanseri, lenfoma, mide kanseri ve orijini bilinmeyen adenokanser olduğu bildirilmiştir (51). Radyasyon ile indöklenen morfeanın radyoterapiden en erken 1 ay, en geç ise 32 yıl sonra geliştiği bildirilmekle beraber olguların büyük çoğunluğunda radyoterapi sonrası ilk 1 yıl içerisinde ortaya çıkmaktadır (53, 54). Radyoterapinin total dozu, fraksiyon şeması

ve akut reaksiyonların şiddeti ile radyasyon ile indüklenen morfea gelişim riski arasında bir ilişki bildirilmemiştir (55).

Radyasyon maruziyeti sonrası yardımcı T hücresi 2 (Th2) sitokinleri olan interlökin-4 (IL-4) ve IL-5 artışı kollajen sentezini ve doku onarımında santral rol oynayan TGF- β sentezini uyarmaktadır. TGF- β 'nın uyarılması ise ekstraselüler matriks proteinlerinin üretimini artırırken, matriks proteinleri olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanın degradasyonunu inhibe etmektedir. TGF- β 'nın patolojik sekresyonunun abartılı fibrozis gelişimine yol açarak radyasyon ile indüklenen morfeanın patogeneğinde rol alabileceği öne sürülmüştür (50). İyonize radyasyonun fare modellerinde TGF- β 'nın TGF- β 1'e transformasyonunu indüklediği ve TGF- β 1 değerlerinin de deri hasar derecesi ve fibrozis ile korele olduğu gösterilmiştir (56, 57). İn vivo insan çalışmalarında ise tek doz radyasyon alanların derisindeki hücrelerde hiç radyasyon almayanlara göre kollajen üretiminin arttığı gösterilmiştir (58). Radyasyona maruz kalan derideki fibroblastların fenotipik olarak sağlıklı deri ve bağ dokusundaki fibroblastlardan farklı olduğu ve miyofibroblast alt gruplarında artış olduğu da bildirilmiştir (59). Radyasyonun travmaya sekonder izomorfik yanıtı tetikleyebileceği ve doku hasarının öz antijen sunumunu tetikleyebileceği, öngörülen diğer patogenetik mekanizmalardır (5).

Radyasyon sonrası gelişen morfea radyoterapinin sık yan etkisi olan post-radyasyon fibrozis ile karıştırılabilmektedir. Post-radyasyon fibrozis genellikle subkütan doku ve fasya tabakasını ilgilendirirken ve belirgin inflamasyon gözlenmezken, radyasyon sonrası gelişen morfeada dermal fibrozis ve belirgin inflamasyon izlenir (54).

İlaçlar

İlaç alımına bağlı tipik morfea gelişimi nadir bildirilen durumlar arasında yer almaktadır. Tipik morfea lezyonları dışında çoğunlukla diffüz skleroderma, akrosklerozis ve daha nadiren sistemik sklerozis gelişimi bildirilmiştir (60). Morfea gelişimine neden olduğu bildirilen ilaçlar arasında bisoprolol, bleomisin, peplomisin, D-penisilamin, bromokriptin, L-5-hidroksitriptofan ve karbidopa kombinasyonu, pentazosin, vitamin K, vitamin B12, balicatib, interferon beta 1a, interferon beta 1b, enfuvirtide, mepivakain, progesteron, ibuprofen, dosetaksel, paklitaksel,

adalimumab, etanercept ve valproik asit yer almaktadır (21, 33-39, 41, 42, 47, 61-73).

İlaç alımını takiben morfea gelişiminin bildirildiği olguların değerlendirildiği derlemelerde deri lezyonlarının ilaç alımından ortalama 12,5 ay (1-36 ay) sonra geliştiği belirtilmektedir (21). İlaçla indüklenen morfeada deri lezyonları genellikle çok sayıda olup farklı vücut alanlarında yerleşirken vitamin K, vitamin B12, pentazosin, interferon, enfuvirtide ve mepivakain ile indüklenen morfea olguları enjeksiyon yapılan yerlerde yerleşim göstermektedir (21, 33-40, 42). Olguların çoğunluğunda neden olduğu düşünülen ilacın kesilmesine rağmen lezyonların tam düzelmediği bildirilmiştir (21).

İlaçla indüklenen morfeanın patogenezi tam anlaşılammış olmakla beraber deneysel dermal fibrozisin gösterildiği fare modelinde bleomisin subkütanöz enjeksiyonunun endotelial hücrelere ve diğer hücrelere zarar veren reaktif oksijen radikallerinin üretimini indüklediği ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artışına neden olduğu gösterilmiştir. Bu durum T hücrelerini, monosit/makrofajları ve mast hücrelerini uyarak fibroblastların aktive olmalarını sağlamaktadır. Aktive fibroblastlar ise bleomisin enjeksiyonu yapılan bölgede ekstraselüler matriks üretimi yaparak fibrozise neden olmaktadır. Bu modelde aynı zamanda fibrozisin profibrotik TGF- β aktivasyonu ile de ilişkili olduğu ve bleomisin enjekte edilen deride diğer profibrotik sitokinler olan monosit kemoatraktan protein-1, PDGF (platelet kaynaklı büyüme faktörü), IL-4, IL-6 ve IL-13 ekspresyonunun arttığı belirtilmektedir (74). Peplomisin, dopaminerjik ilaçlar ve beta bloker ilaçların kollajen sentezini artırarak ve fibroblast gelişimini uyarak profibrotik etki yaptığı; D-penisilaminin kollajen maturasyonu ve sentezini etkilediği ve pentazosinin iskemik hasara neden olduğu bildirilmiştir (21). Balicatibin ise dermal fibroblastlarda eksprese edilen ve kollajenin lizozom içerisine alımını takiben degradasyonunda rol oynayan sistein proteaz ailesinden olan Katesin K enzimini inhibe ederek dermiste ekstraselüler matriks proteinlerinin aşırı birikimine neden olduğu bildirilmiştir (67). Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) inhibitörlerine bağlı morfea gelişiminde TNF blokajının TGF- β üzerinden etki ettiği ve aynı zamanda Th1 yanıtını inhibe ederek fibrozisin ilerleyen dönemlerinde artmış olduğu gösterilen Th2 sitokin yanıtını arttırabileceği öngörülen mekanizmalar arasında yer almaktadır (75).

Enfeksiyonlar

İlk defa 1985 yılında Aberer ve arkadaşları (76) Lyme hastalığı etkeni olan *Borrelia burgdorferi* ile morfea arasında bir ilişki olabileceği hipotezini öne sürmüştür. Daha sonra 1986 yılında Asbrink ve arkadaşları (77) akrodermatitis kronika atrofikansı olan hastalarında eş zamanlı liken sklerozis et atrofikus (LSA) lezyonlarını gözlemlemişlerdir. Lyme hastalığının geç dönem deri bulguları arasında yer alan akrodermatitis kronika atrofikans ile morfea arasında klinik ve histopatolojik benzerliklerin olması ve bazı morfea alt tiplerinin antibiyotik tedavisine yanıt vermesi diğer araştırmacıları morfeası olan hastalarda borrelia enfeksiyonu varlığını araştırmaya yönlendirmiştir (5, 78). Literatürde lokalize skleroderma ile *B. burgdorferi* arasındaki ilişkiyi gösterebilmek için kullanılan yöntemler arasında *B. burgdorferi*'ye karşı gelişmiş antikorların tespiti için ELISA (enzim bağlı immünassay), indirekt immünfloresan inceleme ve Western blot tekniklerini içeren serolojik testler; histolojik ve immünohistokimyasal inceleme; kültür yöntemleri; PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile spesifik DNA (deoksiribonükleik asit)'nin tespiti ve fokus-floating mikroskopisi yer almaktadır (79, 80).

Weide ve arkadaşlarının (79) 1985-1997 yılları arasında farklı zamanlarda yapılan 29 çalışmayı değerlendirdiği derlemesine göre morfeaya ek olarak Pasini ve Pierini'nin atrofoderması ve eozinofilik fasiitin de dahil edildiği hasta gruplarını içeren ve çeşitli Avrupa ülkeleri ve Japonya'dan yapılan çalışmalarda *B. burgdorferi*'ye karşı gelişen antikorların serolojik olarak pozitifliğinin %0-60 arasında (toplam 641 hastanın 144'ünde) değiştiği belirtilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada ise morfea hastalarındaki *B. burgdorferi* antikorları seropozitifliği %19 olarak değerlendirilmiştir. Sonraki yıllarda yapılan dört farklı çalışmada da *B. burgdorferi* antikorlarının seropozitifliği %34,4 (81), %28 (82), %20 (83) ve %18,8 (84) olarak bulunurken *B. burgdorferi* antikor seropozitifliğinin gösterilemediği çalışmalar da yer almaktadır. Morfeanın *B. burgdorferi* ile ilişkili olduğunu düşünen araştırmacılar tarafından seronegativiteyi açıklamak üzere *B. burgdorferi*'nin humoral immün yanıtta kaçışı ile ilgili olarak çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bunlar; temelde hücresel yanıtın rol oynadığı ve humoral yanıtın baskılandığı ve *B. burgdorferi*'nin kollajen tarafından

maskelenmesine bağlı humoral immün yanıtın oluşmaması şeklindedir. *B. burgdorferi*'nin endemik olduğu bölgelerde klinik olarak asemptomatik hastalarda antikor pozitifliğinin yaşanan coğrafyaya göre %2 ile %11 arasında değiştii gösterilmiştir. Bu nedenle morfeası olan hastalarda pozitif serolojinin morfea patogenezi ile nedensel olarak bağlantılı olmasından daha ziyade yerel popülasyonda antikor prevalansının yüksek olduğunun bir göstergesi olabileceği öne sürülmektedir (79).

Morfea hastalarının lezyonlu derilerinden alınan örneklerde histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmelerde *B. burgdorferi* varlığı tespit edilmiştir. Weide ve arkadaşlarının (79) derlemesinde 1987-1994 yılları arasında yapılan ve immünperoksidaz, gümüş boyama ve Elias-Bosma boyama yöntemlerinin kullanıldığı 5 farklı çalışmada lezyonel doku örneklerinde *B. burgdorferi* varlığının %0-40 (toplam 82 hastanın 20'sinde) arasında tespit edildiği belirtilmiştir. Ancak bu boyama yöntemlerinin artefakt oluşturmaya elverişli olması, farklı spiroket türlerini ayırt edememesi, borrelia morfolojisinin özellikleri ve morfolojik varyantlarının olması gibi nedenlerle sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanmasında zorluklar olduğu da belirtilmektedir. *B. burgdorferi*'ye spesifik DNA'nın morfealı hastaların lezyonel derilerinde PCR yöntemi ile tespit edilmesine yönelik 1993-1997 yılları arasında çeşitli Avrupa ülkeleri ve Japonya'da yapılan 8 çalışmada borrelia DNA'sının %0-100 (toplam 82 hastanın 17'sinde) olarak tespit edildiği; Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan 5 farklı çalışmada ise toplam 98 hastanın hiçbirinde pozitiflik saptanmadığı belirtilmiştir. Özkan ve arkadaşlarının Türkiye'den yaptığı bir çalışmada morfea ve liken sklerozuslu 10 hastanın 3'ünde PCR ile *B. burgdorferi* varlığı tespit edilmiştir (89). Sonraki yıllarda Almanya, İskoçya ve İran'da yapılan ve benzer yöntemin kullanıldığı çalışmalarda hastaların hiçbirinde *B. burgdorferi* tespit edilememiştir (85, 90, 91).

Borrelia enfeksiyonunun morfea patogenezindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. *B. burgdorferi*'nin monositlerden IL-1 sentezini arttırdığı gösterilmiştir. IL-1 ise fibroblast proliferasyonunu arttırmakta olup bu artışın morfeada görülen kollajen ile ilgili değişikliklerden sorumlu olabileceği öne sürülmektedir (78, 92).

Sonuç olarak borrelia varlığının tespit edilmesine yönelik kullanılan yöntemlerin çeşitliliği ve aktif borrelia enfeksiyonunu göstermede standart bir yöntemin olmaması nedeni ile pozitif test sonuçlarını yorumlamak zor olmaktadır. Pozitif sonuçlar çoğunlukla Avrupa ülkelerinden yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu farklılığın Avrupa'daki borrelia türlerinin Amerika Birleşik Devletleri'ndeki türlerden farklılık göstermesi (sırasıyla *B. afzelii* ile *B. garinii* ve *B. burgdorferi sensu stricto*) nedeni ile olabileceği ve bu farklılığın morfeada etyolojik bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda farklı türlerin genetik heterojenite göstermesinin PCR yönteminin özgüllük ve duyarlılığını etkileyebileceği de öne sürülmüştür (5). Tüm bu nedenlerle borrelia enfeksiyonunun morfea patogenezinde kesin olarak yer aldığını söylemek mümkün değildir.

Morfea ile ilişkilendirilen diğer enfeksiyöz nedenler arasında Epstein-Barr virüs, rubella, hepatit C virüsü (HCV) ve insan T hücreli lenfoma/lenfotropik virüs tip 1 (HTLV-1) yer almaktadır (93-99). HCV'nin morfea patogenezinde nasıl rol oynadığı bilinmemekle beraber genetik yatkınlığı olan bireylerde özellikle mononükleer hücrelerde olmak üzere ekstrahepatik viral replikasyonun immün toleransı baskılıyor olabileceği ve Th hücre fonksiyonunun artması sonucu da kollajen sentezini indükleyen otoantikor ve lenfokin üretiminin artması öne sürülen mekanizmalar arasındadır (97, 98). HTLV-1 genomu bir grup düzenleyici proteini kodlayan pX adı verilen gen bölgesini içermektedir. pX proteinlerinden biri olan Tax proteini HTLV-1'in kendi kendine transkripsiyonunun yanı sıra TGF- β 1 proteinini de içeren çok sayıda transkripsiyonel promotor gen bölgesini de transaktive etmektedir. TGF- β 1 tip 1 kollajen sentezini ve fibroblastların protein üretimini arttırmaktadır. Tax proteini aynı zamanda sklerodermada hasta serumlarında arttığı gösterilen IL-2, IL-2 reseptörü, IL-4, IL-6 ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) ekspresyonunu arttırmaktadır (99).

Otoimmünite ve Aile Hikayesi

Literatürde morfeanın primer biliyer siroz, vitiligo, alopesi areata, Hashimoto tiroiditi, idyopatik trombositopenik purpura, miyastenia gravis, otoimmün hepatit, sistemik lupus eritematozus (SLE) ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar ve romatolojik hastalıklarla birlikteliğinin bildirildiği olgular mevcuttur (3, 100-110).

Harrington ve Dunsmore'nin (111) morfealı hastalarda otoimmün hastalık prevalansını değerlendirdikleri çalışmasında olguların kendilerinde ve birinci, ikinci ve üçüncü derece akrabalarında pernisiyöz anemi, tirotoksikoz, hipotiroidi, alopesi areata, vitiligo ve diyabeti içeren otoimmün hastalıklardan en az birinin birlikte görölme insidansı sırasıyla kendilerinde %16 ve akrabalarında %40 olarak değerlendirilmiş olup kontrol grubuna göre bu insidanslar anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Leitenberg ve arkadaşlarının (15) 245 erişkin ve ocuk morfealı hastanın dahil edildiği çalışmasında ise erişkin hastaların %30'unda ocuk hastaların ise %5'inde tip 1 diyabetes mellitus (tip 1 DM), alopesi areata, otoimmün tiroidit, Meniere hastalığı, ölyak hastalığı ve multiple skleroz gibi otoimmün hastalıkları; SLE, spondiloartropati, romatoid artrit, Sjögren sendromu, anti-fosfolipid antikor sendromu, Still hastalığı ve mikst konnektif doku hastalığı gibi romatolojik hastalıkları ve psoriasis, inflamatuvar barsak hastalığı gibi otoinflamatuvar hastalıkları içeren ek bir hastalık varlığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada olguların %16,3'ünde birinci ve ikinci derece akrabalarında da otoimmün ve romatolojik hastalık olduğu belirtilmiştir. Yedi yüz elli ocuk hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada ise olguların %12,1'inin birinci ve ikinci derece akrabalarında bir otoimmün hastalık olduğu bildirilmiştir (17). Başka bir çalışmada ise olguların birinci derece akrabalarında otoimmün hastalık varlığı %8,8 iken kişisel otoimmün hastalık varlığı %9,6 olarak bildirilmiştir (16).

Yakın zamanda yapılan insan lökosit antijeni (HLA) tiplendirmesinin değerlendirildiği bir kohort çalışmasında HLA sınıf-II allelleri ile morfea ve alt tipleri arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. En güçlü ilişki HLA-DRB1*04:04 ile bulunurken DQB1*02:01 ve DRB1*03:01 allellerinin de lokalize skleroderma için risk oluşturduğu belirtilmiştir. Aynı alışmada HLA sınıf-I allellerinden olan HLA-B*37 başta olmak üzere HLA-C*08 ve HLA-C*15'in risk artışı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu spesifik HLA sınıf-I allelleriyle morfea arasındaki ilişkinin, hastalığın patogenezinde rol oynayan CD8+ T hücreleri ve NK (doğal öldürücü hücre) hücreleri aracılığı ile olan immün yanıtı ve bilinmeyen öz antijenlere olan toleransın kaybını destekleyebileceği öne sürülmüştür. Morfea alt tipleri arasında jeneralize morfea grubunda kontrollere ve diğer morfea alt gruplarında göre HLA-DRB1*15:01 allel frekansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Morfea ile ilişkili

bulunan bazı allellerin romatoid artrit (DRB1*04:04), multiple skleroz (DRB1*15:01), otoimmün tiroid hastalığı (DRB1*02:01, DRB1*03:01 ve DRB1*04) ve tip 1 DM (DRB1*03:01) ile ilişkisinin olduğu da gösterilmiştir (112).

DNA, RNA (ribonükleik asit), proteinler ve RNA-protein kompleksleri gibi intraselüler antijenlere karşı gelişen otoantikörlerin varlığı çeşitli romatolojik hastalıklarda gösterilmiştir. Lokalize sklerodermada ilk defa 1983 yılında indirekt immünfloresan yöntemi ile kültüre insan hücreleri kullanılarak ANA yüksekliği gösterilmiştir (113). Morfea hastalarında rapor edilen ANA pozitifliği prevalansı %36-76 arasında değişkenlik göstermektedir (15-17, 111, 114-118). İmmünfloresan boyanma paternleri olan homojen, benekli ve nükleoler boyanma paternleri ise değişkenlik göstermektedir (114).

Takehara ve arkadaşlarının (114) derlemesinde belirtildiği üzere lokalize sklerodermada yükseldiği gösterilen diğer antikörler arasında anti-ssDNA (anti-single-stranded DNA) antikörleri, anti-histon antikörleri ve romatoid faktör de yer almaktadır. Farklı iki çalışmada kas tutulumu olan lineer sklerodermalı hastalarda kas tutulumu olmayanlara göre ve jeneralize morfeası olanlarda diğer morfea gruplarına göre anti-ssDNA antikörleri daha yüksek bulunmuştur (119, 120). Ayrıca bu antikörlerin yaygın hastalığı, eklem kontraktürleri ve uzun süreli hastalığı olanlarda daha yüksek olduğu belirtilmiştir (115, 121). İlaçla indüklenen lupus eritematozus için serolojik olarak oldukça spesifik bir marker olan anti-histon antikörleri jeneralize morfeası olanlarda diğer morfea alt gruplarına göre ve morfeası çocukluk döneminde başlayanlarda erişkin başlangıçlı olgulara göre daha yüksek bulunmuştur (114). Daha önce idyopatik pulmoner fibrozis, sistemik skleroderma, insülin bağımlı diyabetes mellitus, juvenil romatoid artrit ve SLE'de pozitifliği gösterilmiş olan anti-topoizomeraz II alfa antikörleri morfeası olan hastaların %76'sında pozitif bulunmuştur. Antikor pozitifliği olanlarda olmayanlara göre total lezyon sayısı ve anti-histon antikörleri ile olan birliktelik daha fazla görülmekle birlikte başka bir otoimmün hastalığı olanlarda antikor pozitifliği prevalansı daha yüksek bulunmuştur (122).

Özellikle mikst konnektif doku hastalığı için bir serolojik marker olan anti-U1 RNP (ribonükleoprotein) ve sistemik sklerodermalı hastalarda tanımlanmış olan anti-U3 snRNP (küçük nükleer ribonükleoprotein) antikörleri ise olguların az bir

kısımında pozitif bulunmuştur (123, 124). Bu antikörlerin dışında lokalize sklerodermalı hastalarda kontrol gruplarına göre yüksek olduğu gösterilen antikörler arasında anti-kardiyolipin antikörleri, lupus antikoagülanı, anti-fosfatidilserin-protrombin kompleks antikörleri, anti-nükleozom antikörleri, anti-agalaktozil immünglobulin G antikörleri, fibrillin-1 antikörleri, Cu/Zn (bakır/çinko) süperoksit dismutaz antikörleri ve matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) antikörleri yer almaktadır (125-131). Özetle özellikle jeneralize morfeada olmak üzere otoimmüitenin hastalığın patogenetik mekanizmalarından biri olduğunu söylemek mümkündür.

Mikrokimerizm

Mikrokimerizm, bir bireye ait az sayıda hücre ya da DNA'nın başka bir bireyde barındırılmasını ifade etmektedir. Bu durum kendinden olmayan hücrelerin gebelik boyunca fetustan anneye veya in utero anneden fetusa transferi şeklinde olabilmektedir. Morfea ve sistemik sklerozun klinik ve histolojik olarak graft-versus-host hastalığına benzerliği otoimmün sklerozan hastalıklarda kimerik hücrelerin rolü olabileceğine dair ilgi uyandırmıştır (5). Morfealı hastaların lezyonlu derilerinden ve sağlıklı derilerinden alınan biyopsi örneklerinin kimerik hücrelerin varlığını değerlendirmek amacıyla immünohistokimyasal olarak incelendiği bir çalışmada kimerik hücrelerin miktarı lezyonlu deri ile sağlıklı deride eşit oranda bulunmuştur. Her iki grupta da en fazla görülen kimerik hücre fenotipi dendritik hücreler olmuştur. Ancak lezyonel derideki kimerik hücrelerin sağlıklı derideki kimerik hücrelerden en önemli farkı epitelyal kökenli olmaları olup bu kimerik hücrelerin lokalizasyonunun etkilenen dokuda inflamatuvar yanıtı yönlendiriyor olabileceği öne sürülmüştür (132).

Moleküler Patogenez

Morfeanın moleküler patogenezinde temel olarak başlatıcı olayın vasküler hasar olduğu öne sürülmektedir. Vasküler hasar inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlayan adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırmaktadır. İnflamatuvar hücreler ise TGF- β gibi profibrotik sitokinlerin üretimini arttırırlar. Profibrotik sitokinler ise kollajen üretiminde artışa ve kollajen degradasyonunda azalmaya neden

olmaktadırlar (5). Aşağıda morfeanın moleküler patogenezi ile ilişkili olaylar ayrı ayrı başlıklar altında incelenmiştir. Ancak tüm basamakların birbirleri ile ilişkili olduğu ve keskin sınırlarla ayrılamayacağı göz önünde bulundurulmalıdır.

-Vasküler hasar

Endotelyal hücre hasarının morfea ve sistemik sklerozisteki yumuşak doku değişikliklerinin gelişiminde başlatıcı ve temel rol oynayan basamak olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyonlar, hipoksi, travma, radyasyon, reaktif oksijen radikalleri ve anti-endotelyal hücre antikoru vasküler hasara katkıda bulunmaktadır (133). Hastalığın erken dönemlerinde deri ve kan damarları çevresinde lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajları içeren yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu gösterilmiştir (134). Mononükleer hücre infiltrasyonunu takiben mikrovasküler sistemde fonksiyonel ve yapısal değişiklikler oluşur. Kan akımında ve kapillerlerin yoğunluğunda azalma ile beraber bu hücrelerin invazyonu sonucu yoğun endotelyal hasar gelişir (135). Bu durum elektron mikroskopisinde mikrovasküler bazal laminanın duplikasyonu ve endotelyal hücrelerin destrüksiyonu; histopatolojik değerlendirmede ise etkilenen alanlarda kapiller yoğunluğunun azalması şeklinde kendini belli eder (1). Vasküler endoteldeki inflamatuvar faz çeşitli sitokinlere ve hücre aracılara yanıt olarak interselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1), VCAM-1 ve E-selektin gibi çok sayıda adezyon molekülünün artışına paralel seyreder. Bu adezyon molekülleri yuvarlanma, adezyon ve transmigrasyon süreçlerini kolaylaştırarak monositlerin inflamasyon alanına toplanmasına katkıda bulunur (136). Bir çalışmada morfealı hastaların serumlarında sağlıklı kontrol gruplarına göre dolaşan ICAM-1 düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (137). Başka bir çalışmada ise benzer şekilde morfealı hastalarda sağlıklı kontrol gruplarına göre E-selektin ve çözünebilir VCAM-1 düzeylerinin arttığı ve E-selektin düzeyleri yüksek olan hastalarda aynı zamanda mononükleer hücre infiltrasyonu yoğunluğunun ve sklerotik lezyon sayılarının belirgin derecede fazla olduğu gösterilmiştir (138).

-Doğal immün yanıt

Doğal immün sistem anatomik bariyerler, inflamasyon, inflamasyonda görev alan hücreler ve kompleman sisteminin birlikte yer aldığı, konağın enfeksiyon ve diğer mikroorganizmalara karşı defans oluşturmasını sağlayan, spesifik olmayan bir sistemdir. Doğal immün yanıtta patojenlerin tanınmasında, patojenlere ait olan

patojen ilişkili moleküler paternlerin (PAMPs) konaktaki savunma hücrelerinin yüzeyinde bulunan patern tanıma reseptörleri (PRRs) ile etkileşimi önem taşımaktadır. PRRs ailesinin bir üyesi olan TLR sinyalizasyonu bu süreçte anahtar rol oynamakta olup bu reseptörler aynı zamanda yapısal moleküllerin yabancı moleküllerden ayırt edilmesinde rol oynarlar. Tip 1 interferonlar (IFN) doğal immün yanıtta anahtar rol oynayan aracı moleküllerdir ve TLR sinyalizasyonunda görev alırlar. Bu reseptörler içerisinde yer alan TLR-3' ün IL-6 ve C-X-C motif kemokin ligand 10 (CXCL10) gibi inflamatuvar profibrotik sitokin ve kemokinlerin sinyalizasyonunda yer aldığı ve fibroblastların TGF- β 'ye olan yanıtını arttırdığı gösterilmiştir (49).

Son dönemlerde otoimmün hastalıkların patogeneğinde bireysel dendritik hücre (DC) popülasyonunda kantitatif değişiklikler olduğu ve bu durumun da düzenleyici T hücre (Treg) popülasyonunda azalmaya ve otoreaktif T hücre popülasyonunda ise artışa yol açtığı öne sürülmektedir. Aynı zamanda aktive plazmasitoid dendritik hücre (pDC) tarafından üretilen Tip I interferonlar morfeadaki fibrozis ve inflamasyon gelişiminde rol oynamaktadır (139). Lezyonlu ve lezyonsuz morfea hasta derilerinin tip 1 IFN ve pDC varlığı açısından immünohistokimyasal olarak karşılaştırıldığı bir çalışmada dermal inflamatuvar infiltrattaki pDC sayısı ile IFN doku ekspresyonu derecesi arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir (140). Bir çalışmada sistemik skleroziste sayı ve aktivitesinin azaldığı gösterilen Treg hücrelerin morfealı bir grup hastanın kan örneklerinde ve dermis dokularında da sayıca belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (141).

Tip 1 IFN'lerin ekspresyonunu indükleyen sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 4 (STAT4)'ün TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu sitokinlerin ise fibrozisteki ve inflamasyondaki rolünün morfea ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (142). Aynı zamanda STAT4 eksprese etmeyen farelerde bleomisin maruziyeti sonrasında kontrollere göre fibrozisin daha az geliştiği gösterilmiştir (143). Doğal immün yanıt sinyalizasyonunda esas düzenleyici olan ve deri homeostazında önemli rol oynayan nükleer faktör kappa B (NF- κ B)'nin c-Rel adı verilen alt ünitesinin profibrotik olduğu öne sürülmekle birlikte fare deneylerinde bu alt ünitenin sklerodermalı deride sağlıklı kontrollere göre epidermal ekspresyonunun

anormal olduğu gösterilmiştir (144). Hayvan modellerinde IL-1 β üretiminin fibrozisle ilişkili olabileceği gösterilmiştir. IL-1 β salınımı için temel rol oynayan kaspaz-1 aktivasyonunda nükleotid bağlayıcı domain ve lösinden zengin tekrarlar içeren reseptörler (NLRs) kritik bir öneme sahip olup bu moleküler platform inflamazom olarak ifade edilmektedir. Sistemik ve limitli sklerodermalı hasta derilerinde kontrollere göre nükleotid bağlayıcı domain ve lösinden zengin tekrarlar içeren reseptör, pirin domaini içeren 3 (NLRP3) inflamazomunun, kaspaz-1'in ve IL-1 β ekspresyonunun arttığını gösteren bir çalışmada NLRP3 inflamazom gen ekspresyonu ile deri kalınlığının pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuş olup NLRP3 inflamazomunun sklerodermada rol oynayabileceği öne sürülmüştür (145).

-Adaptif immün yanıt

Kazanılmış ya da spesifik immün sistem olarak da bilinen adaptif immün sistem patojenlerin ortadan kaldırılmasında son derece özelleşmiş olan hücre ve süreçlerden oluşan bir sistemdir. Bu sistemin en önemli bileşenlerinden olan CD4+ yardımcı T lenfositler Th1, Th2 ve Th17 olmak üzere üç ana efektör hücre popülasyonundan oluşmaktadır. Klasik olarak Th1 hücreler IL-2 ve IL-12 ile uyarılıp IL-2, interferon gamma (IFN- γ) ve TNF- α üretirken; Th2 hücreler IL-4 ile aktive olup IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 üretirler. Th17 hücreler ise IL17A-F, IL-21 ve IL-22 üretiminden sorumlu iken IL-1, IL-6, IL-2 ve TGF- β 'nin Th17 hücre farklılaşmasında rolü olduğu gösterilmiştir (75). Sistemik sklerodermada önemli rol oynadığı gösterilmiş olan CD4+ Th hücrelerin ve sitokinlerinin morfeada da rol oynadığı düşünülmektedir. Morfeanın erken fazında IL-2, IL-2 reseptörü ve TNF- α seviyeleri artarken bu artışın IL-4, IL-6 seviyeleri ve anti-histon antikoları ile korele olduğu gösterilmiştir (75, 146-148). Bir çalışmada serum çözünebilir IL-6 reseptör düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre morfealı hastalarda daha yüksek olduğu, bu yüksekliğin lezyon sayısı ve yaygınlığı ile korele olduğu gösterilmiştir (149). Th17 indükleyicileri olan IL-1 ve IL-6 erken hastalık süresince (<24 ay) yükselirken Th17 efektörleri olan IL-17F ve IL-22 daha sonra (24-48 ay) yükselmektedir (48, 75). Sistemik skleroderma ve morfeada düşük IL-17C'nin ve yüksek IL-17E ve IL-22'nin fibroblastların profibrotik yanıtını arttırdığı gösterilmiştir (150).

TGF- β anti-inflamatuvar ve immün düzenleyici yolaklarda görev almakta olup fibroblastlar üzerinde mitojenik aktivitesi olan bağ doku büyüme faktörünü

(CTGF), PDGF'yi ve MMP-3'ü selektif olarak indükler. Fibroblastları kollajen, fibronektin, tenaskin, matriks metalloproteinaz-1'in doku inhibitörü ve plazminojen inhibitör-1 gibi çok sayıda ekstraselüler matriks proteinlerini üretmesi için uyararak doku fibrozisinde önemli rol oynamaktadır (136). Aynı zamanda fibroblastlar için potent bir kemoatraktan olup ekstraselüler matriks yıkımı için gerekli olan proteazların üretimini azaltıp, proteaz inhibitörlerinin üretimini arttırmaktadır (5, 75). Morfealı hastaların deri biyopsilerinde TGF- β ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (151, 152). İmmünohistokimyasal olarak da inflamatuvar morfealı deri örneklerinde TGF- β 'nin varlığı desteklenmiştir (152-154). Aynı zamanda TGF- β 'nin morfea hastalarının serum örneklerinde de yükseldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (151, 155). TGF- β 'nin artışı ile gerçekleşen kollajen üretiminin artışı ve kollajen degradasyonunda rol oynayan matriks metalloproteinazların azalması sonucu kollajenin üretimi ve yıkımı arasında bir dengesizlik ortaya çıkar. Bu durumun morfeada görülen fibrozisten sorumlu olabileceği öne sürülmektedir (156). Bir çalışmada MMP aktivasyon kaskadında anahtar rol oynayan MMP-13'ün jeneralize morfeası olup kas tutulumu olanlarda daha düşük olduğu, bu düşüklüğün lineer morfeası olanlarda lezyon sayısı ve tutulan vücut alanı sayısı ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (157). Morfealı hastalarda gösterilen anti-MMP antikollarının da kollajen yıkımının inhibisyonuna katkı sağlıyor olabileceği öne sürülmektedir (130).

Morfeanın geç fibrotik fazında ve son dönemi olan atrofik ve hiperpigmente fazında kollajen sentezini arttıran, MMP-1 aktivitesini inhibe eden ve Th2 sitokinler olan IL-4 ve IL-13'ün arttığı gösterilmiştir (146, 148). Bu fibrotik süreçte kemokin c-c motif ligand 2 (CCL2), 5, 7, 17, 27 ve kemokin c-x-c motif ligand 8 (CXCL8) gibi doku fibrozisinde yer aldığı düşünülen kemokinler de yer almaktadır (5).

Morfeada kontrol gruplarına göre arttığı gösterilen Th ilişkili diğer sitokinler arasında monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), IFN- γ ile indüklenen protein 10 (IP-10), IL12p70 ve granülosit makrofaj-koloni stimule edici faktör(GM-CSF) yer almaktadır (158).

Daha önce belirtildiği üzere morfeada kişisel ve/veya ailevi otoimmün hastalık varlığı ve çeşitli otoantikolların pozitifliği otoimmüniteyi desteklemekte ve patogeneizde B lenfositlerin rolü olabileceğini düşündürmektedir. Morfealı hasta

serumlarında TNF ailesinden olan ve B lenfositler için potent bir hayatta kalma faktörü olan B-hücre aktive edici faktör yüksek bulunmuştur (159). B lenfositlerin aynı zamanda IL-6 ve TGF- β gibi profibrotik sitokinleri arttırdığı ve profibrotik Th2 yanıtını indüklediği gösterilmiş olup sistemik sklerodermada Th1 ve Th17'yi inhibe eden düzenleyici B lenfositlerin azaldığı gösterilmiştir (160).

Bağ dokusunda eksprese edilen ve kollajen üretiminde artışı, fibroblast toplanmasını destekleyen ve ekstraselüler matriks depolanmasını arttıran insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) morfealı hastaların lezyonlu derilerinde kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda pre-B lenfosit gelişimini, immünglobulin üretimini ve T hücre ekspansiyonunu da etkileyen IGF-1'in bu özellikleri dolayısıyla patogeneizde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (161).

Epigenetik Faktörler

Epigenetik DNA dizilimindeki değişikliklerden kaynaklanmayan ancak kalıtsal olan gen ifadesi değişikliklerini inceler. Kalıtsal olup genetik olmayan bu fenotipik varyasyonlar DNA dizisinde hiçbir değişiklik yapmadan hücreyi ya da organizmayı doğrudan etkilemektedir. Sistemik sklerodermada çeşitli gen lokuslarında histon asetilasyonu ve DNA metilasyon paternlerinde değişiklik gösterilmiştir. Yakın zamanda çeşitli immünolojik hastalıklar, kanser türleri ve metabolik hastalıkların patogeneizde mRNA'ları hedef alarak protein translasyonunu inhibe eden küçük kodlanmayan RNA'lar olan mikroRNA (miR)'ların yer alabileceği gündeme gelmiştir (162). Deri fibrozisinde mikroRNA'ların rolü gösterilmiştir. Sistemik sklerodermalı deri örneklerinde profibrotik olan miR-21 ve miR-155'in ekspresyonlarında artış olduğu bildirilmiştir (48). Morfealı hastaların deri örneklerinde ve serumlarında ise antifibrotik miR-7 ve miR-196a50'nin down-regülasyonu gösterilmiş olup bu miRNA'ların tip 1 kollajenin aşırı üretimini desteklediği belirtilmiştir (162, 163).

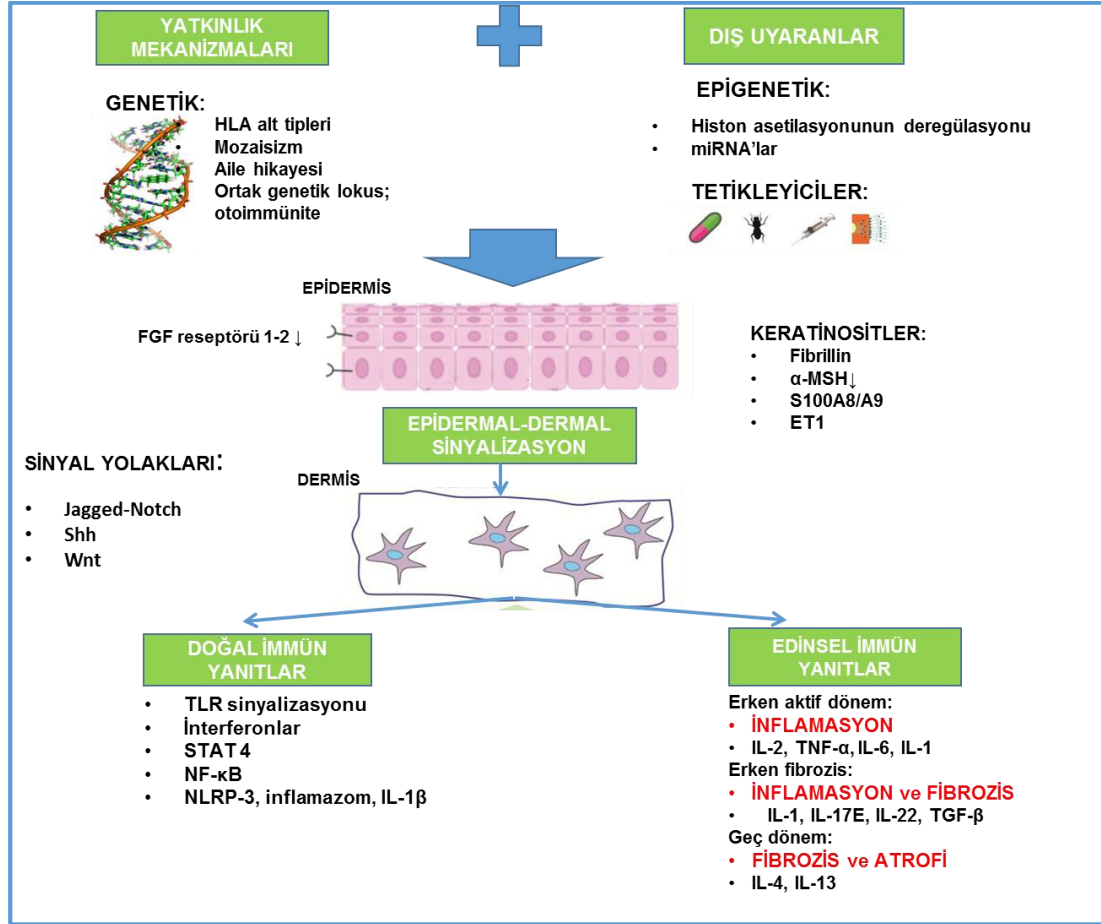
Keratinositlerin Rolü ve Epidermal-dermal Sinyalizasyon

Keratinositler tarafından üretilen TGF- β , IL-1, IL-6, TNF- α , PDGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), endotelin 1 (ET-1), fibrillin-1, S100A8/A9, alfa melanosit stimule edici hormon (α -MSH) gibi birçok faktörün dermal fibroziste rol oynadığı

gösterilmiştir (164). Deneysel modellerde keratinositlerin CTGF, fibronektin ve tip 1 kollajen gibi ekstraselüler matris gen modülatörlerinin ekspresyonunu değiştirdiği gösterilmiştir (165). Morfeadaki dermal fibroblastlarda CTGF mRNA'sı ve proteini tanımlanmıştır (166, 167). Keratinositlerdeki FGF-1 ve 2'nin fibrozis ile ilişkili olduğu ve FGF reseptörü taşımayan fare modellerinde profibrotik yanıtı indükleyen moleküllerin üretiminde artış olduğu gösterilmiştir (168).

Embriyonik gelişim, morfogenez ve yara iyileşmesinde yer alan epidermal-dermal sinyal yollarının (Wingless in homolog (Wnt), Sonic hedgehog (Shh) ve Jagged-Notch) deri fibrozisindeki rolü ilgi çekmektedir. Bu yollar sistemik skleroderma ile ilişkilendirilmiş olup morfeadaki rolü henüz bilinmemekle beraber klinikteki morfolojik varyasyonda potansiyel rol oyanayabileceği öne sürülmüştür (48).

Morfea patogenezi özetleyecek olursak altta yatan genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin varlığında ortaya çıkan vasküler hasarı takiben adezyon moleküllerinin ekspresyonlarında artış olması sonucu inflamatuvar hücrelerin toplanması gerçekleşir. Bu inflamatuvar hücrelerin TGF- β gibi profibrotik sitokinlerin üretilmesini tetiklemesiyle kollajen üretiminde artış ve yıkımında azalma olur. Hastalığın erken aktif fazı Th1 sitokinleri olan IL-2, TNF- α ve IL-6 aracılı inflamasyon ile karakterize olup fibrozisin başlangıcı ve inflamasyonun devamı Th17 ilişkili IL-1, IL-17, IL-22 ve TGF- β üretimi ile olmaktadır. Son dönem olan fibrotik ve atrofik fazda ise Th2 sitokinleri olan IL-4 ve IL-13' ün hakimiyeti söz konusudur. Morfeanın patogenezi Şekil 2.1' de özetlenmiştir (48).



Şekil.2.1. Morfea patogenezi

2.1.5. Sınıflandırma

Morfeanın sınıflandırılması temel olarak klinik özelliklere göre yapılmaktadır. Çeşitli klinik alt tipleri olması ve farklı varyasyonlar göstermesi nedeni ile günümüze kadar kabul görmüş ortak bir sınıflama bulunmamaktadır. Yaygın kabul görmüş ilk sınıflama 1995 yılında Peterson ve arkadaşları tarafından (169) önerilmiştir. Bu sınıflamada morfea terimi plak morfea, jeneralize morfea, büllöz morfea ve lineer morfea olmak üzere tüm klinik tipler için kullanılmış ve farklı alt tipler de bu gruplar altında sınıflandırılmıştır (Tablo 2.1). Bu sınıflamada daha önce morfea ile ilişkilendirilen ancak morfea spektrumunda olduğu genel kabul görmeyen Pasini ve Pierini'nin atrofoderması, liken sklerozus et atrofikus (LSA) ve eozinofilik fasiit tanılarının yer alması ve birden fazla morfea klinik varyantının bir arada olduğu hasta grubunun yer almaması nedenleri ile daha sonra farklı sınıflamalar önerilmiştir.

Tablo 2.1. Morfea sınıflandırılması (Peterson ve arkadaşlarına göre) (169)

Sınıflama	Alt tipler
Plak morfea	Plak morfea Guttat morfea Pasini ve Pierini'nin atrofoderması Keloidal morfea (nodüler morfea) Liken sklerozus et atrofikus
Jeneralize morfea	
Büllöz morfea	
Lineer morfea	Lineer morfea En coup de sabre Progresif hemifasyal atrofi
Derin morfea	Morfea profunda Subkütanöz morfea Eozinofilik fasiit Pansklerotik morfea

2004 yılında Pediatrik Romatoloji Avrupa Topluluğu tarafından juvenil lokalize skleroderma için yeni bir sınıflama oluşturulmuştur (170). Bu sınıflamada Pasini ve Pierini'nin atrofoderması, liken sklerozus et atrofikus ve eozinofilik fasiite yer verilmemiş ve alt tipler ile ilgili minör modifikasyonlar eklenmiştir. Ek olarak daha önceki sınıflamada yer almayan “mikst morfea” terimi eklenmiştir (Tablo 2.2). Bu sınıflama erişkinler için de kullanılabilir ve günümüzde en çok kabul gören klinik sınıflamadır (5, 170). Son olarak 2016 yılında “Association of the Scientific Medical Societies in Germany” tarafından yayınlanmış olan tanı ve tedavi kılavuzunda önceki sınıflamalarla ortak özellikleri olan ancak minör farklılıkların da yer aldığı bir sınıflama önerilmiştir (171) (Tablo 2.3). Burada ise Laxer ve arkadaşlarının (170) önerdiği sınıflama dikkate alınarak klinik özellikler anlatılmıştır.

Tablo 2.2. Morfea sınıflandırılması (Laxer ve arkadaşlarına göre) (170)

Sınıflama	Alt tipler	Tanımlama
Sınırlı morfea	Yüzeyel varyant	Epidermis ve dermise sınırlı oval endurasyon alanları
	Derin varyant	Subkütan dokuları etkileyen (kas ve fasyayı da etkileyebilen) derin oval endurasyon alanları
Lineer morfea	Gövde/ekstremitte varyantı	Gövde/ekstremitelerde dermis ve subkütan dokuyu etkileyen lineer endurasyon
	Baş-boyun varyantı	
	En coup de sabre	Yüz ve skalpin dermisini etkileyen lineer endurasyon (kas, subkütan doku ve santral sinir sistemi etkilenebilir)
	Parry-Romberg sendromu veya progresif hemifasyal atrofi	Yüzün tek tarafında derinin hareket ettirilebildiği, dermis, subkütan doku, kas ve kemik doku kaybı
Jeneralize morfea		7 anatomik bölgeden (baş-boyun, her bir ekstremitte, gövde ön yüz, gövde arka yüz) iki ya da daha fazlasını etkileyen, >3 cm, dört ya da daha fazla endure plak
Pansklerotik morfea		Ekstremitelerin epidermis, dermis, subkütan doku, kas ve kemik yapılarının tamamının etkilendiği tam kat sklerozis (diğer vücut alanları da etkilenebilir)
Mikst varyant		İki ya da daha fazla alt tipin kombinasyonu

Tablo 2.3. Morfea sınıflandırılması (Kreuter ve arkadaşlarına göre) (171)

Limitli (sınırlı) form -Morfea (plak tip) -Guttat morfea -Pasini ve Pierini'nin atrofoderması
Jeneralize form -Jeneralize lokalize skleroderma (en az 3 anatomik bölge tutulumu) -Sakatlayıcı pansklerotik morfea -Eozinofilik fasiit
Lineer form -Lineer lokalize skleroderma (genellikle ekstremitte tutulumu) -Lineer lokalize skleroderma <i>en coup de sabre</i> -Progresif hemifasyal atrofi
Derin form
Mikst form

2.1.6. Klinik Özellikler

Morfea çeşitli klinik alt tiplere ayrılmakla beraber tüm alt tiplerde erken inflamatuvar fazı takiben sklerozis ve atrofi gelişmektedir. Tutulumun derinliği primer olarak dermisin etkilendiği durumda “yüzeyel” veya derin dermisle beraber subkütan doku, fasya ve/veya kemik dokunun etkilendiği durumda ise “derin” olarak değerlendirilmektedir. Hastalık genellikle inflamatuvar ve eritematöz bir yama veya ödematöz bir plak şeklinde başlar. Bazı hastalarda klinik olarak farkedilebilir bir lezyon oluşmadan önce hastalık bölgesinde açıklanamayan ağrı veya kaşıntı şikayeti olabilmektedir. Sklerozis genellikle inflamatuvar lezyonun merkezinden başlar ve lezyonun sınırları karakteristik “viyolase halka” görünümünü alır. Sklerotik evrede hipopigmentasyon, hiperpigmentasyon, kıl foliküllerinin kaybına bağlı alopesi ve deri yüzeyinde parlaklık şeklinde ikincil bulgular sık görülmektedir. Aylar-yıllar sonra sklerotik plaklarda yumuşama ve hipopigmente veya hiperpigmente atrofik plaklara dönüşüm olmaktadır. Yüzeyel tutulum olan lezyonlardaki atrofi ince, sigara kağıdı görünümlü deri ve yüzeyel depresyonlar şeklinde görülürken derin tutulum olan lezyonlardaki atrofi aktif hastalığın iyileşme sürecinden sonra derin çentiklenmeler şeklinde kendini gösterebilmektedir (1, 5).

2.1.7. Morfea Alt Tipleri

En sık görülen morfea alt tipleri sınırlı, lineer, jeneralize ve pansklerotik morfeadır. Erişkinlerde en sık sınırlı morfea, çocuklarda ise lineer morfea varyantının görüldüğü belirtilmektedir (172). Ancak alt tiplerin sıklığı çalışmalar arasında farklılık gösterebilmektedir.

Sınırlı Morfea

Plak morfea olarak da bilinen sınırlı morfea erişkinlerde en sık görülen alt tip olup genellikle gövde ve ekstremitelerde en fazla iki anatomik bölgede yerleşen üçten daha az sayıda, sınırları belirgin, oval ya da yuvarlak şekilli parlak endüre alanlar şeklinde görülür (15, 16). Sınırlı morfeanın morfeası olan erişkinlerin yaklaşık %50'sinde, çocukların ise %30'unda görüldüğünü bildiren çalışmalar vardır (4, 16, 17). Gövdede yerleştiğinde genellikle meme altında ve kalça ile inguinal bölge arasında yerleşim gösterir (172). Erişkin hastalarda köbnerizasyona bağlı kalça bölgesi, bel çevresi ve sütyen çizgisi gibi basınç bölgelerinde yerleşme eğilimi gösterebilmektedir. Kadın hastalarda meme sıklıkla etkilenen bir bölge olup meme başı tutulmaz. Yüzeysel ve derin olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Yüzeysel varyant en sık görülen alt tipi olup epidermis ve dermise sınırlı iken önceden subkütanöz morfea veya morfea profunda olarak da isimlendirilen derin morfea ise dermis, fasya ve kas dokusunu da içerecek şekilde subkütan dokuyu etkilemektedir. Bu grupta üstteki deri dokusu atrofik veya alttaki dokuya bağlı izlenimi verecek şekilde endüre olabileceği gibi hastalıktan etkilenmemiş de olabilmektedir (5). Sınırlı morfea doğal seyrine bırakıldığında genellikle 3-5 yıl içerisinde yavaş bir şekilde yumuşama gösterir. Birçok hastada duraklama dönemlerini takiben inflamasyon, endurasyon ve/veya doku kaybı durumlarının reaktivasyonu görülebilmektedir. Yaşam boyunca yeni morfea lezyonu geliştirme riski artmıştır (16). Bazı hastalarda lineer veya jeneralize morfea formları başlangıçta sınırlı morfea ile uyumlu özellikler gösterebilir.

Lineer Morfea

Lineer morfea çocuklarda en sık görülen morfea alt tipi olup çocuk morfealı hastalarda sıklığı %36-87 arasında bildirilmiştir (15-17, 116, 173, 174). Erişkinlerdeki lineer morfea sıklığı ise ortalama %8 olarak bildirilmiştir (15, 173).

Genellikle unilaterale, bir ya da daha fazla, alttaki dokuda atrofiye neden olan lineer bantlar şeklinde görülür (5, 22). Lineer morfeası olanlarda %5-18 arasında bilateral yerleşim olduğu bildirilmiştir (16, 17, 175). Weibel ve Harper' in (176) 65 lineer morfealı çocuk hastayı değerlendirdiği retrospektif çalışmasında lezyonların yerleşim yerlerinin Blascko çizgileri üzerinde olduğu gösterilmiş ve genetik mozaizmin patogeneze katkı sağlayan mekanizmalardan biri olabileceği öne sürülmüştür. Lineer morfeanın yerleşim yerlerine göre baş-boyun ve gövde/ekstremiteler olmak üzere iki ana varyantı bulunmaktadır. Ekstremitelerde daha sık yerleşim gösterir (175). Baş-boyun yerleşimli varyantında en coup de sabre (ECDS) ve Parry-Romberg sendromu olarak da bilinen progresif hemifasyal atrofi yer almaktadır.

ECDS baş-boyun bölgesinde yerleşim gösteren kılıç ile kesilmiş izlenimi veren hiperpigmente atrofik plaklar ile karakterizedir. En sık alında paramedian olarak yerleşim gösterir. Skalpe uzanım göstererek kalıcı saç dökülmesine yol açabilir. Diğer klasik yerleşim yerleri temporal bölge ve çenedir. Nazal bölge, üst dudak ve jinjiva etkilenebilir. İpsilateral dilde atrofi görülebilir. Perioral deri tutulumu oral kaviteye ilerleyebilir ve sonuç olarak primer dişlerin erken kaybı ve kalıcı dişlerin çıkmasında gecikme görülebilir.

Progresif hemifasyal atrofi alın bölgesinin altında kalan alanın hemifasyal atrofisi ile karakterizedir. ECDS ile karşılaştırıldığında alt yüz yarımında subkütan doku, yağ doku, kas doku ve kemik-kıkırdak dokularını da içerecek şekilde daha yaygın tutulum olduğu ve bu bölgedeki derinin göreceli olarak daha az etkilendiği görülmektedir. Bu iki antitenin birbirinden klinik olarak ayırımını değerlendiren çalışmalarda ECDS'de kütanöz skleroz, hiperpigmentasyon, alopesi varlığının ve genellikle kaş bölgesinin üzerinde yerleşimin; progresif hemifasyal atrofide ise total yüz yarısının tutulumunun, oküler değişikliklerin olmasının ve öncesinde endurasyon, inflamasyon ya da kütanöz atrofi varlığının olmamasının önemli olduğu vurgulanmıştır (177, 178).

Jeneralize Morfea

Jeneralize morfea 7 anatomik bölgenin (baş-boyun, her bir ekstremiteler, gövde ön yüz, gövde arka yüz) iki ya da daha fazlasında yerleşim gösteren >3 cm, dört ya da daha fazla endüre plak varlığı olarak tanımlanmaktadır (170). Erişkinlerdeki

sıklığı bir çalışmada yaklaşık %24 olarak bildirilmiştir (15). Çocuklardaki sıklığı ise yaklaşık %6,5 olarak bildirilmiştir. Genellikle gövde, uyluk ve lumbosakral bölgeler etkilenirken akral bölgeler korunur (172). İnflamasyon derecesi diğer alt tiplere göre daha fazladır. ANA pozitifliği, miyalji, artralji ve halsizlik gibi sistemik semptomların varlığı diğer alt tiplere göre daha fazla görülmektedir (15-17). Genellikle sistemik skleroderma ile karıştırılabilmektedir. Reynaud fenomeni, tırnak dibi kapiller değişiklikleri ve sklerodaktilinin olmaması sistemik sklerodermadan ayırmaya yardımcı klinik bulgulardır (5, 179).

Pansklerotik Morfea

Pansklerotik morfea lokalize sklerodermanın en az görülen ancak aynı zamanda en fazla sakatlayıcı özelliği olan alt tipidir (170). Gövde, ekstremiteler, yüz ve skalpin deri ve deri altı dokularının hızlı progresyon gösteren jeneralize tam kat tutulumu ile karakterizedir (179). Hastalığın klinik görünümü jeneralize morfeaya benzemekle birlikte pansklerotik morfea deri ve subkütan dokuları etkilemesinin yanı sıra kas, tendon ve kemik dokuyu da etkileyen daha belirgin ve yaygın bir tablodur (180). Genellikle 14 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (22). Hastalığın progresyonu olumsuz sonuçlara yol açmaktadır. Genellikle yaygın kontraktürlere, yara iyileşmesinde gecikmeye, yaygın ağrılı ülserasyonlara ve kalsifikasyonlara neden olabilmektedir (171, 180). İyileşmeyen ülserasyonlar üzerinde skuamöz hücreli karsinom gelişimi (SCC) olan olgular bildirilmiştir (181-184). Wollina ve arkadaşlarının derlemesinde (182) pansklerotik morfeası olan hastalarda yıllık SCC gelişim riski %6,7 olarak değerlendirilmiştir. Aynı derlemede hastalığın komplikasyonları olan gangren ve sepsise bağlı mortalite olduğu da bildirilmiştir.

Mikst Morfea

Mikst varyant iki ya da daha fazla morfea alt tipinin bir arada görülmesi durumudur. Çocuklarda daha sık görülen bir durumdur ve sıklığı yaklaşık %15 olarak bildirilmiştir (17, 170). Genellikle lineer morfea ve plak morfea birlikteliği veya lineer morfea ve jeneralize morfea birlikteliği şeklinde görülür (171).

Morfea Varyantları ve İlişkili Durumlar

-Guttat morfea

Guttat morfea nadir görülen bir varyant olup sıklıkla omuz ve göğüs bölgesini etkiler. Lezyonlar 2-10 mm boyutunda, çok sayıda, sarımsı veya beyazımsı renkte, parlak yüzeyli, minimal skleroz içeren hipopigmente ve pigmente papüller şeklindedir. Erken inflamatuvar lezyonlar eritematöz maküller şeklinde görülebilir. Epidermis liken sklerozus et atrofikusunu andırır şekilde ince ve atrofiktir (22, 172).

-Pasini ve Pierini'nin atrofoderması

Genellikle çocukluk çağında gövdede ve ekstremitelerde simetrik olarak yerleşen asemptomatik, iyi sınırlı, hiperpigmente, atrofik, tipik keskin-dik (cliff-drop) kenarlı ve sert olmayan plaklar ile karakterizedir. Diğer sklerotik lezyonlar ile birlikte görülebilmektedir (22, 172). Hastalığın bir morfea varyantı mı yoksa ayrı bir antite mi olduğu konusu tartışmalıdır. Daha erken başlaması, daha uzun süreli bir seyir izlemesi, inflamasyon ve endurasyonun genellikle olmaması gibi özellikleri ile morfeadan farklılık göstermektedir. Morfeada spontan involüsyon olabilirken Pasini ve Pierini'nin atrofodermasında involüsyon beklenmemektedir. Buna karşın aynı hastada aynı veya farklı zamanlarda morfea ile birlikte görülebilmesi ve morfea lezyonlarının bazen atrofik olabilmesi nedenleri ile bu tablonun morfeanın sklerozun gelişmediği kusurlu bir formu veya atrofik bir varyantı olabileceği de öne sürülmüştür (172, 185). Daha sonra her iki antite arasındaki benzerlikler ve farklılıklar göz önünde bulundurulduğunda Jablonska tarafından "yüzeyel morfea" tanımlaması önerilmiştir (186).

-Büllöz morfea

Büllöz morfea morfeanın nadir görülen bir varyantıdır. Genellikle tipik morfea plaklarına gergin, subepidermal büller eşlik eder. Morfeanın farklı alt tipleriyle birliktelik gösterebilmektedir. Daha önceden var olan ancak iyileşmiş olan morfea plağı üzerinde de geliştiği bildirilmiştir. Altta yatan patogenetik mekanizma tam olarak bilinmemekle beraber en sık öne sürülen neden sklerodermatöz süreç sonunda gelişen lenfatik obstrüksiyondur. Büllöz morfea sıklıkla alt ekstremitelerde yerleşir. Bu bulgunun da lenfatik obstrüksiyonu destekleyebileceği öne sürülmüştür. Bazı olgularda hemorajik vasıflı büllerin eşlik ediyor olması lokal travmanın da tetikleyici olabileceğini düşündürmektedir. Diğer bir öne sürülen mekanizma ise

dermoepidermal bileşkenin immün aracılıklı hasara uğramasıdır (187-189). Büllöz morfeada eozinofillerin rolünü araştıran bir çalışmada hastaların %45'inde dokuda eozinofili saptanmıştır. Aynı çalışmada eozinofil granüllerinin majör komponenti olan ve büllöz pemfigoid, herpes gestasyonalis gibi otoimmün büllöz hastalıklarda rolü olduğu gösterilmiş olan majör basic proteinin (MBP) hastaların %60'ının doku örneklerinde tespit edildiği bildirilmiştir (188).

-Nodüler/ keloidal morfea

Nodüler ya da keloidal morfea tek veya çok sayıda, post-travmatik skarları andıran, endüre plaklarla karakterize nadir görülen bir varyanttır. Hem sistemik hem de lokalize skleroderma seyrinde ortaya çıkabilmektedir (190). Literatürde “nodüler” ve “keloidal” terimlerinin birbirlerinin yerine kullanılmasına karşın bazı yazarlar klinik ve histolojik özellikleri skleroderma ile daha uyumlu olan lezyonları nodüler morfea; keloidle uyumlu olan lezyonları ise keloidal morfea olarak adlandırmayı uygun görmekteirler. Ancak her iki durumu da gösteren vakalar bulunmaktadır (191). Literatürde non-segmental morfea plakları olan bir hastada eş zamanlı segmental keloidal morfea bildirilmiş olup sadece segmental olan lezyonun keloidal özellikler göstermesinin morfea gelişiminde gerekli olmayan ancak yine de keloid formasyonu oluşumu ile sonuçlanacak fibroblast anormalliklerine neden olan gen ya da genlerde erken heterozigosite kaybı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (192).

-Eozinofilik fasiit

Shulman sendromu olarak da bilinen eozinofilik fasiit farklı sınıflamalara göre derin morfea ve jeneralize morfeanın alt tipi olarak kabul edilmektedir (169, 171). Sıklıkla el ve ayakların derisi tutulmadan ekstremitelerde yerleşen simetrik, ağrılı, endure plaklar ile karakterizedir. Lezyon oluşumundan önce travma hikayesi olabilir. İnflamasyonun temel olarak fasya derinliğinde olmasına ve yüzeysel tabakaların tutulmamasına bağlı olarak deri genellikle normaldir. Perivasküler alanların göreceli etkilenmemesine bağlı olarak yüzeysel venlerin seyrine uyacak şekilde “oluk belirtisi” olarak adlandırılan lineer depresyonlar görülür. Eklem kontraktürleri sık görülür. Eozinofili, hipergammaglobulinemi, ESR (eritrosit sedimentasyon hızı) yüksekliği ve nadiren trombositopeni ve anemi gözlenebilmektedir (193).

-Liken sklerozus et atrofikus (LSA)

LSA ince, buruşuk yüzeyle, atrofik beyaz yamalar ile karakterize olup genital ve ekstragenital bölgelerde yerleşebilmektedir. Genital hastalık için labium majör, labium minör, glans penis, penil prepisyum ve sünnet derisi sık yerleşim yerleri iken ekstragenital olarak gövde ve proksimal ekstremiteleri tercih eder. Özellikle sınırlı ve jeneralize morfea alt tiplerinde olmak üzere morfea ile birlikte görülebilmektedir. Lutz ve arkadaşlarının (194) morfea hastalarındaki LSA sıklığını değerlendirdikleri prospektif çalışmasında morfea grubunda genital LSA sıklığı %38 iken, kontrol grubunda %3 olarak bulunmuştur. Ancak morfea ve LSA arasındaki ilişki tartışmalıdır (195).

2.1.8. Sistemik Tutulum

Morfeada ekstrakütanöz tutulum nadir görülen bir durum olmayıp pediatrik ve erişkin hasta gruplarının değerlendirildiği retrospektif çalışmalarda sıklığı %24-46 arasında bildirilmiştir. En sık jeneralize ve lineer morfeada gözlenirken sınırlı morfeada nadiren eşlik eder (15-17, 173, 174, 196). Pediatrik hastalarda muhtemelen lineer ve pansklerotik varyantların daha sık görülmesine bağlı olarak erişkinlere göre ekstrakütanöz tutulum daha sık görülmektedir (197).

Kas-iskelet Sistemi Tutulumu

Artralji, artrit, ortopedik komplikasyonlar, miyalji ve kemik problemleri morfeada en sık görülen ekstrakütanöz bulgulardır (197). Artralji en sık görülen semptomdur. Hastaların dörtte birinde deri lezyonunun yerleşim yerinden bağımsız olarak görülebilmektedir (170). Artritin eşlik ettiği morfealı çocuk hastalarda artriti olmayanlara göre RF pozitifliği anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (196). Ortopedik problemler en sık lineer morfeada görülmekte olup genellikle ekstremitelerde kas atrofisi, ekstremitte boy uzunluklarında eşitsizlik, asimetric ekstremitte büyümesi, eklem kontraktürleri, skolyoz ve kozmetik disfigürasyon şeklinde görülmektedir (179, 196, 197). Kas-iskelet sistemi komplikasyonları lezyonların anatomik yerleşimine ve derinliğine bağlı olarak farklı şiddette olabilmektedir. Ön kolun tam kat sklerozuna bağlı elde ödem sonucu el

parmaklarının nekrozu ile otoamputasyon ve kemik tutulumuna bağlı osteoporoz bildirilmiştir (197, 198).

Nörolojik Tutulum

Kas-iskelet sistemi semptomlarından sonra ikinci sıklıkta görülen ekstrakütanöz semptomlar nörolojik tutulum ile ilişkilidir. Nörolojik tutulum yüzde yerleşim gösteren lineer morfea varyantında görülmektedir. Nörolojik anormalliklerin görüldüğü hastaların %21-85'inde baş ağrısı, %12.5-40'ında nöbet olduğu bildirilmiş olup bu şikayetlerin dışında periferel nöropati, trigeminal nevralji, mastikatör kas spazmı, serebellar hemiatrofi, EEG bozuklukları, davranış değişiklikleri ve öğrenme bozuklukları da bildirilmiştir (196, 197, 199). Nörolojik değişiklikler kütanöz lezyonlarla genellikle aynı tarafta olmakla birlikte deri tutulumu ile ilişkisiz olarak da ortaya çıkabilmektedir. Kütanöz bulguların yaygınlığı ile nörogörüntüleme bulguları ve nörolojik semptomlar arasında korelasyon olmadığı rapor edilmiştir (200). Beyin görüntüleme yöntemlerinde kalsifikasyon, subkortikal beyaz cevherde ve korpus kallozumda sinyal değişiklikleri, fokal doku atrofisi, vasküler malformasyonlar ve vaskülit tespit edildiği bildirilmiştir (196, 200, 201).

Oküler Tutulum

Oküler tutulum morfeada üçüncü en sık görülen ekstrakütanöz değişiklik olup özellikle baş-boyun tutulumu olan hastalarda görülmektedir (196). Yedi yüz elli çocuk hastanın değerlendirildiği bir çalışmada hastaların %3.2'sinde oküler tutulum olduğu bildirilirken sadece ECDS'si olanlarda bu oran %14,2 olarak bulunmuştur (17). Çocuk hastaların dahil edildiği çok merkezli çalışmalardan edinilen bilgilere göre en sık görülen oküler anormallikler adneksiyal yapıların sklerozu ve anterior segment inflamasyonudur. Diğer oküler bozukluklar episklerit, posterior segment inflamasyonu, glokom, kseroftalmi, keratit ve strabismus olarak sıralanabilir. Oküler tutulum olan hastalarda özellikle santral sinir sistemi ile ilişkili olmak üzere ek bir ekstrakütanöz anormalliğin eşlik etme riski artmıştır. Eş zamanlı nörolojik tutulumla bağlı midriazis ve papilödem bildirilmiştir (17, 196, 202, 203).

Yüz bölgesinde lezyonu olan ve/veya eş zamanlı nörolojik tutulumu olan hastalarda dikkatli oftalmolojik takip yapılmalıdır. Oftalmolojik tarama ilk 3 yıl 3-4 ayda bir, sonrasında ise relaps durumunda olacak şekilde önerilmektedir (197, 202).

Raynaud Fenomeni

Raynaud fenomeni genellikle tırnak dibi kapiller değişiklikleri ile birlikte görülmekte olup bağ doku hastalığı varlığını düşündürülen bir bulgudur. Marzano ve arkadaşlarının çalışmasında (173) sıklığı morfeası olan erişkinlerde %7, çocuklarda ise %2 olarak bulunmuştur. Raynaud fenomeni olan erişkin hastaların %87,5'inde ANA pozitifliği saptanmıştır. Çocuk hastaların değerlendirildiği bir başka çalışmada ise ekstrakütanöz bulgusu olan 168 hastanın % 9,5'inde Raynaud fenomeni tespit edilmiştir (196). Raynaud fenomeni varlığının sistemik skleroz gelişimi için bir risk faktörü olabileceği öngörülmüştür.

Pulmoner Tutulum

Sistemik sklerodermanın primer pulmoner hipertansiyon, intertisyel akciğer hastalığı gibi spesifik akciğer bulguları morfealı hastalarda bildirilmemiştir. Morfealı hastalardaki pulmoner değişiklikler nadiren jeneralize ve pansklerotik morfeada göğüs duvarının tutulumuna bağlı sekonder restriktif defektler olarak ortaya çıkmaktadır (198). Çocuk morfealı hastaların değerlendirildiği bir çalışmada ise hastaların %0,7'sinde orta derecede dispne, persistan öksürük ve pulmoner yetmezliği içeren pulmoner sisteme ait bulgular tespit edilmiştir. Hastaların bir kısmında solunum fonksiyon testlerinde respiratuvar volüm kapasitesinde hafif azalma tespit edilmiştir (196).

Gastrointestinal Sistem (GİS) Tutulumu

Yaygın kütanöz sklerozun restriktif etkilerine bağlı olarak disfaji ve gastroözefageal reflü görülebilmektedir. On dört morfealı çocuk hastanın değerlendirildiği bir çalışmada hastaların yaklaşık yarısında non-spesifik özefageal motor anormallikleri, özefajit ve 24 saatlik pH monitörizasyon anormallikler izlenmiştir (204). Otuz bir erişkin hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada ise morfea hastalarının %7'sinde hafif şiddette özefageal semptomlar tespit edilmişken

hastaların hiçbirinde manometride ve 24 saatlik pH monitörizasyonunda anormallik saptanmamıştır (205).

Renal ve Kardiyak Tutulum

Juvenil morfealı hastalarda renal sistem bulguları olan izole vakalar bildirilmiştir. Bu bildirimler arasında nefrotik sendrom, ipsilateral renal arter stenozu, proteinüri, hematüri ve immünglobulin M nefropatisi yer almaktadır (17, 196, 206). Kardiyak tutulum olarak akut perikardit ve aritmisi olan olguların bildirilmiş olmasının yanı sıra çocuk morfealı hastalarda kardiyak tutulumu değerlendiren prospektif bir çalışmada istirahat ve aktivite sırasında kalp hızlarının daha yüksek olduğu bulunmuştur (207). Ancak bu durumun klinik önemi bilinmemektedir.

2.1.9. Tanı ve Değerlendirme

Morfea tanısı temel olarak klinik özelliklere dayanılarak konulur; ancak diğer tanıların ekarte edilebilmesi için sıklıkla histopatolojik inceleme gerekir. Hastalığın aktivitesinin, hasar düzeyinin, tutulum yaygınlığının ve tedaviye yanıtın belirlenmesinde çeşitli görüntüleme yöntemleri, yaşam kalite indeksleri ve deri skorlamalarını içeren ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır.

Histopatoloji

Histopatolojik özellikler hastalığın evresi ve derinliğinden etkilenmektedir. Morfolojik değişiklikler en iyi dermis ve subkütan yağ doku sınırında değerlendirilebilmektedir. Histopatolojik inceleme için alınan örnekler mutlaka subkütan yağ dokusunu da içermeli ve biyopsinin inflamatuvar sınırdan mı yoksa fibrotik merkezden mi alındığı mutlaka belirtilmelidir.

Erken dönemde inflamatuvar fazda alınan örneklerde ışık mikroskopisinde damar duvarlarındaki endotelde şişme ve ödem gözlenir. Kapillerler ve küçük arteriyoller çevresinde CD4+ T hücreleri, makrofajlar, plazma hücreleri ve bazen eozinofiller, histiyositler ve mast hücrelerini içeren infiltrat yer almaktadır. Periadneksiyal alanlarda da inflamatuvar infiltrat gözlenir. Epidermis etkilenmemiş, incelmış veya atrofik olabilir (1, 171, 172, 193).

İnflamatuvar infiltrat geç dönem lezyonlarında azalırken son dönemlerde subkütan yağ dokusunun bazı bölümleri hariç tamamen kaybolur. Epidermis normal görünürken rete uçlarında düzleşme ve kaybolma görülebilir. Dermis ve üst subkütan dokuda ödem görülmez. Kapillerler ve küçük damarlar sayıca azalmıştır. Kollajen bantlar arasındaki boşluklar kaybolur ve homojen kollajen bantlar pek çok yapının yerini almaya başlar. Bu dönemde retiküler dermiste kollajen bantlar sıkı bir şekilde dermoepidermal bileşkeye paralel yerleşmiş yığınlar şeklinde görülür ve yoğun eozinofilik boyanır. Sebace bezler ve kıl yapıları tamamen kaybolur. Ekrin bezler atrofik görünümde olup genel lokalizasyonlarından farklı olarak dermiste sklerotik kollajen bantların ortasında yerleşim gösterebilmektedir. Küçük damar duvarlarında kalınlaşma ve lümenlerinde daralma görülür. Kollajen bantların subkütan dokuya uzanımına bağlı olarak subkütan yağ dokusu dermis içerisinde sıkışmış gibi gözüktür. Subkütan doku homojen ve hiyalinizedir. Atrofik fazda ise inflamatuvar infiltratın yok olmasının yanı sıra sklerozda azalma görülür. Telenjektazi izlenebilir (1, 5, 22, 171).

Histopatolojik özellikler ile spesifik alt tipler arasında korelasyon bulunmaktadır. Derin morfea ve jeneralize morfeada mid-dermisin altındaki bölgede skleroz izlenirken lineer ve sınırlı morfeada klinik heterojenite ile de uyumlu olacak şekilde hem mid-dermis ve altında hem de papiller dermis ve yüzeysel retiküler dermiste skleroz izlenebilmektedir. Bu nedenle skleroz ve inflamasyonun derinliğinin tedavi seçiminde yol gösterici olabileceği öne sürülmüştür.

İmmünohistokimyasal olarak özellikle retiküler dermisin fibrotik alanlarında CD34+ dendritik hücrelerde azalma gözlenirken faktör XIIIa+ dermal dendritik hücrelerde artış izlenmektedir (171, 208).

Laboratuvar Değerlendirmesi

Sistemik sklerozisten farklı olarak morfeada karakteristik spesifik bir serolojik belirteç bulunmamaktadır. Çocuk hastaların değerlendirildiği bir çalışmada ESR, C-reaktif protein (CRP), beyaz küre yüksekliği gibi inflamatuvar parametrelerde değişim saptanmamıştır. Ancak derin morfeası olan ve ekstrakütanöz tutulumu olan bazı hastalarda bu parametrelerde yükseklik bildirilmiştir (17, 196).

Serolojik testler içerisinde ANA, anti-histon antikorları, RF ve anti-topoizomeraz II alfa antikorlarının yüksek olduğu bildirilmiştir.

Morfeanın borrelia enfeksiyonu ile ilişkisi çelişkili olduğundan rutin serolojik test yapıp yapılmaması konusunda bir karara varılamamıştır.

Rutin klinik pratikte hastalık aktivitesini ve seyrini değerlendirmede kullanılabilecek bir parametre henüz bulunmamaktadır. 2016 yılında yayınlanan Alman kılavuzunda morfeanın tüm formları için tam kan sayımı, biyokimya ve ANA'yı içeren temel testlerin yapılması, başka bir otoimmün hastalıktan şüphelenilme durumunda ise ekstrakte edilebilir nükleer antikor (ENA) düzeylerinin değerlendirilmesi ve borrelia serolojisinin sadece seçilmiş vakalarda istenmesi önerilmektedir (171).

Değerlendirme Ölçütleri

-Deri skorları

Morfea ile ilgili özellikle tedavi yanıtının değerlendirildiği çalışmalarda araştırmacılar bulgularını rapor edebilmek için kendilerinin oluşturduğu bazı skorlamalar kullanılmışlardır. Bunlardan en sık kullanılanı Modifiye Deri Skorlaması (MSS)'dir. MSS'de vücut baş-boyun, gövde, kollar, eller, parmaklar, bacaklar ve ayaklar olmak üzere 7 anatomik bölgeye ayrıldıktan sonra kalınlık derecesi ve tutulum yüzdesine göre 0-3 arasında skorlanır. Ancak genel olarak bu skorlamaların geçerlilikleri kanıtlanmamıştır (172).

İlk defa 2009 yılında morfeaya spesifik bir skorlama olan lokalize skleroderma deri yaygınlık indeksi (LoSSI), Lokalize Skleroderma Klinik ve Ultrason Çalışma Grubu (LOCUS) tarafından onaylanmıştır (209). Bu skorlamada 18 anatomik bölge için derideki eritem ve kalınlık 0-3 arasında ve son 1 ay içerisinde yeni lezyon gelişiminin olup olmaması 0 ve 3 olarak değerlendirilmektedir. Tutulan ve tutulmayan yüzey alanlarının da değerlendirildiği bu yöntemde yüzey alanlarının hesaplanması ile ilgili olarak uygulayıcı içi ve uygulayıcılar arası güvenilirliğin düşük olması ve değişimleri algılamadaki duyarlılığın düşük olması nedeniyle yüzey alanı çıkarılarak modifiye lokalize skleroderma deri yaygınlık indeksi (mLoSSI) geliştirilmiştir (210). Bu skorlamanın gözlemciler arası tutarlılığı 0,70, gözlemci içi tutarlılığı ise 0,77 olarak değerlendirilmiş ve 10 haftalık bir sürede değişime karşı

duyarlı olduğu gösterilmiştir. Bu skorlamaya ek olarak inflamatuvar aktif lezyonları değerlendirmenin yanı sıra terapötik etkinin de değerlendirilmesi için dermal ve subkütanöz atrofi ve dispigmentasyonu yine 18 anatomik bölge için 0-3 arasında değerlendiren lokalize skleroderma deri hasar indeksi (LoSDI) geliştirilmiştir (210). Daha sonra kütanöz lupus eritematozus aktivite ve yaygınlık indeksi (CLASI) model alınarak LoSDI, LoSSI ve hekim global değerlendirme (PGA) yönteminin kombinasyonu ile lokalize skleroderma deri değerlendirme aracı (LoSCAT) oluşturulmuştur. PGA'da vizüel analog skala (VAS) kullanılarak yüzde atrofi, iskelet kası atrofisi, fiziksel engel, eklem kontraktürü, kemik atrofisi, katarakt ya da glokom, ekstremitte uzunluk eşitsizliği, santral sinir sistemi semptomları, anormal beyin manyetik rezonans görüntüleme, psikosoyal bozukluk, dermal atrofi, subkütanöz atrofi ve dispigmentasyon varlığı 0-100 arasında hekim tarafından değerlendirilmektedir. LoSCAT daha önceki skorlamalardan farklı olarak aktif olan hastalık alanlarının hasar alanlarından ayırt edilmesini sağlamaktadır. Hasar gelişimi geri dönüşsüz bir durum olduğundan bu skorlama tedavi başarısını değerlendirmeye de olanak sağlamaktadır (208, 211). Uygulayıcılar arası ve uygulayıcı içi güvenilirliği yüksek olan, kullanımı kolay olan ve kullanımı için ek bir ekipman ya da görüntüleme gerektirmeyen bu yöntemin morfea değerlendirmesinde umut verici bir yöntem olduğu düşünülmektedir (171, 212).

Bir diğer skorlama dispigmentasyon, endurasyon, eritem ve telenjiektazinin değerlendirildiği DIET skorlaması olup bu skorlamanın VAS ile korelasyonunun iyi olduğunu destekleyen çalışmalar bildirilmiştir (213-215). Bu skorlama farklı klinik özellikleri sınıflandırılmaya çalışıyor olmakla birlikte aktif fazdan inaktif faza geçen lezyonların skorlarının toplamı aynı kalabilmektedir. Bunun dışında telenjiektazi lokalize sklerodermada nadir görülen bir bulgudur. Bu yöntemin morfea değerlendirmesi için çok uygun olmadığı düşünülmektedir (216).

Ultrasonografi (USG)

USG iyonize radyasyon içermemesi, anestezi gerektirmemesi ve göreceli olarak maliyetinin düşük olması nedeni ile morfea aktivitesinin ve tedaviye yanıtının değerlendirmesinde değerli bir araçtır. Non-invaziv bir teknik olan USG özellikle lezyon derinliğinin ölçülmesinde kullanılabilir. Çözünürlük ve penetrasyon özellikleri frekans değerleri tarafından belirlenmektedir. Yüksek frekans değerleri

yüksek çözünürlük sağlarken penetrasyon özelliği düşüktür. Lokalize sklerodermada çoğunlukla 10-25 megahertz (MHz) frekans aralığı kullanılmıştır (208). Bu frekans aralığındaki problemlerin kullanıcı içi ve kullanıcılar arası güvenilirliğinin iyi düzeyde olduğu gösterilmiştir (5). Literatürdeki çalışmalarda normal deri ile karşılaştırmalı olarak lezyonlu derinin kalınlığının kantitatif olarak ölçümünde 10-15 MHz USG'nin kullanılabilmesi desteklenmiştir, ancak klinik evre ve patoloji ile korelasyonu yapılmadığından yöntemin geçerliliği kanıtlanamamıştır (217-219). Morfea değerlendirmesinde 40 mm'ye kadar penetre olabilen 14 MHz USG'nin kullanıldığı bir çalışmada USG'nin hastalığın klinik evrelerini ayırt etmede güvenilir bir yöntem olabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmada inflamatuvar lezyonların izoekojenik, sklerotik lezyonların hiperekojenik ve atrofik lezyonların hipoekojenik özellikte olduğu gösterilmiştir. Histopatolojik incelemede orta ve ileri derecede skleroz ile hiperekojenitenin ilişkili olduğu bulunurken USG ile ölçülen skleroz derinliği ve histolojik analizler arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (220). Li ve arkadaşları tarafından (221) 8-14 MHz USG görüntüleri değerlendirilerek yapılan standardizasyon çalışmasında hastalık aktivitesi ile LOCUS tarafından doku tabakaları arasındaki ekojenite ve vaskülariteyi ölçmek üzere geliştirilen Ultrason Hastalık Aktivitesi (U-DA) ve doku kalınlıkları arasındaki farklılığı değerlendirmek üzere geliştirilen Doku Kalınlık Skoru (TTS) arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve klinik olarak aktif ve inaktif lezyonların U-DA skorları arasında anlamlı fark bulunurken TTS skorları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Literatürde 20-25 MHz USG özellikle tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde deri kalınlıkları arasındaki ölçümleri yapmak üzere kullanılmıştır. 10-15 MHz'ye benzer şekilde kantitatif değişikliklerin ölçümünde başarılı bir yöntem olarak değerlendirilmiştir. Özellikle 20 MHz USG'nin güvenilirliği, tekrar edilebilirliği ve geçerliliğinin daha yüksek olduğu desteklenmiştir (171, 212, 222, 223). Morfea aktivitesinin değerlendirilmesinde renkli Doppler USG'nin kullanımı inceleyen ve sonografik aktivite belirteçleri ile histolojik özellikleri karşılaştıran bir çalışmada en duyarlı ve özgül sonografik özelliklerin azalmış dermal ekojenite, artmış subkütan doku hiperkeojenitesi, artmış kütanöz kan akımı, dermal kalınlık artışı ve azalmış kütanöz kalınlık olduğu gösterilmiştir (224). Sonuç olarak USG'nin aktif ve inaktif hastalığı ayırt etmede,

hastalığın progresyonunu ve tedaviye yanıtını değerlendirmede kullanışlı bir yöntem olduğunu söylemek mümkündür.

-Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

MRG temel olarak morfeanın internal tutulumunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Özellikle baş-boyun bölgesinde yerleşim gösteren lineer morfeada santral sinir sisteminin ve oküler tutulumun değerlendirilmesinde ve ekstremiteler yerleşimli lineer ve pansklerotik morfeada kas-iskelet tutulumunun değerlendirilmesinde endikedir (200, 225).

Hastalığın inflamatuvar fazındaki dermis kalınlaşması ve subkütan doku, fasya ve kas dokusunun infiltrasyonu; kontrastsız T1-ağırlıklı görüntülerde hipointens sinyalizasyon şeklinde görülürken kemik tutulumu ise T2-ağırlıklı görüntülerde ve kontrastlı T1-ağırlıklı görüntülerde bant tarzı sinyal artışı şeklinde görülebilmektedir (226). Morfea hastalarındaki kas-iskelet tutulumunu değerlendiren bir çalışmada MRG ile tespit edilen en sık bulgu fasyal kalınlaşma olarak tespit edilmiştir. Klinik olarak kas-iskelet tutulumundan şüphelenilmeyen bazı hastalarda da anormal MRG bulguları saptanmıştır (225). MRG fasya ve kas dokusu gibi derin yapıları değerlendirmede iyi sonuçlar vermekle beraber maliyetli, zaman ve eğitim gerektiren bir yöntem olması nedeniyle rutin uygulanabilirliği düşüktür (216).

-Bilgisayarlı deri skorlama yöntemi

Zulian ve arkadaşları (227) tarafından geliştirilen bu yöntem tek bir lezyonun kendi içerisinde takip edilebilmesine olanak sağlar. Lezyon üzerine şeffaf özellikte bir film yapıştırıldıktan sonra lezyonun endure olan komponenti ve periferindeki eritemli ya da leylak rengi halka yapışkan film üzerinden farklı renklerle işaretlenir. Özelleşmiş bir bilgisayar programı aracılığıyla her iki renk arasındaki fark ayırt edilerek inflamatuvar sınırın ve sklerotik merkezin lezyonun total yüzey alanına oranı hesaplanır. Hastanın boyu ve kilosu bilindiğinde lezyon boyutunun vücut yüzey alanına oranı da hesaplanabilir. Basit, hızlı ve non-invaziv olan bu yöntemin uygulayıcı güvenilirliği kabul edilebilir düzeydedir. Ancak morfea lezyonları iyileşirken her zaman daralma ya da büzüşme göstermediğinden iyileşmeyi değerlendirmede duyarlı bir yöntem olarak değerlendirilmemektedir (212). Aynı

zamanda yöntemin terapötik etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır (171).

-Durometre

Durometre deri sertliğini ölçmede kullanılan elde taşınabilir bir cihazdır. Ölçüm ödem, lokalizasyon, hastanın yaşı ve cinsiyetine bağlıdır (228). Durometre kullanılarak morfealı çocuk hastaların değerlendirildiği bir çalışmada normal deri ve lezyonlu deri arasındaki ölçümlerde belirgin farklılık olduğu gösterilmiştir (229). Durometre ölçümlerinde gözlemci içi ve gözlemciler arası değişkenlik düşük olmakla birlikte klinik deri skorları ile korelasyonu düşüktür ve duyarlılığı bilinmemektedir. Bu nedenle klinik kullanılabilirliği açısından soru işaretleri bulunmaktadır (212).

-Kutometre

Kutometre bilgisayarla bağlantılı, derinin elastikiyet ve relaksasyonunu ölçen elde taşınabilir bir cihazdır. Ölçüm anatomik bölge, yaş, cinsiyet ve ödeme bağlıdır. Ultrasonografik ölçümdekine benzer şekilde kutometre deri yüzeyine dik bir şekilde yerleştirilir. Test edilen alandaki deri vakum etkisiyle çekilir ve derinin bazal yerine dönme oranı ölçülür. Sklerotik derinin elastikiyetinin ölçümünde iyi bir yöntem gibi gözükse de geçerliliği kanıtlanmış bir yöntem değildir (172, 212, 230).

-Termografi

Termografi hastaların deri yüzey sıcaklığının yansıtılmasıyla kızılötesi görüntüler alan bir cihazdır. Bu ölçümün yapılabilmesi için sıcaklık kontrollü bir odaya, hastanın deri sıcaklığının oda sıcaklığına ulaşması için belli bir süreye (15 dakika), kızılötesi kameraya, eğitilmiş bir teknisyene ve görüntüleri yorumlayacak beceride bir kişiye ihtiyaç vardır. Bu yöntemde çevre dokudan 0,5 °C daha sıcak alanlar pozitif kabul edilir. Klinik muayene bulgularının standart kriter kabul edildiği iki çalışmada yöntemin duyarlılığı %92-100; özgüllüğü ise %68-80 olarak değerlendirilmiştir (231, 232). Her iki çalışmada da hastalığın indüklediği atrofik alanlarda ve inflamatuvar olmayan alanlarda yanlış pozitiflikler saptanmıştır. Yazarlar subkütan doku kaybının epidermisin termal iletkenliğini arttırdığını, alttaki damar ağının yansımaya bağlı elde edilen bu sonuçların hastalık aktivitesini göstermediğini belirtmişlerdir. Termografinin non-invaziv ve duyarlı bir yöntem olmasıyla birlikte yanlış pozitif sonuçlarının olması, dermal ve subkütan atrofisi olan

alanlarda kullanılamaması ve pahalı bir yöntem olması gibi nedenlerle klinikte kullanımını nadirdir (172, 212).

-Lazer Doppler flowmetri ve lazer Doppler görüntüleme

Lazer Doppler flowmetri (LDF) monokromatik lazer ışığı kullanılarak kütanöz mikrosirkülasyonun ölçümünü sağlayan non-invaziv bir yöntemdir. Bu yöntemde kanın hareketine bağlı oluşan lazer ışığı sapmaları farklı renklerle kodlanan görüntülere dönüştürülür. Özellikle termografi ile aktivitesi yanlış pozitif olarak değerlendirilen atrofik lezyonların aktif olmadığına doğrulanmasında LDF'nin kullanılabileceği belirtilmektedir (233). LDF'nin modifiye edilmiş hali olan ve kırmızı ve yeşil olmak üzere çift dalga boyunun kullanıldığı Lazer Doppler görüntüleme (LDG)'nin geçerliliğinin değerlendirildiği bir pilot çalışmada lezyonlu alanlarda normal deri alanlarına göre perfüzyonun arttığı ve bu artmış perfüzyonun hem termografi hem de LDG ile tespit edildiği belirtilmiştir (234).

Yaşam Kalitesine Etkisi

Dermatoloji yaşam kalite indeksi (DLQI) ve çocuk dermatoloji yaşam kalite indeksi (CDQLI) kullanılarak morfeanın yaşam kalitesine etkisini değerlendirmek üzere 322 erişkin ve çocuk hastanın dahil edildiği bir çalışmada erişkin hastaların %37'si ve çocuk hastaların %28'inde morfea alt tiplerinden bağımsız olarak yaşam kalitesinin orta ya da ileri derecede etkilendiği görülmüştür (235). Morfeası ve sistemik skleroderması olan çocuklarda hastalıklarının fiziksel fonksiyonlar ve yaşam kaliteleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada CDLQI sonuçlarının kronik deri hastalıkları olan hastaların sonuçlarına benzer şekilde olduğu ve morfeanın yaşam kalitesine orta düzeyde bir etki yaptığı belirtilmiştir (236). Benzer şekilde CDLQI kullanılarak çocuk ve adölesan morfealı hastaların değerlendirildiği diğer bir çalışmada ise yaşam kalitesinde sağlıklı bireylere göre etkilenme olduğu ancak bu etkilenmenin atopik dermatitli bireylerinki kadar olmadığı gösterilmiştir (237). Klimas ve arkadaşlarının (238) 73 erişkin ve çocuk morfeayı dahil ettiği çalışmasında ise hastaların %47'sinin yaşam kalitesinde orta ya da ileri derecede etkilenme olduğu tespit edilmiştir.

2.1.10. Ayırıcı Tanı

Morfeada farklı klinik evrelerin ve çok sayıda alt tipin olması nedeniyle ayırıcı tanı geniş bir spektrumdan oluşur. En önemli ayırıcı tanılardan biri sistemik sklerodermadır. Morfeada sistemik sklerodermada görülen dilate kan damarları, hemoraji ve kapillerlerde kaybı içeren tırnak dibi kapiller değişikliklerin, Reynaud fenomeninin ve sklerodaktilinin olmaması ayırıcı özellikleridir. Bunların dışında mikrostomi, telenjiektazi, kalsinozis, dijital ülserler, anti-sentromer antikor ve anti-Scl70 antikor pozitifliği sistemik sklerodermada görülen özelliklerdir (5, 172, 179).

Sınırlı morfeanın erken inflamatuvar lezyonlarının ayırıcı tanısında erken evre ekstragenital LSA, eritema kronikum migrans, kütanöz mastositoz, akkiz porto şarabı lekesi, granüloma anulare, radyasyon dermatiti, mikozis fungoides ve ilaç ilişkili reaksiyonlar yer almaktadır. Geç dönem lezyonlarının ayırıcı tanısında hiperpigmentasyon varlığında postinflamatuvar hiperpigmentasyon, aktinik liken planus ve café au lait lekelerinin akla gelmesi gerekirken belirgin atrofi varlığında ise akrodermatitis kronika atrofikans, lipodistrofi, LSA ve skar akla gelmelidir. Geç dönem lezyonlarına belirgin sklerozun eşlik etmesi durumunda ise nekrobiozis lipoidika ve pretibial miksödem ayırıcı tanıları içerisinde yer almaktadır. Meme üzerinde yerleşim gösteren lezyonlarda meme kanserinin deriye metastazı olan karsinoma en cuirasse tanısının ekarte edilmesi gerekmektedir.

Jeneralize morfeanın ayırıcı tanısında sistemik sklerozis dışında psödoskleroderma, skleromiksödem, kronik GVHD, mikst konnektif doku hastalıkları ve nefrojenik sistemik sklerozis yer alır.

Lineer sklerodermadan ayırt edilmesi gereken durumlar ise pannikülit, progresif parsiyel lipodistrofi, fokal dermal hipoplazi, kortikosteroidle indüklenen atrofi ve lupus pannikülitidir (171, 172, 179, 208, 239-241).

2.1.11. Tedavi

Günümüze kadar morfeanın nedenine yönelik bir tedavi modalitesi geliştirilememiş olmakla birlikte hastalığın yönetiminde hastalığın alt tipi, yaygınlığı ve şiddeti göz önüne alınarak, deformite gelişim riski ve hareket kısıtlılığı gibi komplikasyonların da oluşumunu engellemeyi hedefleyecek şekilde tedavi seçimleri yapılmalıdır. Çok erken evre lezyonları dışında başarılı bir tedavi ile bile tamamen

normal deriye dönüş olması beklenmemelidir. Sklerotik ve atrofik lezyonların yanıtının düşük olması nedeniyle tedaviye mümkün olduğunca hastalığın erken dönemlerinde başlanmalıdır. Herhangi bir tedavi seçimine karar vermeden önce hastalığın aktif olup olmadığı değerlendirilmelidir. Klinik pratikte aktiviteyi gösteren bulgular arasında son 3 ay içerisinde yeni lezyon çıkışı, son 3 ay içerisinde daha önce var olan lezyonlarında genişleme, lezyon veya sınırında viyolase renk değişikliği, lezyon sınırında endurasyon artışı, çeşitli görüntüleme yöntemleri ile aktivitenin gösterilmesi ve deri biyopsisinde aktivitenin gösterilmesi sayılabilir (203). İnaktif hastalık durumunda ise tedavide eşlik eden fonksiyon bozukluklarını ve kozmetik şekil bozukluklarını iyileştirmek üzerine odaklanılmalıdır.

Topikal Tedavi

Topikal ya da intralezyonel tedavi seçenekleri sıklıkla sınırlı ve yüzeysel hastalık varlığında ilk seçenek olmaktadır. Ancak subkütan ve daha derin dokuların etkilendiği hastalıkta ve hızlı progresyon durumlarında bu tedavilerin etkinliği düşüktür.

-Topikal ve intralezyonel kortikosteroidler

Yüksek potensli topikal kortikosteroid ajanlar klinisyenler tarafından yaygın olarak kullanılmakla beraber morfeadaki etkinliklerini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Topikal kortikosteroidler genellikle morfeanın yüzeysel varyantlarında aktif fazda kullanıldığında etkili olabilmektedir. Kullanımı günde iki kez veya oklüzyonla günde bir kez şeklinde önerilmektedir. Kullanım süresi ise yüksek potensli steroidler için 1 ay, orta potensli steroidler için 3 ay şeklinde önerilmektedir. Uzun süreli tedavi ise aralıklı tedavi şeklinde olmalıdır. Benzer şekilde intralezyonel kortikosteroid tedavisinin etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamakla beraber önerilen tedavi şekli, lineer morfenin özellikle ECDS varyantında, sınırlı morfeada ve fototerapi ya da sistemik tedavilere dirençli olgularda adjuvan tedavi olarak triamsinolon asetonidin 5-10 mg/mL konsantrasyonda 4-6 haftada bir tekrarlanarak uygulanmasıdır (171, 172, 193, 242).

-Topikal kalsipotriyol

Literatürde morfeada topikal kalsipotriyolün kullanımına dair rapor edilen olgu bildirileri dışında etkinliğinin değerlendirildiği birkaç çalışma bulunmaktadır

(243-246). Aktif plak veya lineer morfealı, daha önceki topikal kortikosteroid tedavisine yanıt alınamamış 12 adölesan ve erişkin hastanın dahil edildiği ve %0,005 konsantrasyonda kalsipotriyolün günde iki kez oklüzyon altında 3 ay süre ile uygulandığı bir çalışmada eritem, telenjektazi, dispigmentasyon ve endurasyonda anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir (244). Çoğunluğu lineer morfealı olan çocuk hastalarda günde iki kez %0,005'lik topikal kalsipotriyolün haftada dört kez düşük doz UVA1 (ultraviyole A1) fototerapisi ile kombine edildiği bir çalışmada da lezyonların sertliğinde belirgin azalma olduğu bulunmuştur (246). Son olarak 6 plak morfealı hastada betametazon dipropiyonat ile kalsipotriyolün kombinasyonunu içeren pomat formülasyonunun kullanıldığı bir çalışmada tedavi etkin bulunmuştur (245). Genel olarak topikal kalsipotriyolün mümkünse oklüzyon altında günde iki kez en az 3 ay süre ile kullanımı önerilmektedir (171).

-Topikal kalsinörin inhibitörleri

İnflamatuvar ve aktif morfeada %0,1'lik topikal takrolimus pomat formülasyonunun etkin olabileceği düşünülmektedir (242). Sınırlı morfeası olan 13 erişkin hastanın dahil edildiği açık etiketli bir çalışmada oklüzyonsuz günde 2 kez 4 ay süre ile topikal takrolimus uygulaması sonrası hastaların yaklaşık %70'inde tedaviye iyi yanıt alındığı, histopatolojik incelemede hafif-orta şiddette fibrozis izlenen hastaların tedavi yanıtının daha iyi olduğu ve iyi yanıt alınan hastaların 1 yıllık takiplerinde relaps izlenmediği belirtilmiştir (247). Aktif ve sınırlı morfeası olan 10 erişkin hastanın dahil edildiği çift-kör randomize plasebo kontrollü bir pilot çalışmada ise günde 2 kez 12 hafta süre ile topikal takrolimus uygulaması sonrası lezyonların yüzey alanında anlamlı değişiklik saptanmazken durometre skorlarında ve endurasyon, eritem, dispigmentasyon, telenjektazi ve atrofi özelliklerinin değerlendirildiği klinik skorlarında belirgin düzelme olduğu görülmüştür (248).

-İmiquimod

IFN- γ 'yı indükleyerek immün yanıt düzenleyici etkileri olan topikal imiquimod TGF- β 'yı da inhibe ederek ve profibrotik bir sitokin olan IL-4'ü azaltarak antifibrotik etkinlik göstermektedir (171, 242). Aktif ve sınırlı morfeası olan 12 çocuk ve erişkin hastanın dahil edildiği bir çalışmada 6 ay süre ile %5'lik topikal imiquimod tedavisi sonrası lezyonların endurasyon, eritem ve dispigmentasyon özelliklerinde iyileşme olduğu, biyopsi alınan 4 hastanın tedavi öncesi ve sonrası

histopatolojik incelemelerinde ise dermal fibroziste azalma olduğu tespit edilmiştir (213). Sınırlı morfeası olan 9 çocuk hastanın değerlendirildiği prospektif, açık etiketli bir pilot çalışmada 9 ay süre ile %5'lik topikal imiquimod kullanımı sonrasında endurasyon ve dermal kalınlıkta anlamlı azalma olduğu ancak ortalama klinik skorlarda anlamlı değişiklik olmadığı rapor edilmiştir (214). Son olarak sınırlı morfeası olan 25 erişkin hastanın dahil edildiği çok merkezli prospektif plasebo kontrollü bir çalışmada 9 ay süre ile %5'lik topikal imiquimod uygulaması sonrası yapılan değerlendirmelerde DIET skorlarında plaseboya göre anlamlı düşüş olduğu, en belirgin değişimin endurasyon özelliğinde olduğu ancak ultrasonografik değerlendirmede dermal ve hipodermal kalınlıklarda tedavi ve plasebo grupları arasında farklılık saptanmadığı bildirilmiştir (249).

-İntralezyonel interferon gamma

Progresif lezyonu olan 24 morfealı hastanın dahil edildiği çift-kör randomize plasebo kontrollü bir çalışmada 6 haftalık subkütan IFN- γ enjeksiyonu sonrası yapılan 18 haftalık gözlem sonucu plasebo grubuna göre tedavi grubunda lezyon boyutunda, fibroziste ve tip 1 kollajen mRNA sentezinde herhangi bir değişim saptanmamıştır (250). Bu nedenle intralezyonel IFN- γ 'nın tedavide kullanımı önerilmemektedir (171).

Fototerapi

Pek çok deri hastalığının tedavisinde kullanılan ultraviyole (UV) tedavisinin sklerotik deri hastalıklarında da etkin bir tedavi seçeneği olduğu gösterilmiştir (251, 252). Sklerotik deri hastalıkları ile ilgili çalışmaların çoğunluğu daha uzun dalga boyu nedeni ile deriye penetrasyonu daha fazla olan 320-400 nm dalga boyundaki ultraviyole A (UVA) ile yapılmıştır. UVA'nın daha kısa ve daha az derine penetre olan dalga boylarının elimine edilmesiyle UVA fototerapisinin yeni bir formu olarak UVA1 fototerapisi (340-400 nm) geliştirilmiş ve morfea tedavisinde kullanılmıştır. UVB (290-320 nm) ile ilgili veriler daha az sayıdadır ve dar bant UVB (311-313 nm) ile ilgilidir. Subkütan doku, fasya veya kas gibi derin doku tutulumu olduğunda fototerapi etkin bir tedavi seçeneği olmamaktadır (242).

UV'nin sklerotik deri hastalıklarındaki etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. UVA'nın etki mekanizmasına yönelik teoriler arasında kollajen 1

yıkımını arttıran MMPs üretimini arttırması, IFN- γ üretimini arttırması, TGF- β ve kollajen üretimini ise azaltması yer almaktadır (253). UVA1 ışığı uygulanan morfea lezyonlarında;

-Kollejenaz düzeylerinin artmış olduğunun gösterilmesi,

-Morfeada artmış olduğu gösterilen ve profibrotik özellikte olan IL-6 ile pro-inflamatuvar özellikte olan IL-8'in UVA1 maruziyeti sonrası azaldığının gösterilmesi,

-Fibroblastlardaki TGF- β sinyal transdüksiyonunda rol oynayan transkripsiyon proteinlerinin UVA1 ile inhibisyonunun indüklenmesi

-UV fototerapisinin epidermal T hücrelerinde apoptozisi indüklemesi ve Langerhans hücrelerini azaltması,

-Bağ dokusunun proteoglikan komponentlerinden biri olan, kollajen sentezinde rol oynayan ve TGF- β protein düzeyleri ile ters korelasyon gösteren decorin isimli molekülün mRNA düzeylerinin UVA1 fototerapisi sonrası artması bu teorileri destekleyici bulgulardır (252, 254-257).

Geniş bant UVB'nin intertisyel MMP-1 üretimini arttırdığı ve dar bant UVB'nin fibroblastlarda MMPs sentezini arttırdığı gösterilmiştir (258, 259). Ek olarak UVB'nin keratinosit ve melanositlerde α -MSH reseptör sentezini arttırdığı ve alfa-MSH uygulanan insan dermal fibroblast kültürlerinde MMP-1 mRNA'sında artış olduğu gösterilmiştir (260).

-PUVA fototerapisi

PUVA tedavisinde fotoduyarlandırıcı olarak kullanılan psoralenler oral (sistemik PUVA) ya da topikal (krem PUVA, banyo PUVA) yoldan uygulanabilmektedir. PUVA morfeada kullanılan ilk fototerapi formudur. PUVA'nın kullanımına dair kontrollü çalışmalar olmamakla birlikte retrospektif olgu serilerinde banyo ve krem PUVA ile iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir (261-264).

-UVA1 fototerapisi

UVA1 fototerapisinde düşük doz UVA1 (10-20 J/cm²), orta doz UVA1 (30-50 J/cm²) ve yüksek doz UVA1 (60-130 J/cm²) olmak üzere üç farklı doz rejimi bulunmakta olup her üçü de morfea tedavisinde kullanılmıştır. İlk defa 1995 yılında Kerschler ve arkadaşları (265) tarafından morfeanın tedavisinde psoralen kullanılmadan düşük doz UVA1'in etkinliği değerlendirilmiş ve hastaların hepsinde

linik düzelme, 20 MHz USG ölçümlerinde deri kalınlığında azalma ve histopatolojik incelemede deri sklerozunda azalma tespit edilmiştir. UVA1 fototerapisi ile ilgili ilk prospektif çalışmada yüksek doz UVA1 ile düşük doz UVA1 karşılaştırılmış ve yüksek doz alanlarda düşük doz alanlara göre anlamlı şekilde sklerotik deri kalınlığında azalma ve elastisite ile MMP-1 mRNA ekspresyonlarında artış tespit edilmiştir (266). Orta doz UVA1 ile düşük doz UVA1'in etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise her iki tedavi rejimi arasında klinik skorlamalar açısından anlamlı fark bulunmazken 20 MHz USG ölçümü ile tespit edilen deri kalınlıkları açısından orta doz UVA1 alanlarda düşük doz alanlara göre anlamlı bir azalma olmuştur (223). Orta doz UVA1'in etkinliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise 13 MHz USG ile ölçülen deri kalınlıklarında tedavi sonrası anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir (219). Morfeada UVA1 ile ilgili olan randomize kontrollü bir klinik çalışmada, orta doz UVA1 ile düşük doz UVA1'in etkinliği karşılaştırılmış olup orta dozun daha etkin olduğu bulunmuştur (222). Düşük doz UVA1 fototerapisi ile CO₂ (karbondioksit) fraksiyonel lazerin karşılaştırıldığı bir çalışmada CO₂ fraksiyonel lazer uygulanan lezyonlarda USG ile ölçülen dermal kalınlıklarda ve klinik skor değerlerinde anlamlı azalma olurken histopatolojik olarak değerlendirilen kollajen homojenizasyonu ve hasta memnuniyeti de lazer grubunda daha yüksek bulunmuştur. İmmünohistokimyasal olarak değerlendirilen TGF- β ve MMP-1 boyamalarında her iki grupta tedavi öncesi değerlere göre anlamlı ve olumlu yönde farklılıklar olurken gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (267). UVA1 fototerapisi sonrası rekürrens oranlarının değerlendirildiği bir çalışmada hastaların yaklaşık yarısında 3 yıl içerisinde rekürrens gelişmiş olup hastalık süresi uzun olanlarda rekürrens oranları daha yüksek bulunmuştur (268).

-Geniş bant UVA fototerapisi

Geniş bant UVA'nın etkinliğini değerlendirmek üzere prospektif olarak 75 hastanın değerlendirildiği iki çalışmada hastaların yaklaşık %77'sinde tedaviye iyi yanıt alınmıştır. Bu hastaların tedavi sonrası histopatolojik incelemelerinde dermal kollajende normalizasyon olduğu gösterilmiştir. Total tedavi doz aralıkları 100-400 J/cm² arasında değişmekle beraber düşük doz ve yüksek dozlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (269, 270). Geniş bant UVA, PUVA ve UVA1 fototerapileri ulaşılabilir olmadığında kullanılabilir bir seçenek olarak önerilmektedir (171).

-UVB fototerapisi

Morfeada düşük doz UVA1, orta doz UVA1 ve dar bant UVB'nin etkinliğinin karşılaştırıldığı randomize kontrollü bir çalışmada tüm tedavi gruplarında MSS'de anlamlı azalma olmuştur. Tedavi öncesi ve sonrası biyopsi incelemesi yapılabilen hastalarda deri kalınlığında anlamlı azalma sadece dar bant UVB grubunda tespit edilmiştir. Gruplar kendi içerisinde karşılaştırıldığında ise orta doz UVA1 alanların deri skorlarında dar bant UVB alanlara göre anlamlı bir iyileşme olurken düşük doz UVA1 alanlarla dar bant UVB alanlar arasında bu açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır. Dar bant UVB'nin UVA1 fototerapisinin olmadığı durumlarda etkin bir tedavi seçeneği olarak tercih edilebileceği belirtilmiştir (222).

Sonuç olarak literatürde morfeada fototerapi seçenekleri içerisinde UVA1, geniş bant UVA, PUVA ve dar bant UVB fayda sağlamaktadır. Hem etkinlik hem de bilimsel veriler göz önüne alındığında optimum dozu belirlenememiş olmakla birlikte UVA1'in ilk sırada tercih edilmesi ortak görüş iken, alternatif olarak da banyo veya krem PUVA'nın tercih edilmesini önerenler olduğu gibi penetrasyon derinliği de göz önüne alınarak dar bant UVB'yi önerenler de bulunmaktadır (171, 242).

Sistemik Tedavi

-Sistemik kortikosteroidler

Sistemik kortikosteroidlerin monoterapi veya kombine tedavi olarak hastalığın aktif fazında etkin olduğu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. ECDS, lineer morfea ve hızlı ilerleyici jeneralize morfeası olan hastalarda oral kortikosteroidlerin monoterapi olarak kullanıldığı bir çalışmada 0,5-1 mg/kg/gün başlangıç dozunda ortalama 18 aylık bir tedavi periyodunda (5-70 ay) hastaların büyük çoğunluğunda belirgin iyileşme gözlenmiştir, ancak hastaların üçte birinde tedavi bırakıldıktan sonra relaps gelişmiştir (271). Sistemik kortikosteroidler diğer çalışmalarda metotreksat ile kombine edilerek kullanılmıştır.

-Metotreksat

Sistemik tedaviler içerisinde günümüze kadar en iyi veriler metotreksat tedavisi ile ilgili araştırmalardan edinilmiştir. Metotreksatın monoterapi olarak 15mg/hafta dozunda oral olarak kullanıldığı kontrollü olmayan bir prospektif bir

çalışmada 24 haftanın sonunda hastaların yaklaşık %70'inin MSS değerlerinde anlamlı düşüş olmuştur (272). ECDS ve Pary-Romberg sendromu olan hastaların retrospektif olarak değerlendirildiği bir çalışmada ise metotreksat monoterapisi alan 7 hastanın 3'ünde ortalama 35 aylık tedavi sonunda klinik iyileşme olduğu belirtilmiştir (199).

Metotreksatın yüksek doz pulse intravenöz kortikosteroid ile kombine kullanımının değerlendirildiği iki tane prospektif kontrollü olmayan çalışma bulunmaktadır. Bu iki çalışmaya toplamda 23 hasta (9 çocuk, 14 erişkin) dahil edilmiştir. Çocuk hastalarda tedavi dozları oral metotreksat için 0.3-0.6 mg/kg/hafta ve intravenöz metilprednizolon için 30 mg/kg/gün ayda 3 gün şeklinde olmuştur. Erişkin hastaların tedavi dozları ise metotreksat için 15 mg/kg/hafta ve metilprednizolon için 1000 mg ayda 3 gün olarak belirlenmiştir. En az 3 ay süre uygulanan bu kombine tedavi protokolü sonucunda çocuk hastaların subjektif klinik skorlamalarında ve erişkin hastaların MSS değerlerinde tedavi öncesine göre anlamlı iyileşme olmuştur (273, 274). Metotreksatın monoterapi ve sistemik kortikosteroid ile kombine olarak etkinliğinin değerlendirildiği dört retrospektif çalışmada 119 hastanın yaklaşık %80'sinde klinik iyileşme gözlenmiştir (275-278). Aktif morfealı 70 çocuk hastanın dahil edildiği çift-kör randomize plasebo kontrollü bir çalışmada 2:1 oranında metotreksat (46 hasta) ve plasebo (24 hasta) grubu olmak üzere randomize edilen hastalar 12 ay süre ile tedavi almışlardır. Metotreksat oral olarak 15 mg/m² (maksimum 20 mg) dozunda kullanılmıştır. İlk 3 ay her iki gruba da 1mg/kg oral prednizon (maksimum 50 mg) verilmiştir. 6. ayda her iki grupta da bilgisayarlı skorlama yöntemi ile ölçülen klinik skorlarda azalma olmuştur. 12. ayın sonunda ise metotreksat grubunda plasebo grubuna göre klinik skorlama değerlerinde ve kızılötesi termografi ile ölçülen sıcaklık değerlerinde anlamlı düşüş saptanmıştır. Rekürrens oranları metotreksat grubunda (%32.6) plasebo grubuna göre (%70.8) anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (279). Rekürrens varlığını değerlendiren başka bir çalışmada ise metotreksat alan pediatrik hastaların %28'inde tedavi bitiminden ortalama 1,7 yıl sonra rekürrens olmuştur (280). Bahsedilen bu çalışmaların hepsinde ağırlıklı klinik alt tip çocuk hastalar için lineer morfea, erişkin hastalar için jeneralize morfea olup sınırlı morfea ve mikst morfeası olan hastalar da yer almaktadır.

Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda metotreksat ve sistemik kortikosteroidlerin dozları ve veriliş yolları farklılık göstermektedir. 2012 yılında CARRA (Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance) tarafından metotreksat monoterapisi, metotreksat ve intravenöz metilprednizolon kombinasyonu ve metotreksat ile intravenöz metilprednizolon kombinasyonunu takiben metotreksata oral prednizolon eklenmesi olmak üzere 3 farklı tedavi seçeneği tanımlanmıştır (281). Erişkin hastalar için henüz böyle bir tanımlama yapılmamıştır.

-Mikofenolat mofetil

Mikofenolat mofetilin (MMF) in vitro insan akciğer fibroblast modellerinde tip1 kollajen ekspresyonunu azalttığı, MMP-1 ekspresyonunu arttırdığı, fibroblastların migratuvar ve kontraktıl fonksiyonlarında bozulma yaptığı gösterilmiştir (282). MMF'nin morfeada etkinliği ilk olarak 2009 yılında metotreksat ve sistemik kortikosteroid tedavilerine dirençli derin, jeneralize ve lineer morfealı 10 hastanın değerlendirildiği bir retrospektif çalışmada gösterilmiştir. MMF günde 2 kez 600-1200 mg/m² dozunda uygulanmış olup tüm hastalarda lezyon sınırlarındaki eritemde ve sklerozda azalma yanıtı tespit edilmiştir (283). Metotreksat tedavisine dirençli ya da metotreksatı tolere edemeyen 7 hastanın dahil edildiği bir olgu serisinde eş zamanlı oral prednizolon kullanan 4 hastada klinik iyileşme gözlenmiştir (284). MMF'nin morfeada kullanımı ile ilgili yeterli veri olmamakla birlikte diğer tedavilere alternatif olabileceği düşünülmektedir.

-Kalsitriyol

Fibroblast büyümesini inhibe ettiği ve kollajen sentezi ve depolanmasının kontrolünde rolü olduğu bilinen kalsitriyolün jeneralize ve lineer morfeası olan hastalarda kullanımı ile ilgili kontrolsüz çalışmalarda etkin olduğuna dair veriler elde edilmiştir (285, 286). Ancak çift-kör randomize kontrollü bir çalışmada oral kalsitriyolün (0,75 µg/gün 6 ay, sonrasında 1,25 µg/gün 3 ay) plaseboya bir üstünlüğü saptanmamıştır (287). Morfea tedavisinde oral kalsitriyol önerilmemektedir.

-D-penisilamin

Sistemik sklerozis tedavisinde uzun süre kullanılmış olan D-penisilaminin morfeada kullanımına dair kontrollü bir çalışma bulunmamaktadır. Klinik olarak şiddetli 11 morfealı olgunun 2-5 mg/kg/gün dozunda D-penisilamin ile tedavi

edildiği bir çalışmada yanıt elde edilmiştir (288). Ancak literatürde D-penisilamin ile indüklendiği düşünülen olgular da bildirilmiştir (63-65). Kontrollü bir çalışma olmaması ve yan etki profili nedeniyle D-penisilamin morfea tedavisinde önerilmemektedir.

-Antimalaryaller

Parry-Romberg sendromu ve ECDS'li hastaların incelendiği retrospektif bir çalışmada hidrosiklorokin veya klorokin alan hastaların çoğunluğunda uzun süreli tedaviye rağmen hastalık aktivitesinin devam ettiği bildirilmiştir (199).

Sonuç olarak yaygın deri ve/veya kas-iskelet tutulumu olan, yüzde yerleşen lineer morfeası olan ve eklemleri çaprazlayan lineer morfeası olan hastalarda sistemik tedavide ilk tercih edilecek ajan metotreksat olmalıdır. Sistemik kortikosteroid tedaviye eklenebilir. Metotreksat ve sistemik kortikosteroid dirençli olgularda mikofenolat mofetil alternatif olarak önerilebilir.

Diğer Tedaviler

Literatürde siklosporin, penisilin, bosentan, retinoik asit, fotodinamik tedavi, ekstrakorporeal fotoferez, plazmaferez, abatacept, leflunomid, infliksimab, rituksimab, imatinib, pulse dye lazer, monokromatik eksimer lazer tedavileri ile başarılı sonuçlar alınan olgu bildirimleri mevcuttur (289-302). Ancak bu tedavilerin hiçbiri rutin olarak kullanılmamaktadır.

Fizik Tedavi

Özellikle ekstremitte tutulumu olan lineer morfea, jeneralize morfea ve derin morfea varyantlarında eklem kontraktürü gelişme riski nedeniyle fizik tedavi sıklıkla önerilmektedir. Ancak morfealı hastalarda fizik tedavi sonuçlarının değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Hareket kısıtlılığına neden olabilen tüm morfea alt tiplerinde hastaların mevcut tedavilerinin fizik tedavi ile desteklenmesi gerektiği önerilmektedir (171, 212, 242, 303).

Cerrahi Tedavi

Lineer morfealı olgularda ortopedik cerrahi girişimler gerekli olabilmektedir. Hastalık alevlenme riskini minimuma indirebilmek için cerrahi, hastalığın inaktif

döneminde uygulanmalıdır. Aktif hastalık şüphesinde ise perioperatif dönemde sistemik immünsüpresif tedavi verilmelidir. ECDS, progresif hemifasyal atrofi varlığında kozmetik nedenlerle otolog yağ transplantasyonu, plastik cerrahi prosedürleri, dolgu gibi defekt düzeltici materyaller kullanılabilir. Bu prosedürlerin de inaktif fazda uygulanması gerekmektedir (171).

Morfeada tedaviyi özetlemek gerekirse aktif hastalık varlığında sınırlı morfeası olanlarda yüksek potensli topikal kortikosteroid, topikal kalsipotriyol ve topikal takrolimus ilk seçenek tedavilerdir. Bu tedavilere direnç varlığında ya da bu tedavilerle eş zamanlı olarak UVA1 fototerapisi veya topikal PUVA tercih edilebilir. Eklem kontraktürü olmadan jeneralize morfea varlığında fototerapi ilk seçenek tedavi iken yanıt alınmadığında metoreksat tek başına veya sistemik kortikosteroidler ile kombine verilebilmektedir. Yüz tutulumu ya da eklemleri çaprazlayan lineer morfea varlığında ise ilk seçenek metotreksat ve sistemik kortikosteroidler olmalıdır. Metotreksatın erişkinler için önerilen dozu 15-25 mg/hafta, çocuklar için önerilen dozu ise 15mg/m²/hafta olup en az 12 ay süre devam edildikten ve yanıt alındıktan sonra doz azaltımı yapılması önerilmektedir. Metoreksatın oral ya da subkütan kullanımının birbiri ile karşılaştırılmasını içeren bir çalışma bulunmamaktadır. Sistemik kortikosteroidler intravenöz olarak yüksek doz bolus şeklinde veya oral günlük doz şeklinde verilebilmektedir. Erişkinler için önerilen intravenöz metilprednizolon dozu ayda 500-1000 mg/gün 3 gün süre ile en az 3-6 ay; çocuklar için önerilen dozu ise ayda 30 mg/kg/gün (maksimum 1000 mg) 3 gün süre ile en az 3-6 ay şeklindedir. Oral kortikosteroid olarak 0.5-2 mg/kg/gün dozundan (maksimum 60 mg) prednizon önerilmektedir. Maksimum dozdan 2 hafta devam edildikten sonra (en fazla 4 haftaya kadar) doz azaltımı yapılmalıdır. Metoreksat ve sistemik kortikosteroidlerden yanıt alınamaması durumunda mikofenolat mofetil alternatif olarak tercih edilebilir. Hastalık inaktif olduğunda ise fonksiyonel ve kozmetik bozuklukların plastik ve rekonstrüktif cerrahi, ortopedi, romatoloji ve fizik tedavi işbirliği ile tedavisi planlanmalıdır (171, 212, 303).

2.2. Vitamin D

2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi

D vitamini uygun biyolojik ortam koşulları sağlandığında vücutta sentezlenebilen ve moleküler olarak steroid yapısında olan ve yağda çözünebilen bir prohormondur. Vücuda alındıktan sonra çeşitli yollarla metabolize edilerek hormon yapısındaki kimyasallara dönüşür ve fonksiyonlarını kimyasal sinyaller aracılığıyla gerçekleştirir. Vitamin D'nin steroid hormon yapısında olduğu 1965 yılına kadar anlaşılamamış, tarihsel süreçte hatalı bir şekilde vitamin olarak sınıflandırılmış ve bu şekilde adlandırılmaya devam edilmiştir. Vitamin D'nin keşfi ile ilgili ilk gözlemler Edward Mellanby tarafından yapılmıştır. Beş yıldan uzun süreli olarak 400'den fazla köpek üzerinde bilimsel olarak tasarlanmış çok sayıda diyetin etkisini değerlendirirken yulafla beslenen köpeklerde raşitizmin daha sık olduğunu gözlemlemiştir. 1921 yılında ise raşitizme neden olan faktörün diyetinde eksik olan bir vitamin ya da bu vitamini içeren ek bir gıdaya bağlı olduğunu ve bu vitaminin büyük bir ihtimalle yağda çözünebilen bir yapı olduğunu belirtmiştir. Daha sonraki çalışmalarında da morina balığı karaciğeri yağının raşitizme iyi geldiğini gözlemlemiştir ve bu antiraşitik özellikli faktörün A vitamini ile benzer özellikler taşıdığını düşünmüştür (304, 305). Daha sonra McCollum ve arkadaşları tarafından morina karaciğeri yağının A vitamininden farklı olarak yüksek sıcaklıklarda (>100 °C) uzun süre kalabildiği keşfedilmiş ve raşitizmi önleyen bu moleküle C vitamininden sonra keşfedildiği için D vitamini adı verilmiştir (306, 307). 1925 yılında güneş ışığı maruziyeti ile raşitizm tablosu düzelen infantil hastalar bildirilmiş ve Hess ve Weinstock tarafından (308) raşitik fare derilerinin küçük bir parçası üzerine UV uygulanması sonrası bu derinin raşitizmden koruma sağladığı gösterilmiştir. 1938 yılında ise raşitik farelerde D vitamini sentezini sağlayan UV ışığı spektrumu belirlenmiştir (309).

Günümüzde 1500'den fazla D vitamini analogu üretilmiş olmakla beraber ulaşılabilir D vitamini formları primer olarak D2-7 olmak üzere 6 sınıfa ayrılmıştır. Moleküler yapılarında kısmi farklılıklar olsa da hepsi temelde aynı molekül olup vücutta benzer işlevlere sahiptirler. 'Vitamin D' terimi insan vücudunda sentezlenebilen ya da hayvansal gıdalardan alınabilen ve kolekalsiferol olarak da

bilinen vitamin D₃ ve bitkisel gıdalardan alınabilen ve ergokalsiferol olarak da bilinen vitamin D₂'yi belirtmek için kullanılmaktadır (310). Kılıç balığı, somon balığı, ringa balığı gibi balık türleri ve özellikle Japon ve Çin mutfağında kullanılan doğal yollar ile kurutulmuş çeşitli mantar türleri D vitamininden zengin olan gıdalardır (311).

2.2.2. Vitamin D Metabolizması

Epidermis D vitamininin insan vücudu için temel kaynağıdır. Kolesterol karaciğerde provitamin D₃ olarak da bilinen 7-dehidrokolesterol (7-DHC) formuna dönüştürüldükten sonra periferik kana geçip epidermise ulaşır. Epidermiste 7-DHC'nin en yüksek konsantrasyonda bulunduğu tabakalar stratum bazale ve stratum spinozumdur. UVB ışığı epidermisi geçerek 7-DHC tarafından absorbe edilir ve inaktif olan provitamin D₃ previtamin D₃'e dönüşür. Stabil olmayan previtamin D₃ formu 30-40 °C arasında yaklaşık 2-3 günde yavaş bir reaksiyonla vitamin D₃'e dönüşür. Vitamin D₃'ün sentezi için gerekli olan optimum UV dalga boyu 295-300 nm'dir. Epidermisteki bu süreçler enzimatik olmayan fototermokimyasal yollar ile gerçekleşir. Vitamin D₃ burada sentezlendikten sonra difüzyon yolu ile periferik dolaşıma geçer (311-313). Vitamin D₃ dolaşımında D vitamini bağlayıcı protein (DBP) adı verilen bir α -globuline bağlanarak taşınır. Hem deride sentezlenen hem de hayvansal ve bitkisel gıdalardan alınan D vitamini formları prohormon özellikte olup vücutta fonksiyon görebilmeleri için aktif formlarına dönüştürülmelidirler. Bu aktivasyon sürecinde ilk basamak karaciğerde hepatosit mitokondri ve mikrozomlarında bulunan sitokrom p450 enzimlerinden olan 25-hidroksilaz (CYP27A1) aracılığı ile dolaşımdaki majör form olan 25 hidroksikolekalsiferole (25(OH)D, kalsidiol) dönüştürülmesidir. Bu form 2-3 hafta gibi uzun bir yarı ömre sahip olması, kolay ölçülebilir olması, endojen yapımı ve ekzojen alımı gösterebilmesi ve düzeylerinin hastalık durumları ile korelasyon göstermesi nedenleri ile evrensel olarak vücuttaki D vitamini düzeyinin en iyi göstergesi olarak kabul edilmektedir (314). 25(OH)D daha sonra böbreklere taşınarak glomerüler filtrasyona uğrar. Burada megalin adı verilen düşük ağırlıklı lipoprotein süperaillesinden olan ve DBP için reseptör görevi gören 600 kDa'lık bir transmembran protein aracılığı ile tübüler epitelyal hücreler içerisine alınır.

Proksimal tübül hücrelerinde mitokondriyal 25-hidroksi vitamin D-1 α -hidroksilaz (1 α -hidroksilaz, CYP27B1) enzimi aracılığıyla fonksiyonel ve hormonal aktif formu olan 1,25 dihidroksikolekalsiferole (1,25(OH) $_2$ D, kalsitriyol) dönüştürülür. CYP27B1 böbrek dışında plasenta, paratiroid bezi, pankreas, prostat, ince barsak ve bazı immün hücrelerde de üretilmektedir. Sarkoidoz, Crohn hastalığı gibi granümatöz hastalıklar ve lenfoproliferatif hastalıklarda da CYP27B1 üretimi olduğu ve bu hastalıklarda esas 1,25(OH) $_2$ D üretim yerinin makrofajlar olduğu gösterilmiştir (315). Makrofajlardan üretilen CYP27B1 enziminin renal formdan farklı olarak artmış 1,25(OH) $_2$ D ile baskılanmadığı ve immün uyarılar aracılığı ile upregüle olduğu da bilinmektedir (316). Öte yandan 25(OH)D böbreklerde mitokondri iç membranında yer alan ve bir sitokrom p450 enzimi olan CYP24A1 aracılığıyla 24,25(OH) $_2$ D'ye dönüştürülür. Aynı zamanda 1,25(OH) $_2$ D de bu enzim için bir substrat olup dolaşımdaki düzeyleri arttığında CYP24A1 tarafından hidroksillenerek biyolojik olarak inaktif metaboliti olan kalsitroik asite dönüşerek ekskresyona uğrar. CYP24A1 C23 oksidasyon yolağını da katalizleyerek 1,25(OH) $_2$ D-26,23 lakton oluşumunu sağlar. CYP27B1 ve CYP24A1'in kontrolü sıkı bir şekilde yapılmaktadır. Böbreklerdeki 1,25(OH) $_2$ D sentezine aracılık eden primer sinyal hipokalsemi sonucu artış gösteren parathormon (PTH)'dur. PTH nükleer reseptör ilişkili 1 protein (NURR1) aracılığı ile böbreklerde CYP27B1'in transkripsiyonunu indüklerken, 1,25(OH) $_2$ D ise PTH genini transkripsiyon düzeyinde direkt etkileyerek paratiroid bezinden PTH üretimini baskılar (317). 1,25(OH) $_2$ D aynı zamanda CYP27B1'i inhibe ederek kendi üretimini de düzenleyici etkiye sahiptir. CYP24A1 ise 1,25(OH) $_2$ D tarafından uyarılırken düşük kalsiyum ve PTH düzeyleri tarafından inhibe edilmektedir. Oldukça aktif bir enzim olan CYP24A1'in gen bölgesi vitamin D düşüklüğü olduğunda sessiz kalmaktadır (304).

Vitamin D metabolizmasında bu faktörlerin dışında fosfatın proksimal tübülden geri emilimini azaltarak renal atılımını indükleyen fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF-23)'ün de rolü bulunmaktadır. Temel olarak osteosit ve osteoblastlarda eksprese edilen ve diğer FGF'lerden farklı olarak otokrin ya da parakrin etkiden ziyade endokrin etki yapma özelliğine sahip FGF-23'ün üretimi serum 1,25(OH) $_2$ D ve fosfat düzeylerinin artışı ile uyarılmaktadır. FGF-23 klotho adı verilen ve FGF-23'ün reseptörünü aktive etmesi için gerekli olan bir transmembran

proteini aracılığı ile CYPB27B1 ekspresyonunu baskımlarken CYP24A1 ekspresyonunu ise indüklemektedir (318).

Böbrekler dışında 25(OH)D'nin 1,25(OH)₂D'ye majör dönüşüm yerlerinden biri plasenta olup hem fetal trofoblastlarda hem de maternal desidua tabakasında CYP27B1 enzimi eksprese edilmektedir (319). 1,25(OH)₂D'nin plasentadaki fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber enfeksiyonlara karşı yanıtta rol oynuyor olabileceği düşünülmektedir. Erken fetoplental dönemde CYP27B1'in doğal ve kazanılmış immün yanıtta otokrin/parakrin düzenleyici rolü olabileceği de öne sürülmüştür (316).

Vitamin D'nin biyolojik olarak en aktif formu 1,25(OH)₂D olup yarı ömrü 4-6 saattir (315). Lipofilik olma özelliği sayesinde plazma membranından kolayca geçerek hücre içerisine girer. 1,25(OH)₂D biyolojik etkilerini vitamin D reseptörü (VDR) adı verilen ve retinoik asit, seks hormonları, adrenal steroid ve tiroid hormon reseptörlerinin de dahil olduğu nükleer reseptör süperaillesinden olan ligand bağımlı reseptörler aracılığı ile gerçekleştirir (316, 320). İnsandaki formu 427 aminoasitten oluşan VDR vitamin D hedef genlerinin aktivasyonu için retinoid-X reseptörü (RXR) ile heterodimer oluşturur. VDR son derece korunmuş olan NH₂-terminal DNA-bağlayıcı bölge (DBD) ve daha değişken olan alfa heliks yapısındaki COOH-terminal ligand bağlayıcı bölge (LBD) olmak üzere iki ana fonksiyonel bölümden oluşmaktadır. 1,25(OH)₂D'nin VDR'nin ligand bağlayıcı bölgesine bağlanması VDR'nin RXR ve hedef genlerin transkripsiyonu için gerekli olan yardımcı düzenleyici kompleksler ile etkileşimini kolaylaştıracak yapısal bir değişikliğe uğramasını indükler. 1,25(OH)₂D-VDR-RXR kompleksi daha sonra transkripsiyon aktivasyonu ve baskılanmasında rol oynayan hedef genlerin düzenleyici bölgelerinde yer alan ve vitamin D yanıt elementleri (VDREs) adı verilen özelleşmiş DNA sekanslarına bağlanır. VDREs 5'-PuG(G/T)TCA-3' tekrar motiflerinden oluşmakta olup belirgin sekans değişiklikleri bildirilmiştir. Transkripsiyon aktivasyonu için üç spesifik olmayan baz dizisi ile bölünmüş olan altı nükleotidlik tekrar dizileri gerekmektedir. VDREs'lerin 5' ucu RXR' ye bağlanırken 3' ucu VDR'ye bağlanır (304). VDR-RXR heterodimerinin VDRE ile etkileşimini takiben oluşan gen ekspresyon değişiklikleri ligand bağımlı reseptörün transkripsiyonel koaktivatörleri bir araya getirme yeteneğine bağlıdır. Ligand bağımlı VDR'nin aktive edici

fonksiyon-2 (AF-2) adı verilen bölgesine bağlanan primer koaktivatörler p160 koaktivatörleri ve steroid reseptör koaktivatör kompleksleri 1, 2 ve 3 (SRC-1, 2, 3)'tür. Bu proteinler histon asetilaz aktivitesine sahip olup histon modifikasyonunu, kromatin yeniden şekillenmesini ve RNA polimeraz II bağlanmasını teşvik etmektedirler. Promotor gen bölgelerine yakın lokalizasyonlarda çok sayıda VDREs olmasına rağmen DNA bağlı VDR 75 bin baz çifti uzaklıktan bile hedef gen transkripsiyonunu düzenleyebilmektedir. VDR aynı zamanda transkripsiyonu inhibe edebilme özelliğine de sahiptir. 1,25(OH)₂D varlığında VDR-RXR heterodimerleri DNA bağlı nükleer faktör (NF-AT) üzerine negatif yönde etki ederek sitokin ekspresyonunu ve FoxO transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek siklin D2 gen ekspresyonunu baskılayabilmektedirler (316, 320).

2.2.3. D Vitaminin Fizyolojik Önemi

Kalsiyum ve kemik homeostazı iç içe geçmiş olup kalsiyum kemik dokunun majör bileşenidir ve iskelet sisteminin dayanıklılığında sorumludur. Aynı zamanda kemik doku vücudtaki en önemli ve en büyük kalsiyum deposudur. Kemik dokunun yapısal bütünlüğünün sağlanmasında serumdan yeterli kalsiyum desteğinin yanı sıra indirekt olarak barsaktan kalsiyum emilimi ve böbrekten kalsiyum reabsorpsiyonu gereklidir. (316). İnsan vücudundaki optimum metabolik fonksiyonların sağlanması için gerekli olan kalsiyum ve fosfat dengesinin düzenlenmesinde vitamin D önemli bir role sahiptir (304). İntestinal kalsiyum emiliminin düzenlenmesinde serum iyonize kalsiyum düzeyi ve kalsiyum bağlayıcı proteinlerin aktivitesinin yanı sıra serum 1,25(OH)₂D düzeyleri de etkili olmaktadır. Vitamin D aktif intestinal kalsiyum emilimi ile birlikte fosfat emilimini de uyarmaktadır. İntestinal kalsiyum emilimi olmadığında ise vitamin D osteoblastları reseptör aktivatör nükleer faktör-κB ligand (RANKL) üretimi yapmaları yönünde uyarır. RANKL ise osteoklastları kemik rezorpsiyonu için aktive eder ve kemikten seruma kalsiyum geçişi sağlanmış olur. Vitamin D aynı zamanda kalsiyum metabolizması ve kemik döngüsünü kontrol eden PTH'nin salınımını da düzenleyici etkiye sahiptir. Serum kalsiyum düzeyleri azaldığında paratiroid bezinden PTH sentezi arttırılarak kemikten kalsiyum mobilizasyonunu sağlamak üzere vitamin D üretimi de arttırılmış olur. Vitamin D böbreklerde distal renal tübüller üzerine de etki ederek kalsiyumun reabsorpsiyonunda

görev almaktadır. Hem barsaklarda hem de böbreklerde kalsiyumun seruma geçişinin sağlanmasında vitamin D ve PTH'nin birlikteliği gerekmektedir (304, 321).

Vitamin D osteoklastik öncü hücreler, enterositler ve keratinositler gibi hücrelerde hücre proliferasyonunu azaltıcı ve hücre farklılaşmasını artırıcı yönde etki edecek şekilde hücre döngüsü proteinlerinin transkripsiyonunu da düzenlemektedir (322).

2.2.4. D Vitamininin Etkileri

Kas-iskelet Sistemi Üzerine Etkileri

Vitamin D kan kalsiyum ve fosfat düzeylerinin belli bir seviyede tutulmasını sağlayarak kemik gelişimi, ossifikasyon ve mineralizasyonda görev almaktadır. Vitamin D rikets, osteomalazi ve osteoporoza karşı koruyucudur. Eksikliğinde kas güçsüzlüğü, düşme ve bunlara bağlı olarak kırık gelişimi olduğu bildirilmiştir (323, 324). Kas hücrelerinde VDR'lerin yaygın ekspresyonu bulunmakta olup vitamin D eksikliğinde kolay yorulma, yataktan kalkmada zorlanma ve merdiven çıkmada zorlanma gibi özellikle proksimal kas güçsüzlüğü ile ilişkili bulgular gelişmektedir. Vitamin D'nin çocuk ve erişkinlerde sağlıklı kemik gelişimi ve büyüme üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra yeni kemik oluşumu ve yapılanmasında da rolü bulunmaktadır (322). Vitamin D temel olarak mineral homeostazı üzerindeki etkileri ile indirekt olarak kemik metabolizmasında rol oynamakla birlikte normal kalsiyum dengesi altında VDR'nin kemik homeostazının sağlanmasında osteojenik hücreler üzerindeki rolünün araştırılması gerektiği öne sürülmektedir (316).

Kas-iskelet Sistemi Dışı Etkileri

VDR'nin insan vücudunda hedef hücreler olan enterositler, osteoblastlar ve distal renal tübül hücreleri dışında paratiroid bezi hücreleri, keratinositler, promiyelositler, lenfositler, hipofiz bezi hücreleri ve overyan hücreler gibi neredeyse tüm hücrelerde bulunması ve vitamin D'nin VDR'ye bağlanan aktif metabolitinin sentezini sağlayan CYP27B1 enziminin de pek çok hücrede eksprese ediliyor olması vitamin D'nin kemik ve mineral homeostazını düzenlemenin ötesinde de rolleri olabileceğini düşündürmektedir (7, 325). Son dönemlerde tüm hücrelerin 1,25(OH)₂D için hedef olabileceği ve bu hücrelerin birçoğunun renal üretime bağlı

olmadan kendi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'lerini üretebildikleri, VDR'nin klasik ligandlarının yanı sıra alternatif ligandlar da kullanıyor olabileceği ve VDR'nin transkripsiyon üzerindeki etkilerini gerçekleştirirken RXR dışında başka partnerleri olabileceği görüşleri gündeme gelmiştir. Hücre kültürü çalışmaları, in vivo hayvan çalışmaları ve çeşitli klinik çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda vitamin D'nin kas-iskelet sistemi dışı etkilerinin olduğu doğrulanmıştır (6, 7, 326).

-Kanser ile ilişkisi

Vitamin D'nin pek çok hücrede antiproliferatif ve farklılaşmayı indükleyici etkilerinin olması vitamin D ve analoglarının kanserden korunmada ve kanser tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmüştür (7).

Hücre çalışmalarından edinilen bilgilere göre tümörlerin çoğunda VDR ve CYP27B1 ekspresyonu olmakta ve her ikisi için de ekspresyon kaybının görülmesi progresif olarak diferensiyasyon kaybı ile birliktelik göstermektedir. Tümörlerde CYP24A1 ekspresyonunun ise sıklıkla arttığı ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (327, 328). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ hücre döngüsünde G0/G1 ve G1/S geçiş noktalarında durdurucu etkiye sahiptir (329). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin aynı zamanda kolon kanseri hücre serilerinde proliferasyon ilişkili bazı gen düzeylerini azalttığı; prostat ve meme kanseri hücre serilerinde ise tümör büyümesinde rolü olan IGF-1 ve 2'nin etkilerini kısıtlayan IGF bağlayıcı protein 3 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (330). Epitelyal hücrelerde antiproliferatif etkileri olduğu bilinen TGF- β 2 ekspresyonunun prostat ve meme kanseri hücreleri olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tarafından uyarıldığı da gösterilmiştir (331). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin mide ve kolon kanseri ve kronik miyeloid lösemi hücre serilerini de içeren bir dizi hücre serisinde çeşitli pro-apoptotik gen ekspresyonlarını uyararak apoptozu indüklediği bildirilmiştir (332, 333). Aynı zamanda $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin hücre içi kalsiyum artışına neden olması da kalsiyum bağımlı bazı faktörleri aktive ederek apoptoz artışına katkı sağlamaktadır (334). VDR'den yoksun farelerde UVB ile indüklenen DNA hasarı sonucu ortaya çıkan siklobütan primidin dimerleri ve primidin-primidon foto ürünlerinin temizlenme hızının azaldığı ve oksidatif strese bağlı DNA hasarının VDR'den yoksun farelerde ve vitamin D eksikliği olanlarda daha sık olduğu gösterilmiştir (335). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ aynı zamanda tiyoredoksin

redüktaz, süperoksit dismutaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve glutasyon peroksidaz gibi anti-oksidan enzimlerin miktarını artırıcı etkiye sahiptir (336). 1,25(OH)₂D'nin kolon kanseri dahil çeşitli hücre dizilerinde tümör büyümesi ve metastazı için oldukça önemli olan anjiogenez endotelial hücre proliferasyonunu inhibe ederek ve hipoksi ile indüklenen vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu azaltarak yaptığı gösterilmiştir. 1,25(OH)₂D aynı zamanda çeşitli mekanizmalar aracılığı ile tümör hücrelerinin migrasyon ve invazyon kapasitesini azaltmaktadır. VDR'den yoksun farelerde 7,12 dimetil benzantrasen (DMBA) ile maruziyet sonucunda farelerin hemen hepsinde sebace tümörler, skuamöz tümörler, foliküler papillomlar ve bazal hücreli karsinomları içeren deri tümörleri gözlenmiştir. VDR'den yoksun farelerde epidermis ve kıl foliküllerinin epidermal kısmında özellikle bazal hücreli karsinomlar olmak üzere epidermal tümör gelişiminde rol oynayan Hedgehog sinyal yolağı elementlerinin aşırı ekspresyonunun olduğu bulunmuştur. Hedgehog sinyal yolağındakine benzer şekilde β -katenin yolağındaki aşırı ekspresyon ya da aktive edici mutasyonlar pilomatrikoma ve trikofoliküloma gibi kıl folikülü ilişkili tümörlere neden olmakta olup VDR ve β -katenin arasında transkripsiyon düzenlenmesi aşamasında etkileşim olduğu gösterilmiştir. 1,25(OH)₂D analogu kullanılarak β -katenin aşırı ekspresyonuna bağlı olan trikofoliküloma gelişimi engellenebilmiştir (337-341).

Epidemiyolojik çalışmalardan edinilen bilgilere göre çeşitli kanser tiplerinde düşük vitamin D düzeyinin risk artışı ile ilişkili olduğu ve vitamin D düzeylerinin belli bir seviyenin üzerinde tutulmasının da riski azalttığı bildirilmiştir. Kolorektal kanser ile ilgili meta-analiz verileri doğrultusunda vitamin D ve kalsiyumun koruyucu olduğu söylenebilmektedir (342). Meme kanseri ile ilgili riski azalttığını gösteren çalışmalar olmakla beraber koruyucu olmadığını destekleyen çalışmalar da mevcuttur (343, 344). Prostat kanseri ile ilgili meta-analizlerde koruyucu etkisi olmadığı belirtilmiştir (344, 345). Aynı zamanda yaşam boyu yaz mevsimi dışında da güneş maruziyeti daha çok olan kişilerde kanserden ölüm oranlarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (346-349). Her ne kadar güneş ışığı maruziyeti ve serum 25(OH)D düzeyleri ile bazı kanser tipleri arasında ilişki olduğunu ortaya koyan epidemiyolojik çalışmalar olsa da vitamin D düzeyinin normal seviyede tutulmasının uzun dönemde kanser riskini azaltıp azaltmadığı bilinmemektedir. Vitamin D ve

kanser mortalitesi arasında ilişki olmadığını gösteren toplum temelli çalışmalar da bulunmaktadır (344).

-Kardiyovasküler ve metabolik sistem üzerine etkileri

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve serum 25(OH)D düzeyleri arasındaki ilişki uzun süreli kesitsel gözlemsel çalışmalara dayanmaktadır. Vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite ve mortalitenin diğer tüm nedenleri arasındaki ilişki üzerine yapılan bazı çalışmalarda vitamin D eksikliği olanlarda mortalite riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (350, 351). Vitamin D'nin kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkisini değerlendiren bir meta-analizde ise yüksek vitamin D düzeylerinin riski % 43 oranında azalttığı belirtilmiştir (352). Bir başka meta-analizde ise periferik arter hastalığı olanlarda olmayanlara göre serum 25(OH)D düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (353). Benzer şekilde kan basıncı ile ilişkisini değerlendiren meta-analizlerde ise serum 25(OH)D konsantrasyonu ile hipertansiyon arasında ters ilişki olduğu bulunmuştur (354, 355). Aynı zamanda miyokard infarktüsü, inme, kan basıncı ve mortalite üzerine etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (356, 357). Vitamin D'nin kardiyovasküler sistem ve kan basıncı ile ilişkisini açıklamaya çalışan deneysel çalışmalarda VDR ve CYP27B1'den yoksun farelerde renin düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. Bu artışa bağlı olarak potent bir vazokonstriktör olan anjiyotensin II'nin artması sonucu da kan basıncında yükselme, kardiyak hipertrofi ve sistolik ve diyastolik fonksiyon bozukluğu olduğu gözlemlenmiştir (358, 359). Vitamin D eksikliğinde görülen sekonder hiperparatiroidizme bağlı serum PTH yüksekliğinin KVH gelişimine katkı sağladığı öne sürülen diğer mekanizmalardandır (322).

Yine gözlemsel çalışmalardan edinilen bilgilere göre vitamin D tip 2 diyabetes mellitus (tip 2 DM) riskini azaltmaktadır. Ancak tip 2 DM'si olan kişilerde hastalığın seyri üzerine belirgin etkisi olmamakla beraber insülin direncinde azalma yaptığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (360, 361). Tip 1 DM ile ilişkili olarak ise bir meta-analizde erken infantil dönemde vitamin D desteğinin sağlanmasının Tip 1 DM insidansını azalttığı gösterilmiştir (362). Pankreasın insülin üretiminde görev alan beta adacık hücreleri VDR ve CYP27B1 eksprese etmekte olup deneysel çalışmalarda 1,25(OH)₂D'nin insülin sekresyonunu ve periferik dokularda glukoz

alımını sağlayan insülin reseptörlerinin ekspresyonunu uyardığı ve pankreas beta adacık hücrelerini sitokin aracılı fonksiyonel hasardan koruduğu bulunmuştur (363). Düşük vitamin D düzeyleri ile obezitenin de ilişkili olduğu bildirilmiştir (364). Obezitede görülen vitamin D düşüklüğünün D vitaminin yağ dokuda depolanmasının artmasına ve açık havadaki aktivite düzeylerinin düşük olmasına bağlı güneş ışığı maruziyetinin azalması sonucunda ortaya çıkan deride azalmış sentezine bağlı olduğu düşünülmektedir (365).

-İmmün sistem üzerine etkileri

İmmün hücrelerde VDR ekspresyonunun olduğunun farkedilmesi, bu hücrelerde çok sayıda primer 1,25(OH)₂D hedef genlerinin keşfedilmesi ve makrofajlar, dendritik hücreler, T ve B lenfositlerde CYP27B1 aktivitesinin gösterilmesi ile günümüzde tüm immün hücre tiplerinin 1,25(OH)₂D'ye yanıt verebildiğine inanılmaktadır. Genel olarak 1,25(OH)₂D'nin doğal immüniteyi uyarıcı yönde, adaptif immüniteyi ise baskılayıcı yönde etkilediği belirtilmektedir (366).

Vitamin D ve doğal immünite

Tarihsel süreçte vitamin D'nin doğal immünite ile ilişkisi ilk defa morina balığı karaciğeri yağının pulmoner tüberküloz tedavisinde kullanılması ile farkedilmiştir (367). 1,25(OH)₂D'nin makrofajlardaki CYP27B1 enzimini uyarabilme özelliğine sahip olan IFN- γ 'nın da etkisiyle makrofajların içerisinde bulunan *Mycobacterium tuberculosis* proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir (368). 1,25(OH)₂D-VDR-RXR kompleksi doğal immünite hücrelerinin kemotaksi ve fagositoz yeteneklerini arttırmaktadır. VDREs'lerin antimikrobiyal peptitler olan katelisidin ve defensin β 2'yi kodlayan gen bölgelerine yakın olduğu ve vitamin D'nin miyeloid ve epitelyal hücrelerde bu proteinlerin transkripsiyonunu aktive ettiği gösterilmiştir (369, 370). Mikobakteriyel lipoproteinler tarafından makrofajlardaki TLR'lerin aktivasyonu 25(OH)D ile tedavi edilen hücrelerde katelisidin ekspresyonunu arttırmaktadır. PAMPs'ların TLR'ye bağlanması ve makrofajlardaki TLR2/1 ve keratinositlerdeki TLR2'nin aktivasyonu nükleustaki VDR'leri arttırmakta ve CYP27B1 enzimini aktive etmektedir (371). 1,25(OH)₂D keratinositlerde TLR4'ün koreseptörü olan CD14'ü de indüklemektedir (7). Vitamin D monositlerin yanı sıra VDR eksprese ettiği bilinen antijen sunucu hücreler üzerinde de etkilidir. VDR ve CYP27B1'den yoksun farelerin dendritik hücrelerinin

anormal kemotaksi gösterdiği bulunmuştur (372). Vitamin D aynı zamanda doğal immünitede önemli rolleri olan gastrointestinal sistemin bariyer fonksiyonu üzerine düzenleyici etkiye sahiptir. VDR'den yoksun farelerin lipopolisakkaritlere ve kimyasal olarak indüklenebilen gastrointestinal inflamasyona olan hassasiyetinin arttığı gösterilmiştir. 1,25(OH)₂D gastrointestinal epitel hücrelerinde E-kaderin transkripsiyonunu uyarıcı etkiye sahip olup vitamin D eksikliği olan ve VDR'den yoksun farelerde epitelyal hücreler arasındaki sıkı bağlantıların kaybına bağlı olarak barsak geçirgenliğinde artış olmaktadır (373, 374). Bakteriyel peptidoglikanların yıkım ürünlerine yanıtta aktive edilen intraselüler patern tanıma reseptörü olan NOD2 (nükleotid oligomerizasyon domain proteini 2) ekspresyonunun ligand bağlı VDR tarafından indüklendiği de gösterilmiştir (375).

Vitamin D ve adaptif immünite

Vitamin D'nin doğal immünitenin yanı sıra adaptif immünite üzerine de etkileri bulunmaktadır. Doğal immün yanıt hücrelerinde olduğu gibi adaptif immünitenin temel elemanları olan T ve B hücreleri de VDR eksprese ederler. 1,25(OH)₂D'nin ana hedefi Th hücrelerdir. Matur Th hücrelerinde 1,25(OH)₂D'nin down-regüle ettiği ve up-regüle ettiği hedef gen bölgeleri tanımlanmıştır (376). 1,25(OH)₂D Th hücrelerin sentezlediği sitokin üretimlerini modüle ederken proliferasyonlarını da baskılayıcı yönde etki etmektedir (377). İn vitro olarak aktif vitamin D'nin Th1 gelişimi için önemli olan IL-12 ve Th17 gelişimi için önemli olan IL-23 ve IL-6 üretimini baskıladığı ve Th1 ve Th17 hücrelerinin sayılarındaki azalmaya bağlı olarak da bu hücrelerden salgılanan IFN- γ , IL-2 ve IL-17'nin azaldığı gösterilmiştir (7, 310). Bazı otoimmün hastalıklarda rolü gösterilmiş olan ve IL-9 salgılanmasından sorumlu olan Th9 hücreleri de 1,25(OH)₂D tarafından baskılanmaktadır (316). IL-12'nin baskılanması ise Th2 hücrelerinin gelişimini ve bu hücrelerin salgıladığı IL-4, IL-5 ve IL-13 sitokinlerinin üretimini arttırmaktadır (7). Aynı zamanda vitamin D'nin aşırı immün yanıtların ve otoimmün yanıtların düzenlenmesinde rol oynayan düzenleyici Treg'ler üzerinde ve bu hücrelerin gelişimi ve fonksiyon görmesinde rol oynayan Foxp3 transkripsiyon faktörü üzerinde de indükleyici etkisi bulunmaktadır (316). Treg hücreler IL-10 ve TGF- β aracılığıyla Th1 ve Th17 gelişimini baskılayarak immün tolerans sağlamaktadır. 1,25(OH)₂D'nin hedef hücrelerinden bir diğeri de dendritik hücreler olup in vitro olarak

farklılaşmakta olan dendritik hücrelerin 1,25(OH)₂D'ye maruziyeti sonucunda bu hücrelerin farklılaşmasının tamamlanamadığı gösterilmiştir. Bu hücrelerin MHC sınıf II ekspresyonlarında ve kostimülatör molekülleri olan CD40, CD80 ve CD86 ekspresyonlarında da azalma olmaktadır (378). Vitamin D'nin B hücre proliferasyonu ve immünglobulin üretimi üzerindeki süpresyon etkilerinin T hücreleri üzerindeki etkilerinin dolaylı bir sonucu olduğu düşünülmekle beraber son dönemlerde plazma hücrelerini, hafıza hücrelerine farklılaşmayı ve IgE antikor değişimini baskılayıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (379, 380).

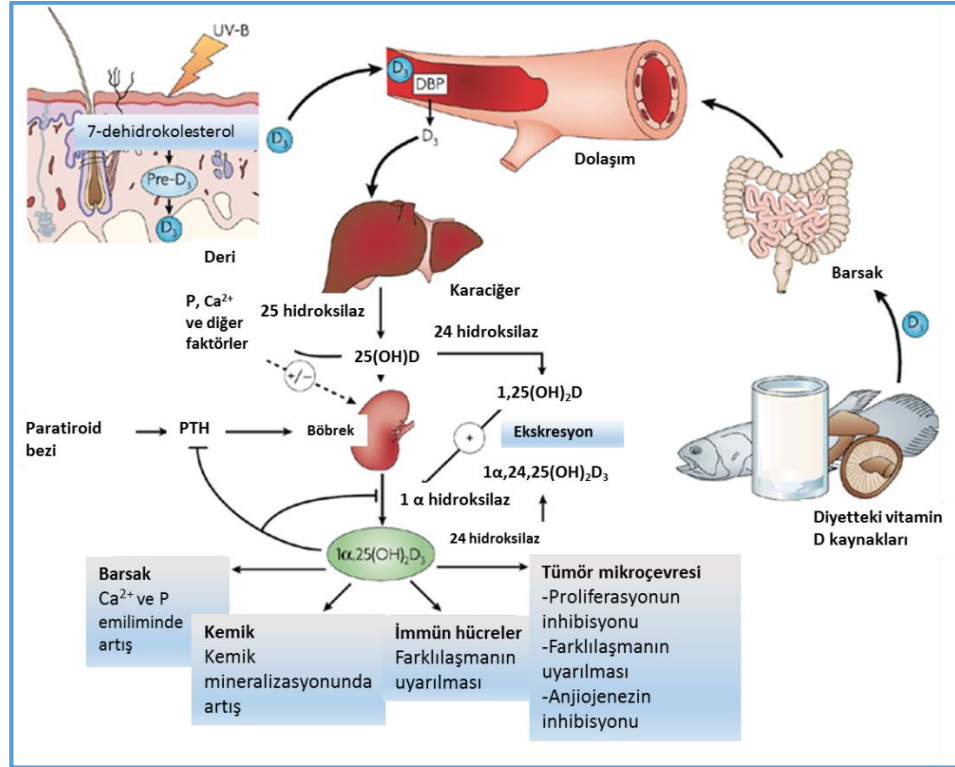
Vitamin D ve otoimmünite

Vitamin D'nin immün sistem üzerindeki fizyolojik etkilerinin farkedilmesinden sonra otoimmünite ile ilişkisini değerlendirmek üzere hayvan modellerinde çeşitli in vivo çalışmalar yapılmıştır (316). İnflamatuvar barsak hastalığı, otoimmün diyabet ve multiple sklerozun da yer aldığı çeşitli otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklar için geliştirilen fare modellerinde 1,25(OH)₂D'nin IL-12, IL-17 ve efektör T hücre inhibisyonu ve Treg hücre indüklenmesi aracılığı ile koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (381-383). Bu zamana kadar yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda da romatoid artrit, sistemik skleroderma, SLE, mikst bağ dokusu hastalığı, anti-fosfolipid antikor sendromu, primer biliyer siroz, otoimmün tiroid hastalığı, multiple skleroz ve tip1 DM'yi içeren çok sayıda otoimmün hastalığın gelişimi ve/veya alevlenmesi ile vitamin D eksikliğinin ilişkili olduğu bildirilmiştir (384).

-Diğer etkileri

Vitamin D'nin kas-iskelet sistemi, kanser, kardiyovasküler sistem, metabolik sistem ve immün sistem üzerine etkilerinin dışında pre-eklampsi, yutma fonksiyonu, aşırı aktif mesane, pulmoner fonksiyonlar, ağrı kontrolü, epilepsi, kognitif fonksiyonlar, demans, depresyon ve ağız ve diş sağlığı üzerinde de olumlu yönde etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (322).

Vitamin D'nin metabolizması ve etkileri Şekil 2.2' de özetlenmiştir (385).



Şekil 2.2. Vitamin D metabolizması ve etkileri

2.2.5. D Vitamini Eksikliği

İnsan vücudunda vitamin D durumunu gösteren en iyi parametre olarak kabul edilen serum 25(OH)D'nin optimum düzeyleri ile ilgili ortak bir görüş bulunmamasına karşılık genel olarak 25(OH)D'nin serum değerlerinin >30 ng/mL (>75 nmol/L) olması normal; 20-30 ng/mL (50-75 nmol/L) olması yetersizlik; 10-20 ng/ml (25-50 nmol/L) olması eksiklik ve <10 ng/mL (<25 nmol/L) olması ciddi eksiklik olarak tanımlanmaktadır (386). Tüm dünyada yaklaşık 1 milyar kişide D vitamini eksikliği olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmalara göre ülkemizde de vitamin D eksikliği yaygın görülen bir sorundur (387-389).

Deri insan vücudu için en önemli D vitamini sentezi yeri olup vitamin D içeren besinlerin kısıtlı sayıda olması nedeni ile vitamin D sentezinin %80-90'ı deride UVB aracılığı ile gerçekleştirilir. Vitamin D eksikliği; deride azalmış sentezine, yetersiz alımına, biyoyararlanımının azalmasına, katabolizmasının artmasına, 25(OH)D'nin artmış üriner kaybına, 25 hidroksilasyon ve 1,25 hidroksilasyon basamaklarının defektine bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir (390). Güneş koruyucu kullanımı, koyu ten rengi, hava kirliliği ve kapalı giyim tarzı gibi

nedenlere bağılı olarak UVB emiliminin azalması; yaşlılık ve deri grefti olması durumlarına bağılı olarak 7-dehidrokolesterolün azalmış sentezi; mevsim, enlem ve saat gibi güneş ışınlarının dünya yüzeyine ulaştığı zenit açısını etkileyen faktörler D vitamininin derideki sentezinde azalmaya neden olabilmektedir. Vitamin D sentezi mevsimsel farklılıklardan belirgin derecede etkilenmekte olup yaz sonunda ve sonbahar başında maksimum düzeye ulaşırken kış sonunda en düşük düzeyde olmaktadır. Batı Avrupa'da Nisan-Eylül aylarında, Doğu Avrupa'da Mart-Ekim aylarında, Afrika'nın büyük bir kısmı, Latin Amerika, Hindistan, Endonezya ve kuzey Avustralya gibi tropikal bölgelerde ise tüm yıl boyunca güneş ışığı maruziyeti ile vitamin D sentezi olabilmektedir (391). Ülkemizin bulunduğu enlemden D vitamininin deride uygun sentezi Mayıs-Kasım aylarında saat 10.00-15.00 arasında olmaktadır. Yaz mevsiminde tüm vücudun minimal eritem dozu (MED) oluşturulacak şekilde güneş ışığına maruziyeti deride, oral yoldan alınan yaklaşık 20.000 IU (internasyonal ünite) vitamin D'ye eşdeğer miktarda D vitamini sentezini uyarırken el, kol ve bacakların aynı şekilde güneş ışığına maruziyeti oral yoldan alınan 3000 IU değerindeki vitamin D'nin deriden sentezlenmesini sağlar. Minimal eritem dozu deri fototipi tip I-VI arasında $200-1000 \text{ J/m}^2$ olarak değişmekte ve MED'ye ulaşılma süresi koyu tenli bireylerde açık tenli bireylere göre 3-4 kat daha uzun sürede olmaktadır. Deri fototipi tip VI olanlarda tip I olanlara göre derideki previtamin D3 sentezi %20 daha az olmaktadır (315). Dünya üzerine ulaşan UVB'nin düzeyi ekvator uzaklığına bağılı olarak değişkenlik göstermekle birlikte enlem derecesi yüksek olan yerlerde vitamin D düzeylerinin daha düşük olduğu bulunmuştur (366). Aynı zamanda yüksek enlemlerde yaşayan bireylerde tip 1 DM, multiple skeroz ve Crohn hastalığı gibi otomimmün hastalıkların riskinin de artmış olduğu gösterilmiştir (392). Güneş koruyucu kullanımı derideki vitamin D sentezini azaltmakla beraber tamamen yok etmemektedir. ICEPURE çalışmasından edinilen bilgilere göre yıl boyu güneş maruziyetinin %40'ına denk gelecek şekilde 1 haftalık tatil dönemindeki güneş ışığı maruziyeti sırasında UVB ve UVA koruması içeren geniş spektrumlu güneş koruyucu (2 mg/cm^2 dozunda günde 3 kez) uygulayan grupta ortalama serum 25(OH)D düzeyi artışı 13 nmol/L olur iken; geniş spektrumlu olmayan güneş koruyucu kullananlarda (UVB koruması, 2 mg/cm^2 dozunda günde 3 kez) bu değer 19 nmol/L olmuştur. Kontrol gruplarındaki ortalama serum 25(OH)D

artışı ise 28 nmol/L olarak bulunmuştur (315). Ancak günlük yaşamda bireyler genellikle mevcut ürünlerdeki güneş koruma faktörüne (SPF) ulaşılması için gerekli miktarlarda ve sıklıkta ve güneş gören vücut alanlarının tamamına olacak şekilde uygulama yapmadıkları için güneş koruyucu kullanımının genel popülasyonda D vitamini eksikliğine yol açmadığını düşünenler de bulunmaktadır (313, 393, 394). UVB maruziyetinin azalması sonucu vitamin D düşüklüğü ile ilişkilendirilen bir diğer durum giyim tarzı olup batı tarzı giyinen kadınlarda örtü ve kapalı kıyafet tercih eden ya da el ve yüz dahil bütün vücut alanlarına örtecek şekilde kıyafet seçiminde bulunan kadınlara göre ortalama serum 25(OH)D değerleri daha yüksek bulunmuştur (387).

Kistik fibrozis, Çölyak hastalığı, Whipple hastalığı, Crohn hastalığı, bypass cerrahisi gibi yağ emilim bozukluğuna neden olan durumlar, gastrektomi, pankreas yetersizliği ve vitamin D'nin yağ dokuda sekestrasyonuna neden olan obezite ise vitamin D biyoyararlanımını azaltmaktadır. Antikonvülzanlar (fenitoin, fenobarbital), antifungaller (ketokonazol), antitüberküloz ilaçlar (rifampisin, izoniyazid), antiretroviral ilaçlar ve glukokortikoidler vitamin D'nin inaktif metabolitlere yıkımını arttırarak vitamin D eksikliğinde rol oynamaktadırlar. Nefrotik sendromda vitamin D bağlayıcı protein ve 25(OH)D'nin artmış üriner kaybı; kronik böbrek yetmezliği, hipoparatiroidi ve 1 α -hidroksilaz eksikliğinde 1,25(OH)₂D'nin azalmış sentezi ve kronik karaciğer hastalıklarında 25(OH)D'nin azalmış sentezi vitamin D eksikliğine neden olan diğer faktörlerdir (386, 390).

Vitamin D durumunun değerlendirilmesinde yarı ömrü 2-3 hafta olan 25(OH)D'nin serum düzeylerinin yüksek frekanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve likit kromatografisi/kütle spektrometresi (LC/MS) ile ölçülmesi kabul edilen güvenilir yöntemlerdir. Yarı ömrü 4 saat gibi oldukça kısa bir süre olan 1,25(OH)₂D ölçümünün ise kronik böbrek yetmezliği, kalıtsal fosfat kaybettiren enteropati, onkogenik osteomalazi, vitamin D dirençli rikets ve granüloamatöz hastalıklarda yapılması önerilmektedir.

25(OH)D ölçümünün sadece vitamin D eksikliği açısından riskli gruplarda yapılması önerilmekte ve toplum taramalarının yapılması önerilmemektedir. Vitamin D eksikliği için yüksek risk oluşturan durumlar yaşlılık, koyu ten rengi, obezite, vitamin D katabolizmasını arttıran ilaç kullanımı, yetersiz güneş maruziyeti,

osteoporoz, spontan kırık hikayesi, osteomalazi, malabsorbsiyon durumları, hiperparatiroidi, kronik böbrek ve karaciğer yetmezlikleri olarak sıralanabilir (390). Serum 25(OH)D düzeyinin kemik sağlığı için optimum düzeyleri konusunda görüş birliği olmamakla beraber Amerikan Tıp Enstitüsü (Institute of Medicine, IOM) 20 ng/mL'nin üzerindeki değerleri yeterli bulurken, Amerika Endokrin Derneği (Endocrine Society), Ulusal Osteoporoz Vakfı (National Osteoporosis Foundation), Uluslararası Osteoporoz Vakfı (International Osteoporosis Foundation) ve Amerikan Geriatri Derneği (American Geriatric Society) ise düşme ve kırık riskini minimuma indirmek için 30 ng/mL'nin üzerindeki değerlerin yeterli olduğu görüşündedir (395-398). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED) Osteoporoz ve Metabolizma Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu da düşme riskinin azalması için ve metabolik hastalıklar ile ilişkili yararları nedeni ile 30 ng/mL'nin üzerindeki serum 25(OH)D değerlerini yeterli bulmaktadır (390). Vitamin D'nin olumlu etkilerinden yararlanılabilmesi için optimum serum 25(OH)D düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik sistem, solunum sistemi ve metabolik hastalıklar için 30-40 ng/mL ve kanser, immün sistem, otoimmün durumlar ve enfeksiyonlar için 40 ng/mL olması gerektiği belirtilmektedir (322).

D vitamini eksikliğinin önlenmesinde TEMED Osteoporoz ve Kemik Hastalıkları Çalışma Grubuna göre 19-70 yaş arasındaki erişkinlerdeki günlük minimum vitamin D ihtiyacı 600 IU, 70 yaş üzerinde ise 800 IU'dır. Bu değerler infantil dönemde 400 IU ve 1-18 yaş arasında da erişkinlere benzer şekilde 600 IU'dır (395). Vitamin D düzeyinin <30 ng/mL olması tedavi gerektirmekte olup tedavide hedef, serum 25(OH)D düzeyini 30-50 ng/mL aralığında tutmaktır. Tedavide vitamin D₂'ye göre daha etkili olması nedeni ile vitamin D₃ tercih edilmelidir. Emilimi besinlerden etkilenmemekte olup oral yoldan kullanıma uygundur. Yetişkinlerde serum 25(OH)D düzeyi 20-30 ng/mL olanlarda D vitamini yüklemesi yapmadan 1500-2000 IU/gün vitamin D ile tedaviye başlanılabilir. Serum 25(OH)D düzeyi <20 ng/mL olanlarda ise haftada 1 kez 50.000 IU dozundan 8 hafta süre ile yükleme yapıldıktan sonra 1500-2000 IU/gün ile idame tedavisi yapılmalı ve serum 25(OH) düzeyi 30 ng/mL olduğunda 800-1500 IU/gün ile idameye devam edilmelidir.

2.2.6. Vitamin D ve Deri

Epidermis insan vücudundaki ana vitamin D3 kaynağı olup keratinositler eksprese ettikleri CYP27A1, CYP2R1, CYP27B1 ve VDR sayesinde kendi 1,25(OH)₂D üretimlerini yapabilmekte ve ürettikleri 1,25(OH)₂D'ye yanıt verebilmektedirler (399, 400). In vitro olarak melanositlerin ve dermal fibroblastların da 1,25(OH)₂D'ye yanıt verdiği gösterilmiştir (311). Deride VDR ve CYP27B1'in en fazla eksprese edildiği tabaka stratum bazale tabakasıdır. VDR aynı zamanda kıl foliküllerinin '*bulge*' adı verilen bölgesinde yer alan kök hücrelerde de yüksek oranda eksprese edilmektedir. Hem fare modellerinde hem de insanlarda VDR ile ilişkili delesyon ya da mutasyonlar sonucunda postnatal kıl folikülü gelişiminin durduğu gözlemlenmiştir. İlginç olarak kıl folikül döngüsü 1,25(OH)₂D'ye gereksinim duymamakta ve CYP27B1 yokluğunda ya da mutasyonlarında kıl folikül döngüsü etkilenmemektedir (401, 402). Ancak epidermis hücreleri ve kök hücre aktivasyonu için gerekli olan β-katenin sinyal yolağında β-katenin VDR'nin AF-2 alt ünitesine bağlanarak etki etmekte olup bu bağlanma için 1,25(OH)₂D gerekmektedir (403, 404). Bu bağlanma ile ligand bağımlı VDR transkripsiyonu arttırılırken β-katenin tarafından düzenlenen proliferasyon baskılanır. VDR'den yoksun farelerde interfoliküler epidermiste involukrin, profilagrin ve lorikrin ekspresyonunda azalma ve keratohiyalin granüllerde kayıp olduğu gösterilmiştir (405). 1,25(OH)₂D'nin keratinosit farklılaşmasını indükleyici etkisinin bu yollar aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Keratinositlerdeki VDR fonksiyonu medyatör kompleksi ve steroid reseptör aktivatör kompleksleri olmak üzere iki ana koaktivatör kompleksi tarafından düzenlenmektedir. Medyatör 1 (Med-1) kompleksinin VDR'ye bağlanan esas bileşeni olup özellikle epidermisin bazal tabakasında ve kıl folikülünde proliferen hücrelerde eksprese edilmektedir. Steroid reseptör koaktivatör komplekslerinin bileşenlerinden olan SRC-2 ve SRC-3 ise daha çok epidermisin farklılaşan tabakalarında eksprese edilmektedirler. Bu farklı koaktivatör kompleksleri VDR'nin fonksiyonlarını farklı açılardan kontrol ederler. Med-1 proliferasyon ve kıl döngüsünde yer alırken SRC-2 ve SRC-3 derinin doğal immünitede önem taşıyan bariyer fonksiyonunun devamlılığında görev alır (406, 407). Epidermal farklılaşmada kalsiyum da 1,25(OH)₂D ile benzer yönde etki ederek önemli rol oynamaktadır. Epidermis ve kıl folikül hücreleri kalsiyumun keratinosit

farklılaşmasını indükleyici etkilerini gerçekleştirmesi için gerekli olan kalsiyum algılayan reseptör (CaSR) eksprese etmektedirler. Epidermal farklılaşmanın fosfoinositid yolağı aracılığı ile düzenlenmesinde rol oynayan E-kaderin-katenin kompleksi oluşumu için de kalsiyum/CaSR ve 1,25(OH)₂D/VDR gerekmektedir (408). Aynı zamanda kök hücre aktivasyonunda ve E-kaderin-katenin kompleksi oluşumunda yer alan VDR ve CaSR'nin derinin yara iyileşmesine olan yanıtında ve deri kanseri gelişiminde önemli olduğu gösterilmiştir (409, 410).

Vitamin D ve deri hastalıkları ile ilişkili olarak en geçerli klinik çalışmalar derinin hiperproliferatif bir hastalığı olan psoriasis üzerinde yapılmıştır (7). Otoimmünite, keratinosit hiperproliferasyonu ve azalmış keratinosit farklılaşması ile inflamasyonun birlikte görüldüğü psoriaziste topikal 1,25(OH)₂D ve analoglarının kullanımının başarılı olduğu kanıtlanmıştır (411, 412). 1,25(OH)₂D'nin derinin bariyer fonksiyonları üzerindeki olumlu etkisi ve katelisin üretimini atırıcı etkisi göz önünde bulundurularak atopik dermatit üzerindeki etkinliği incelenmiş olup olumlu ancak kesin olmayan sonuçlar elde edilmiştir (413). Keratinizasyon bozukluklarından biri olan iktiyozisli hastalarda 25(OH)D düzeylerinin belirgin derecede düşük olduğu gözlemlenmiştir (414). Ancak burada vitamin D düşüklüğüne neden olan faktörün iktiyozisin kendisi olduğu düşünülmekte olup bir çalışmada topikal 1,25(OH)₂D analogu olan kalsipotriyol tedavisine yanıt alınmadığı rapor edilmiştir (415). Topikal 1,25(OH)₂D'nin kullanıldığı diğer dermatolojik hastalıklar içerisinde morfea, vitiligo, Kaposi sarkoma, dissemine süperfisyel aktinik porokeratoz, keratozis likeniodes kronika ve eritema anulare sentrifigum yer almaktadır. Bu hastalıklarla ilgili veriler olgu raporlarından ve randomize olmayan klinik birkaç çalışmadan edinilmiş olup daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (243, 244, 246, 416-420).

2.2.7. Vitamin D ve Morfea

Daha önce bahsedildiği gibi topikal vitamin D analogları morfea tedavisinde kullanılabilir (243, 245, 246). Günümüze kadar morfea ile vitamin D arasındaki ilişkinin doğrudan gösterildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Vitamin D'nin immün sistem, fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi ve endotelial hücre fonksiyonları üzerindeki etkileri sayesinde morfea tedavisinde etkin

olabildiği düşünülmektedir (313). Aktif vitamin D'nin morfeanın erken döneminde artış gösterdiği bilinen IL-2 ile IL-6'yı ve morfeanın geç döneminde artış gösterdiği bilinen IL-17'yi azalttığı bildirilmiştir (7, 142, 149, 310). Fibrozis morfea patogenezinde rol oynayan en önemli basamaklardan biri olup temelde bu fibrozisten TGF- β 'nın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Vitamin D ve fibrozis ilişkisine yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Kalsipotriyolün deneysel karaciğer fibrozis modelinde TGF- β düzeylerini azaltarak fibrozisin durdurulmasına ve TIMP-1 (metalloproteinaz doku inhibitörü 1) düzeylerini azaltarak fibrolizisin artışına katkı sağladığı gösterilmiştir (8). Karaciğerdeki miyofibroblastların köken aldığı yıldız hücreler üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada kalsitriyolün insan yıldız hücrelerinde tip 1 kollajen ekspresyonunu ve formasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (421). Benzer şekilde astım ile ilişkili hava yolu modelinde karakteristik olarak TGF- β 'nın sorumlu olduğu subepitelyal fibrozisin kalsipotriyol ile azaldığı ve kalsipotriyolün epidermal-mezenşimal geçiş üzerine düzenleyici etki yaptığı bulunmuştur (9). Vitamin D eksikliği ve kronik koliti olan farelerde ise vitamin D'nin subepitelyal miyofibroblastlar üzerinde VDR aracılığı ile TGF- β aktivasyonunu inhibe ederek fibroze karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda subepitelyal miyofibroblastlarda TGF- β ve tip 1 kollajenin yanı sıra TGF- β yolağında hücre yüzeyinden nükleusa kimyasal sinyal iletiminin sağlanmasında rol oynayan SMAD protein kompleksinin bileşenlerinden olan Smad3 proteininin de azalmış olduğu gösterilmiştir (422). Diyabetik sıçanların miyokard dokularındaki fibrozis üzerine vitamin D etkisini değerlendiren bir çalışmada ise kalsipotriyolün TGF- β 1'i ve morfeadaki dermal fibroblastlarda da artmış olduğu gösterilen CTGF'yi inhibe ederek koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (423). Benzer şekilde aktif vitamin D'nin insan miyokard fibroblastlarında da TGF- β aracılı fibroze karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (424). Kültüre edilmiş keloid fibroblastlarının VDR eksprese ettiği ve bu hücrelerin aktif vitamin D maruziyeti sonucunda TGF- β 1 tarafından indüklenen tip 1 kollajen, fibronektin ve α -düz kas aktini ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir (425). Vitamin D düzeyleri ile serum TGF- β düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise vitamin D eksikliği olanlarda serum TGF- β düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (426).

Topikal kalsipotriyolün bleomisin ile indüklenen deneysel skleroderma modeli üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmada kalsipotriyol uygulananlarda sadece taşıyıcı uygulananlara göre deri fibrozisinin ve hidroksiprolin içeriğinin belirgin derece azaldığı ve topikal kalsipotriyolün antifibrotik etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır (427). Sklerodermalı hasta derisi, deneysel fibrozis modeli ve insan fibroblastlarında VDR ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada VDR'nin mRNA düzeylerinin sklerodermalı lezyonlu deride ve deneysel skleroderma modelinde sağlıklı kontrollere göre azaldığı gösterilmiştir. VDR ekspresyonunun azalması ile ilişkili olarak VDR sinyalizasyonunda bozulma olmaktadır. Sağlıklı dermal fibroblastların TGF- β 'ya devamlı maruziyeti sonucunda da VDR ekspresyonu azalmaktadır. Azalmış VDR ekspresyonu durumunda ise fibroblastların TGF- β 'nın uyarıcı etkilerine duyarlılığının arttığı ve artmış bu duyarlılık sonucunda da kollajen sekresyonunun arttığı gösterilmiştir. Spesifitesi oldukça yüksek bir VDR agonisti olan parikalsitolün fibroblastlarda TGF- β sinyalizasyonunu inhibe ettiği, TGF- β ile uyarılmış fibroblastların parikalsitol ile maruziyeti sonucu stres fibrilleri oluşumu ve kollajen salgılamada azalma olduğu gösterilmiştir. Ancak TGF- β ile uyarılmamış ve dinlenme halindeki fibroblastlarda parikalsitolün bazal kollajen sekresyonu ile ilgili bir değişiklik yapmaması parikalsitolün bu etkilerini selektif olarak TGF- β aracılığı ile yaptığını düşündürmüştür. Aynı zamanda bleomisin indüklenmiş fibrozis modelinde parikalsitol bleomisinin neden olduğu dermal kalınlaşmayı, dinlenme halindeki fibroblastların aktif miyofibroblastlara dönüşümünü ve tip 1 kollajen mRNA'sındaki artışı azaltırken bleomisinle fibrozisin indüklendiği VDR'den yoksun fare modelinde bu etkiler gözlenmemiştir (10). Bleomisin ile indüklenmiş fibrozis modeli üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise daha önce sklerodermalı hasta derilerinde artmış olduğu gösterilen ve ekstraselüler matrikste yer alan bir protein olan periostinin bir vitamin D analogu olan maksakalsitol uygulanması ile dermal fibroblastlarda azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda maksakalsitolün dermal fibroblastlarda Th2 sitokinler olan ve morfeanın geç döneminde artmış olduğu gösterilen IL-4 ve IL-13'ü de azalttığı gösterilmiştir (428).

Sklerodermalı hastalarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ise vitamin D düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre düşük olduğu, standart replasman dozları ile

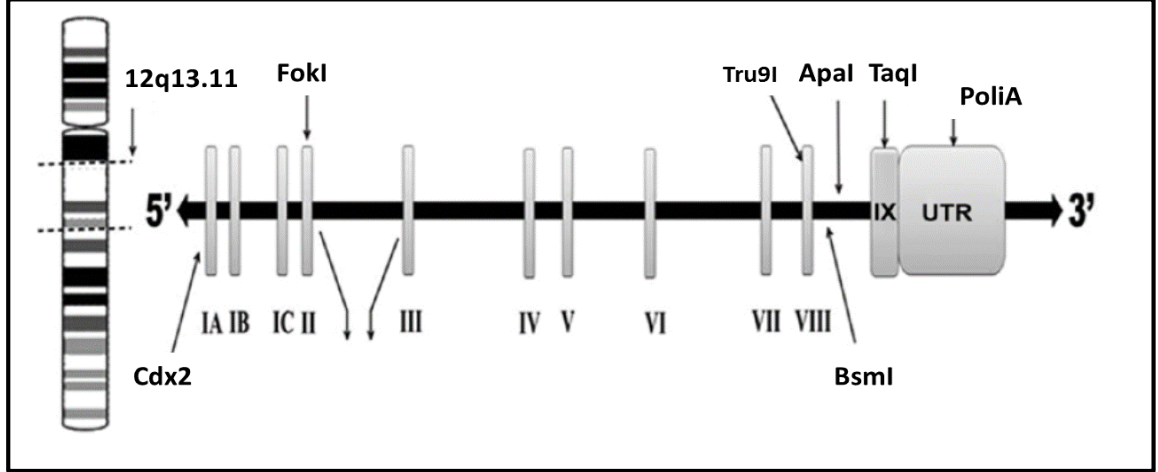
normal düzeylere gelmediği ve osteopeni ve osteoporoz prevalansının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. (11, 429-431). Sklerodermalı hastalarda serum 25(OH)D düzeyleri ile mRSS değerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada da bu iki parametre arasında ters bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (432). Bir başka çalışmada ise sklerodermalı hastalarda vitamin D yetersizliği ile deri ve akciğer tutulumu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (433). Tüm bu veriler doğrultusunda sklerodermada bozulmuş VDR sinyalizasyonu ile fibrozis arasında nedensel bir ilişki olduğu düşünülmektedir (10).

2.2.8. Vitamin D Reseptör (VDR) Geni ve VDR Gen Polimorfizmleri

Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel adı verilir. Genel popülasyonda kromozomlarda allellerin %1'den fazla olması durumu genetik polimorfizm olarak adlandırılır. İntronlarda ve genler arasında lokalize olmuş DNA dizilerinde değişim gösteren alleller herhangi bir genin fonksiyonu için önem taşımazken ve sadece direkt DNA analizleri ile belirlenebilirken genlerin kodlanan dizilerinde ve düzenleyici bölgelerinde değişimlerin olması protein çeşitliliğine ve farklı fenotiplerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu farklı fenotiplerin ortaya çıkışında DNA dizilimlerindeki değişimlerden çok polimorfik olan allellin ürünü olan proteinler sorumlu olmaktadır. Herhangi bir bireyin tüm lokuslarının yaklaşık %20'sinde allellerin yapısal olarak farklı polipeptitler için heterozigot olabildiği gösterilmiştir. Farklı etnik gruplardan bireyler karşılaştırıldığında proteinlerin büyük kısmının tespit edilebilen polimorfizmler gösterdiği ve bu durumun da biyokimyasal bireysellik ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle her bireyin genetik olarak kendine özgü kimyasal oluşumlara sahip olduğu ve çevresel, besinsel ve farmakolojik etkilere de kendine özgül cevaplar vereceği sonucuna varılabilmektedir. Polimorfizmler tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphism: SNP) ve değişen sayıda DNA dizilerinin tekrarı (variable number tandem repeat: VNTR) olmak üzere iki ana grupta incelenir. İnsan genomunda en çok karşılaşılan polimorfizmler SNP'lerdir. SNP ve hastalık ilişkisinin değerlendirildiği polimorfizm çalışmalarında hastalık gruplarında kontrol gruplarına göre polimorfizmlerin gen ya da allel düzeyinde daha fazla sıklıkta olması hastalığa yatkınlığı ifade ederken bu durumun tam tersi şekilde olması ise polimorfizmin hastalıktan koruyucu olduğunu ifade eder (434).

VDR geni vücudun vitamin D'ye uygun yanıt vermesini sağlayan ve bir nükleer hormon reseptörü olan vitamin D reseptörünü kodlayan ve kromozom 12q13.11'de lokalize olan büyük bir gendir. VDR geni 11 ekzon içermekte olup yaklaşık 75 kb uzunluğundadır. VDR geninin kodlama yapmayan 5' ucunda 1A, 1B ve 1C ekzonları yer alırken bu genin transkripsiyon ürünü 2-9 olmak üzere sekiz tane ekzon tarafından kodlanmaktadır. Ekzon 2 ve 3 DNA'ya bağlanma ile ilişkili iken ekzon 7, 8 ve 9 ise vitamin D'ye bağlanma ile ilişkilidir (435). VDR genindeki mutasyonlar sonucunda kemiklerde zayıflık, kas güçsüzlüğü ve alopesi gibi klinik özellikler ile karakterize vitamin D bağımlı rikets tip 2 ya da herediter vitamin D dirençli rikets olarak adlandırılan ve nadir görülen bir monogenik hastalık ortaya çıkmaktadır. VDR genindeki polimorfizmler ise mutasyonlara göre daha sık görülmekte olup bu zamana kadar VDR geninde 470'ten fazla tek nükleotid polimorfizmi gösterilmiştir. VDR polimorfizmlerinin varlığı hakkındaki bilgiler, gendeki sınırlı alanların analizleri sonucu elde edilmiştir (436). VDR genindeki polimorfizmler restriction fragment length polymorphisms (RFLP) yöntemi ile tespit edilebilmektedir. RFLP'lerin tespit edilmesi yönteminde belli bir DNA dizisini tanıyabilen ve tanıdığı yerden keserek spesifik kısa sekansların oluşmasını sağlayan restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılmaktadır. Bu süreç sonucunda oluşan DNA parçaları agaroz jel elektroforezi ile uzunluklarına göre ayrıştırıldıktan sonra Southern blot tekniği ile bir membrana aktarılır. Bu membranın işaretlenmiş DNA probu ile hibridizasyonu sonucunda da probun tamamlayıcısı olan fragmanların uzunluğu tespit edilir. Bir RFLP, tespit edilebilen fragman uzunlukları bireyler arasında değişkenlik gösterdiğinde ortaya çıkmaktadır. Her bir fragman uzunluğu bir allel olarak kabul edilir ve genetik analizlerde kullanılabilir. VDR polimorfizmleri ile çeşitli hastalıklar ve kanserler arasındaki ilişkileri değerlendiren çalışmalarda özellikle bazı polimorfizmler üzerinde odaklanılmıştır. Bunlar ekzon 2'de bulunan FokI polimorfizmi, intron 8'de bulunan BsmI, ApaI ve Tru9I polimorfizmleri, ekzon 1'de bulunan Cdx2 polimorfizmi, ekzon 9'de bulunan TaqI polimorfizmi ve 3'UTR (untranslated region) bölgesinde bulunan poliA mononükleotid tekrarları olarak sıralanabilir (Şekil 2.3) (437). FokI polimorfizmi VDR geninin 5'UTR kısmına yakın iken diğer polimorfizmler ise VDR geninin 3'UTR kısmında yer almaktadır. Bu bölgedeki polimorfizmlerde bağlantı dengesizlikleri bulunmakta, birbirlerine bağlı

aktarımları zayıf olduğundan bu polimorfizmler için allel frekansları toplumlar arasında farklılıklar göstermektedir. VDR genindeki polimorfizmlerin çoğu kodlanan bölgelerden daha çok düzenleyici bölgelerde yer almaktadır.



Şekil 2.3. VDR gen polimorfizmleri

FokI polimorfizmi başlangıç kodonu olan ATG (Adenin-Timin-Guanin) kodonundaki T (timin)→C (sitozin) değişikliği ile ilişkilendirilmiştir ve bu nedenle başlangıç kodonu polimorfizmi olarak da adlandırılmaktadır. Başlangıç kodonu ATG iken *FokI* restriksiyon enzimi ile kesim olur ve 427 aa (aminoasit) içeren bir protein sentezlenir. Başlangıç kodonunda T→C değişimi olduğunda ise alternatif bir başlangıç bölgesi kullanılarak 424 aa içeren ve 427 aa uzunluğundaki proteine göre fonksiyonel olarak daha aktif olan bir protein sentezlenir. TaqI polimorfizmi ekzon 9'da ATT nükleotidinin ATC nükleotidi ile yer değiştirmesi ile ilişkili olup bu değişiklik sonucunda kodon 252'de eş anlamlı bir değişiklik oluşur. BsmI ve ApaI polimorfizmleri ise sessiz tek nükleotid polimorfizmleri olarak bilinmelerine rağmen amino asit kodlayan sekanslarda değişikliğe yol açmadan mRNA kararlılığının düzenlenmesi üzerinden gen ekspresyonunu etkileyebilirler. Cdx2 polimorfizmi VDR geninin promotor bölgesinde Cdx2 adı verilen bir spesifik intestinal transkripsiyon faktörünün bağlandığı bölgede G→A değişikliği ile ilişkilidir. Bu değişiklik vitamin D'nin barsaklardan kalsiyum emilimi üzerine etkili olmaktadır. (436, 437).

Bu zamana kadar osteoartrit, diyabet, kanser, tüberküloz, viral enfeksiyonlar, kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok hastalıkta VDR polimorfizmleri tanımlanmıştır. Vitamin D ve VDR'nin immün sistem üzerindeki etkileri de göz önüne alındığında VDR genindeki varyasyonların otoimmün hastalıklar için bir risk faktörü olabileceği ve hastalık aktivitesini ve şiddetini arttırabileceği öne sürülmüştür. Bu zamana kadar romatoid artrit, psoriasis, sistemik lupus eritematozus, Behçet hastalığı, vitiligo, atopik dermatit ve sistemik skleroderma gibi hastalıklarda VDR'nin bazı polimorfizmleri ile olan ilişkiler gösterilmiştir (12-14, 438). Ancak literatürde daha önce morfea hastalarında VDR polimorfizmini ve serum vitamin D düzeyleri ilişkisini konu alan bir çalışma ise bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı Türk popülasyonunda çeşitli otoimmün hastalıklarda üzerinde durulan ve sık çalışılan polimorfizmlerden olan VDR ApaI ve TaqI gen polimorfizmleri ile morfeaya duyarlılık arasındaki ilişkiyi değerlendirmek ve tespit edilebilen polimorfizmlerin hastalığın klinik alt tiplerine, şiddetine, tedaviye yanıtına ve serum vitamin D düzeyleri üzerine etkisinin olup olmadığını incelemektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi

Bu çalışma Ekim 2016 ile Mart 2017 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışma prospektif kontrollü çalışma olarak tasarlanmıştır. Çalışmaya morfea tanısı ile takip edilen veya yeni tanı almış olan toplam 41 hasta ile özgeçmişinde ve soygeçmişinde morfea ve sistemik skleroderması olmayan Hacettepe Üniversite Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'na morfea dışında bir nedenle başvuran veya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde çalışan toplam 48 gönüllü dahil edilmiştir. Kontrol grubuna seçilen bireyler yaş ve cinsiyet özellikleri açısından morfea grubundaki bireyler ile uyumlu olacak şekilde seçilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerden sözlü ve yazılı olarak onam alınmıştır. Erişkin katılımcılar için yazılı olarak genetik araştırmalarda aydınlatılmış onam formu alınırken (Ek-3 ve Ek-4) çocuk katılımcılar için ek olarak çocuk rıza formu (Ek-5 ve Ek-6) ve veli onam formu alınmıştır (Ek-7 ve Ek-8).

Çalışmaya dahil olma kriterleri

1. Morfea tanısının histopatolojik olarak doğrulanmış olması
2. Çocuk hastaların 7 yaş ve üzeri, erişkin hastaların 18 yaş ve üzeri olması
3. Hastanın çalışmaya dahil olmayı kabul etmesi ve erişkin hastaların genetik araştırmalarda aydınlatılmış onam formunu çocuk hastaların çocuk rıza onam formunu, çocuk hastaların velilerinin genetik araştırmalarda aydınlatılmış onam formu ve veli onam formunu okuyup imzalamaları

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

1. Gebe olmak
2. Emziriyor olmak
3. Eşlik eden malignensi varlığı veya malignensi hikayesi
4. Kontrol grubunda özgeçmiş ve/veya soygeçmişinde morfea varlığı

3.2. Hasta Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen morfea hastalarının ad, soyad, dosya numarası, yaş, cinsiyet, Fitzpatrick deri fototipi, hastalık süresi, hastalık öncesinde tetikleyici bir durumu olup olmadığı, aile hikayesi varlığı, hastalıktan etkilenen vücut alanları, morfea alt tipi, kullandığı tedaviler, tedavi yanıtı, hastalıklarının şu andaki aktivite durumu, son 1 ay içerisinde D vitamini desteği alma hikayesi ve destek alma hikayesi varsa aldıkları total doz, güneş koruyucu kullanımları, kendisinde ve ailesinde otoimmün hastalık olup olmadığı ve eşlik eden hastalıklar ve ilaç kullanımları sorgulanarak hasta takip formuna kaydedildi. Tedavi yanıtı herhangi bir tedavi seçeneğini (topikal tedavi, sistemik tedavi, fototerapi) en az 3 ay süre ile almış olanlarda başlangıçtaki belirtilerin azalması durumunun olup olmaması (renkte solma, sertlikte azalma, boyutta küçülme gibi) hastalara sorularak subjektif olarak değerlendirildi. Minimal azalma varsa ya da değişiklik yoksa ‘tedaviye yanıt yok’ olarak değerlendirildi. Hastalığın aktivite durumunun belirlenmesinde son 3 ay içerisinde yeni lezyon çıkışı, daha önce var olan lezyonlarında genişleme, lezyon veya sınırında viyolase renk değişikliği, lezyon sınırında endurasyon artışı durumları sorularak değerlendirildi.

3.3. Kan Örneklerinin Alınması

Hasta ve kontrol gruplarında yer alan katılımcılardan genetik çalışma için 2 adet 3ml’lik EDTA içeren tüplere ve serum 25(OH)D düzeyinin ölçümü için 1 adet 3 ml’lik EDTA içeren tüpe tam kan örnekleri alındı. Alınan tam kan örnekleri çalışılincaya kadar -20 °C’de saklandı.

Gereçler

3.3.1. Kullanılan Kimyasal Bileşikler

Tris HCl (AppliChem)

Borik asit (AppliChem)

Etidyum Brom (Sigma)

Etanol (Riedel-de Haen)

EDTA (SERVA)

Bromfenol mavisi (Sigma)
Agarose high resolution (Sigma)
NuSieve Agarose (Prona)
Taq DNA Polimeraz (Sigma)
Primerler (Macrogen)
ApaI restriksiyon enzimi (NEB)
TaqI restriksiyon enzimi (NEB)
Deoksinükleotid set (Sigma)
DNA marker (Sigma)
Loading buffer (Sigma)
Aqueous gliserol solüsyonu (Sigma)

3.3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektroforez güç kaynağı (Consort EV 265)
Spektrofotometre (UV-1700 UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu)
Vorteks (IKA®)
PCR cihazı (i Cycler) (BIO-RAD)
ELISA mikroplak okuyucu (Sunrise TECAN)
Elektroforez Tankı (Owl)
Mikrosantrifüj (Hettich mikro 22)
UV translüminatör (Herolab)
pH metre (Consort C830)
Buzdolabı (Arçelik)
-80 °C derin dondurucu
Buz makinası (Fiocchetti AF100)
Distile su cihazı (Barnstead nanopure infinity)
Hassas terazi (Shangping FA1104N)
Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Torrey Pines Scientific)

3.4. Kullanılan Yöntemler

3.4.1. Tam Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, 3 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan hasta ve kontrol tam kan örneklerinde Thermo Fischer marka DNA izolasyon kiti kullanılarak basamaklara uygun şekilde gerçekleştirildi.

EDTA'lı tam kandan 200 µl alınarak proteinlerin uzaklaştırılması için 20 µl proteinaz K eklendi. Hücre zarlarının parçalanması için 400 µl lizis solüsyonu eklenerek vorteks ile karıştırıldı ve 56 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Lizatta bulunan DNA'yı bir araya getirmek için DNA yapısındaki fosfat grupları ile güçlü bir bağ oluşturan 200 µl etanol (%96) eklendi ve 15 saniye vorteks ile karıştırıldı. Hazırlanan örnekler GeneJET Genomik DNA pürifikasyon kolonlarına aktarılarak 6000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi. Genomik DNA'ların kolona özgül olarak bağlanması ve kontaminantların kolona bağlanmadan uzaklaştırılması sağlandı. Oluşan filtrat atılarak kolonlar başka bir tüpe aktarıldı. Proteinleri denatüre etmek için kolona, 500 µl etanol eklenmiş Wash Buffer I eklendi ve 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi. Kolonlar tekrar başka tüpe aktarılarak kolondaki tuzun uzaklaştırılması için 500 µl etanol eklenmiş Wash Buffer II eklendi ve 20000 x g'de 3 dakika santrifüj edildi. Saflaşan DNA'yı kolondan indirmek için kolonlara 200 µl elüsyon tamponu (10 mM TrisCl, 0,5 mM EDTA, pH 9.0) eklenerek oda sıcaklığında (15-25 °C) 2 dakika inkübe edildi. Daha sonra 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edilerek DNA izolasyonu tamamlandı. İzole edilen genomik DNA'lar, çalışılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.4.2. DNA Saflığı ve Miktar Tayini

İzole edilen genomik DNA'ların saflığı ve miktar tayini spektrofotometrik ölçümle değerlendirildi. Nükleik asit bazlarının 260 nm'de, fenilalanin, triptofan ve tirozin amino asitlerinin 280 nm'de maksimum absorbanı vermesi esasına dayanan bu ölçümde A260/A280 oranı kullanılır. Saf DNA yaklaşık 1,8 değerini vermelidir. 1,8 üzeri değerler RNA kontaminasyonunu, 1,8 altındaki değerler protein kontaminasyonunu gösterir. 5µl DNA 1/500 oranında dilue edildi. Kör tüpüne 500 µl distile su kondu. Spektrofotometrede 260 ve 280 nm'de absorbanları ölçülerek A260/A280 oranına bakıldı. Örnekteki DNA miktarı, 260 nm'de 50 µl DNA'nın 1 optik dansite vermesinden yararlanılarak hesaplandı.

3.4.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, genomik DNA'daki dizisi bilinen herhangi bir bölgenin çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan in vitro DNA sentez yöntemidir. Çalışmamızda kromozom 12q13.11'de lokalize olan 75 kb uzunluğundaki VDR geninin intron 8-ekzon 9 bölgelerinin çoğaltılmasında PCR yöntemi uygulanmıştır.

Primerler

ApaI ve TaqI polimorfizmleri için primerler tasarlandı ve uygunluğu primer blast programı (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) kullanılarak test edildi. PCR yönteminde kullanılan primerlerin tümü BM Laboratuvar Sistemleri Şirketi tarafından sentezlendi. Primer dizileri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. VDR polimorfizm çalışmaları için tasarlanan primer dizileri

Polimorfizm	Primer dizisi
ApaI -TaqI	F5'-CAG AGC ATG GAC AGG GAG CAA3'
	R5'-GCA ACT CCT CAT GGC TGA GGT CTC3'

ApaI ve TaqI Polimorfizmleri

Hasta ve kontrol örneklerinden izole edilen genomik DNA örneklerinde polimorfizm içeren 740 baz çiftlik bölge toplam 50 µL hacimde çalışılarak PCR ile çoğaltıldı. PCR tepkime ortamı Tablo 3.2'de ve PCR yöntemi için seçilen sıcaklık döngüleri Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. ApaI ve TaqI polimorfizmleri için PCR tepkime ortamı

Malzemeler	Stok derişim	Son derişim
PCR tamponu	10 X	1 X
dNTP	10 mM	0,1 mM
Forward primer	10 mM	0,1 mM
Reverse primer	10 mM	0,1 mM
Taq polimeraz	5 U/µL	1 U
MgCl ₂	25	3 mM
DNA örneği	-	400ng

Tablo 3.3. PCR yöntemi için sıcaklık döngüleri

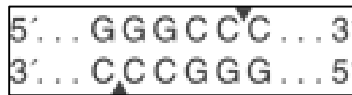
Protokol	Döngü sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)
1	1	94	5
2	40	94	1
		64	1
		72	1
3	1	72	1
4	-	4	∞

3.4.4. Restriksiyon Enzim Analizleri

Restriksiyon enzimi veya restriksiyon endonükleazı çift zincirli DNA moleküllerinde belirli nükleotid dizilerini tanıyan ve her iki zinciri birlikte kesen bir enzim türüdür.

ApaI Restriksiyon Enzim Analizi

ApaI polimorfizmi sessiz tek nükleotid polimorfizmi olarak bilinmektedir. Ancak amino asit kodlayan sekanslarda değişikliğe yol açmadan mRNA kararlılığının düzenlenmesi üzerinden gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir. *ApaI* restriksiyon enziminin kesim bölgesi Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *ApaI* restriksiyon enziminin kesim bölgesi

PCR ile çoğaltılan 740 baz çiftlik DNA bölgesi için *ApaI* restriksiyon enzimi kullanılarak uygun tepkime ortamı sağlandı ve kesim yapıldı. Tepkime ortamının özellikleri Tablo 3.4’te gösterilmiştir. Etidyum bromür ile boyanan %3’lük NuSieve agaroz jel elektroforezinde DNA kesim ürünleri gözlemlendi. Kesim sonucunda normal bireylerde (AA) 740 baz çiftlik tek bant, tek allelinde değişim olan heterozigot bireylerde (Aa) 740, 515 ve 225 baz çiftlik 3 bant ve her iki allelinde değişim olan homozigot bireylerde (aa) 515 ve 225 baz çiftlik 2 bant izlendi. Toplam hacim 20 µL olacak şekilde hazırlanan tepkime ortamı 24 °C’de tüm gece inkübasyona bırakıldı.

Tablo 3.4. *ApaI* restriksiyon enzimi için hazırlanan tepkime ortamı

Malzemeler	Miktar (µL)
Distile su	5
PCR ürünü	12
Tampon	2
Enzim (<i>ApaI</i>)	1 (2 ünite)

***TaqI* Restriksiyon Enzim Analizi**

TaqI polimorfizmi ekzon 9'da ATT nükleotidinin ATC nükleotidi ile yer değiştirmesi ile ilişkili olup bu değişiklik sonucunda kodon 252'de eş anlamlı bir değişiklik oluşur. *TaqI* restriksiyon enziminin kesim bölgesi Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

**Şekil 3.2.** *TaqI* restriksiyon enziminin kesim bölgesi

PCR ile çoğaltılan 740 baz çiftlik DNA bölgesi için *TaqI* restriksiyon enzimi kullanılarak uygun tepkime ortamı sağlandı ve kesim yapıldı. Tepkime ortamının özellikleri Tablo 3.5'te gösterilmiştir. Etidyum bromür ile boyanan %3'lük NuSieve agaroz jel elektroforezinde DNA kesim ürünleri gözlemlendi. Kesim sonucunda normal bireylerde (TT) 495 ve 245 baz çiftlik 2 bant, tek allelinde değişim olan heterozigot bireylerde (Tt) 495, 290, 245 ve 205 baz çiftlik 4 bant ve her iki allelinde değişim olan homozigot bireylerde (tt) 290, 245, ve 205 baz çiftlik 3 bant izlendi. Toplam hacim 20 µL olacak şekilde hazırlanan tepkime ortamı 65 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

Tablo 3.5. *TaqI* restriksiyon enzimi için hazırlanan tepkime ortamı

Malzemeler	Miktar (µL)
Distile su	5
PCR ürünü	12
Tampon	2
Enzim (<i>TaqI</i>)	1 (2 ünite)

3.4.5. Agaroz Jel Elektrofrez

Hasta ve kontrollerin VDR gen polimorfizmlerini içeren PCR ürünleri amplifikasyon ve kontaminasyon açısından ve restriksiyon kesim ürünleri homozigotluk, heterozigotluk ve polimorfizm taşımama açısından %1,5'lik agaroz jel elektrofrezine uygulanarak değerlendirildi. 1 x TBE (120 g Tris, 60 g Borat, 40 ml 0,5 M EDTA) tamponu içinde %1,5'lik agaroz jel hazırlandı. 1µg/ml etidyum bromür eklendi ve homojen dağılması için karıştırıldı. 8 x 8 cm² boyutlarındaki elektrofrez plağına hava kabarcığı olmayacak şekilde döküldü. Oda sıcaklığında 45 dk jelin polimerize olması için beklendi. 8 µl PCR ürününden alındı ve 2 µl yükleme tamponu (bromofenol blue 2,5 mg/ml) eklendi. 10 x 20 cm² boyutlarındaki elektrofrez tankı 1xTBE tamponu ile dolduruldu. Hazırlanan örnekler jeldeki çukurlara uygulandı. Oda sıcaklığında 100 V'da bromfenol mavisi jelde yeterli seviyeye gelinceye kadar elektrofrez uygulandı. Elektrofrez plağından çıkarılan jeldeki bantlar UV transilluminatör ile gözlemlendi.

3.4.6. NuSieve Agaroz Jel Elektrofrez

Küçük baz çiftlik DNA bantlarının daha iyi ayrılabilmesi için % 3'lük NuSieve agaroz jel elektrofrez yapıldı. 1xTBE tamponu içinde % 3'lük NuSieve agaroz jel hazırlandı. Agaroz jel elektrofrezinde anlatıldığı şekilde elektrofrez yöntemi uygulandı.

3.4.7. Vitamin D Düzeyi Ölçümü

Serum 25(OH)D düzeyleri sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi ile ölçüldü. Serum 25(OH)D düzeyleri <10 µ/L ise ciddi eksiklik; 10-24 µ/L ise orta derecede eksiklik ve 25-80 µ/L ise optimum olarak kabul edildi.

3.5. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler IBM SPSS for Windows Version 22.0 paket programında yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ve median (minimum-maksimum); kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile gösterildi. Hasta ve kontrol grubunun yaş bakımından farklı olup olmadığı bağımsız gruplarda t testi

ile verildi. Kategorik değişkenler arasında ilişki olup olmadığı ki kare testi veya Fisher kesin test ile incelendi. Vitamin D düzeyinin hasta ve kontrol grupları arasında farklı olup olmadığı Mann Whitney U testi ile belirlendi. Genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliğine uyup uymadığı ki kare testi ile incelendi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

3.6. Etik Kurul Onayı

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 25 Ekim 2016 tarihinde GO 16/619-01 karar numarası ile etik kurul onayı alındı (Ek-9).

4. BULGULAR

Bu çalışma Ekim 2016 ile Mart 2017 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'nda yürütülmüş olan prospektif kontrollü bir çalışma olup çalışmaya morfea tanısı ile takip edilen veya yeni tanı almış olan ve tanısı histopatolojik olarak doğrulanmış olan 41 hasta ile 48 kontrol dahil edilmiştir.

4.1. Demografik ve Klinik Özellikler

Hastaların 37'si kadın (%90,2), 4'ü erkekti (%9,8). Kontrol grubunun ise 44'ü kadın (%91,7) ve 4'ü erkekti (%8,3). Kadın hastaların erkek hastalara oranı 9,2 idi. Yaş ortalaması hasta grubunda $38,68 \pm 17,54$ yıl (9-66 yıl) ve kontrol grubunda $38,85 \pm 17,00$ (7-70 yıl) idi. 18 yaşın altında olan 7 hasta ve 7 kontrol bulunmaktaydı. 18 yaş altındaki hastaların ortalama yaşı $12,5 \pm 2,66$ yıl (9-16 yıl) iken bu değerler kontrol grubunda $12,57 \pm 2,99$ idi (7-16 yıl). Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet ve yaş ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktaydı. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı

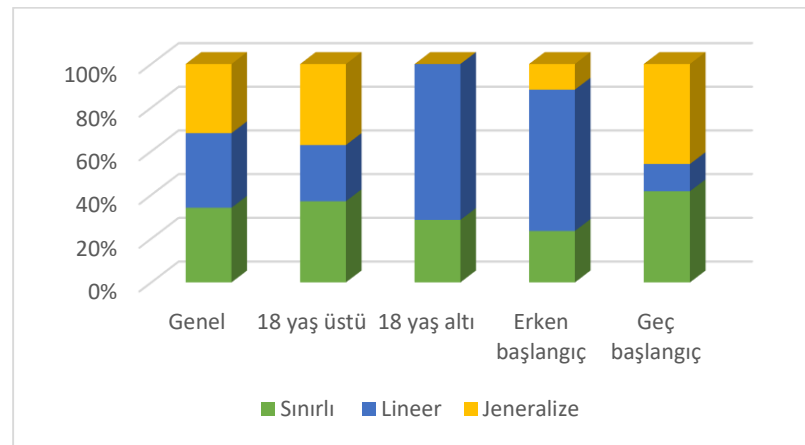
		Morfea (N=41)		Kontrol (N=48)	
		N	%	N	%
Cinsiyet	Kadın	37	90,2	44	91,7
	Erkek	4	9,8	4	8,3
Yaş ortalaması (yıl)		$38,68 \pm 17,54$		$38,85 \pm 17,00$	

Hastalığın ortalama başlangıç yaşı $30,85 \pm 18,68$ yıl idi (6-64 yıl). Ortalama hastalık süresi 8 yıl olup bu süre 4 ay ile 35 yıl arasında değişmekteydi. Hastalık süresi hastaların % 4,9'unda (N=2) ≤ 1 yıl; %53,7'sinde (N=22) 1-5 yıl; %22'sinde (N=9) 5-10 yıl; %12,2'sinde (N=5) 10-20 yıl ve %7,3'ünde (N=3) 20 yıldan uzundu. Hastaların %41,5'inde (N=17) hastalık başlangıç yaşı 18 yaşın altında iken (erken-pediyatrik başlangıç) %58,5'inde (N=24) ≥ 18 yaşta (geç-erişkin başlangıç). Erken

başlangıçlı hastalığı olanlarda ortalama başlangıç yaşı $10,53 \pm 3,10$ yıl (6-16 yıl) iken erişkin başlangıçlı hastalığı olanlarda bu değer $45,25 \pm 8,87$ yıl (29-64 yıl) idi.

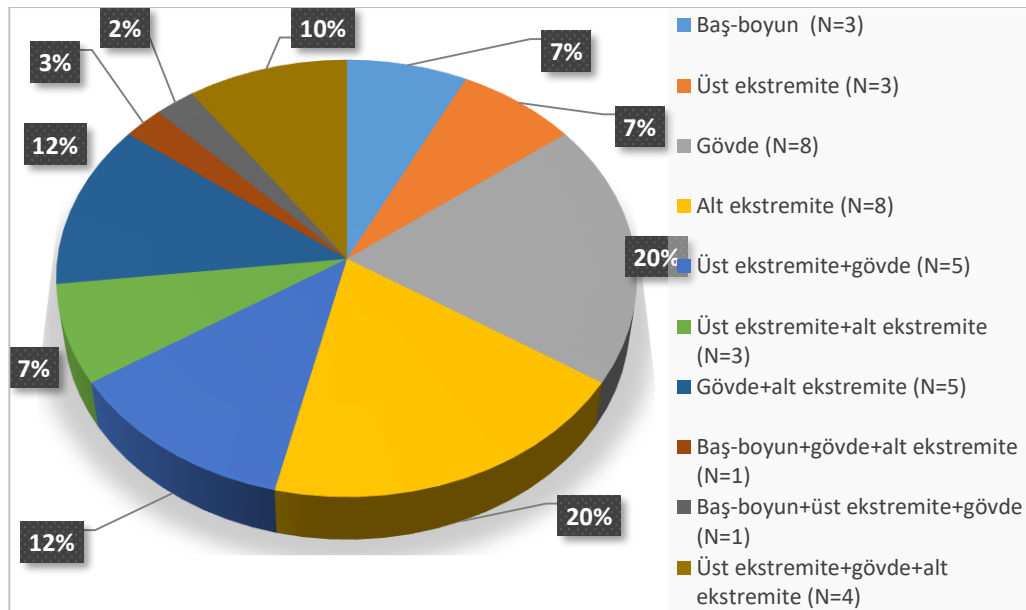
Morfea lezyonları ortaya çıkmadan önce 1 tanesi yanık hikayesi ve 3 tanesi düşme hikayesi olmak üzere toplam 4 hastada fiziksel bir travma hikayesi ve 1 hastada enjeksiyon yapılma hikayesi mevcuttu. Bu durumda lezyon oluşumundan önce tetikleyici olabileceği düşünülen çevresel bir faktör varlığı hastaların %12,2'sinde (N=5) bulunmaktaydı. Hastaların hiçbirinde lezyon oluşumu öncesi radyoterapi alma ve daha önce tetikleyici olduğu bildirilmiş olan ilaç kullanma hikayesi (bisoprolol, bleomisin, peplomisin, D-penisilamin, bromokriptin, karbidopa+-hidroksitriptofan, pentazosin, balicatib gibi) yoktu.

Morfea alt tiplerine göre değerlendirme yapıldığında hastaların %34,1'inde (N=14) sınırlı morfea, %34,1'inde (N=14) lineer morfea ve %31,7'sinde (N=13) jeneralize morfea varyantı bulunmaktaydı. Pansklerotik ve mikst morfeası olan hasta yoktu. On sekiz yaş altındaki hastaların %71,4'ünde (N=5) lineer morfea ve %28,6'sında (N=2) sınırlı morfea mevcut iken 18 yaş ve üzerindekiilerin %37,1'inde (N=13) sınırlı morfea, %25,7'sinde (N=9) lineer morfea ve ve %37,1'inde (N=13) jeneralize morfea mevcuttu. Erken başlangıçlı hastalığı olanlarda en sık gözlenen morfea alt tipi %64,7 (N=11) ile lineer morfea olup bu grubun %23,5'inde (N=4) sınırlı morfea ve %11,7'sinde (N=2) jeneralize morfea mevcuttu. Geç başlangıçlı morfeası olanların ise %41,6'sında (N=10) sınırlı morfea, %12,5'inde (N=3) lineer morfea ve %45,8'inde (N=11) jeneralize morfea mevcuttu. Morfea alt tiplerinin dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Morfea alt tiplerinin dağılımı

Morfea lezyonlarının en sık anatomik tutulum bölgesi aynı anda birden fazla anatomik bölge tutulumu dikkate alınmadan değerlendirildiğinde %58,5 (N=24) ile gövde idi. Alt ekstremitte tutulumu %51,2 (N=21), üst ekstremitte tutulumu %39 (N=16) ve baş-boyun bölgesi tutulumu ise %12,2 (N=5) idi. Sadece baş-boyun tutulumu olan 3 hasta (%7,3) sadece üst ekstremitte tutulumu olan 3 hasta (%7,3), sadece gövde tutulumu olan 8 hasta (%19,5) ve sadece alt ekstremitte tutulumu olan 8 hasta (%19,5) mevcuttu. En sık kombinasyon gösteren vücut dağılımları ise üst ekstremitte-gövde (%12,2, N=5), gövde-alt ekstremitte (%12,2, N=5) ve üst ekstremitte-gövde-alt ekstremitte (%9,7, N=4) tutulumları şeklinde idi. Lezyonların anatomik dağılımları Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Lineer morfeası olanlarda en sık tutulum yeri ekstremiteler olup %28,5’inde (N=4) sadece alt ekstremitte, %21,4’ünde (N=3) sadece üst ekstremitte, %21,4’ünde (N=3) sadece baş-boyun bölgesi tutulumu mevcuttu. Lineer morfeası olan hastaların (N=14) 2’sinde üst ekstremitte, alt ekstremitte ve gövde tutulumu birlikte iken, 1 hastada baş-boyun, gövde ve alt ekstremitte tutulumu ve 1 hastada üst ekstremitte ve alt ekstremitte tutulumu mevcuttu. Sınırlı morfeası olan hastaların %57,1’inde (N=8) gövde tutulumu ve %35,7’sinde (N=5) alt ekstremitte tutulumu mevcuttu. Hem gövde hem alt ekstremitte tutulumu birlikte olan 1 hasta vardı. Bu grupta baş-boyun ve üst ekstremitte yerleşimli lezyonu olan yoktu.



Şekil 4.2. Lezyonların anatomik dağılımları

Ailesinde morfea hikayesi olan 1 hasta mevcuttu. Bu hastanın kız kardeşinde morfea bulunmaktaydı.

Hastaların %12,2'sinde (N=5) eşlik eden en az bir tane otoimmün ve otoinflamatuvar hastalık bulunmaktaydı. Hashimato tiroiditi olan 3 hasta ve vitiligosu olan 2 hasta vardı. Bu hastalardan bir tanesinde Hashimato tiroiditi ve vitiligoya eşlik eden Sjögren sendromu ve primer biliyer siroz öyküsü bulunmaktaydı. Bir hastada ise psoriasis ve psoriatik artrit mevcuttu. Birinci ve ikinci derece akrabalarda otoimmün ve otoinflamatuvar hastalık varlığı açısından yapılan sorgulamada ile hasta grubunun %17'sinde (N=7) ve kontrol grubunun %22,9'unda (N=11) bir otoimmün veya otoinflamatuvar hastalık tespit edildi. İki grup arasında bu değerler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0,675$). Hasta grubunun birinci ve ikinci derece akrabalarında en sık görülen otoimmün hastalık vitiligo idi (N=4). Diğer gözlenen otoimmün hastalıklar ailevi Akdeniz ateşi (N=2), Hashimato tiroiditi (N=1) ve psoriastisi (N=1). Kontrol grubunun aile bireylerinde mevcut olan otoimmün hastalıklar ise psoriasis (N=5), Hashimato tiroiditi (N=3), vitiligo (N=2) ve romatoid artrit (N=2).

Eşlik eden diğer sistemik hastalıklar ve klinik durumlara bakıldığında hastaların 6'sında (%14,6) hipertansiyon, 4'ünde (%9,7) Hashimato tiroiditi olmadan hipotiroidi, 2'sinde (%4,9) kardiyovasküler hastalık, 2'sinde (%4,9) hiperlipidemi, 2'sinde (%4,9) astım, 2'sinde (%4,9) glokom, 2'sinde (%4,9) yaygın anksiyete bozukluğu, 1'inde (%2,4) gastrit, 1'inde (%2,4) gastroözefageal reflü hastalığı ve 1'inde (%2,4) migren bulunmaktaydı.

Hastaların %85,4'ü (N=35) topikal tedavi, %41,5'i (N=17) sistemik tedavi ve %9,7'si (N=4) fototerapi almıştı. Hastaların %4,9'u (N=2) ise herhangi bir tedavi almamıştı. Topikal tedaviler içerisinde en sık kullanılan ajanlar kalsipotriyol+betametazon dipropiyonat kombinasyonu, klobetazol 17-propiyonat merhem ile kalsipotriyol pomadın birlikte kullanımı ve klobetazol 17-propiyonat merhem idi. En sık alınan sistemik tedaviler ise metotreksat, metoreksat ve sistemik kortikosteroid kombinasyonu ve kolşisindi. D-penisilamin alan hasta yoktu. En sık alınan fototerapi şekli ise dbUVB fototerapisiydi. Hastaların almış oldukları tedaviler Tablo 4.2'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Hastaların aldıkları tedaviler

Tedaviler	N (%)
Sistemik tedavi	17 (%41,5)
Metotreksat	10 (%43,5)
Metoreksat+sistemik kortikosteroid	4 (%17,4)
Kolşisin	4 (%17,4)
Sistemik kortikosteroid	1 (%4,3)
Mikofenolat mofetil	2 (%8,7)
Kalsitriyol	1 (%4,3)
Hidroksiklorokin	1 (%4,3)
Toplam	23 (%100)
Topikal tedavi	35 (%85,4)
Kalsipotriyol+Betametazon dipropiyonat pomat	10 (%26,3)
Kalsipotriyol pomat ve klobetazol 17-propiyonat merhem	6 (%15,8)
Klobetazol 17-propiyonat merhem	5 (%13,1)
Kalsipotriyol pomat ve diğer topikal kortikosteroid	2 (%5,3)
Kalsipotriyol pomat	2 (%5,3)
Takrolimus pomat	2 (%5,3)
Diğer	1 (%5,3)
Bilinmeyen	10 (%2,6)
Toplam	38 (%100)
Fototerapi	4 (%9,7)
dbUVB	2 (%50)
UVA1	1 (%25)
Bilinmeyen	1 (%25)
Toplam	4 (%100)

Herhangi bir tedaviyi en az 3 ay süre ile almış olan 34 hasta vardı. Bu süre sonunda başlangıçtaki belirtilerinde azalma olan ve tedaviye yanıt vermiş olarak kabul edilen hasta sayısı ise 28'di (%82,4). Tedaviye yanıt vermeyen 6 hastanın 3'ü sınırlı morfea, 2'si jeneralize morfea ve 1'i lineer morfeaya sahipti. Hastaların almış oldukları tedavilere yanıtları incelendiğinde topikal tedavi alanların %80,6'sının, sistemik tedavi alanların %57,9'unun, fototerapi alanların ise %75'inin tedaviye yanıt vermiş olduğu izlendi. Sistemik tedaviler içerisinde metoreksat tedavisi alanlarda bu oran %69,2 idi.

Hastalığın aktivite durumu değerlendirildiğinde hastaların %90,2'sinde (N=37) hastalık stabil iken %9,8'inde (N=4) progresifti. Progresif hastalığı olanların 2'si jeneralize diğer 2'si ise lineer morefeaya sahipti.

Hasta ve kontrol gruplarının çalışmaya dahil edildiği mevsimlere bakıldığında hastaların %68,3'ü (N=28) sonbahar, %31,7'si (N=13) kış mevsiminde değerlendirilirken kontrol grubunun tamamı (N=48) kış mevsiminde değerlendirildi.

Hasta ve kontrol gruplarının Fitzpatrick deri fototiplerinin dağılımına bakıldığında hastaların %31,7'sinin (N=13) deri fototipi I ve II; %68,3'ünün (N=28) deri fototipi III ve IV'tü. Kontrol grubunda ise bu değerler sırası ile %31,3 (N=15) ve %68,8 (N=33) idi. Her iki grupta da deri fototipi V ve VI olan yoktu. Her iki grup arasında deri fototipleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktaydı ($p=0,433$). Hasta ve kontrol gruplarının deri fototiplerinin dağılımları Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Morfea ve kontrol gruplarının Fitzpatrick deri fototiplerinin dağılımı

Deri fototipi	Morfea (N=41) sayı ve yüzde (%)	Kontrol (N=48) sayı ve yüzde (%)
Tip I	2 (%4,9)	1 (%2,1)
Tip II	11 (%26,8)	14 (%29,2)
Tip III	18 (%43,9)	15 (%31,3)
Tip IV	10 (%24,4)	18 (%37,5)

SPF +30 güneş koruyucu kullanımlarına yönelik yapılan sorgulama sonucunda hastaların %70,7'si (N=29) ve kontrollerin %64,6'sı (N=31) hiç güneş koruyucu kullanmazken hastaların %4,9'u (N=2) ve kontrollerin %6,3'ü (N=3) her

zaman güneş koruyucu kullanmaktaydı. Her iki grup arasında bu açıdan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktaydı ($p=0,714$). Morfea ve kontrol gruplarının güneş koruyucu kullanım sıklıkları Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Morfea ve kontrol gruplarının güneş koruyucu kullanım sıklıkları

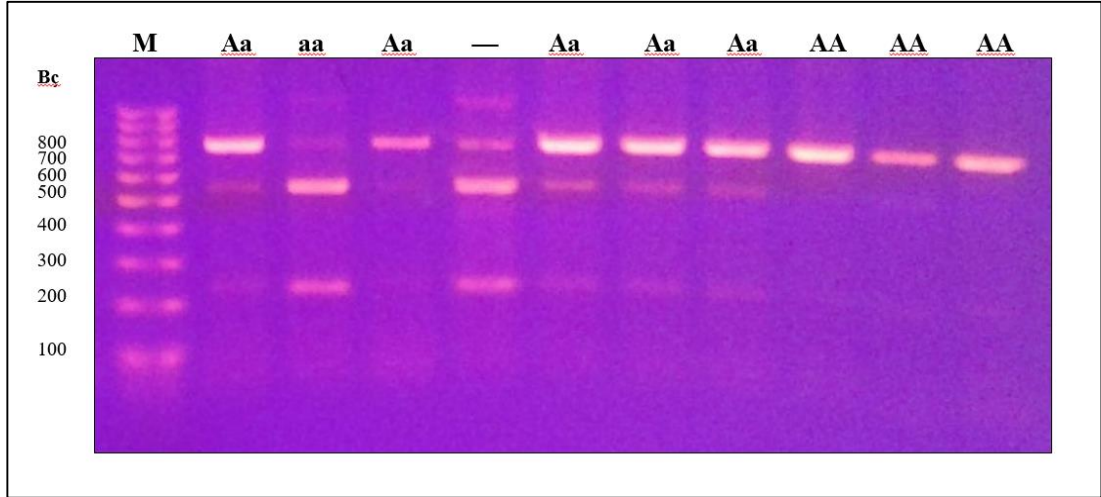
Güneş koruyucu kullanım sıklığı	Morfea (N=41) sayı ve yüzde (%)	Kontrol (N=48) sayı ve yüzde (%)
Her zaman	2 (%4,9)	3 (%6,3)
Sıklıkla	7 (%17,1)	7 (%14,6)
Nadiren	3 (%7,3)	7 (%14,6)
Hiçbir zaman	29 (%70,7)	31 (%64,6)

Hastaların serum 25(OH)D düzeyini etkileyebilme özelliği olan ilaçları kullanıp kullanmadıklarına yönelik yapılan sorgulamada sadece 1 hastada sistemik kortikosteroid kullanımı olduğu; fenitoin, fenobarbital, ketokonazol, rifampisin, izoniazid ve antiretroviral ilaç kullanan hiçbir hastanın olmadığı gözlemlendi. Hastaların sistemik hastalıklarına yönelik aldıkları tedavilere bakıldığında tiroid hormonu replasmanı alan 6 hasta, oral antidiyabetik alan 2 hasta, insülin hormonu replasmanı alan 1 hasta, antihipertansif alan 4 hasta, antihiperlipidemik alan 2 hasta, SSRI (selektif serotonin geri alım inhibitörü) grubu antidepresan kullanan 2 hasta, amitriptilin kullanan 1 hasta, proton pompa inhibitörü kullanan 3 hasta, ursodeoksikolik asit kullanan 1 hasta, hidroksiklorokin kullanan 1 hasta, asetil salisilik asit kullanan 1 hasta ve flunarizin kullanan 1 hasta bulunmaktaydı.

4.2. VDR Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi

4.2.1. ApaI Gen Polimorfizmi

ApaI restriksiyon enzimi ile yapılan kesim sonucunda normal bireylerde (AA) 740 baz çiftlik tek bant, tek allelinde değişim olan heterozigot bireylerde (Aa) 740, 515 ve 225 baz çiftlik 3 bant ve her iki allelinde değişim olan homozigot bireylerde (aa) 515 ve 225 baz çiftlik 2 bant izlendi (Şekil 4.3).



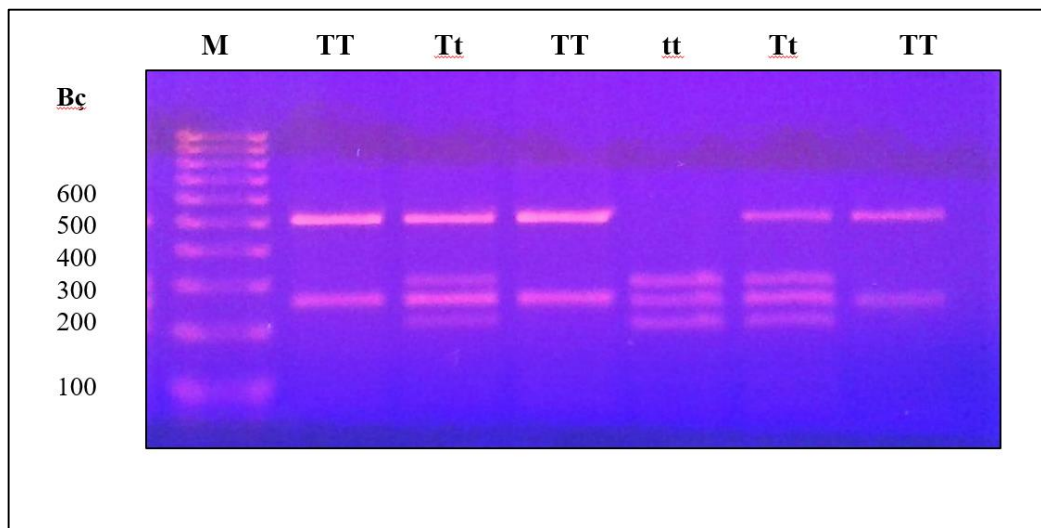
Şekil 4.3. ApaI polimorfizmi *ApaI* restriksiyon enzim analizi

AA: polimorfizm taşımayan (tek bant); Aa heterozigot (3 bant); aa homozigot (2 bant)

bç: baz çifti; M: DNA belirteci

4.2.2. TaqI Gen Polimorfizmi

TaqI restriksiyon enzimi ile yapılan kesim sonucunda normal bireylerde (TT) 495 ve 245 baz çiftlik 2 bant, tek allelinde değişim olan heterozigot bireylerde (Tt) 495, 290, 245, ve 205 baz çiftlik 4 bant ve her iki allelinde değişim olan homozigot bireylerde (tt) 290, 245, ve 205 baz çiftlik 3 bant izlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. TaqI polimorfizmi *TaqI* restriksiyon enzim analizi

*TT: polimorfizm taşımayan (2 bant); Tt heterozigot (4 bant); tt homozigot (3 bant)
bç: baz çifti; M: DNA belirteci*

4.3. VDR Gen Polimorfizmleri ve Genetik Dağılımları

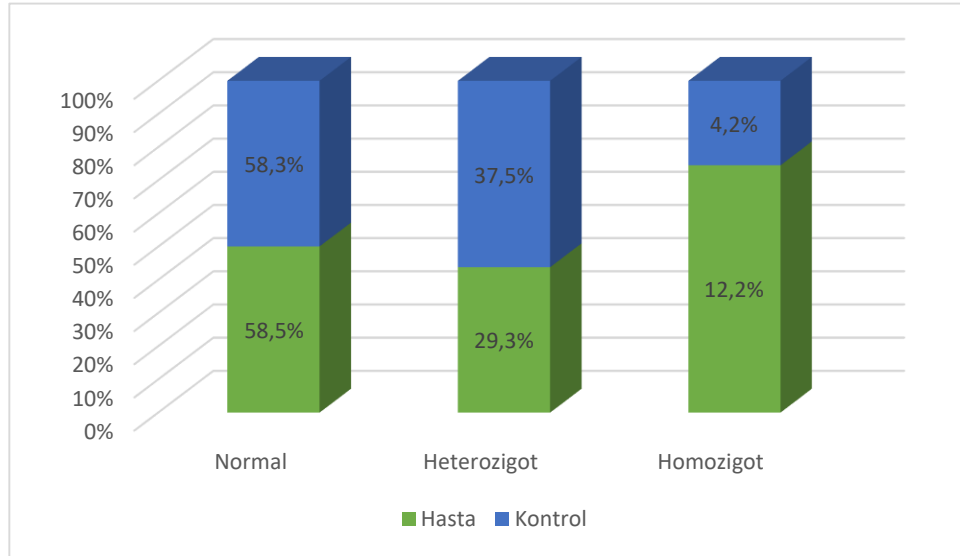
Bu çalışmada hasta ve kontrol grupları arasında ApaI ve TaqI gen polimorfizmleri ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Her iki grupta da her iki polimorfizm için normal genotip en sık gözlenen genotipti. Allel frekansları değerlendirildiğinde her iki grupta da A ve T allelleri en sık bulunan allellerdi. Morfea ve kontrol gruplarındaki VDR ApaI ve TaqI gen polimorfizmlerinin dağılımları Tablo 4.5'te; her iki gruptaki allel frekansları Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Şekil 4.3'de ApaI polimorfizmi genotip dağılımları ve Şekil 4.4'de TaqI gen polimorfizmi genotip dağılımları görülmektedir.

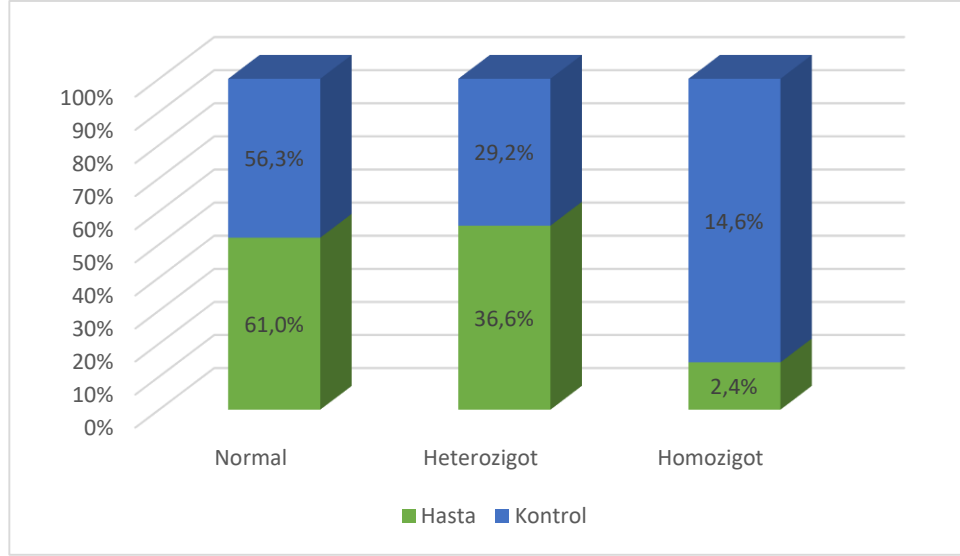
Tablo 4.5. Morfea ve kontrol gruplarındaki ApaI ve TaqI gen polimorfizmlerinin dağılımı

			Morfea	Kontrol	<i>p</i> değeri
Apa I polimorfizmi	Normal (AA)	N	24	28	0,318
		%	%58,5	%58,3	
	Heterozigot (Aa)	N	12	18	
		%	%29,3	%37,5	
	Homozigot (aa)	N	5	2	
		%	%12,2	%4,2	
Taq I polimorfizmi	Normal (TT)	N	25	27	0,099
		%	%61	%56,3	
	Heterozigot (Tt)	N	15	14	
		%	%36,6	%29,2	
	Homozigot (tt)	N	1	7	
		%	%2,4	%14,6	

Tablo 4.6. Morfea ve kontrol gruplarındaki allel frekanslarının dağılımı

	Allel		Morfea	Kontrol	<i>p</i> değeri
Apa I polimorfizmi	A	N	60	72	0,668
		%	%73,2	%77,1	
	a	N	22	22	
		%	%26,8	%22,9	
Toplam	N	82	96		
	%	%100	%100		
Taq I polimorfizmi	T	N	65	68	0,264
		%	%79,3	%70,8	
	t	N	17	28	
		%	%20,7	%29,2	
Toplam	N	82	96		
	%	%100	100		

**Şekil 4.5.** ApaI polimorfizmi genotip dağılımları



Şekil 4.6. TaqI polimorfizmi genotip dağılımları

VDR polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarındaki Hardy-Weinberg dengesi incelendiğinde bu eşitliğin ApaI ve TaqI polimorfizmleri için her iki grupta da bozulmuş olduğu görüldü. ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin Hardy-Weinberg dengesinin morfea ve hasta grubundaki incelemeleri Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin Hardy-Weinberg dengesinin morfea ve kontrol gruplarındaki incelemeleri

Polimorfizm	Morfea	Kontrol
	<i>p</i> değeri	
ApaI polimorfizmi	0,001	0,000
TaqI polimorfizmi	0,000	0,002

Morfea alt tipi ile VDR polimorfizmleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ApaI polimorfizmi için sınırlı morfeası ve lineer morfeası olanlarda en sık görülen genotip normal genotip iken, jeneralize morfeası olanlarda en sık görülen genotip heterozigot genotipti. TaqI polimorfizmi açısından bakıldığında her üç alt tipte de en sık gözlenen normal genotipti. Hastalık alt tipi ile polimorfizmlerin varlığı ve sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi. Morfea alt tipi ve ApaI ve TaqI polimorfizmleri arasındaki ilişki Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’da gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Morfea alt tipleri ve ApaI polimorfizmi arasındaki ilişki

Alt tip	ApaI polimorfizmi					
	Normal		Heterozigot		Homozigot	
	N	%	N	%	N	%
Sınırlı	9	%64,3	4	%28,6	1	%7,1
Lineer	10	%71,4	2	%14,3	2	%14,3
Jeneralize	5	%38,5	6	%46,2	2	%15,4
p değeri	0,539					

Tablo 4.9. Morfea alt tipleri ve TaqI polimorfizmi arasındaki ilişki

Alt tip	TaqI polimorfizmi					
	Normal		Heterozigot		Homozigot	
	N	%	N	%	N	%
Sınırlı	11	%78,6	3	%21,4	0	%0,0
Lineer	7	%50	6	%42,9	1	%7,1
Jeneralize	7	%53,8	6	%46,2	0	%0,0
p değeri	0,321					

Hastalığın başlangıç yaşı göz önüne alınarak yapılan incelemede erken başlangıçlı hastalığı olanlar ile geç başlangıçlı hastalığı olanlar arasında polimorfizm sıklıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Başlangıç yaşına göre ApaI ve TaqI polimorfizminin değerlendirilmesi Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Başlangıç yaşına göre ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin değerlendirilmesi

Polimorfizm		Erken başlangıç		Geç başlangıç		p değeri
		N	%	N	%	
ApaI	Normal	12	%70,6	12	%50	0,352
	Heterozigot	4	%23,5	8	%33,3	
	Homozigot	1	%5,9	4	%16,7	
TaqI	Normal	10	%58,8	15	%62,5	0,407
	Heterozigot	6	%35,3	9	%37,5	
	Homozigot	1	%5,9	0	%0,0	

Tedaviye yanıt veren hastalarla vermeyen hastalar arasındaki polimorfizmler karşılaştırıldığında her iki grupta da ApaI ve TaqI polimorfizmleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (sırası ile p değerleri 0,435; 0,530). Her iki grupta da en sık izlenen genotip normal genotipti.

Hastalığın aktivite durumu ile polimorfizmler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ApaI polimorfizmi açısından stabil ve progresif hastalığa sahip olanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0,442$). Bu değerlendirme TaqI polimorfizmi açısından yapıldığında ise progresif hastalığa sahip olan hastaların hepsinin genotipinin heterozigot olduğu ve iki grup arasındaki TaqI genotip dağılımlarının istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ($p=0,012$). Aktivite durumu ve polimorfizmler arasındaki ilişki Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Hastalığın aktivite durumu ve polimorfizmler arasındaki ilişki

Polimorfizm		Stabil		Progresif		p değeri
		N	%	N	%	
ApaI	Normal	22	%59,5	2	%50	0,442
	Heterozigot	10	%27	2	%50	
	Homozigot	5	%13,5	0	%0,0	
TaqI	Normal	25	%67,6	0	%0,0	0,012
	Heterozigot	11	%29,7	4	%100	
	Homozigot	1	%2,7	0	%0,0	

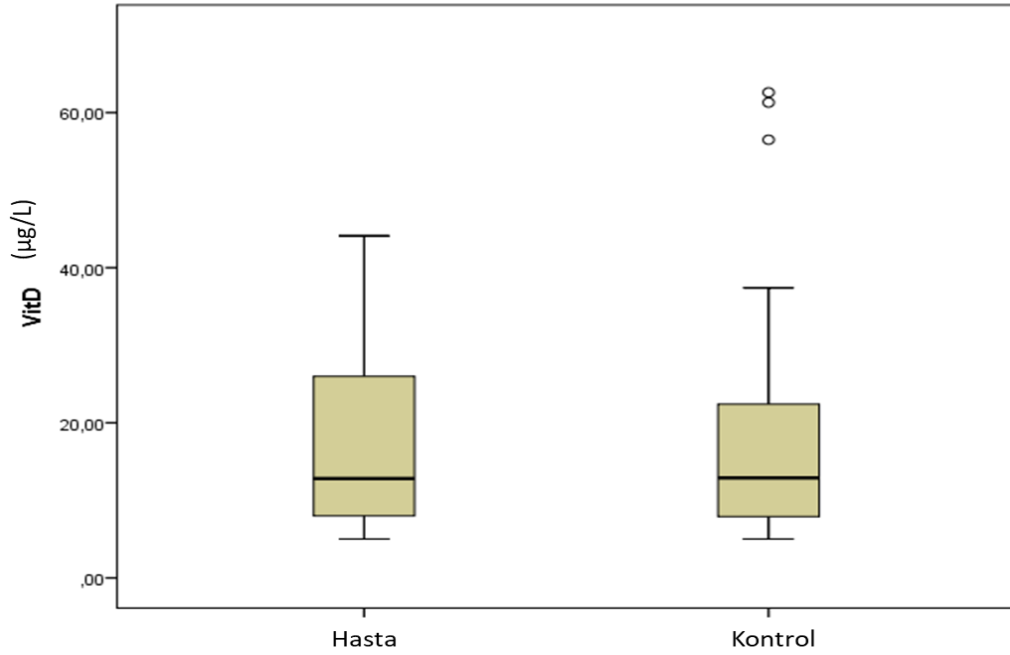
Kendisinde eşlik eden herhangi bir otoimmün veya otoinflamatuar hastalığı olanlar ile olmayanlar arasında ApaI ve TaqI polimorfizmleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (sırasıyla p değerleri 0,465; 0,449). Ailesinde birinci ve ikinci derece akrabalarının herhangi birinde otoimmün veya otoinflamatuar hastalık hikayesi olan bireylerde de hem morfea hem kontrol grubunda benzer şekilde her iki polimorfizm için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktaydı.

4.4. Serum Vitamin D Düzeyleri

Serum vitamin D değerleri incelendiğinde ortalama serum 25(OH)D düzeyi morfea grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olmakla beraber iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Morfea grubunda ortalama serum 25(OH)D düzeyi $16,98 \pm 11,55$ $\mu\text{g/L}$ iken kontrol grubunda bu değer $18,02 \pm 14,30$ $\mu\text{g/L}$ idi. Katılımcıların tamamında ortalama serum 25(OH)D düzeyi ise $17,54 \pm 13,04$ $\mu\text{g/L}$ idi. Vitamin D düzeyleri gruplandırılarak yapılan değerlendirmede ise her iki grupta en sık orta derecede eksiklik izlenmekteydi. Orta ve ciddi derecede vitamin D eksikliği olanlar morfea grubunun %72,2'sini (N=30) oluştururken bu oran kontrol grubunda %79,2 (N=38) idi. Morfea ve kontrol gruplarının serum 25(OH)D düzeyleri ve dağılımları Tablo 4.12 ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.12. Morfea ve kontrol gruplarında serum 25(OH)D değerleri

Vitamin D	Morfea		Kontrol		p değeri
	N	%	N	%	
Optimum (25-80 $\mu\text{g/L}$)	11	%26,8	10	%20,8	0,668
Orta derecede eksiklik (10-24 $\mu\text{g/L}$)	18	%43,9	20	%41,7	
Ciddi eksiklik (<10 $\mu\text{g/L}$)	12	%28,3	18	%37,5	
Ortalama serum düzeyi ($\mu\text{g/L}$)	16,98 \pm 11,55		18,02 \pm 14,30		1,0



Şekil 4.7. Hasta ve kontrol gruplarında serum 25(OH)D'nin dağılımı

Cinsiyete göre D vitamini düzeylerine bakıldığında kadın katılımcıların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $17,01 \pm 12,10$ $\mu\text{g/L}$ ve erkek katılımcıların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $22,93 \pm 20,69$ $\mu\text{g/L}$ idi. Cinsiyet açısından morfea ve kontrol gruplarına ayrı ayrı bakıldığında morfea grubundaki kadınların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $16,35 \pm 11,00$ $\mu\text{g/L}$ ve kontrol grubundaki kadınların ortalama serum 25(OH)D düzeyi ise $17,56 \pm 13,06$ $\mu\text{g/L}$ idi. Morfea grubundaki erkeklerin ortalama serum 25(OH)D düzeyi $22,8 \pm 16,55$ $\mu\text{g/L}$ ve kontrol grubundaki erkeklerin ortalama serum 25(OH)D düzeyi ise $23,02 \pm 20,69$ $\mu\text{g/L}$ idi. Erkek katılımcı sayısının az olması nedeni ile bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı hesaplanamadı.

Hasta grubunun serum 25(OH)D düzeyleri mevsimlere göre değerlendirildiğinde sonbahar döneminde değerlendirilen hastaların ortalama serum 25(OH)D düzeyleri $17,01 \pm 11,79$ $\mu\text{g/L}$ iken kış döneminde değerlendirilen hastalarda bu değer $16,93 \pm 11,46$ $\mu\text{g/L}$ idi. Bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0,648$).

Son 1 ay içerisinde D vitamini desteği alan 7 hasta ve 8 kontrol vardı. Morfea grubunda alınan ortalama destek dozu 144,000 IU iken kontrol grubunda bu değer

222,347 IU idi. Destek alan morfea grubunun ortalama serum 25(OH)D düzeyi $26,91 \pm 10,54 \mu\text{g/L}$ ve kontrol grubunun ortalama serum 25(OH)D düzeyi $39,42 \pm 19,03 \mu\text{g/L}$ idi. Bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0,189$). Destek almayan morfea grubunun ortalama serum 25(OH)D değeri $14,94 \pm 10,78 \mu\text{g/L}$ ve kontrol grubunda bu değer $13,74 \pm 8,30 \mu\text{g/L}$ idi. Bu değerler arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0,862$). Morfea ve kontrol grubunda destek alanlar ile almayanların D vitamini düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (morfea grubunda $p=0,05$; kontrol grubunda $p=0,000$).

Morfea alt tipleri ve erken ya da geç başlangıçlı hastalık varlığı ile serum 25(OH)D düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (sırasıyla p değerleri=0,546; 0,770). Yine benzer şekilde kendisinde eşlik eden herhangi bir otoimmün veya otoinflamatuvar hastalık bulunanlarda bulunmayanlara göre serum 25(OH)D düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p=0,234$).

Morfea ve kontrol gruplarında Fitzpatrick deri fototipleri ve güneş koruyucu kullanımları ile serum 25(OH)D düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek üzere yapılan hesaplamalarda her iki grup için de bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Serum 25(OH)D düzeyleri ile Fitzpatrick deri fototipi arasındaki ilişki Tablo 4.13'te; serum 25(OH)D düzeyleri ile güneş koruyucu kullanımları arasındaki ilişki Tablo 4.14'te gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Serum 25(OH)D düzeyleri ile Fitzpatrick deri fototipi arasındaki ilişki

Deri fototipi	Morfea Serum 25(OH) düzeyi						Kontrol Serum 25(OH) düzeyi					
	Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik		Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Tip I-II	2	15,4	7	53,8	4	30,8	3	20	9	60	3	20
Tip III	6	33,3	8	44,4	4	22,2	3	20	6	40	6	40
Tip IV	3	30	3	30	4	40	4	22,2	5	27,8	9	50
<i>p</i> değeri	0,663						0,376					

Tablo 4.14. Serum 25(OH)D düzeyleri ile güneş koruyucu kullanımları arasındaki ilişki

Güneş koruyucu kullanımı	Morfea Serum 25(OH) düzeyi						Kontrol Serum 25(OH) düzeyi					
	Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik		Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Her zaman-sıklıkla	2	22,2	4	44,4	3	33,3	5	50	3	30	2	20
Nadiren-hiç	9	28,1	14	43,8	9	28,1	5	13,2	17	44,7	16	42,1
<i>p</i> değeri	0,923						0,055					

VDR polimorfizmleri ile serum 25(OH)D düzeyleri karşılaştırıldığında morfea grubunda ApaI polimorfizmi için homozigot olan bireylerin hiçbirinde ciddi eksiklik saptanmadı. Optimum düzeye sahip olanların oranı bu grupta %40 olup normal ve heterozigot genotipe sahip bireylerdeki optimum düzeye sahip olanların yüzdesinden daha fazla idi. Kontrol grubunda ise ApaI polimorfizmi için homozigot olan bireylerde optimum D vitamini düzeyine sahip olan birey bulunmamakta idi. Ancak morfea ve kontrol grubunda hem ApaI hem de TaqI polimorfizmleri ile serum 25(OH)D düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Morfea ve kontrol gruplarının vitamin D aralıkları ile ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin ilişkisi sırası ile Tablo 4.15 ve Tablo 4.16’da gösterilmiştir.

Tablo 4.15. Serum 25(OH)D düzeyleri ile ApaI polimorfizminin ilişkisi

ApaI polimorfizmi	Morfea Serum 25(OH) düzeyi						Kontrol Serum 25(OH) düzeyi					
	Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik		Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Normal	6	25	8	33,3	10	41,7	4	14,3	11	39,3	13	46,4
Heterozigot	3	25	7	58,3	2	16,7	6	33,3	8	44,4	4	22,2
Homozigot	2	40	3	60	0	0,0	0	0,0	1	50	1	50
<i>p</i> değeri	0,160						0,323					

Tablo 4.16. Serum 25(OH)D düzeyleri ile TaqI polimorfizminin ilişkisi

TaqI polimorfizmi	Morfea Serum 25(OH) düzeyi						Kontrol Serum 25(OH) düzeyi					
	Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik		Optimum		Orta derecede eksiklik		Ciddi eksiklik	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Normal	7	28	10	40	8	32	8	29,6	9	33,3	10	37
Heterozigot	4	26,7	7	46,7	4	26,7	1	7,1	7	50	6	42,9
Homozigot	0	0,0	1	100	0	0,0	1	14,3	4	57,1	2	28,6
p değeri	0,759						0,397					

5.TARTIŞMA

Deri ve deri altı dokuları etkileyen ve fibrozisle karakterize olan morfea, klinik özellikleri iyi tanımlanmış ancak epidemiyolojik verilerin sınırlı olduğu bir hastalıktır. Morfea ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda morfeanın kadınlarda erkeklere göre 2,4 ile 4,2 kat daha sık görüldüğü bildirilmiştir (4, 17). Çalışmamızda kadın erkek oranı 9,2 olarak tespit edilmiştir. Bu oranın literatürde belirtilen oranlardan daha yüksek olmasının nedeni çalışmamızın toplum bazlı bir çalışma olmaması ve sadece morfea şikayeti nedeni ile polikliniğimize başvuranların çalışmaya dahil edilmiş olması olabilir.

Morfea her yaştaki bireyleri etkileyebilmekle beraber erişkin hastalarda 40-50 yaş arasında ortaya çıktığı belirtilmektedir (5, 15). İki yüz otuz dört erişkin hastanın değerlendirildiği bir çalışmada hastalığın ortalama başlangıç yaşı 44,8 yıl olarak bulunmuştur (18). Pediatrik başlangıçlı morfeası olan hastaların çoğunluğunda ise başlangıç yaşı 2-14 yaş arasında değişmektedir (5). Pediatrik başlangıçlı morfea ile ilgili olarak Zulian ve arkadaşlarının (17) 750 çocuk hastayı değerlendirdiği epidemiyolojik çalışmada ortalama başlangıç yaşı 7,3 yıl, Christen-Zaek ve arkadaşlarının (16) çalışmasında 8,2 yıl ve Condie ve arkadaşlarının (18) kesitsel çalışmasında ise 10,8 yıl olarak bulunmuştur. Çalışmamızda erişkin başlangıçlı hastalığı olanlarda ortalama başlangıç yaşı $45,25 \pm 8,87$ yıl iken pediatrik başlangıçlı hastalığı olanlarda bu değer $10,53 \pm 3,10$ yıl olarak hesaplanmıştır. Bu değerler literatürdeki bilgiler ile benzerlik göstermektedir.

Morfeanın etyopatogenezinde tetikleyici olabileceği düşünülen çevresel faktörler arasında travma, radyasyon, ilaçlar ve aşılama yer almaktadır. Zulian ve arkadaşlarının (17) çalışmasında hastaların yaklaşık %10'unda travma, böcek ısırığı ve aşılama hikayesi gibi lokal mekanik bir faktör mevcut iken başka bir çalışmada travma hikayesi %13,2 olarak bildirilmiştir (16). Grabell ve arkadaşlarının (27) morfea lezyonlarının dağılımında travmanın rolünü inceleyen çalışmasında ise hastaların %16'sında bir travma hikayesi olduğu rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise bu oran %12,2 olarak bulunmuş olup literatürdeki sonuçlar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Çalışmamıza dahil edilen hasta grubunda lezyon oluşumundan önce tetikleyici olduğu bilinen diğer faktörlerden olan ilaç kullanım hikayesi ve radyoterapi alma hikayesi ise mevcut değildir.

Morfeanın alt tiplerine göre dağılımına bakıldığında erişkin hastalarda sınırlı morfeanın çocuk hastalarda ise lineer morfeanın en sık görülen alt tipler olduğu belirtilmektedir (5). Ancak sıklık oranları çalışmalara göre değişkenlik göstermektedir. Marzano ve arkadaşlarının (173) çalışmasında hem erişkin hem de çocuk hastalarda en sık görülen alt tip sırasıyla %65,4 ve % 48,4 oranları ile sınırlı morfea olarak belirtilmiştir. Lineer morfea erişkin hastaların %6,1'inde, çocuk hastaların ise %17,4'ünde gözlenmiştir. Bir başka çalışmada da benzer şekilde hem erişkinlerde hem de çocuklarda en sık görülen alt tipin sınırlı morfea olduğu belirtilirken lineer morfea sıklığı erişkin hastalarda %4,3; çocuk hastalarda %29,6 olarak rapor edilmiştir (439). Kreuter ve arkadaşlarının (440) çalışmasında ise 381 erişkin hastanın %60'ında sınırlı morfea, %7'sinde lineer morfea ve %27,3'ünde jeneralize morfea gözlenirken 91 çocuk hastadaki bu değerler sınırlı morfea için %22, lineer morfea için %70 ve jeneralize morfea için %7,7 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise 123 erişkin hastanın %43,9'unda sınırlı morfea, %9,8'inde lineer morfea ve %23,6'sında jeneralize morfea saptanmıştır. Çocuk hastaların ise %27,9'unda sınırlı morfea, %41,8'inde lineer morfea ve %6,6'sında jeneralize morfea tespit edilmiştir (15). Sadece çocuk hastaların değerlendirildiği iki retrospektif çalışmada 883 çocuk hastanın %63'ünde lineer morfea, %25,2'sinde sınırlı morfea ve %7,1'inde jeneralize morfea izlenmiştir (16, 17). Çalışmamızda morfea alt tiplerine göre değerlendirme yapıldığında tüm hastaların %34,1'inde (N=14) sınırlı morfea, %34,1'inde (N=14) lineer morfea ve %31,7'sinde (N=13) jeneralize morfea varyantı bulunmaktaydı. Çocuk hastalarımızın %71,4'ünde (N=5) lineer morfea ve %28,6'sında (N=2) sınırlı morfea mevcut iken erişkin hastalarımızın %37,1'inde (N=13) sınırlı morfea, %25,7'sinde (N=9) lineer morfea ve ve %37,1'inde (N=13) jeneralize morfea mevcuttu. Çocuk hastalarda erişkin hastalara göre lineer morfea varyantının daha sık görülmesi literatürdeki bilgiler ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Yine çalışmamızda çocuk hastalarda en sık görülen morfea alt tipi lineer morfea olarak gözlemlenmiştir. Bu bilgi çalışmalar arasında değişkenlik göstermekte birlikte geniş hasta serilerinin yer aldığı çok merkezli çalışmaların verileri ile uyumlu gözükmemektedir (17, 440). Literatürden farklı olarak hastalarımızın genelinde ve erişkin hastalarda jeneralize morfea daha sık görülmektedir. Bu durum çalışmamızın epidemiyolojik bir çalışma olmaması,

kliniğimizin üçüncü basamak bir merkez olması ve yaygın hastalığı nedeni ile tedavi almak üzere başvurmuş hastaların varlığı ile açıklanabilir.

Morfeanın başlangıç yaşına göre alt tiplerinin dağılımına bakıldığında 302 hastanın dahil edildiği bir çalışmada pediatrik başlangıçlı morfeası olanlarda en sık görülen alt tip lineer morfea iken (%81), erişkin başlangıçlı hastalığı olanlarda en sık görülen alt tip jeneralize morfea (%47) olarak rapor edilmiştir (18). Başka bir çalışmada ise pediatrik başlangıçlı hastalığı olanlarda %56 oranı ile en sık lineer morfea izlenirken erişkin başlangıçlı hastalığı olanlarda %50 oranı ile en sık sınırlı morfea izlenmiştir (441). Bu çalışmalardan elde edilen ortak bilgi pediatrik başlangıçlı hastalığı olanlarda en sık alt tipin lineer morfea olduğudur. Bizim çalışmamızda pediatrik başlangıçlı hastalığı olanlarda en sık gözlenen morfea alt tipi %64,7 (N=11) ile lineer morfea olup bu grubun %23,5'inde (N=4) sınırlı morfea ve %11,7'sinde (N=2) jeneralize morfea izlenmiştir. Erişkin başlangıçlı morfeası olanların ise %45,8'inde (N=11) jeneralize morfea, %41,6'sında (N=10) sınırlı morfea ve %12,5'inde (N=3) lineer morfea tespit edilmiştir. Bu bilgiler literatür ile uyumlu gözükmektedir.

Lezyonların yerleşim yerlerine göre dağılımlarına bakıldığında 73 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada hastaların %49,8'inde ekstremitte (alt ekstremitte %32; üst ekstremitte %17,8), %32'sinde gövde ve %11'inde baş-boyun bölgesi tutulumu olduğu bildirilmiştir (439). Başka bir çalışmada ise 43 hastanın %37,2'sinde gövde, %32,6'sında baş-boyun ve %30,2'sinde ekstremitte yerleşimi olduğu rapor edilmiştir (302). Bizim çalışmamızda ise en sık anatomik tutulum bölgesi aynı anda birden fazla anatomik bölge tutulumu dikkate alınmadan değerlendirildiğinde %58,5 (N=24) ile gövdedir. Alt ekstremitte tutulumu %51,2 (N=21), üst ekstremitte tutulumu %39 (N=16) ve baş-boyun tutulumu ise %12,2 (N=5) olarak tespit edilmiştir. Hastaların %26,8'inde sadece ekstremitte tutulumu, %19,5'inde sadece gövde tutulumu ve %7,3'ünde sadece baş-boyun bölgesi tutulumu mevcuttur. Morfea lezyonlarının anatomik dağılımları ile ilgili bilgiler literatürdeki çalışmaların birbirleri arasında ve bizim çalışmamızın verileri ile farklılıklar göstermektedir. Bu durum çalışmaya dahil edilen hasta sayılarının farklılıkları, bu verilerin edinildiği çalışmaların epidemiyolojik çalışmalar olmayışı gibi nedenler ile ilişkili olabilir. Bir çalışmada morfea alt tiplerine göre yerleşim yerlerinin dağılımı ile ilgili olarak sınırlı morfeanın

en sık gövde (%47,8) ve daha sonra ekstremitelerde (%30,4) yerleştiği; lineer morfeanın ise en sık baş-boyun bölgesi (%52,9) ve ikinci sıklıkta ekstremitelerde (%29,4) yerleştiği bildirilmiştir (302). Başka bir çalışmada ise sınırlı morfeası olanlarda en sık yerleşim yeri gövde iken lineer morfeası olanlarda ekstremiteler ve baş-boyun bölgesi eşit oranlarda etkilenmiştir (16). Bizim çalışmamızda lineer morfeası olanlarda en sık tutulum yeri ekstremiteler olup %28,5'inde sadece alt ekstremiteler, %21,4'ünde sadece üst ekstremiteler, %21,4'ünde sadece baş-boyun bölgesi tutulumu mevcuttur. Sınırlı morfeası olan hastalarda ise en sık yerleşim yerleri %57,1 ile gövde ve %35,7 ile alt ekstremitelerdir.

Otoimmünite morfeanın etyopatogenezinde yer aldığı düşünülen faktörlerden biri olup bu zamana kadar vitiligo, Hashimoto tiroiditi, alopesi areata, sistemik lupus eritematozus, primer biliyer siroz, otoimmün hepatit gibi otoimmün hastalıkların eşlik ettiği çeşitli morfea olguları bildirilmiştir (102-106, 108). Morfealı hastalarda otoimmün hastalık prevalansını değerlendiren bir çalışmada olguların kendilerinde ve birinci, ikinci ve üçüncü derece akrabalarında pernisyöz anemi, tirotoksikoz, hipotiroidi, alopesi areata ve vitiligoyu içeren otoimmün hastalıklardan en az birinin birlikte görülme sıklığı sırasıyla kendilerinde %16 ve akrabalarında %40 olarak değerlendirilmiş olup kontrol grubuna göre bu değerler anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (111). Başka bir çalışmada ise 245 hastanın %17,6'sında psoriasis, alopesi areata, inflamatuvar barsak hastalığı, tip 1 DM, otoimmün tiroidit, Meniere hastalığı, Çölyak hastalığı ve multiple skleroz gibi otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıkları ve SLE, spondiloartropati, romatoid artrit, Sjögren sendromu, anti-fosfolipid antikor sendromu, Still hastalığı ve mikst konnektif doku hastalığı gibi romatolojik hastalıkları içeren ek bir hastalık varlığı bildirilmiştir. Bu çalışmada olguların %16,3'ünün birinci ve ikinci derece akrabalarında da otoimmün ve romatolojik hastalık olduğu belirtilmiştir (15). Zulian ve arkadaşlarının (17) 750 çocuk hastayı değerlendirildiği epidemiyolojik çalışmasında ise olguların %12,1'inin birinci ve ikinci derece akrabalarında bir otoimmün hastalık olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise vitiligo, psoriasis, alopesi areata, juvenil dermatomyozit, juvenil romatoid artrit ve Crohn hastalığının eşlik ettiği kişisel otoimmün ve otoinflamatuvar hastalık varlığı %9,6 olarak bildirilirken olguların birinci derece akrabalarında benzer hastalıkların yanı sıra tip 1 DM, Çölyak hastalığı, tiroidit ve

SLE'nin de eşlik ettiği bir hastalık varlığı %8,8 olarak bildirilmiştir (16). Bizim çalışmamızda ise literatürdeki çalışmalara benzer şekilde hastaların %12,2'sinde en az bir tane Hashimoto tiroiditi, vitiligo, Sjögren sendromu, biliyer sirozu içeren bir otoimmün hastalık ve psoriasis, psoriatik artrit olmak üzere bir otoinflamatuvar hastalık bulunmaktadır. Hem bizim çalışmamızda hem de literatürdeki çalışmalarda mevcut olan benzer sonuçlar ile morfeanın çeşitli otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklar ile birlikte görüldüğünü söylemek mümkündür. Ancak eşlik eden hastalıkların çeşitliliği ve hasta sayılarının yetersiz olması nedeni ile en sık eşlik eden otoimmün ve/veya otoinflamatuvar hastalığın ne olduğunu ve bu durumun patogenezdekini yerini belirlemek mümkün olmamaktadır. Çalışmamızda hastaların birinci ve ikinci derece akrabalarının %17'sinin vitiligo, ailevi Akdeniz ateşi, Hashimoto tiroiditi ve psoriasisin yer aldığı otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklarından birine sahip olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunun birinci ve ikinci derece akrabalarında morfea grubunun akrabalarındakilere benzer hastalıkların yer aldığı otoimmün ve otoinflamatuvar hastalık varlığı %22,9 olarak bulunmuştur. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında morfea hastalarının aile bireyleri arasındaki otoimmün hastalık sıklıklarının farklılık gösterdiği ve bu değerlendirmelerin genellikle kontrol grupları ile karşılaştırılmadığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda ailevi otoimmün ve otoinflamatuvar hastalık varlığı açısından her iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmaması ve eşlik eden ailevi otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıkların vitiligo, psoriasis, Hashimoto tiroiditi gibi toplum genelinde de sık görülen hastalıklar olması nedeni ile morfea ile ailevi otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklar arasında ilişki olup olmadığını söylemek mümkün olamamaktadır.

Morfea tedavisinde hastalığın aktivite durumuna ve alt tipine göre uygulanacak tedaviler farklılıklar göstermektedir. Genel olarak sınırlı morfeası olan hastalarda çok güçlü topikal kortikosteroidler, topikal kalsitpotriyol ve topikal takrolimus ilk seçenek tedavi olarak önerilmektedir. Eklem kontaktörü olmayan jeneralize morfealı olgularda ve topikal tedaviye yanıt alınamayan sınırlı morfeası olanlarda tek başına fototerapi veya topikal tedaviler ile kombine şekilde fototerapi önerilmektedir. Yüz tutulumu olan, eklemleri etkileyen morfeası olanlarda ve diğer tedavilere yanıt alınmayan olgularda ise metotreksat monoterapisi veya metotreksat ile sistemik kortikosteroid kombinasyonu önerilmektedir. Bizim çalışmamızda

hastaların %85,4'ü (N=35) topikal tedavi, %41,5'i (N=17) sistemik tedavi ve %9,7'si (N=4) fototerapi almıştır. Topikal tedaviler içerisinde en sık kullanılan üç tedavi modalitesi kalsipotriyol+betametazon dipropiyonat kombinasyonu, klobetazol 17-propiyonat merhem ile kalsipotriyol pomadın birlikte kullanımı ve tek başına klobetazol 17-propiyonat merhem iken en sık kullanılan sistemik tedaviler metotreksat, metoreksat ve sistemik kortikosteroid kombinasyonu ve kolşisin olmuştur. Hastalığın aktivite durumunun ve tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde son 3 ay içerisinde yeni lezyon çıkışı, daha önce var olan lezyonlarda genişleme, lezyon veya sınırında viyolase renk değişikliği, lezyon sınırında endurasyon artışı gibi bulguların varlığının sorgulanması, deri skorlama yöntemleri ve çeşitli görüntüleme yöntemleri kullanılabilir (203). Bizim çalışmamızda tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde en az 3 ay herhangi bir tedavi aldıktan sonra başlangıç belirtilerinde azalma olup olmadığı (renkte solma, sertlikte azalma, boyutta küçülme gibi) hastalara sorularak subjektif olarak değerlendirilmiştir. Hastalığın aktivite durumu ise son 3 ay içerisinde yeni lezyon çıkışı, daha önce var olan lezyonlarda genişleme, lezyon veya sınırında viyolase renk değişikliği, lezyon sınırında endurasyon artışı şeklinde yine hastalara sorularak değerlendirilmiştir. Tedavi yanıtının değerlendirilmesi ile ilgili anlamlı sonuçların elde edildiği çalışmalarda kullanılan yöntemler daha objektif olan deri skorlamaları ve görüntüleme yöntemleri olup bizim çalışmamızda subjektif bir yöntem kullanılmıştır. Bu durum çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak değerlendirilebilir. Semi-kantitatif bir sorgulama yöntemi ile metoreksat tedavisinin etkinliğini değerlendirmek üzere yapılan bir çalışmada yaygın, progresif hastalığı olan ve klinik olarak aktif hastalığı düşündürecek bulguları olan 47 hastanın %51'inde tedaviye yanıt alındığı rapor edilmiştir (277). Bizim çalışmamızda ise metoreksat tedavisi alan hastaların %69,2'sinin tedaviye yanıt verdiği gözlemlenmiştir.

VDR geni vücudun vitamin D'ye uygun yanıt vermesinde görevli bir nükleer hormon reseptörü olan vitamin D reseptörünü kodlayan ve kromozom 12q13.11'de lokalize olan büyük bir gendir. VDR geni 11 ekzon içermekte olup yaklaşık 75 kb uzunluğundadır. VDR geninin kodlama yapmayan 5' ucunda 1A, 1B ve 1C ekzonları yer alırken bu genin translasyon ürünü 2-9 olmak üzere sekiz tane ekzon tarafından kodlanmaktadır. Ekzon 2 ve 3 DNA'ya bağlanma ile ilişkili iken ekzon 7, 8 ve 9 ise

vitamin D'ye bağlanma ile ilişkilidir (435). Bu zamana kadar VDR geninde 470'ten fazla tek nükleotid polimorfizmi gösterilmiştir (436). VDR genindeki polimorfizmlerin çoğu kodlanan bölgelerden daha çok düzenleyici bölgelerde yer almaktadır. VDR polimorfizmleri ile çeşitli hastalıklar ve kanserler arasındaki ilişkileri değerlendiren çalışmalarda özellikle bazı polimorfizmler üzerinde odaklanılmıştır. Bunlar ekzon 2'de bulunan FokI polimorfizmi, intron 8'de bulunan BsmI, ApaI ve Tru9I polimorfizmleri, ekzon 1'de bulunan Cdx2 polimorfizmi, ekzon 9'de bulunan TaqI polimorfizmi ve 3'UTR (untranslated region) bölgesinde bulunan poliA mononükleotid tekrarları olarak sıralanabilir (437). Biz de çalışmamızda birçok hastalıkta çalışılmış olan ve sık karşılaşılan polimorfizmlerden olan ApaI ve TaqI polimorfizmlerini çalışmayı uygun gördük.

ApaI polimorfizmi sessiz tek nükleotid polimorfizmi olarak bilinmektedir. Ancak amino asit kodlayan sekanslarda değişikliğe yol açmadan mRNA kararlılığının düzenlenmesi üzerinden gen ekspresyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir. TaqI polimorfizmi ise ekzon 9'da ATT nükleotidinin ATC nükleotidi ile yer değiştirmesi ile ilişkili olup bu değişiklik sonucunda kodon 252'de eş anlamlı bir değişiklik oluşur (436, 437).

Vitamin D ve VDR'nin immün sistem üzerindeki etkileri göz önüne alındığında VDR genindeki varyasyonların otoimmün hastalıklar için bir risk faktörü olabileceği ve hastalık aktivitesini ve şiddetini arttırabileceği öne sürülmüştür. Bu zamana kadar romatoid artrit, psoriasis, sistemik lupus eritematozus, Behçet hastalığı, vitiligo, atopik dermatit ve sistemik skleroderma gibi birçok hastalık ile VDR'nin bazı polimorfizmleri arasındaki ilişkiler gösterilmeye çalışılmıştır (12-14, 438). Türkiye'den vitiligolu hastalarda yapılan bir çalışmada TaqI homozigot polimorfizminin hastalık riskini 2,23 kat arttırdığı gösterilmiştir (13). Behçet hastalığı olanlar üzerinde yapılan çalışmaların birinde ApaI ve TaqI polimorfizmi ile ilişki saptanmazken bir diğer çalışmada ApaI heterozigot genotipinin hastalık riskini 2 kat arttırdığı ve TaqI homozigot genotipinin Behçet hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (12, 442). Türkiye'den aile hikayesi pozitif olan psoriasisli hastalarda yapılan bir çalışmada TaqI normal genotipinin familial psoriasisle ilişkili olduğu gösterilmiş ancak ApaI polimorfizmi ile herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (14).

TGF- β aracılı fibrozis morfea patogenezindeki önemli basamaklardan biridir. Sklerodermalı hasta derisi, deneysel fibrozis modeli ve insan fibroblastlarında VDR ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada VDR'nin mRNA düzeylerinin sklerodermalı lezyonlu deride ve deneysel skleroderma modelinde sağlıklı kontrollere göre azaldığı gösterilmiştir. Azalmış VDR ekspresyonu durumunda ise fibroblastların TGF- β 'nin uyarıcı etkilerine duyarlılığının arttığı ve artmış bu duyarlılık sonucunda da kollajen sekresyonunun arttığı gösterilmiştir (10). Bildiğimiz kadarıyla literatürde daha önce morfea hastalarında VDR polimorfizmlerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Sistemik sklerodermalı hastalarda ApaI ve TaqI polimorfizmlerini inceleyen bir çalışmada hasta ve kontrol gruplarında VDR ApaI ve TaqI genotipleri ve allel frekansları arasında bir farklılık bulunmamıştır. Hastaları diffüz skleroderma ve limitli skleroderma olarak gruplandırdıklarında diffüz sklerodermalı hastaların tamamında ApaI AA genotipinin olduğunu ve bu genotipin diffüz sklerodermaya yakınlık ile ilişkisi olabileceğini tespit etmişlerdir. Ancak polimorfizmler ile hastalığın diğer klinik ya da laboratuvar özellikleri arasında bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir (12). Bizim çalışmamızda da hasta ve kontrol grupları arasında ApaI ve TaqI gen polimorfizmleri ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Her iki grupta da her iki polimorfizm için normal genotipler olan AA ve TT genotipleri en sık gözlenen genotiplerdir. Allel frekansları değerlendirildiğinde her iki grupta da A ve T allelleri en sık bulunan allellerdir. Polimorfizmler ile morfea alt tipi, hastalığın başlangıç dönemi (pediatrik başlangıçlı/erişkin başlangıçlı), uygulanan tedaviye yanıt ve kişisel otoimmün hastalık varlığı arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hastalığın aktivite durumu ile polimorfizm ilişkileri değerlendirildiğinde ApaI polimorfizmi ile bir ilişki saptanmamıştır. Ancak TaqI polimorfizmi açısından bakıldığında progresif hastalığı olan bireylerin tamamında (N=4) TaqI Tt (heterozigot) genotipi tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda VDR ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin morfea gelişimine yakınlık oluşturmadığı söylenebilir. Hasta sayısı az olmakla birlikte TaqI polimorfizminin hastalığın şiddeti üzerine etkisi olabilir. Bu bilginin doğrulanması için daha fazla hasta sayısına ihtiyaç vardır.

Evrimsel olarak kromozom üzerinde birbirine yakın olan allellerin birlikte kalıtılma olasılıkları daha yüksektir. Bu duruma bağlantı dengesizliği (LD, linkage

disequilibrium) denir. Bunun anlamı bir bölgedeki bir polimorfizmin komşu allellerle ilgili bilgi verebilmesidir. ApaI ve TaqI arasında da bağlantı dengesizliği bulunmaktadır. Aynı zamanda bu polimorfizmler VDR geni üzerindeki başka tek nükleotid polimorfizmleri veya VDR geni yakınındaki başka genlerle de bağlantı dengesizliği içerisinde olabilir. Bunun anlamı VDR'nin doğrudan belli bir hastalığa yol açan bir gen olmasa da hastalığa neden olan esas genle olan bağlantı dengesizliği ile ilişkili olarak etki edebileceğidir. Bu nedenle henüz bilinmeyen bir alleldeki bir genle VDR ilişkide olabilir ve bu lokus VDR ile beraber kalıtılıyor olabilir. Sonuç olarak ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin tespit edilmemiş olması bu polimorfizmlerin hastalık üzerine etkisi olmadığını kesin söylemek için yeterli değildir. Ayrıca VDR polimorfizmleri içerisinde translasyon ürününün aktivitesini değiştirdiği bilinen tek polimorfizm FokI polimorfizmidir (436). VDR gen polimorfizminin morfeaya yatkınlık oluşturup oluşturmadığının değerlendirilmesinde fonksiyonel etkileri olan bu polimorfizmin çalışılmamış olması çalışmamızın bir eksikliği olarak değerlendirilebilir.

Popülasyon genetiğinde Hardy-Weinberg dengesi önemli bir yere sahiptir. Eğer popülasyon belli varsayımları yerine getiriyor ise bu denge kanunu ile allel frekanslarından genotip frekansları hesaplanabilmektedir. Bu dengenin sağlanması için gerekli koşullar popülasyonda göç olmaması, popülasyondaki birey sayısının sınırsız büyük olması, mutasyonların olmaması, herhangi genotipin diğerine üstünlüğünün olmaması, nesillerin örtüşmemesi, cinsiyetlerdeki allel sıklıklarının eşit olması, bireylerin diploid olması, eşleşmelerin rastgele ve eş seçiminin bağımsız olmasıdır (434). Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda Hardy-Weinberg dengesi değerlendirildiğinde eşitliğin ApaI ve TaqI polimorfizmleri için her iki grupta da anlamlı ölçüde bozulduğu tespit edilmiştir. Hardy-Weinberg dengesinin anlamlı derecede bozulması popülasyonumuzda mutasyon, göç, izolasyon ve doğal seleksiyon gibi bu dengeyi bozan evrimsel güçlerin büyüklüğünü göstermektedir.

Vitamin D optimum metabolik fonksiyonların sağlanması için gerekli kalsiyum ve fosfat dengesinin sağlanmasında ve kemik gelişimi ve mineralizasyonunda temel rol oynayan steroid yapılı bir prohormondur. Ancak son dönemlerde kas-iskelet sistemi üzerindeki etkilerinin yanı sıra çeşitli kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar, doğal ve adaptif immün sistem ve otoimmünite üzerine

de etkileri olduğu gösterilmiştir. D vitamininin en önemli kaynağı UVB ışınlarının etkisi ile sentezini sağlayan deridir. Gıdalar ise D vitamini ihtiyacının yaklaşık %10-20'sini karşılayabilmektedir. D vitamini eksikliği tüm dünyada önemli bir sorun haline gelmiş olup yaklaşık 1 milyar kişide D vitamini eksikliği olduğu tahmin edilmektedir. Vitamin D düzeyi ülkeler arasında ve hatta aynı ülkenin farklı bölgelerinde farklılıklar gösterebilmektedir (390).

Yapılan çalışmalara göre D vitamini eksikliği Türk popülasyonu için de önemli bir sorun gibi gözükmemektedir. Hekimsoy ve arkadaşlarının (443) Ege bölgesinde bir kıyı kenti olmayan Manisa'dan kış mevsimi sonunda yaptığı erişkinler üzerindeki popülasyon bazlı kesitsel çalışmasında katılımcıların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $16,9 \pm 13,09$ ng/mL (optimum değer: >30 ng/mL) olarak bulunmuştur. Katılımcıların sadece %11,3'ünde D vitamininin optimum düzeylerde olduğu saptanmıştır. Kış dönemi sonunda Ankara'da ameliyathanede çalışan anestezi personelleri ile ofis ortamında ve dışarda çalışan bireylerin D vitamini düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise her 3 grupta da ortalama serum 25(OH)D değerlerinin <10 ng/mL (ciddi yetersizlik) olduğu tespit edilmiştir (444). Yine Ankara'da yapılan başka bir retrospektif çalışmada ise katılımcıların %72,8'inde ortalama serum 25(OH)D değerleri yetersizlik için belirlenen değerin (<30 ng/mL) altında bulunmuştur (445). Türkiye'nin farklı enlemlerinde yaşayan (Mersin, Ankara İstanbul, Ünye) Türkler ve Almanya'da yaşayan Türklerle Almanların D vitamini değerlerinin incelendiği Mart ayında yapılan bir çalışmada ise Türk bireylerin yaşadıkları yerden bağımsız olarak yaklaşık %78'inde serum 25(OH)D değeri bu çalışmada yetersizlik olarak belirlenen (<50 nmol/L) değerlerde saptanmıştır. Alman bireylerin ise %29'unda yetersizlik saptanmıştır. Yazarlar iki popülasyon arasındaki bu farklılığın Türk popülasyonunun daha koyu tenli olması gibi etnik nedenlerle ilişki olabileceğini öne sürmüştür (446). Başka bir derlemede ise Avrupa'da yaşayan göçmen Türklerin D vitamini düzeylerinin yaşadıkları ülkelerin kendi toplumlarındaki Avrupalı bireylerden daha düşük olduğu belirtilmiştir (447). Bizim çalışmamızda katılımcıların tamamının ortalama serum 25(OH)D düzeyi $17,54 \pm 13,04$ µg/L olarak bulunmuştur. Vitamin D düzeyleri gruplandırılarak yapılan değerlendirmede bizim derecelendirme sistemimize göre katılımcıların %68'inde

orta ve ciddi derecede vitamin D eksikliği mevcuttur. Bu değerlerin literatürdeki veriler ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Bildiğimiz kadarıyla literatürde morfea hastalarında D vitamini düzeylerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Sistemik sklerodermalı 65 hastanın D vitamini değerlerini inceleyen bir çalışmada hastaların ortalama serum 25(OH)D değeri $15,8 \pm 9,1$ ng/mL (optimum değer: >30 ng/mL) olarak bulunurken hastaların sadece %4,6'sının optimum değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir (430). Sağlıklı kontrollerle yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada sistemik sklerodermalı hastaların (N=327) ortalama serum 25(OH)D değeri $13,5 \pm 9,0$ ng/mL iken kontrol grubunda bu değer (N=141) $21,6 \pm 9,7$ ng/mL olarak bulunmuştur. Aynı zamanda hasta grubunda deri tutulumu ve Rodnan deri skorları ile D vitamini düzeyleri arasında ters bir korelasyon tespit edilmiştir (432). D vitamini desteği alan ve almayan sistemik sklerodermalı hastaların değerlendirildiği bir çalışmada D vitamini almayan grupta ortalama serum 25(OH)D değeri $9,8 \pm 4,1$ ng/mL iken haftada bir kez oral yoldan 8000-12,500 IU kolekalsiferol alan grupta bu değer $26 \pm 8,1$ ng/mL olarak tespit edilmiştir. Destek alan gruptaki hastaların sadece üçte birinin optimum düzeylere sahip olduğu ve %24,5'inde ise vitamin D yetersizliğinin devam ettiği vurgulanmıştır (11). Fransa'nın kuzeyi ve İtalya'nın güneyinden 156 sistemik sklerodermalı katılımcı ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada ortalama serum 25(OH)D değeri 19 ± 11 ng/mL olarak bulunmuştur. D vitamini düzeyi ile hastalık aktivite skorları ve pulmoner arter basıncı arasında ters bir korelasyon tespit edilirken yaşanan coğrafya ve günlük D vitamin desteği ile (800 IU/gün oral) herhangi bir ilişki bulunamamıştır (429). Bizim çalışmamızda morfea grubunda ortalama serum 25(OH)D düzeyi $16,98 \pm 11,55$ µg/L iken kontrol grubunda bu değer $18,02 \pm 14,30$ µg/L olarak bulunmuştur. Bu değerler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Vitamin D düzeyleri gruplandırılarak yapılan değerlendirmede bizim derecelendirme sistemimize göre orta ve ciddi derecede vitamin D eksikliği morfea grubunun %72'sinde, kontrol grubunun %79,2'sinde görülmüştür. Son 1 ay içerisinde D vitamini alan bireyler de çalışmaya dahil edilmiş olup destek dozları standardize edilememiştir. Son 1 ay içerisinde D vitamini desteği alan 7 hastanın ortalama serum 25(OH)D düzeyi $26,91 \pm 10,54$ µg/L ve 8 kontrolün ortalama serum 25(OH)D düzeyi $39,42 \pm 19,03$ µg/L olarak bulunmuştur. Her iki grupta da optimum

değerlere ulaşılmış olmakla birlikte morfea grubunun kontrol grubuna göre D vitamini değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Ancak bu farklılık örneklem sayısı yetersiz olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Serum 25(OH)D'nin yarı ömrü 2-3 hafta arasında değişmektedir. Bu süre içerisinde D vitamini desteği alan bireylerin çalışmaya dahil edilmemesi sonuçların daha az etkilenmesine neden olacaktır. Bu durum çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak değerlendirilebilir. D vitamini düzeyleri ile hastalık alt tipi, aktivitesi, tedaviye yanıt ve eşlik eden kişisel otoimmün hastalık varlığı arasında bir ilişki saptanmamıştır.

D vitamini düzeyini etkileyen bazı faktörler diyet, giyim tarzı, mevsim, deri fototipi, güneş koruyucu kullanımı, cinsiyet ve çeşitli ilaçlar olarak sıralanabilir. Hekimsoy ve arkadaşlarının (443) çalışmasında kadınların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $15,25 \pm 11,53$ ng/mL ve erkeklerin ortalama serum 25(OH)D düzeyi $20,70 \pm 15,50$ ng/mL olarak bulunmuştur. Bu çalışmada aynı zamanda kadınların erkeklere göre kapalı giyim tarzını daha çok tercih ettiği ve subjektif bir sorgulama ile yapılan güneş ışığı maruziyetinin de kadınlarda daha düşük olduğu belirtilmiştir. Yine başka bir çalışmada başörtüsü takmanın Türk kadınlarında D vitamini yetersizliğini 5 kat arttırdığı belirtilmiştir (446). Türkiye'den yapılan başka bir çalışmada giyim tarzlarına göre gruplandırılan kadın bireylerde el ve yüz de dahil olmak üzere bütün vücut alanlarını örtecek şekilde giyinen kadınların tamamında D vitamini eksikliği saptanmıştır. Sadece el ve yüzünü açıkta bırakacak şekilde kapalı giyinenler ile kapalı giyim tarzı olmayanların D vitamini düzeyleri karşılaştırıldığında kapalı giyim tarzı olmayanların değerleri daha yüksek çıkmış ancak iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (387). Bizim çalışmamızda kadın katılımcıların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $17,01 \pm 12,10$ µg/L ve erkek katılımcıların ortalama serum 25(OH)D düzeyi $22,93 \pm 20,69$ µg/L olarak bulunmuştur. Literatür ile uyumlu olacak şekilde kadınların D vitamini değerleri erkek katılımcılarınkinden düşüktür. Erkek katılımcı sayısının az olması nedeni ile bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı hesaplanamamıştır. Cinsiyet açısından morfea ve kontrol gruplarına ayrı ayrı bakıldığında da her iki grupta da benzer şekilde kadın bireylerin D vitamini değerleri erkek bireylerinkinden daha düşüktür ve bu değerler açısından morfea ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Çalışmamızdaki katılımcıların

yaklaşık %91'ini kadın bireyler oluşturduğundan bu durumun ortalama D vitamini düzeylerini etkileyebileceği göz önüne alınmalıdır. Çalışmamızda giyim tarzına yönelik bir sorgulama yapılmamıştır. Bu durum çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olarak değerlendirilebilir.

D vitamini sentezi mevsimsel farklılıklardan belirgin derecede etkilenmekte olup yaz sonunda ve sonbahar başında maksimum düzeye ulaşırken kış sonunda en düşük düzeyde olmaktadır. Ülkemizin bulunduğu enlemde D vitamininin deride uygun sentezi Mayıs-Kasım aylarında saat 10.00-15.00 arasındadır (390). İstanbul'da sağlık çalışanları üzerinde yapılan bir çalışmada katılımcıların yaz mevsimindeki ortalama serum 25(OH)D değeri 20 ng/mL iken kış mevsiminde bu değer 15 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada kış döneminde daha fazla olmakla birlikte yaz döneminde bile D vitamin yetersizliğinin belirgin olduğu vurgulanmıştır (448). Ankara'dan yapılan bir çalışmada ise katılımcıların yaz mevsimindeki ortalama serum 25(OH)D değeri 28.4 ± 10.4 ng/mL iken kış döneminde bu değer 13.8 ± 6.6 ng/mL olarak hesaplanmıştır (449). Bizim çalışmamızda morfea grubundaki bireyler sonbahar ve kış mevsiminde çalışmaya dahil edilmişlerdir. Ortalama serum 25(OH)D değerleri açısından mevsimsel bir farklılık saptanmamıştır. Bunun nedeni birbirini takip eden iki mevsimde değerlendirme yapılmış olması olabilir. Bu durum çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak değerlendirilebilir.

D vitamini düzeyini etkilediği düşünülen faktörlerden biri de deri fototipidir. Bir çalışmada sabit dozda UVB maruziyetinden sonra ölçülen serum 25(OH)D değerlerinin beyazlarda ve Asyalılarda Afrikalı ve Doğu Hindistanlı bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur (450). Amerika Birleşik Devletleri'nde farklı etnik gruplarda yapılan başka bir çalışmada da beyazlarda, Meksikalı Amerikalılara ve Afrikalı Amerikalılara göre ortalama serum D vitamini düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (451). Başka bir çalışmada ise geniş bant UVB maruziyetinden sonra yapılan ölçümlerde serum 25(OH)D düzeyindeki artışın deri pigmentasyonundan bağımsız olduğu gösterilmiştir (452). Bizim çalışmamızda Fitzpatrick deri fototiplerinin dağılımına bakıldığında hastaların %31,7'sinin (N=13) deri fototipi I ve II; %68,3'ünün (N=28) deri fototipi III ve IV'tür. Kontrol grubundaki bireylerin fototip dağılımları da benzerdir. Deri fototipleri ile serum 25(OH)D düzeyleri arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Güneş koruyucu kullanımı derideki vitamin D sentezini azaltmakla beraber tamamen yok etmemektedir. ICEPURE çalışmasından edinilen bilgilere göre yıl boyu güneş maruziyetinin %40'ına denk gelecek şekilde, 1 haftalık tatil dönemindeki güneş ışığı maruziyeti sırasında UVB ve UVA koruması içeren geniş spektrumlu güneş koruyucu (2 mg/cm² dozunda günde 3 kez) uygulayan grupta ortalama serum 25(OH)D düzeyi artışı 13 nmol/L olur iken; geniş spektrumlu olmayan güneş koruyucu kullananlarda (UVB, 2 mg/cm² dozunda günde 3 kez) bu değer 19 nmol/L olmuştur (315). Ancak günlük yaşamda bireyler genellikle mevcut ürünlerdeki güneş koruma faktörüne (SPF) ulaşılması için gerekli miktarlarda ve sıklıkta ve güneş gören vücut alanlarının tamamına olacak şekilde uygulama yapmadıkları için güneş koruyucu kullanımının D vitamini eksikliğine yol açmadığını düşünenler de bulunmaktadır (313, 393, 394). Bizim çalışmamızda her zaman ve sıklıkla güneş koruyucu kullananlar morfea grubunun %22'sini ve kontrol grubunun %20,9'unu oluşturmaktadır. Morfea grubunun %70,7'si ve kontrol grubunun %64,6'si ise hiç güneş koruyucu kullanmamaktadır. Güneş koruyucu kullanımlarının her iki grupta da serum D vitamini düzeylerini etkilemediği tespit edilmiştir.

D vitamini düzeyi ile VDR gen polimorfizmlerinin ilişkisini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sistemik sklerodermalı hastalarda VDR gen polimorfizminin incelendiği çalışmada ise vitamin D düzeyleri ile polimorfizmler arasındaki ilişki değerlendirilmemiştir (12). Meme kanseri olan kadınlarda VDR polimorfizmleri ile D vitamini desteği sonrası serum 25(OH)D düzeylerinin ilişkisine yönelik yapılan bir çalışmada VDR TaqI için TT ve Tt genotipine sahip olanlarda tt genotipine sahip olanlara göre serum düzeylerinin daha fazla yükseldiği gözlemlenmiştir (453). Farklı evrelerde mikozis fungoides tanısı ile takip edilen 48 hastanın dahil edildiği bir çalışmada VDR FokI polimorfizmi olanlarda (heterozigot ve homozigot) normal genotipe sahip bireylere göre serum D vitamini düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu; BsmI ve TaqI polimorfizmleri ile anlamlı bir ilişkinin saptanmadığı rapor edilmiştir (454). Vitiligosu olan 75 hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada ise serum 25(OH)D değerleri ile VDR ApaI, FokI ve TaqI polimorfizmleri arasında bir ilişki tespit edilememiştir (455). Bizim çalışmamızda da hem morfea grubunda hem de kontrol grubunda ApaI ve TaqI polimorfizmleri ile serum 25(OH)D düzeyleri arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Bu çalışmada morfea ile D vitamininin ve VDR gen polimorfizlerinin ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda D vitamini ve VDR ApaI ve TaqI polimorfizmleri ile morfea arasında bir ilişki saptanamamıştır. Ancak bu konuda henüz başka bir çalışma yapılmamış olması ve hastalığın multifaktöryel özellikleri göz önüne alındığında daha fazla katılımcı sayısının dahil edildiği, D vitamini düzeyini etkileme ihtimali olan faktörlerin tamamen elimine edilebildiği ve diğer VDR polimorfizmlerinin de dahil edilebildiği daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. D vitamini ile hastalık arasında bir ilişki bulunması hastalığın tedavisinde yol gösterici olabileceği gibi VDR gen polimorfizmleri ile ilişki saptanması hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına ve kişiye özgü tedavi modalitelerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ❖ Literatürden edindiğimiz bilgiler dahilinde daha önce morfea ile VDR gen polimorfizmleri ve serum 25(OH)D düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmanın mevcut olmaması nedeniyle bizim çalışmamız bu konudaki ilk çalışmadır.
- ❖ ApaI polimorfizmi için yapılan değerlendirmede morfea ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0,318$).
- ❖ Morfea ve kontrol grubunda VDR ApaI için en sık görülen genotip AA genotipidir.
- ❖ TaqI polimorfizmi için yapılan değerlendirmede de morfea ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0,099$).
- ❖ Morfea ve kontrol grubunda VDR TaqI için en sık görülen genotip TT genotipidir.
- ❖ Allel frekanslarına bakıldığında morfea ve kontrol grubunda en sık görülen alleller A ve T olup her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırası ile $p=0,668$; $p=0,264$).
- ❖ Hardy-Weinberg dengesi incelendiğinde ApaI ve TaqI için her iki grupta da eşitliğin anlamlı ölçüde bozulduğu görülmüştür (hasta grubunda ApaI $p=0,001$, TaqI $p=0,000$; kontrol grubunda ApaI $p=0,000$, TaqI $p=0,002$).
- ❖ Morfea alt tipi, hastalık başlangıç dönemi, tedaviye yanıt ve kişisel otoimmün hastalık varlığı ile ApaI ve TaqI polimorfizmleri varlığı arasında bir ilişki saptanmamıştır.
- ❖ Hastalığın aktivite durumu ile ApaI polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,442$).
- ❖ Hastalığın aktivite durumu ile TaqI polimorfizmi arasındaki ilişkiye bakıldığında progresif hastalığı olanların tamamının Tt genotipine sahip olduğu görülmüştür ($p=0,012$).
- ❖ VDR TaqI için Tt genotipine sahip olmanın hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğunu söylenebilmesi için daha fazla hasta sayısına ihtiyaç vardır.
- ❖ VDR gen polimorfizmlerinin morfea ile ilişkisinin tespit edilmesinde translyasyon ürünüde fonksiyonel değişikliğe yol açtığı bilinen FokI

polimorfizminin ve diğ er bilinen polimorfizmlerin ç alışılması yararlı olacaktır.

- ❖ Vitamin D dokudaki etkilerini VDR aracılığı ile gerç ekleştirdiğ inden morfea patogenezindeki yerinin incelenmesinde VDR polimorfizmleri ile birlikte serum ve dokudaki VDR düzeylerinin eş zamanlı değ erlendirildiğ i ç alışmalara ihtiya ç bulunmaktadır.
- ❖ Serum 25(OH)D düzeyleri mevsimsel olarak değ işkenlik g österebildiğ inden katılımcıların aynı mevsimde ç alışmaya dahil edilmeleri sonu ç ların saç lıklı yorumlanması i ç in daha uygun olacaktır.
- ❖ Cinsiyet, ö zellikle cinsiyete bağ lı giyim tarzı ve diyet serum 25(OH)D düzeyini etkileyen fakt ö rlerdendir. Bu nedenle ç alışmaya dahil edilen bireylerde bu fakt ö rlerin de dikkate alınması sonu ç ların daha az etkilenmesine olanak saç layacaktır.
- ❖ Serum düzeylerinin daha az etkilenmesi a çısından son 1 ay i ç erisinde D vitamini desteğ i alanların ç alışmaya dahil edilmemeleri daha uygun olacaktır. Ancak ç alışma sü remizin sınırlı olması nedeni ile ve belli bir hasta sayısına ulaşılabilmesi adına bu mümkün olamamıştır.
- ❖ VDR gen polimorfizmleri ile serum 25(OH)D düzeyleri arasındaki ilişki incelenirken polimorfizmler ile D vitamini desteğ i ö ncesi ve sonrası değ erlerin karşılaştırılması ve bu yolla polimorfizm varlığının serum D vitamini düzeyinin yükseltilmesini etkileyip etkilemediğ inin değ erlendirilmesi daha faydalı bilgiler saç layacaktır.
- ❖ Tedaviye yanıt ve hastalık aktivitesi değ erlendirmesinde subjektif sorgulama yöntemleri yerine daha objektif olan deri skorlamaları ve görüntüleme yöntemlerinin kullanılması daha objektif sonu ç ların elde edilmesini saç layacaktır.
- ❖ VDR gen polimorfizmleri ile morfea alt tipi, hastalığın aktivite durumu ve tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi ortaya ç ıkarabilmek i ç in hasta ve kontrol sayısının arttırıldığı ç alışmalara ihtiya ç vardır.
- ❖ Serum 25(OH)D düzeyleri ile morfea arasındaki ilişkinin g österilmesi ise hastalığın tedavisinde yö nlendirici olabilir.

- ❖ VDR gen polimorfizmleri ile morfea arasındaki ilişkinin gösterilmesi hastalık patogenezinin anlaşılmasına, hastalığa yatkınlık oluşturan durumların belirlenmesine ve kişisel tedavi modalitelerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Dermatoloji. Second edition. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2012:1469-84.
2. Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL. Dermatoloji. Üçüncü Baskı ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008:1021-92 .
3. Robertson LP, Davies MG, Hickling P. Generalized morphea in a patient with Felty's syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2000;14(3):191-3.
4. Peterson LS, Nelson AM, Su WP, Mason T, O'Fallon WM, Gabriel SE. The epidemiology of morphea (localized scleroderma) in Olmsted County 1960-1993. *J Rheumatol.* 1997;24(1):73-80.
5. Fett N, Werth VP. Update on morphea: part I. Epidemiology, clinical presentation, and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64(2):217-28; quiz 29-30.
6. Pike JW. Genome-wide principles of gene regulation by the vitamin D receptor and its activating ligand. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;347(1-2):3-10.
7. Bikle DD. Extraskelatal actions of vitamin D. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;1376(1):29-52.
8. Wahsh E, Abu-Elsaad N, El-Karef A, Ibrahim T. The vitamin D receptor agonist, calcipotriol, modulates fibrogenic pathways mitigating liver fibrosis in-vivo: An experimental study. *Eur J Pharmacol.* 2016;789:362-9.
9. Fischer KD, Agrawal DK. Vitamin D regulating TGF-beta induced epithelial-mesenchymal transition. *Respir Res.* 2014;15(1):146.
10. Zerr P, Vollath S, Palumbo-Zerr K, Tomcik M, Huang J, Distler A, et al. Vitamin D receptor regulates TGF-beta signalling in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(3):e20.
11. Giuggioli D, Colaci M, Cassone G, Fallahi P, Lumetti F, Spinella A, et al. Serum 25-OH vitamin D levels in systemic sclerosis: analysis of 140 patients and review of the literature. *Clin Rheumatol.* 2017;36(3):583-90.
12. Kamal A, Gamal SM, Elgengehy FT, Alkema AK, Siam I. Association of VDR ApaI and TaqI Gene Polymorphisms with the Risk of Scleroderma and Behcet's Disease. *Immunol Invest.* 2016;45(6):531-42.
13. Aydınöz İE, Bingül İ, Doğru-Abbasoğlu S, Vural P, Uysal M. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in vitiligo. *Dermatology.* 2012;224(4):361-8.

14. Dayangac-Erden D, Karaduman A, Erdem-Yurter H. Polymorphisms of vitamin D receptor gene in Turkish familial psoriasis patients. *Arch Dermatol Res.* 2007;299(10):487-91.
15. Leitenberger JJ, Cayce RL, Haley RW, Adams-Huet B, Bergstresser PR, Jacobe HT. Distinct autoimmune syndromes in morphea: a review of 245 adult and pediatric cases. *Arch Dermatol.* 2009;145(5):545-50.
16. Christen-Zaech S, Hakim MD, Afsar FS, Paller AS. Pediatric morphea (localized scleroderma): review of 136 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(3):385-96.
17. Zulian F, Athreya BH, Laxer R, Nelson AM, Feitosa de Oliveira SK, Punaro MG, et al. Juvenile localized scleroderma: clinical and epidemiological features in 750 children. An international study. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(5):614-20.
18. Condie D, Grabell D, Jacobe H. Morphea in Adults and Children Cohort VI: A cross-sectional comparison of outcomes between adults with pediatric-onset and adult-onset morphea. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(12):3496.
19. Zulian F, Vallongo C, de Oliveira SK, Punaro MG, Ros J, Mazur-Zielinska H, et al. Congenital localized scleroderma. *J Pediatr.* 2006;149(2):248-51.
20. Verdelli A, Antiga E, Bonciolini V, Bonciani D, Volpi W, Caproni M. Drug induction in connective tissue diseases. *G Ital Dermatol Venereol.* 2014;149(5):573-80.
21. Peroni A, Zini A, Braga V, Colato C, Adami S, Girolomoni G. Drug-induced morphea: report of a case induced by balicatib and review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(1):125-9.
22. Sehgal VN, Srivastava G, Aggarwal AK, Behl PN, Choudhary M, Bajaj P. Localized scleroderma/morphea. *Int J Dermatol.* 2002;41(8):467-75.
23. Boyd AS, Neldner KH. The isomorphic response of Koebner. *Int J Dermatol.* 1990;29(6):401-10.
24. Wolf R, Brenner S, Ruocco V, Filioli FG. Isotopic response. *Int J Dermatol.* 1995;34(5):341-8.
25. Patel AR, Pavletic SZ, Turner ML, Cowen EW. The isomorphic response in morphealike chronic graft-vs-host disease. *Arch Dermatol.* 2008;144(9):1229-31.
26. Martires KJ, Baird K, Citrin DE, Hakim FT, Pavletic SZ, Cowen EW. Localization of sclerotic-type chronic graft-vs-host disease to sites of skin injury: potential insight into the mechanism of isomorphic and isotopic responses. *Arch Dermatol.* 2011;147(9):1081-6.

27. Grabell D, Hsieh C, Andrew R, Martires K, Kim A, Vasquez R, et al. The role of skin trauma in the distribution of morphea lesions: a cross-sectional survey of the Morphea in Adults and Children cohort IV. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(3):493-8.
28. Khaled A, Kharfi M, Zaouek A, Rameh S, Zermani R, Fazaa B, et al. Postvaccination morphea profunda in a child. *Pediatr Dermatol*. 2012;29(4):525-7.
29. Drago F, Rampini P, Lugani C, Rebora A. Generalized morphoea after antitetanus vaccination. *Clin Exp Dermatol*. 1998;23(3):142.
30. Torrelo A, Suarez J, Colmenero I, Azorin D, Perera A, Zambrano A. Deep morphea after vaccination in two young children. *Pediatr Dermatol*. 2006;23(5):484-7.
31. Schmutz J, Posth M, Granel F, Trechot P, Barbaud A. [Localized scleroderma after hepatitis B vaccination]. *Presse medicale (Paris, France: 1983)*. 1999;29(19):1046-.
32. Mlika RB, Kenani N, Badri T, Hammami H, Hichri J, Haouet S, et al. Morphea profunda in a young infant after hepatitis B vaccination. *J Am Acad Dermatol*. 2010;63(6):1111-2.
33. Guidetti MS, Vincenzi C, Papi M, Tosti A. Sclerodermatous skin reaction after vitamin K1 injections. *Contact dermatitis*. 1994;31(1):45-6.
34. Morell A, Betlloch I, Sevilla A, Banuls J, Botella R. Morphea-like reaction from vitamin K1. *Int J Dermatol*. 1995;34(3):201-2.
35. Alonso-Llamazares J, Ahmed I. Vitamin K 1-induced localized scleroderma (morphea) with linear deposition of IgA in the basement membrane zone. *J Am Acad Dermatol*. 1998;38(2):322-4.
36. Wilkins K, DeKoven J, Assaad D. Cutaneous reactions associated with vitamin K1. *J Cutan Med Surg*. 2000;4(3):164-8.
37. Ho J, Rothchild YH, Sengelmann R. Vitamin B12-associated localized scleroderma and its treatment. *Dermatol Surg*. 2004;30(9):1252-5.
38. Bezalel SA, Strober BE, Ferenczi K. Interferon beta-1a-induced morphea. *JAAD Case Rep*. 2015;1(1):15-7.
39. Lee EY, Glassman SJ. Deep morphea induced by interferon- β 1b injection. *JAAD Case Reports*. 2016;2(3):236.
40. Wallace BJ, Tan KB, Pett SL, Cooper DA, Kossard S, Whitfeld MJ. Enfuvirtide injection site reactions: a clinical and histopathological appraisal. *Australas J Dermatol*. 2011;52(1):19-26.

41. Stewart F, Gavino A, Elewski B. New side effect of TNF-alpha inhibitors: morphea. *Skinmed*. 2012;11(1):59-60.
42. Ueda T, Niiyama S, Amoh Y, Katsuoka K. Linear scleroderma after contusion and injection of mepivacaine hydrochloride. *Dermatol Online J*. 2010;16(5):11.
43. Granel B, Serratrice J, Gaudy C, Weiller-Merli C, Bonerandi JJ, Lepidi H, et al. Localized morphea after silicone-gel-filled breast implant. *Dermatology*. 2001;202(2):143-4.
44. Lazar AP, Lazar P. Localized morphea after silicone gel breast implantation: more evidence for a cause-and-effect relationship. *Arch Dermatol*. 1991;127(2):263.
45. Di Lorenzo G, Mansueto P, Melluso M, Sangiorgi GB, Cigna D, Candore G, et al. Morphea after silicone gel breast implantation for cosmetic reasons in an HLA-B8, DR3-positive woman. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;112(1):93-5.
46. Tosti A, Manuzzi P, Bardazzi F. Isomorphic phenomenon in morphea. *Dermatologica*. 1988;177(3):192.
47. Bellman B, Berman B. Localized indurated brown plaques on arms and right buttock. Pentazocine-induced morphea. *Arch Dermatol*. 1996;132(11):1366-7, 8-9.
48. Saracino A, Denton C, Orteu C. The molecular pathogenesis of morphea: from genetics to future treatment targets. *Br J Dermatol*. 2017;177(1):34-46.
49. Bhattacharyya S, Wei J, Varga J. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(1):42-54.
50. Herrmann T, Günther C, Csere P. Localized morphea—a rare but significant secondary complication following breast cancer radiotherapy. *Strahlenther Onkol*. 2009;185(9):603-7.
51. Spalek M, Jonska-Gmyrek J, Gałdecki J. Radiation-induced morphea—a literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(2):197-202.
52. Bleasel NR, Stapleton KM, Commens C, Ahern VA. Radiation-induced localized scleroderma in breast cancer patients. *Australas J Dermatol*. 1999;40(2):99-102.
53. Colver GB, Rodger A, Mortimer PS, Savin JA, Neill SM, Hunter JA. Post-irradiation morphea. *Br J Dermatol*. 1989;120(6):831-5.
54. Schaffer JV, Carroll C, Dvoretzky I, Huether MJ, Girardi M. Postirradiation morphea of the breast presentation of two cases and review of the literature. *Dermatology*. 2000;200(1):67-71.

55. Alhathloul A, Hein R, Andres C, Ring J, Eberlein B. Post-Irradiation Morphea: Case report and review of the literature. *J Dermatol Case Rep.* 2012;6(3):73-7.
56. Kumar S, Kolozsvary A, Kohl R, Lu M, Brown S, Kim JH. Radiation-induced skin injury in the animal model of scleroderma: implications for post-radiotherapy fibrosis. *Radiat Oncol.* 2008;3(1):40.
57. Barcellos-Hoff MH, Derynck R, Tsang ML, Weatherbee JA. Transforming growth factor-beta activation in irradiated murine mammary gland. *J Clin Invest.* 1994;93(2):892-9.
58. Illsley MC, Peacock JH, McAnulty RJ, Yarnold JR. Increased collagen production in fibroblasts cultured from irradiated skin and effect of TGF beta(1)- clinical study. *Br J Cancer.* 2000;83(5):650-4.
59. Delanian S, Martin M, Bravard A, Luccioni C, Lefaix JL. Abnormal phenotype of cultured fibroblasts in human skin with chronic radiotherapy damage. *Radiother Oncol.* 1998;47(3):255-61.
60. Haustein UF, Haupt B. Drug-induced scleroderma and sclerodermiform conditions. *Clin Dermatol.* 1998;16(3):353-66.
61. Kim K-H, Yoon T-J, Oh C-W, Ko G-H, Kim T-H. A Case of Bleomycin-Induced Scleroderma. *J Korean Med Sci.* 1996;11(5):454-6.
62. Asano Y, Ihn H, Shikada J, Kadono T, Kikuchi K, Tamaki K. A case of peplomycin-induced scleroderma. *Br J Dermatol.* 2004;150(6):1213-4.
63. Bernstein RM, Hall MA, Gostelow BE. Morphea-like reaction to D-penicillamine therapy. *Ann Rheum Dis.* 1981;40(1):42-4.
64. Liddle BJ. Development of morphea in rheumatoid arthritis treated with penicillamine. *Ann Rheum Dis.* 1989;48(11):963-4.
65. Dourmishev LA, Stomonjakova SR, Dourmishev AL. D-penicillamine induced polymyositis and morphea in a woman with Hashimoto thyroiditis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2002;16(5):538-9.
66. Leshin B, Piette WW, Caplan RM. Morphea after bromocriptine therapy. *Int J Dermatol.* 1989;28(3):177-9.
67. Runger TM, Adami S, Benhamou CL, Czerwinski E, Farrerons J, Kendler DL, et al. Morphea-like skin reactions in patients treated with the cathepsin K inhibitor balicatib. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66(3):e89-96.
68. Kraigher O, Brenner S, Tur E. Anti-double-stranded DNA-positive unilateral generalized morphea in an adult, possibly exacerbated by ibuprofen. *Arch Dermatol.* 2009;145(7):844-6.

69. Ramírez J, Hernández MV, Galve J, Cañete JD, Sanmartí R. Morphea associated with the use of adalimumab: a case report and review of the literature. *Mod Rheumatol*. 2012;22(4):602-4.
70. LJ, Chen M. Morphea, an unusual side effect of anti-TNF-alpha treatment. *Henry Ford Hosp Med J*. 1989;37:144-6.
71. Bouchard SM, Mohr MR, Pariser RJ. Taxane-induced morphea in a patient with CREST syndrome. *Dermatol Reports*. 2010;2(1):e9.
72. Battafarano DF, Zimmerman GC, Older SA, Keeling JH, Burris HA. Docetaxel (Taxotere) associated scleroderma-like changes of the lower extremities. A report of three cases. *Cancer*. 1995;76(1):110-5.
73. Ferzli GT, El-Tal Ael K, Kibbi AG, Mikati MA. Localized morphea: a rare adverse effect of valproic acid. *Pediatr Neurol*. 2003;29(3):253-5.
74. Avouac J. Mouse model of experimental dermal fibrosis: the bleomycin-induced dermal fibrosis. *Methods Mol Biol*. 2014;1142:91-8.
75. Kurzinski K, Torok KS. Cytokine profiles in localized scleroderma and relationship to clinical features. *Cytokine*. 2011;55(2):157-64.
76. Aberer E, Neumann R, Stanek G. Is localised scleroderma a *Borrelia* infection? *The Lancet*. 1985;326(8449):278.
77. Åsbrink E, Brehmer-Andersson E, Hovmark A. Acrodermatitis Chronica Atrophicans-A Spirochetosis Clinical and Histopathological Picture Based on 32 Patients; Course and Relationship to Erythema Chronicum Migrans Afzelius. *Am J Dermatopathol*. 1986;8(3):209-19.
78. Trevisan G, Rees DH, Stinco G. *Borrelia burgdorferi* and localized scleroderma. *Clin Dermatol*. 1994;12(3):475-9.
79. Weide B, Walz T, Garbe C. Is morphoea caused by *Borrelia burgdorferi*? A review. *Br J Dermatol*. 2000;142(4):636-44.
80. Eisendle K, Grabner T, Zelger B. Morphoea: a manifestation of infection with *Borrelia* species? *Br J Dermatol*. 2007;157(6):1189-98.
81. Svecova D, Buchvald J. *Borrelia burgdorferi* antibodies in scleroderma circumscripta, lichen sclerosus et atrophicus, erythema nodosum, granuloma annulare, erythema annulare and chronic urticaria. *Bratisl Lek Listy*. 1999;101(4):194-9.
82. Wojas-Pelc A, Wielowieyska-Szybińska D, Kiełtyka A. [Presence of the antinuclear antibodies and antibodies to *Borrelia burgdorferi* among patients with morphea en plaque, deep linear scleroderma and atrophoderma Pasini-Pierini]. *Przegląd lekarski*. 2001;59(11):898-902.

83. Santos M, Ribeiro-Rodrigues R, Talhari C, Ferreira LC, Zelger B, Talhari S. Presence of *Borrelia burgdorferi* “Sensu Lato” in patients with morphea from the Amazonic region in Brazil. *Int J Dermatol*. 2011;50(11):1373-8.
84. Zinchuk AN, Kalyuzhna LD, Pasichna IA. Is Localized Scleroderma Caused by *Borrelia burgdorferi*? *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2016;16(9):577-80.
85. Weide B, Schittek B, Klyszcz T, Schüz K, Stark M, Rassner G, et al. Morphea is neither associated with features of *Borrelia burgdorferi* infection, nor is this agent detectable in lesional skin by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol*. 2000;143(4):780-5.
86. Gutierrez-Gomez C, Godinez-Hana AL, Garcia-Hernandez M, Suarez-Roa Mde L, Toussaint-Caire S, Vega-Memije E, et al. Lack of IgG antibody seropositivity to *Borrelia burgdorferi* in patients with Parry-Romberg syndrome and linear morphea en coup de sabre in Mexico. *Int J Dermatol*. 2014;53(8):947-51.
87. Palacios R, Torres A, Trujillo R. IgG antibody reactivity to *Borrelia burgdorferi* sensu stricto antigens in patients with morphea in Colombia. *Int J Dermatol*. 2003;42(11):882-6.
88. Alonso-Llamazares J, Persing D, Anda P, Gibson L, Rutledge B, Iglesias L. No evidence for *Borrelia burgdorferi* infection in lesions of morphea and lichen sclerosus et atrophicus in Spain. A prospective study and literature review. *Acta Derm Venereol*. 1997;77(4):299-304.
89. Ozkan S, Atabey N, Fetil E, Erkizan V, Gunes AT. Evidence for *Borrelia burgdorferi* in morphea and lichen sclerosus. *Int J Dermatol*. 2000;39(4):278-83.
90. Goodland J, Davidson M, Gordon P, Billington R, Ho-Yen D. Morphoea and *Borrelia burgdorferi*: results from the Scottish Highlands in the context of the world literature. *J Clin Pathol*. 2002;55(6):374.
91. Yazdanpanah MJ, Sharifi N, Khooei A, Banihashemi M, Khaje-Daluee M, Shamsi A, et al. Frequency of *Borrelia* in Morphea Lesion by Polymerase Chain Reaction in Northeast of Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2015;8(8):e19730.
92. Habicht GS, Beck G, Benach JL, Coleman JL, Leichtling KD. Lyme disease spirochetes induce human and murine interleukin 1 production. *J Immunol*. 1985;134(5):3147-54.
93. Longo F, Saletta S, Lepore L, Pennesi M. Localized scleroderma after infection with Epstein-Barr virus. *Clin Exp Rheumatol*. 1992;11(6):681-3.
94. Espaol T, Pascual C, Huguet P, Caragol I, Hernandez M, Bertran J. Circumscribed scleroderma in congenital rubella syndrome with hypogammaglobulinemia. *Allergy*. 1998;53(10):1005-6.

95. Telakis E, Nikolaou A. Localized scleroderma (morphea) in a patient with chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21(4):486.
96. Mihas AA, Abou-Assi SG, Heuman DM. Cutae morphea associated with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2003;39(3):458-9.
97. Badri T, El Euch D, Maamouri N, Ben Tekaya N, Ben Osman Dhahri A. Generalized cutaneous morphea in a patient with post-hepatitis C cirrhosis. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2007;16(1):40-1.
98. de Oliveira FL, de Barros Silveira LK, Rambaldi ML, Barbosa FC. Localized scleroderma associated with chronic hepatitis C. *Case Rep Dermatol Med*. 2012;2012:743896.
99. Oiso N, Fukai K, Hosomi N, Ishii M. Guttate morphoea in human T-cell lymphoma/lymphotrophic virus type-1 (HTLV-1) infection. *Clin Exp Dermatol*. 2003;28(4):380-2.
100. Gonzalez-Lopez MA, Drake M, Gonzalez-Vela MC, Armesto S, Llaca HF, Val-Bernal JF. Generalized morphea and primary biliary cirrhosis coexisting in a male patient. *J Dermatol*. 2006;33(10):709-13.
101. Reed JR, De Luca N, McIntyre AS, Wilkinson JD. Localized morphoea, xanthomatosis and primary biliary cirrhosis. *Br J Dermatol*. 2000;143(3):652-3.
102. Iga N, Otsuka A, Iwata M, Ueda Y, Kabashima K. Generalized morphea with preceding severe pain and coexistent early primary biliary cirrhosis. *Eur J Dermatol*. 2015;25(4):365-6.
103. Brenner W, Diem E, Gschnait F. Coincidence of vitiligo, alopecia areata, onychodystrophy, localized scleroderma and lichen planus. *Dermatologica*. 1979;159(4):356-60.
104. Dervis E, Acbay O, Barut G, Karaoglu A, Ersoy L. Association of vitiligo, morphea, and Hashimoto's thyroiditis. *Int J Dermatol*. 2004;43(3):236-7.
105. Soylu S, Gul U, Gonul M, Kilic A, Cakmak SK, Demiriz M. An uncommon presentation of the co-existence of morphea and vitiligo in a patient with chronic hepatitis B virus infection: is there a possible association with autoimmunity? *Am J Clin Dermatol*. 2009;10(5):336-8.
106. Bonilla-Abadia F, Munoz-Buitron E, Ochoa CD, Carrascal E, Canas CA. A rare association of localized scleroderma type morphea, vitiligo, autoimmune hypothyroidism, pneumonitis, autoimmune thrombocytopenic purpura and central nervous system vasculitis. Case report. *BMC Res Notes*. 2012;5(1):689.
107. Kim HS, Chun YS, Hann SK, Park WH. A case of linear scleroderma and myasthenia gravis. *J Dermatol*. 2000;27(1):31-4.

108. Majeed M, Al-Mayouf SM, Al-Sabban E, Bahabri S. Coexistent linear scleroderma and juvenile systemic lupus erythematosus. *Pediatr Dermatol.* 2000;17(6):456-9.
109. Khalifa M, Ben Jazia E, Hachfi W, Sriha B, Bahri F, Letaief A. [Autoimmune hepatitis and morphea: a rare association]. *Gastroenterol Clin Biol.* 2006;30(6-7):917-8.
110. Neucks S, Moore T, Lichtenstein J, Baldassare A, Weiss T, Zuckner J. Localized scleroderma and idiopathic thrombocytopenia. *J Rheumatol.* 1979;7(5):741-4.
111. Harrington C, Dunsmore I. An investigation into the incidence of auto-immune disorders in patients with localized morphoea. *Br J Dermatol.* 1989;120(5):645-8.
112. Jacobe H, Ahn C, Arnett F, Reveille JD. Major histocompatibility complex (MHC) class I and II alleles which confer susceptibility or protection in the Morphea in Adults and Children (MAC) cohort. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(11):3170.
113. Takehara K, Moroi Y, Nakabayashi Y, Ishibashi Y. Antinuclear antibodies in localized scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1983;26(5):612-6.
114. Takehara K, Sato S. Localized scleroderma is an autoimmune disorder. *Rheumatology.* 2005;44(3):274-9.
115. Falanga V, Medsger TA, Jr., Reichlin M, Rodnan GP. Linear scleroderma. Clinical spectrum, prognosis, and laboratory abnormalities. *Ann Intern Med.* 1986;104(6):849-57.
116. Uziel Y, Krafchik BR, Silverman ED, Thorner PS, Laxer RM, editors. Localized scleroderma in childhood: a report of 30 cases. *Semin Arthritis Rheum.* 1994;23(5):328-40. 117.
118. Vancheeswaran R, Black CM, David J, Hasson N, Harper J, Atherton D, et al. Childhood-onset scleroderma: Is it different from adult-onset disease? *Arthritis Rheum.* 1996;39(6):1041-9.
119. Takehara K, Kikuchi K, Soma Y, Igarashi A, Ishibashi Y. Anti-single-stranded DNA antibody and muscle involvement in localized scleroderma. *Arch Dermatol.* 1990;126(10):1368.
120. Falanga V, Medsger TA, Jr., Reichlin M. Antinuclear and anti-single-stranded DNA antibodies in morphea and generalized morphea. *Arch Dermatol.* 1987;123(3):350-3.
121. Arkachaisri T, Fertig N, Pino S, Medsger TA. Serum autoantibodies and their clinical associations in patients with childhood-and adult-onset linear scleroderma. A single-center study. *J Rheumatol.* 2008;35(12):2439-44.

122. Hayakawa I, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. Anti-DNA topoisomerase II α autoantibodies in localized scleroderma. *Arthritis Rheum.* 2004;50(1):227-32.
123. Yamane K, Ihn H, Kubo M, Kuwana M, Asano Y, Yazawa N, et al. Anti-U1RNP antibodies in patients with localized scleroderma. *Arch Dermatol Res.* 2001;293(9):455-9.
124. Yamane K, Ihn H, Kubo M, Asano Y, Yazawa N, Tamaki K, et al. Anti-U3 snRNP antibodies in localised scleroderma. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(12):1157-8.
125. Hasegawa M, Fujimoto M, Hayakawa I, Matsushita T, Nishijima C, Yamazaki M, et al. Anti-phosphatidylserine-prothrombin complex antibodies in patients with localized scleroderma. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(1):19-24.
126. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Antiphospholipid antibody in localised scleroderma. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(8):771-4.
127. Mimra Y, Ihn H, Jinnin M, Asano Y, Yamane K, Yazawa N, et al. Anti-agalactosyl immunoglobulin G antibodies in localized scleroderma. *Int J Dermatol.* 2005;44(10):817-20.
128. Arnett FC, Tan FK, Uziel Y, Laxer RM, Krafchik BR, Antohi S, et al. Autoantibodies to the extracellular matrix microfibrillar protein, fibrillin 1, in patients with localized scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1999;42(12):2656-9.
129. Nagai M, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. Novel autoantibody to Cu/Zn superoxide dismutase in patients with localized scleroderma. *J Invest Dermatol.* 2004;122(3):594-601.
130. Tomimura S, Ogawa F, Iwata Y, Komura K, Hara T, Muroi E, et al. Autoantibodies against matrix metalloproteinase-1 in patients with localized scleroderma. *J Dermatol Sci.* 2008;52(1):47-54.
131. Sato S, Koder M, Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K. Antinucleosome antibody is a major autoantibody in localized scleroderma. *Br J Dermatol.* 2004;151(6):1182-8.
132. McNallan KT, Aponte C, el-Azhary R, Mason T, Nelson AM, Paat JJ, et al. Immunophenotyping of chimeric cells in localized scleroderma. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(3):398-402.
133. Sartori-Valinotti JC, Tollefson MM, Reed AM. Updates on morphea: role of vascular injury and advances in treatment. *Autoimmune Dis.* 2013;2013:467808.
134. Fleischmajer R, Perlish JS, Reeves JR. Cellular infiltrates in scleroderma skin. *Arthritis Rheum.* 1977;20(4):975-84.

135. Fleischmajer R, Perlish JS. Capillary alterations in scleroderma. *J Am Acad Dermatol.* 1980;2(2):161-70.
136. Badea I, Taylor M, Rosenberg A, Foldvari M. Pathogenesis and therapeutic approaches for improved topical treatment in localized scleroderma and systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(3):213-21.
137. Ihn H, Fujimoto M, Sato S, Kikuchi K, Igarashi A, Soma Y, et al. Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol.* 1994;31(4):591-5.
138. Yamane K, Ihn H, Kubo M, Yazawa N, Kikuchi K, Soma Y, et al. Increased serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 and E-selectin in patients with localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42(1 Pt 1):64-9.
139. Osmola-Mańkowska A, Teresiak-Mikołajczak E, Dańczak-Pazdrowska A, Kowalczyk M, Żaba R, Adamski Z. The role of dendritic cells and regulatory T cells in the pathogenesis of morphea. *Cent Eur J Immunol.* 2015;40(1).
140. Ghoreishi M, Vera Kellet C, Dutz JP. Type 1 IFN-induced protein MxA and plasmacytoid dendritic cells in lesions of morphea. *Exp Dermatol.* 2012;21(6):417-9.
141. Antiga E, Quaglino P, Bellandi S, Volpi W, Del Bianco E, Comessatti A, et al. Regulatory T cells in the skin lesions and blood of patients with systemic sclerosis and morphoea. *Br J Dermatol.* 2010;162(5):1056-63.
142. Milano A, Pendergrass SA, Sargent JL, George LK, McCalmont TH, Connolly MK, et al. Molecular subsets in the gene expression signatures of scleroderma skin. *PLoS One.* 2008;3(7):e2696.
143. Dumoitier N, Lofek S, Mouthon L. Pathophysiology of systemic sclerosis: state of the art in 2014. *Presse Med.* 2014;43(10 Pt 2):e267-78.
144. Fullard N, Moles A, O'Reilly S, van Laar JM, Faini D, Diboll J, et al. The c-Rel subunit of NF- κ B regulates epidermal homeostasis and promotes skin fibrosis in mice. *Am J Pathol.* 2013;182(6):2109-20.
145. Jara LJ, Domínguez-López A, Vera-Lastra O. Expression of NLRP3 Inflammasome, Cytokines and Vascular Mediators in the Skin of Systemic Sclerosis Patients. *Isr Med Assoc J.* 2015;17(1):5-10
146. Ihn H, Sato S, Fujimoto M, Kikuchi K, Takehara K. Demonstration of interleukin-2, interleukin-4 and interleukin-6 in sera from patients with localized scleroderma. *Arch Dermatol Res.* 1995;287(2):193-7.
147. Ihn H, Sato S, Fujimoto M, Kikuchi K, Takehara K. Clinical significance of serum levels of soluble interleukin-2 receptor in patients with localized scleroderma. *Br J Dermatol.* 1996;134(5):843-7.

148. Hasegawa M, Sato S, Nagaoka T, Fujimoto M, Takehara K. Serum levels of tumor necrosis factor and interleukin-13 are elevated in patients with localized scleroderma. *Dermatology*. 2003;207(2):141-7.
149. Nagaoka T, Sato S, Hasegawa M, Ihn H, Takehara K. Serum levels of soluble interleukin 6 receptor and soluble gp130 are elevated in patients with localized scleroderma. *J Rheumatol*. 2000;27(8):1917-21.
150. Lonati PA, Brembilla NC, Montanari E, Fontao L, Gabrielli A, Vettori S, et al. High IL-17E and low IL-17C dermal expression identifies a fibrosis-specific motif common to morphea and systemic sclerosis. *PLoS One*. 2014;9(8):e105008.
151. Higley H, Persichitte K, Chu S, Waegell W, Vancheeswaran R, Black C. Immunocytochemical localization and serologic detection of transforming growth factor beta 1. Association with type I procollagen and inflammatory cell markers in diffuse and limited systemic sclerosis, morphea, and Raynaud's phenomenon. *Arthritis Rheum*. 1994;37(2):278-88.
152. Kubo M, Ihn H, Yamane K, Tamaki K. Upregulated expression of transforming growth factor-beta receptors in dermal fibroblasts of skin sections from patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2002;29(12):2558-64.
153. Querfeld C, Eckes B, Huerkamp C, Krieg T, Sollberg S. Expression of TGF- β 1, - β 2 and - β 3 in localized and systemic scleroderma. *J Dermatol Sci*. 1999;21(1):13-22.
154. Kawakami T, Soma Y, Baba T, Mizoguchi M, Matsuzaki K, Kumagai N. Immunohistochemical analysis of transforming growth factor β 3 expression in solitary morphea profunda with histological membranocystic changes. *Br J Dermatol*. 2002;146(1):171-3.
155. Uziel Y, Feldman BM, Krafchik BR, Laxer RM, Yeung RS. Increased serum levels of TGF β 1 in children with localized scleroderma. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2007;5(1):1.
156. Asano Y, Ihn H, Jinnin M, Mimura Y, Tamaki K. Involvement of α v β 5 integrin in the establishment of autocrine TGF- β signaling in dermal fibroblasts derived from localized scleroderma. *J Invest Dermatol*. 2006;126(8):1761-9.
157. Asano Y, Ihn H, Kubo M, Jinnin M, Mimura Y, Ashida R, et al. Clinical significance of serum matrix metalloproteinase-13 levels in patients with localized scleroderma. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(4):394-9.
158. Torok KS, Kurzinski K, Kelsey C, Yabes J, Magee K, Vallejo AN, et al., editors. Peripheral blood cytokine and chemokine profiles in juvenile localized scleroderma: T-helper cell-associated cytokine profiles. *Semin Arthritis Rheum*. 2015;45(3):284-9

159. Matsushita T, Hasegawa M, Matsushita Y, Echigo T, Wayaku T, Horikawa M, et al. Elevated serum BAFF levels in patients with localized scleroderma in contrast to other organ-specific autoimmune diseases. *Exp Dermatol*. 2007;16(2):87-93.
160. Sakkas LI, Bogdanos DP. Systemic sclerosis: New evidence re-enforces the role of B cells. *Autoimmun Rev*. 2016;15(2):155-61.
161. Fawzi MM, Tawfik SO, Eissa AM, El-Komy MH, Abdel-Halim MR, Shaker OG. Expression of insulin-like growth factor-I in lesional and non-lesional skin of patients with morphea. *Br J Dermatol*. 2008;159(1):86-90.
162. Makino K, Jinnin M, Hirano A, Yamane K, Eto M, Kusano T, et al. The downregulation of microRNA let-7a contributes to the excessive expression of type I collagen in systemic and localized scleroderma. *J Immunol*. 2013;190(8):3905-15.
163. Makino T, Jinnin M, Etoh M, Yamane K, Kajihara I, Makino K, et al. Down-regulation of microRNA-196a in the sera and involved skin of localized scleroderma patients. *Eur J Dermatol*. 2014;24(4):470-6.
164. Kondo S, editor The roles of keratinocyte-derived cytokines in the epidermis and their possible responses to UVA-irradiation. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 1999;4(2):177-83.
165. Ghaffari A, Kilani RT, Ghahary A. Keratinocyte-conditioned media regulate collagen expression in dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol*. 2009;129(2):340-7.
166. Igarashi A, Nashiro K, Kikuchi K, Sato S, Ihn H, Fujimoto M, et al. Connective tissue growth factor gene expression in tissue sections from localized scleroderma, keloid, and other fibrotic skin disorders. *J Invest Dermatol*. 1996;106(4):729-33.
167. Yamamoto T, Sawada Y, Katayama I, Nishioka K. Nodular scleroderma: increased expression of connective tissue growth factor. *Dermatology*. 2005;211(3):218-23.
168. Meyer M, Müller A-K, Yang J, Werner S, editors. The role of chronic inflammation in cutaneous fibrosis: fibroblast growth factor receptor deficiency in keratinocytes as an example. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2011;15(1):48-52.
169. Peterson LS, Nelson AM, Su WD, editors. Classification of morphea (localized scleroderma). *Mayo Clin Proc*. 1995;70(11):1068-76
170. Laxer RM, Zulian F. Localized scleroderma. *Curr Opin Rheumatol*. 2006;18(6):606-13.

171. Kreuter A, Krieg T, Worm M, Wenzel J, Moinzadeh P, Kuhn A, et al. German guidelines for the diagnosis and therapy of localized scleroderma. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2016;14(2):199-216.
172. Kreuter A. Localized scleroderma. *Dermatologic therapy.* 2012;25(2):135-47.
173. Marzano AV, Menni S, Parodi A, Borghi A, Fuligni A, Fabbri P, et al. Localized scleroderma in adults and children. Clinical and laboratory investigations on 239 cases. *European journal of dermatology: EJD.* 2002;13(2):171-6.
174. Beltramelli M, Vercellesi P, Frasin A, Gelmetti C, Corona F. Localized severe scleroderma: a retrospective study of 26 pediatric patients. *Pediatr Dermatol.* 2010;27(5):476-80.
175. Piram M, McCuaig C, Saint-Cyr C, Marcoux D, Hatami A, Haddad E, et al. Short-and long-term outcome of linear morphoea in children. *Br J Dermatol.* 2013;169(6):1265-71.
176. Weibel L, Harper J. Linear morphoea follows Blaschko's lines. *Br J Dermatol.* 2008;159(1):175-81.
177. Orozco-Covarrubias L, Guzmán-Meza A, Ridaura-Sanz C, Carrasco Daza D, Sosa-De-Martinez C, Ruiz-Maldonado R. Scleroderma 'en coup de sabre' and progressive facial hemiatrophy. Is it possible to differentiate them? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2002;16(4):361-6.
178. Duymaz A, Karabekmez FE, Keskin M, Tosun Z. Parry-Romberg syndrome: facial atrophy and its relationship with other regions of the body. *Ann Plast Surg.* 2009;63(4):457-61.
179. Browning JC. Pediatric morphea. *Dermatol Clin.* 2013;31(2):229-37.
180. Marsol IB. Update on the classification and treatment of localized scleroderma. *Actas Dermo-Sifiliográficas.* 2013;104(8):654-66.
181. Petrov I, Gantcheva M, Miteva L, Vassileva S, Pramatarov K. Lower lip squamous cell carcinoma in disabling pansclerotic morphea of childhood. *Pediatr Dermatol.* 2009;26(1):59-61.
182. Wollina U, Buslau M, Heinig B, Petrov I, Unger E, Kyriopoulou E, et al. Disabling pansclerotic morphea of childhood poses a high risk of chronic ulceration of the skin and squamous cell carcinoma. *Int J Low Extrem Wounds.* 2007;6(4):291-8.
183. Wollina U, Buslau M, Weyers W. Squamous cell carcinoma in pansclerotic morphea of childhood. *Pediatr Dermatol.* 2002;19(2):151-4.

184. Saleh DB, Williams AM, Smith IM. Cutaneous squamous cell carcinoma arising within generalised morphea. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011;64(6):e149-e52.
185. Kencka D, Blaszczyk M, Jabłońska S. Atrophoderma Pasini-Pierini is a primary atrophic abortive morphea. *Dermatology*. 1995;190(3):203-6.
186. Jablonska S, Blaszczyk M. Is superficial morphea synonymous with atrophoderma Pasini-Pierini? *J Am Acad Dermatol*. 2004;50(6):979-80.
187. Trattner A, David M, Sandbank M. Bullous morphea: a distinct entity? *Am J Dermatopathol*. 1994;16(4):414-7.
188. Daoud MS, Su WP, Leiferman KM, Perniciaro C. Bullous morphea: clinical, pathologic, and immunopathologic evaluation of thirteen cases. *J Am Acad Dermatol*. 1994;30(6):937-43.
189. Fernandez-Flores A, Gatica-Torres M, Tinoco-Fragoso F, García-Hidalgo L, Monroy E, Saeb-Lima M. Three cases of bullous morphea: histopathologic findings with implications regarding pathogenesis. *J Cutan Pathol*. 2015;42(2):144-9.
190. Cannick L, Douglas G, Crater S, Silver R. Nodular scleroderma: case report and literature review. *J Rheumatol*. 2003;30(11):2500-2.
191. Salmon NE, Roberts N, Agnew K. *Clin Exp Dermatol*. 2014;39(1):90-1.
192. Torchia D, Schachner LA. Superimposed segmental morphea with keloidal features. *Int J Dermatol*. 2015;54(8):944-5.
193. Chung L, Lin J, Furst DE, Fiorentino D. Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol*. 2006;24(5):374-92.
194. Lutz V, Frances C, Bessis D, Cosnes A, Kluger N, Godet J, et al. High frequency of genital lichen sclerosus in a prospective series of 76 patients with morphea: toward a better understanding of the spectrum of morphea. *Arch Dermatol*. 2012;148(1):24-8.
195. Carneiro S, Ramos-e-Silva M, Russi DC, Albuquerque E, Sousa M. Coexistence of generalized morphea and lichen sclerosus et atrophicus mimicking systemic disease. *Skinmed*. 2011;9:131-3.
196. Zulian F, Vallongo C, Woo P, Russo R, Ruperto N, Harper J, et al. Localized scleroderma in childhood is not just a skin disease. *Arthritis Rheum*. 2005;52(9):2873-81.
197. Gorkiewicz-Petkow A, Kalinska-Bienias A. Systemic involvement in localized scleroderma/morphea. *Clin Dermatol*. 2015;33(5):556-62.

198. Kim A, Marinkovich N, Vasquez R, Jacobe HT. Clinical features of patients with morphea and the pansclerotic subtype: a cross-sectional study from the morphea in adults and children cohort. *J Rheumatol*. 2014;41(1):106-12.
199. Tollefson MM, Witman PM. En coup de sabre morphea and Parry-Romberg syndrome: a retrospective review of 54 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2007;56(2):257-63.
200. Chiu YE, Vora S, Kwon EKM, Maheshwari M. A Significant Proportion of Children with Morphea En Coup De Sabre and Parry-Romberg Syndrome Have Neuroimaging Findings. *Pediatr Dermatol*. 2012;29(6):738-48.
201. Flores-Alvarado DE, Esquivel-Valerio JA, Garza-Elizondo M, Espinoza LR. Linear scleroderma en coup de sabre and brain calcification: is there a pathogenic relationship? *J Rheumatol*. 2003;30(1):193-5.
202. Zannin ME, Martini G, Athreya BH, Russo R, Higgins G, Vittadello F, et al. Ocular involvement in children with localised scleroderma: a multi-centre study. *Br J Ophthalmol*. 2007;91(10):1311-4.
203. Careta MF, Romiti R. Localized scleroderma: clinical spectrum and therapeutic update. *An Bras Dermatol*. 2015;90(1):62-73.
204. Guariso G, Conte S, Galeazzi F, Vettorato MG, Martini G, Zulian F. Esophageal involvement in juvenile localized scleroderma: a pilot study. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(5):786-9.
205. Arif T, Masood Q, Singh J, Hassan I. Assessment of esophageal involvement in systemic sclerosis and morphea (localized scleroderma) by clinical, endoscopic, manometric and pH metric features: a prospective comparative hospital based study. *BMC Gastroenterol*. 2015;15(1):24.
206. Kasap B, Soylu A, Turkmen M, Goktay Y, Sarioglu S, Ozturk C, et al. Juvenile linear scleroderma with unique forms of renal involvement. *Pediatr Nephrol*. 2009;24(10):2041-5.
207. Wozniak J, Dabrowski R, Luczak D, Kwiatkowska M, Musiej-Nowakowska E, Kowalik I, et al. Evaluation of heart rhythm variability and arrhythmia in children with systemic and localized scleroderma. *J Rheumatol*. 2009;36(1):191-6.
208. Nouri S, Jacobe H. Recent developments in diagnosis and assessment of morphea. *Curr Rheumatol Rep*. 2013;15(2):308.
209. Arkachaisri T, Vilaiyuk S, Li S, O'Neil KM, Pope E, Higgins GC, et al. The localized scleroderma skin severity index and physician global assessment of disease activity: a work in progress toward development of localized scleroderma outcome measures. *J Rheumatol*. 2009;36(12):2819-29.

210. Arkachaisri T, Vilaiyuk S, Torok KS, Medsger TA, Jr. Development and initial validation of the localized scleroderma skin damage index and physician global assessment of disease damage: a proof-of-concept study. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(2):373-81.
211. Vasquez R, Sendejo C, Jacobe H. Morphea and other localized forms of scleroderma. *Curr Opin Rheumatol*. 2012;24(6):685-93.
212. Fett N, Werth VP. Update on morphea: part II. Outcome measures and treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2011;64(2):231-42.
213. Dytoc M, Ting P, Man J, Sawyer D, Fiorillo L. First case series on the use of imiquimod for morphea. *Br J Dermatol*. 2005;153(4):815-20.
214. Pope E, Doria AS, Theriault M, Mohanta A, Laxer RM. Topical imiquimod 5% cream for pediatric plaque morphea: a prospective, multiple-baseline, open-label pilot study. *Dermatology*. 2012;223(4):363-9.
215. Garcia-Romero MT, Laxer R, Pope E. Correlation of clinical tools to determine activity of localized scleroderma in paediatric patients. *Br J Dermatol*. 2016;174(2):408-10.
216. Lis-Święty A, Janicka I, Skrzypek-Salamon A, Brzezińska-Wcisło L. A systematic review of tools for determining activity of localized scleroderma in paediatric and adult patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(1):30-3.
217. Bendeck SE, Jacobe HT. Ultrasound as an outcome measure to assess disease activity in disorders of skin thickening: an example of the use of radiologic techniques to assess skin disease. *Dermatol Ther*. 2007;20(2):86-92.
218. Cosnes A, Anglade MC, Revuz J, Radier C. Thirteen-megahertz ultrasound probe: its role in diagnosing localized scleroderma. *Br J Dermatol*. 2003;148(4):724-9.
219. Su O, Onsun N, Onay HK, Erdemoglu Y, Ozkaya DB, Cebeci F, et al. Effectiveness of medium-dose ultraviolet A1 phototherapy in localized scleroderma. *Int J Dermatol*. 2011;50(8):1006-13.
220. Nezafati KA, Cayce RL, Susa JS, Setiawan AT, Tirkes T, Bendeck SE, et al. 14-MHz ultrasonography as an outcome measure in morphea (localized scleroderma). *Arch Dermatol*. 2011;147(9):1112-5.
221. Li SC, Liebling MS, Ramji FG, Opitz S, Mohanta A, Korniyat T, et al. Sonographic evaluation of pediatric localized scleroderma: preliminary disease assessment measures. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2010;8(1):14.
222. Kreuter A, Hyun J, Stucker M, Sommer A, Altmeyer P, Gambichler T. A randomized controlled study of low-dose UVA1, medium-dose UVA1, and narrowband UVB phototherapy in the treatment of localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 2006;54(3):440-7.

223. Sator P-G, Radakovic S, Schulmeister K, Hönigsmann H, Tanew A. Medium-dose is more effective than low-dose ultraviolet A1 phototherapy for localized scleroderma as shown by 20-MHz ultrasound assessment. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60(5):786-91.
224. Wortsman X, Wortsman J, Sazunic I, Carreño L. Activity assessment in morphea using color Doppler ultrasound. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(5):942-8.
225. Schanz S, Fierlbeck G, Ulmer A, Schmalzing M, Kummerle-Deschner J, Claussen CD, et al. Localized scleroderma: MR findings and clinical features. *Radiology.* 2011;260(3):817-24.
226. Horger M, Fierlbeck G, Kuemmerle-Deschner J, Tzaribachev N, Wehrmann M, Claussen CD, et al. MRI findings in deep and generalized morphea (localized scleroderma). *AJR Am J Roentgenol.* 2008;190(1):32-9.
227. Zulian F, Meneghesso D, Grisan E, Vittadello F, Belloni Fortina A, Pigozzi B, et al. A new computerized method for the assessment of skin lesions in localized scleroderma. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(5):856-60.
228. Seyger MM, van den Hoogen FH, de Boo T, de Jong EM. Reliability of two methods to assess morphea: skin scoring and the use of a durometer. *J Am Acad Dermatol.* 1997;37(5):793-6.
229. Poff S, Li SC, Kelsey C, Foeldvari I, Torok KS. A48: durometer measures discriminate affected versus normal skin in pediatric localized scleroderma. *Arthritis Rheum.* 2014;66(S3):S72-S3.
230. de Rie MA, Enomoto DN, de Vries HJ, Bos JD. Evaluation of medium-dose UVA1 phototherapy in localized scleroderma with the cutometer and fast Fourier transform method. *Dermatology.* 2003;207(3):298-301.
231. Birdi N, Shore A, Rush P, Laxer RM, Silverman ED, Krafchik B. Childhood linear scleroderma: a possible role of thermography for evaluation. *J Rheumatol.* 1992;19(6):968-73.
232. Martini G, Murray KJ, Howell KJ, Harper J, Atherton D, Woo P, et al. Juvenile-onset localized scleroderma activity detection by infrared thermography. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(10):1178-82.
233. Zulian F. New developments in localized scleroderma. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20(5):601-7.
234. Moore TL, Vij S, Murray AK, Bhushan M, Griffiths CE, Herrick AL. Pilot study of dual-wavelength (532 and 633 nm) laser Doppler imaging and infrared thermography of morphea. *Br J Dermatol.* 2009;160(4):864-7.
235. Das S, Bernstein I, Jacobe H. Correlates of self-reported quality of life in adults and children with morphea. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(5):904-10.

236. Baildam EM, Ennis H, Foster HE, Shaw L, Chieng AS, Kelly J, et al. Influence of childhood scleroderma on physical function and quality of life. *J Rheumatol*. 2011;38(1):167-73.
237. Orzechowski NM, Davis DM, Mason TG, 3rd, Crowson CS, Reed AM. Health-related quality of life in children and adolescents with juvenile localized scleroderma. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(6):670-2.
238. Klimas NK, Shedd AD, Bernstein IH, Jacobe H. Health-related quality of life in morphea. *Br J Dermatol*. 2015;172(5):1329-37.
239. Kanoh H, Shu E, Ichiki Y, Seishima M. Localized Scleroderma Presenting as Port-wine Stains: Report of Two Cases and a Literature Review. *Acta dermato-venereologica*. 2015;95(8):1003-4.
240. Ng SS, Tay YK. Inflammatory morphea mimicking an acquired port-wine stain initially treated with pulsed-dye laser. *J Cosmet Laser Ther*. 2015;17(5):277-80.
241. Nijhawan RI, Bard S, Blyumin M, Smidt AC, Chamlin SL, Connelly EA. Early localized morphea mimicking an acquired port-wine stain. *J Am Acad Dermatol*. 2011;64(4):779-82.
242. Jacobe H. Treatment of morphea (localized scleroderma) in adults: Wolters Kluwer; 2016 [updated May 29, 2015. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/treatment-of-morphea-localized-scleroderma-in-adults>.
243. Tay YK. Topical calcipotriol ointment in the treatment of morphea. *J Dermatolog Treat*. 2003;14(4):219-21.
244. Cunningham BB, Landells ID, Langman C, Sailer DE, Paller AS. Topical calcipotriene for morphea/linear scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 1998;39(2 Pt 1):211-5.
245. Dytoc M, Kossintseva I, Ting P. First case series on the use of calcipotriol–betamethasone dipropionate for morphea. *Br J Dermatol*. 2007;157(3):615-8.
246. Kreuter A, Gambichler T, Avermaete A, Jansen T, Hoffmann M, Hoffmann K, et al. Combined treatment with calcipotriol ointment and low-dose ultraviolet A1 phototherapy in childhood morphea. *Pediatr Dermatol*. 2001;18(3):241-5.
247. Stefanaki C, Stefanaki K, Kontochristopoulos G, Antoniou C, Stratigos A, Nicolaidou E, et al. Topical tacrolimus 0.1% ointment in the treatment of localized scleroderma. An open label clinical and histological study. *J Dermatol*. 2008;35(11):712-8.
248. Kroft EB, Groeneveld TJ, Seyger MM, de Jong EM. Efficacy of topical tacrolimus 0.1% in active plaque morphea: randomized, double-blind, emollient-controlled pilot study. *Am J Clin Dermatol*. 2009;10(3):181-7.

249. Dytoc M, Wat H, Cheung-Lee M, Sawyer D, Ackerman T, Fiorillo L. Evaluation of the efficacy and safety of topical imiquimod 5% for plaque-type morphea: a multicenter, prospective, vehicle-controlled trial. *J Cutan Med Surg.* 2015;19(2):132-9.
250. Hunzelmann N, Anders S, Fierlbeck G, Hein R, Herrmann K, Albrecht M, et al. Double-blind, placebo-controlled study of intralesional interferon gamma for the treatment of localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol.* 1997;36(3 Pt 1):433-5.
251. Gordon Spratt EA, Gorcey LV, Soter NA, Brauer JA. Phototherapy, photodynamic therapy and photophoresis in the treatment of connective-tissue diseases: a review. *Br J Dermatol.* 2015;173(1):19-30.
252. Kroft EB, Berkhof NJ, van de Kerkhof PC, Gerritsen RM, de Jong EM. Ultraviolet A phototherapy for sclerotic skin diseases: a systematic review. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(6):1017-30.
253. El-Mofty M, Mostafa W, Esmat S, Youssef R, Bousseila M, Nagi N, et al. Suggested mechanisms of action of UVA phototherapy in morphea: a molecular study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2004;20(2):93-100.
254. Kreuter A, Hyun J, Skrygan M, Sommer A, Tomi NS, Breuckmann F, et al. Ultraviolet A1 phototherapy decreases inhibitory SMAD7 gene expression in localized scleroderma. *Arch Dermatol Res.* 2006;298(6):265-72.
255. Gruss C, Reed JA, Altmeyer P, McNutt NS, Kerscher M. Induction of interstitial collagenase (MMP-1) by UVA-1 phototherapy in morphea fibroblasts. *Lancet.* 1997;350(9087):1295-6.
256. Kreuter A, Hyun J, Skrygan M, Sommer A, Bastian A, Altmeyer P, et al. Ultraviolet A1-induced downregulation of human beta-defensins and interleukin-6 and interleukin-8 correlates with clinical improvement in localized scleroderma. *Br J Dermatol.* 2006;155(3):600-7.
257. Gambichler T, Skrygan M, Tomi NS, Altmeyer P, Kreuter A. Differential expression of decorin in localized scleroderma following ultraviolet-A1 irradiation. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(6):956-9.
258. Brenneisen P, Wlaschek M, Wenk J, Blandschun R, Hinrichs R, Dissemund J, et al. Ultraviolet-B induction of interstitial collagenase and stromelysin-1 occurs in human dermal fibroblasts via an autocrine interleukin-6-dependent loop. *FEBS Lett.* 1999;449(1):36-40.
259. Fagot D, Asselineau D, Bernerd F. Direct role of human dermal fibroblasts and indirect participation of epidermal keratinocytes in MMP-1 production after UV-B irradiation. *Arch Dermatol Res.* 2002;293(11):576-83.
260. Kiss M, Wlaschek M, Brenneisen P, Michel G, Hommel C, Lange TS, et al. Alpha-melanocyte stimulating hormone induces collagenase/matrix

- metalloproteinase-1 in human dermal fibroblasts. *Biol Chem Hoppe Seyler*. 1995;376(7):425-30.
261. Kerscher M, Meurer M, Sander C, Volkenandt M, Lehmann P, Plewig G, et al. PUVA bath photochemotherapy for localized scleroderma. Evaluation of 17 consecutive patients. *Arch Dermatol*. 1996;132(11):1280-2.
 262. Pavlotsky F, Sakka N, Lozinski A, Barzilai A. Bath psoralen-UVA photochemotherapy for localized scleroderma: experience from a single institute. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2013;29(5):247-52.
 263. Grundmann-Kollmann M, Ochsendorf F, Zollner TM, Spieth K, Sachsenberg-Studer E, Kaufmann R, et al. PUVA-cream photochemotherapy for the treatment of localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(4):675-8.
 264. Ozdemir M, Engin B, Toy H, Mevritoglu I. Treatment of plaque-type localized scleroderma with retinoic acid and ultraviolet A plus the photosensitizer psoralen: a case series. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22(4):519-21.
 265. Kerscher M, Dirschka T, Volkenandt M. Treatment of localised scleroderma by UVA 1 phototherapy. *The Lancet*. 1995;346(8983):1166.
 266. Stege H, Berneburg M, Humke S, Klammer M, Grewe M, Grether-Beck S, et al. High-dose UVA 1 radiation therapy for localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 1997;36(6):938-44.
 267. Shalaby SM, Bosseila M, Fawzy MM, Abdel Halim DM, Sayed SS, Allam RS. Fractional carbon dioxide laser versus low-dose UVA-1 phototherapy for treatment of localized scleroderma: a clinical and immunohistochemical randomized controlled study. *Lasers Med Sci*. 2016;31(8):1707-15.
 268. Vasquez R, Jabbar A, Khan F, Buethe D, Ahn C, Jacobe H. Recurrence of morphea after successful ultraviolet A1 phototherapy: A cohort study. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(3):481-8.
 269. El-Mofty M, Mostafa W, El-Darouty M, Bosseila M, Nada H, Yousef R, et al. Different low doses of broad-band UVA in the treatment of morphea and systemic sclerosis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2004;20(3):148-56.
 270. El-Mofty M, Zaher H, Bosseila M, Yousef R, Saad B. Low-dose broad-band UVA in morphea using a new method for evaluation. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*. 2000;16(2):43-9.
 271. Joly P, Bamberger N, Crickx B, Belaich S. Treatment of severe forms of localized scleroderma with oral corticosteroids: follow-up study on 17 patients. *Arch Dermatol*. 1994;130(5):663-4.

272. Seyger MM, van den Hoogen FH, de Boo T, de Jong EM. Low-dose methotrexate in the treatment of widespread morphea. *J Am Acad Dermatol.* 1998;39(2 Pt 1):220-5.
273. Uziel Y, Feldman BM, Krafchik BR, Yeung RS, Laxer RM. Methotrexate and corticosteroid therapy for pediatric localized scleroderma. *J Pediatr.* 2000;136(1):91-5.
274. Kreuter A, Gambichler T, Breuckmann F, Rotterdam S, Freitag M, Stuecker M, et al. Pulsed high-dose corticosteroids combined with low-dose methotrexate in severe localized scleroderma. *Arch Dermatol.* 2005;141(7):847-52.
275. Weibel L, Sampaio MC, Visentin MT, Howell KJ, Woo P, Harper JJ. Evaluation of methotrexate and corticosteroids for the treatment of localized scleroderma (morphoea) in children. *Br J Dermatol.* 2006;155(5):1013-20.
276. Fitch PG, Rettig P, Burnham JM, Finkel TH, Yan AC, Akin E, et al. Treatment of pediatric localized scleroderma with methotrexate. *J Rheumatol.* 2006;33(3):609-14.
277. Kroft EB, Creemers MC, van den Hoogen FH, Boezeman JB, de Jong EM. Effectiveness, side-effects and period of remission after treatment with methotrexate in localized scleroderma and related sclerotic skin diseases: an inception cohort study. *Br J Dermatol.* 2009;160(5):1075-82.
278. Cox D, G OR, Collins S, Byrne A, Irvine A, Watson R. Juvenile localised scleroderma: a retrospective review of response to systemic treatment. *Ir J Med Sci.* 2008;177(4):343-6.
279. Zulian F, Martini G, Vallongo C, Vittadello F, Falcini F, Patrizi A, et al. Methotrexate treatment in juvenile localized scleroderma: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2011;63(7):1998-2006.
280. Mirsky L, Chakkittakandiyil A, Laxer RM, O'Brien C, Pope E. Relapse after systemic treatment in paediatric morphoea. *Br J Dermatol.* 2012;166(2):443-5.
281. Li SC, Torok KS, Pope E, Dedeoglu F, Hong S, Jacobe HT, et al. Development of consensus treatment plans for juvenile localized scleroderma: a roadmap toward comparative effectiveness studies in juvenile localized scleroderma. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2012;64(8):1175-85.
282. Roos N, Poulalhon N, Farge D, Madelaine I, Mauviel A, Verrecchia F. In vitro evidence for a direct antifibrotic role of the immunosuppressive drug mycophenolate mofetil. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;321(2):583-9.
283. Martini G, Ramanan AV, Falcini F, Girschick H, Goldsmith DP, Zulian F. Successful treatment of severe or methotrexate-resistant juvenile localized scleroderma with mycophenolate mofetil. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(11):1410-3.

284. Mertens JS, Marsman D, de van Kerkhof P, Hoppenreijs EP, Knaapen HK, Radstake TR, et al. Use of Mycophenolate Mofetil in Patients with Severe Localized Scleroderma Resistant or Intolerant to Methotrexate. *Acta Dermato-Venereologica*. 2016;96(4):510-3.
285. Caca-Biljanovska NG, Vlckova-Laskoska M, Dervendi D, Pesic N, Laskoski D. Treatment of Generalized Morphea with Oral 1,25-Dihydroxyvitamin D3. *Adv Exp Med Biol*. 1999;455:299-304..
286. Suijlekom-Smit V. Treatment of Linear Scleroderma with Oral 1,25-Dihydroxyvitamin D3 (Calcitriol) in Seven Children. *Pediatr Dermatol*. 1999;16(1):53-8.
287. Hulshof MM, Bouwes Bavinck JN, Bergman W, Masclee AA, Heickendorff L, Breedveld FC, et al. Double-blind, placebo-controlled study of oral calcitriol for the treatment of localized and systemic scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(6):1017-23.
288. Falanga V, Medsger TA, Jr. D-penicillamine in the treatment of localized scleroderma. *Arch Dermatol*. 1990;126(5):609-12.
289. Hanson AH, Fivenson DP, Schapiro B. Linear scleroderma in an adolescent woman treated with methotrexate and excimer laser. *Dermatol Ther*. 2014;27(4):203-5.
290. Diab M, Coloe JR, Magro C, Bechtel MA. Treatment of recalcitrant generalized morphea with infliximab. *Arch Dermatol*. 2010;146(6):601-4.
291. Ferguson ID, Weiser P, Torok KS. A Case Report of Successful Treatment of Recalcitrant Childhood Localized Scleroderma with Infliximab and Leflunomide. *Open Rheumatol J*. 2015;9:30-5.
292. Stausbøl-Grøn B, Olesen AB, Deleuran B, Deleuran MS. Abatacept is a promising treatment for patients with disseminated morphea profunda: presentation of two cases. *Acta Derm Venereol*.. 2011;91(6):686-8.
293. Kineston D, Kwan JM, Uebelhoer NS, Shumaker PR. Use of a fractional ablative 10.6- μ m carbon dioxide laser in the treatment of a morphea-related contracture. *Arch Dermatol*. 2011;147(10):1148-50.
294. Tawfik AA, Shokir H, Soliman M, Salah L, Fathy S. Pulsed dye laser in the treatment of localized scleroderma and its effects on CD34+ and factor XIIIa+ cells: an immunohistochemical study. *Am J Clin Dermatol*. 2013;14(3):235-41.
295. Strauss RM, Bhushan M, Goodfield MJ. Good response of linear scleroderma in a child to ciclosporin. *Br J Dermatol*. 2004;150(4):790-2.
296. Coelho-Macias V, Mendes-Bastos P, Assis-Pacheco F, Cardoso J. Imatinib: a novel treatment approach for generalized morphea. *Int J Dermatol*. 2014;53(10):1299-302.

297. Roldan R, Morote G, Castro Mdel C, Miranda MD, Moreno JC, Collantes E. Efficacy of bosentan in treatment of unresponsive cutaneous ulceration in disabling pansclerotic morphea in children. *J Rheumatol*. 2006;33(12):2538-40.
298. Möhrenschrager M, Jung C, Ring J, Abeck D. Effect of penicillin G on corium thickness in linear morphea of childhood: an analysis using ultrasound technique. *Pediatr Dermatol*. 1999;16(4):314-6.
299. Wach F, Ullrich H, Schmitz G, Landthaler M, Hein R. Treatment of severe localized scleroderma by plasmapheresis--report of three cases. *Br J Dermatol*. 1995;133(4):605-9.
300. Bilen N, Apaydin R, Ercin C, Harova G, Basdas F, Bayramgurler D. Coexistence of morphea and psoriasis responding to acitretin treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1999;13(2):113-7.
301. Cribier B, Faradji T, Le Coz C, Oberling F, Grosshans E. Extracorporeal photochemotherapy in systemic sclerosis and severe morphea. *Dermatology*. 1995;191(1):25-31.
302. Noh JW, Kim J, Kim JW. Localized scleroderma: a clinical study at a single center in Korea. *Int J Rheum Dis*. 2013;16(4):437-41.
303. Zwischenberger BA, Jacobe HT. A systematic review of morphea treatments and therapeutic algorithm. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(5):925-41.
304. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1689S-96S.
305. Mellanby E. Nutrition Classics. The Lancet 1:407-12, 1919. An experimental investigation of rickets. Edward Mellanby. *Nutr Rev*. 1976;34(11):338-40.
306. Norman AW. The history of the discovery of vitamin D and its daughter steroid hormone. *Ann Nutr Metab*. 2012;61(3):199-206.
307. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley P. Studies on experimental rickets XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem*. 1922;53(2):293-312.
308. Hess AF, Weinstock M. Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultra-violet irradiation. *J Biol Chem*. 1924;62(2):301-13.
309. Jarrett P, Scragg R. A short history of phototherapy, vitamin D and skin disease. *Photochem Photobiol Sci*. 2017;16(3):283-90.
310. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;76(3):315-25.
311. Kira M, Kobayashi T, Yoshikawa K. Vitamin D and the skin. *J Dermatol*. 2003;30(6):429-37.

312. Bikle DD. Vitamin D and the skin. *J Bone Miner Metab.* 2010;28(2):117-30.
313. Shahriari M, Kerr PE, Slade K, Grant-Kels JE. Vitamin D and the skin. *Clin Dermatol.* 2010;28(6):663-8.
314. Wolpowitz D, Gilchrist BA. The vitamin D questions: how much do you need and how should you get it? *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(2):301-17.
315. Lips P, Schoor NM, Jongh RT. Diet, sun, and lifestyle as determinants of vitamin D status. *Ann NY Acad Sci.* 2014;1317:92-8
316. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016;96(1):365-408.
317. Zierold C, Nehring JA, Deluca HF. Nuclear receptor 4A2 and C/EBP β regulate the parathyroid hormone-mediated transcriptional regulation of the 25-hydroxyvitamin D 3-1 α -hydroxylase. *Arch Biochem Biophys.* 2007;460(2):233-9.
318. Hu MC, Shiizaki K, Kuro-o M, Moe OW. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:503-33.
319. Zehnder D, Evans KN, Kilby MD, Bulmer JN, Innes BA, Stewart PM, et al. The ontogeny of 25-hydroxyvitamin D 3 1 α -hydroxylase expression in human placenta and decidua. *Am J Pathol.* 2002;161(1):105-14.
320. Lin R. Crosstalk between vitamin D metabolism, VDR signalling, and innate immunity. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1375858.
321. Suda T, Ueno Y, Fujii K, Shinki T. Vitamin D and bone. *J Cell Biochem.* 2003;88(2):259-66.
322. Wimalawansa SJ. Non-musculoskeletal benefits of vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016.
323. Boudville N, Inderjeeth C, Elder G, Glendenning P. Association between 25-hydroxyvitamin D, somatic muscle weakness and falls risk in end-stage renal failure. *Clin Endocrinol.* 2010;73(3):299-304.
324. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW. Vitamin D and muscle function. *Osteoporos Int.* 2002;13(3):187-94.
325. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev.* 1998;78(4):1193-231.
326. Bikle DD. Extra renal synthesis of 1, 25-dihydroxyvitamin D and its health implications. *Clin Rev Bone Miner Metab.* 2009;7(2):114-25.

327. Narvaez CJ, Matthews D, LaPorta E, Simmons KM, Beaudin S, Welsh J. The impact of vitamin D in breast cancer: genomics, pathways, metabolism. *Front Physiol.* 2014;5:213.
328. Brozek W, Manhardt T, Kallay E, Peterlik M, Cross HS. Relative Expression of Vitamin D Hydroxylases, CYP27B1 and CYP24A1, and of Cyclooxygenase-2 and Heterogeneity of Human Colorectal Cancer in Relation to Age, Gender, Tumor Location, and Malignancy: Results from Factor and Cluster Analysis. *Cancers (Basel).* 2012;4(3):763-76.
329. Hager G, Formanek M, Gedlicka C, Thurnher D, Knerer B, Kornfehl J. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ induces elevated expression of the cell cycle-regulating genes P21 and P27 in squamous carcinoma cell lines of the head and neck. *Acta Otolaryngol.* 2001;121(1):103-9.
330. Huynh H, Pollak M, Zhang JC. Regulation of insulin-like growth factor (IGF) II and IGF binding protein 3 autocrine loop in human PC-3 prostate cancer cells by vitamin D metabolite 1,25(OH)₂D₃ and its analog EB1089. *Int J Oncol.* 1998;13(1):137-43.
331. Yang L, Yang J, Venkateswarlu S, Ko T, Brattain MG. Autocrine TGFβ signaling mediates vitamin D₃ analog-induced growth inhibition in breast cells. *J Cell Physiol.* 2001;188(3):383-93.
332. Díaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, Binderup L, Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D₃ and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res.* 2000;60(8):2304-12.
333. Pan L, Matloob AF, Du J, Pan H, Dong Z, Zhao J, et al. Vitamin D stimulates apoptosis in gastric cancer cells in synergy with trichostatin A/sodium butyrate-induced and 5-aza-2'-deoxycytidine-induced PTEN upregulation. *FEBS Journal.* 2010;277(4):989-99.
334. Sergeev IN. Vitamin D and cellular Ca²⁺ signaling in breast cancer. *Anticancer Res.* 2012;32(1):299-302.
335. Demetriou SK, Ona-Vu K, Teichert AE, Cleaver JE, Bikle DD, Oh DH. Vitamin D receptor mediates DNA repair and is UV-inducible in intact epidermis but not cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2012;132(8):2097.
336. Bao BY, Ting HJ, Hsu JW, Lee YF. Protective role of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells. *Int J Cancer.* 2008;122(12):2699-706.
337. Ben-Shoshan M, Amir S, Dang DT, Dang LH, Weisman Y, Mabweesh NJ. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ (Calcitriol) inhibits hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway in human cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2007;6(4):1433-9.

338. Sung V, Feldman D. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 decreases human prostate cancer cell adhesion and migration. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;164(1-2):133-43.
339. Pálmer HG, Anjos-Afonso F, Carmeliet G, Takeda H, Watt FM. The vitamin D receptor is a Wnt effector that controls hair follicle differentiation and specifies tumor type in adult epidermis. *PLoS One.* 2008;3(1):e1483.
340. Zinser GM, Sundberg JP, Welsh J. Vitamin D3 receptor ablation sensitizes skin to chemically induced tumorigenesis. *Carcinogenesis.* 2002;23(12):2103-9.
341. Bijlsma MF, Spek CA, Zivkovic D, van de Water S, Rezaee F, Peppelenbosch MP. Repression of smoothened by patched-dependent (pro-)vitamin D3 secretion. *PLoS Biol.* 2006;4(8):e232.
342. Yin L, Grandi N, Raum E, Haug U, Arndt V, Brenner H. Meta-analysis: Serum vitamin D and colorectal adenoma risk. *Prev Med.* 2011;53(1-2):10-6.
343. Chen P, Hu P, Xie D, Qin Y, Wang F, Wang H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;121(2):469-77.
344. Gandini S, Boniol M, Haukka J, Byrnes G, Cox B, Sneyd MJ, et al. Meta-analysis of observational studies of serum 25-hydroxyvitamin D levels and colorectal, breast and prostate cancer and colorectal adenoma. *Int J Cancer.* 2011;128(6):1414-24.
345. Gilbert R, Martin RM, Beynon R, Harris R, Savovic J, Zuccolo L, et al. Associations of circulating and dietary vitamin D with prostate cancer risk: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Cancer Causes Control.* 2011;22(3):319-40.
346. Garland CF, Garland FC, Gorham ED. Calcium and vitamin D: their potential roles in colon and breast cancer prevention. *Ann NY Acad Sci.* 1999;889(1):107-19.
347. Lagunova Z, Porojnicu AC, Dahlback A, Berg JP, Beer TM, Moan J. Prostate cancer survival is dependent on season of diagnosis. *The Prostate.* 2007;67(12):1362-70.
348. Bolland MJ, Grey A, Gamble GD, Reid IR. Calcium and vitamin D supplements and health outcomes: a reanalysis of the Women's Health Initiative (WHI) limited-access data set. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(4):1144-9.
349. Grant WB. Roles of Solar UVB and Vitamin D in Reducing Cancer Risk and Increasing Survival. *Anticancer Res.* 2016;36(3):1357-70.
350. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-

- dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med.* 2008;168(12):1340-9.
351. Ginde AA, Scragg R, Schwartz RS, Camargo CA. Prospective Study of Serum 25-Hydroxyvitamin D Level, Cardiovascular Disease Mortality, and All-Cause Mortality in Older US Adults. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(9):1595-603.
 352. Parker J, Hashmi O, Dutton D, Mavrodaris A, Stranges S, Kandala NB, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *Maturitas.* 2010;65(3):225-36.
 353. Nsengiyumva V, Fernando ME, Moxon JV, Krishna SM, Pinchbeck J, Omer SM, et al. The association of circulating 25-hydroxyvitamin D concentration with peripheral arterial disease: A meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis.* 2015;243(2):645-51.
 354. Burgaz A, Orsini N, Larsson SC, Wolk A. Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens.* 2011;29(4):636-45.
 355. Kunutsor SK, Apekey TA, Steur M. Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(3):205-21.
 356. Elamin MB, Abu Elnour NO, Elamin KB, Fatourehchi MM, Alkatib AA, Almandoz JP, et al. Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1931-42.
 357. Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, et al. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med.* 2010;152(5):307-14.
 358. Li YC, Kong J, Wei M, Chen Z-F, Liu SQ, Cao L-P. 1, 25-Dihydroxyvitamin D 3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest.* 2002;110(2):229-38.
 359. Thadhani R, Chunlei Z, Fengxiang L, Kejiang C, X D, Goltzman D, et al. Calcium-independent and 1, 25 (OH) 2D3-dependent regulation of the renin-angiotensin system in 1 α -hydroxylase knockout mice. *Kidney Int.* 2008;74(2):170-9.
 360. Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Low 25-hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and metaanalysis. *Clin Chem.* 2013;59(2):381-91.
 361. Khan H, Kunutsor S, Franco OH, Chowdhury R. Vitamin D, type 2 diabetes and other metabolic outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Proc Nutr Soc.* 2013;72(1):89-97.

362. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2008;93(6):512-7.
363. Wolden-Kirk H, Overbergh L, Christesen HT, Brusgaard K, Mathieu C. Vitamin D and diabetes: its importance for beta cell and immune function. *Mol Cell Endocrinol*. 2011;347(1-2):106-20.
364. Earthman C, Beckman L, Masodkar K, Sibley S. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes*. 2012;36(3):387-96.
365. Drincic AT, Armas LA, Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity*. 2012;20(7):1444-8.
366. Lucas RM, Gorman S, Geldenhuys S, Hart PH. Vitamin D and immunity. *F1000Prime Rep*. 2014;6:118.
367. Grad R. Cod and the consumptive: a brief history of cod-liver oil in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Pharm Hist*. 2004;46(3):106-20.
368. Rook GA, Steele J, Fraher L, Barker S, Karmali R, O'Riordan J, et al. Vitamin D₃, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology*. 1986;57(1):159-63.
369. Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃. *The FASEB journal*. 2005;19(9):1067-77.
370. Wang T-T, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, et al. Cutting edge: 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*. 2004;173(5):2909-12.
371. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*. 2006;311(5768):1770-3.
372. Enioutina EY, Bareyan D, Daynes RA. TLR-induced local metabolism of vitamin D₃ plays an important role in the diversification of adaptive immune responses. *J Immunol*. 2009;182(7):4296-305.
373. Froicu M, Cantorna MT. Vitamin D and the vitamin D receptor are critical for control of the innate immune response to colonic injury. *BMC Immunol*. 2007;8(1):5.
374. Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J, Berciano MT, Puig I, Baulida J, et al. Vitamin D₃ promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the

- induction of E-cadherin and the inhibition of β -catenin signaling. *J Cell Biol.* 2001;154(2):369-88.
375. Wang T-T, Dabbas B, Laperriere D, Bitton AJ, Soualhine H, Tavera-Mendoza LE, et al. Direct and indirect induction by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ of the NOD2/CARD15-defensin β 2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *J Biol Chem.* 2010;285(4):2227-31.
376. Mahon BD, Wittke A, Weaver V, Cantorna MT. The targets of vitamin D depend on the differentiation and activation status of CD4 positive T cells. *J Cell Biochem.* 2003;89(5):922-32.
377. Lemire JM, Adams JS, Kermani-Arab V, Bakke AC, Sakai R, Jordan SC. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J Immunol.* 1985;134(5):3032-5.
378. Penna G, Adorini L. 1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol.* 2000;164(5):2405-11.
379. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *J Immunol.* 2007;179(3):1634-47.
380. Toniato E, Spinass E, Saggini A, Kritas SK, Caraffa A, Antinolfi P, et al. Immunomodulatory Effects of Vitamin D on Skin Inflammation. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2015;29(3):563-7.
381. Cantorna MT, Humpal-Winter J, DeLuca HF. Dietary calcium is a major factor in 1, 25-dihydroxycholecalciferol suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *J Nutr.* 1999;129(11):1966-71.
382. Deluca HF, Cantorna MT. Vitamin D: its role and uses in immunology. *FASEB J.* 2001;15(14):2579-85.
383. Gregori S, Giarratana N, Smioldo S, Uskokovic M, Adorini L. A 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes.* 2002;51(5):1367-74.
384. Rosen Y, Daich J, Soliman I, Brathwaite E, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity. *Scand J Rheumatol.* 2016;45(6):439-47.
385. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(9):684-700.
386. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-81.
387. Alagol F, Shihadeh Y, Boztepe H, Tanakol R, Yarman S, Azizlerli H, et al. Sunlight exposure and vitamin D deficiency in Turkish women. *J Endocrinol Invest.* 2000;23(3):173-7.

388. Bilir P, Arsan S, Söylemez F, Öcal G. Vitamin D deficiency in Turkish mothers and their neonates and in women of reproductive age. *J Clin Res Ped Endo*. 2009;1(6):266-9.
389. Aydogmus S, Kelekci S, Aydogmus H, Eriş S, Desdicioğlu R, Yılmaz B, et al. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women in a Turkish population and impact on perinatal outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015;28(15):1828-32.
390. Yavuz DG. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. 2016:119-28.
391. Holick MF, Chen TC, Lu Z, Sauter E. Vitamin d and skin physiology: Ad-lightful story. *J Bone Miner Res*. 2007;22(S2):V28-V33.
392. Ponsonby AL, McMichael A, van der Mei I. Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology*. 2002;181-182:71-8.
393. Norval M, Wulf HC. Does chronic sunscreen use reduce vitamin D production to insufficient levels? *Br J Dermatol*. 2009;161(4):732-6.
394. Vanchinathan V, Lim HW, editors. A dermatologist's perspective on vitamin D. *Mayo Clin Proc*. 2012;87(4):372-80.
395. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(1):53-8.
396. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-30.
397. Vieth R. What is the optimal vitamin D status for health? *Prog Biophys Mol Biol*. 2006;92(1):26-32.
398. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int*. 2010;21(7):1151-4.
399. Lehmann B, Meurer M. Extrarenal sites of calcitriol synthesis: the particular role of the skin. *Vitamin D Analogs in Cancer Prevention and Therapy: Recent Results Cancer Res*. 2003;164:135-4.
400. Pillai S, Bikle DD, Elias PM. 1,25-Dihydroxyvitamin D production and receptor binding in human keratinocytes varies with differentiation. *J Biol Chem*. 1988;263(11):5390-5.

401. Bikle D, Chang S, Crumrine D, Elalieh H, Man M-Q, Choi E, et al. 25-Hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase is required for optimal epidermal differentiation and permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol.* 2004;122(4):984-92.
402. Li YC, Pirro AE, Amling M, Dellling G, Baron R, Bronson R, et al. Targeted ablation of the vitamin D receptor: an animal model of vitamin D-dependent rickets type II with alopecia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(18):9831-5.
403. Choi YS, Zhang Y, Xu M, Yang Y, Ito M, Peng T, et al. Distinct functions for Wnt/ β -catenin in hair follicle stem cell proliferation and survival and interfollicular epidermal homeostasis. *Cell stem cell.* 2013;13(6):720-33.
404. Shah S, Islam MN, Dakshanamurthy S, Rizvi I, Rao M, Herrell R, et al. The molecular basis of vitamin D receptor and beta-catenin crossregulation. *Mol Cell.* 2006;21(6):799-809.
405. Xie Z, Komuves L, Yu Q-C, Elalieh H, Ng DC, Leary C, et al. Lack of the vitamin D receptor is associated with reduced epidermal differentiation and hair follicle growth. *J Invest Dermatol.* 2002;118(1):11-6.
406. Oda Y, Sihlbom C, Chalkley RJ, Huang L, Rachez C, Chang CP, et al. Two distinct coactivators, DRIP/mediator and SRC/p160, are differentially involved in vitamin D receptor transactivation during keratinocyte differentiation. *Mol Endocrinol.* 2003;17(11):2329-39.
407. Hawker NP, Pennypacker SD, Chang SM, Bikle DD. Regulation of human epidermal keratinocyte differentiation by the vitamin D receptor and its coactivators DRIP205, SRC2, and SRC3. *J Invest Dermatol.* 2007;127(4):874-80.
408. Tu C-L, Chang W, Bikle DD. The extracellular calcium-sensing receptor is required for calcium-induced differentiation in human keratinocytes. *J Biol Chem.* 2001;276(44):41079-85.
409. Bikle D, Tu C, Oda Y. Vitamin D and calcium regulation of epidermal wound healing. *J Invest Dermatol.* 2015;135:S121-S.
410. Bikle DD. Vitamin D receptor, a tumor suppressor in skin. *Can J Physiol Pharmacol.* 2014;93(5):349-54.
411. Perez A, Chen TC, Turner A, Raab R, Bhawan J, Poche P, et al. Efficacy and safety of topical calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin d3) for the treatment of psoriasis. *Br J Dermatol.* 1996;134(2):238-46.
412. Barker JN, Ashton RE, Marks R, Harris RI, Berth-Jones J. Topical maxacalcitol for the treatment of psoriasis vulgaris: a placebo-controlled, double-blind, dose-finding study with active comparator. *Br J Dermatol.* 1999;141(2):274-8.

413. Debinska A, Sikorska-Szaflik H, Urbanik M, Boznanski A. The role of vitamin D in atopic dermatitis. *Dermatitis*. 2015;26(4):155-61.
414. Ingen-Housz-Oro S, Boudou P, Bergot C, Ibrahim F, Souberbielle JC, Dubertret L, et al. Evidence of a marked 25-hydroxyvitamin D deficiency in patients with congenital ichthyosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20(8):947-52.
415. Thacher TD, Fischer PR, Pettifor JM, Darmstadt GL. Nutritional rickets in ichthyosis and response to calcipotriene. *Pediatrics*. 2004;114(1):e119-23.
416. Parsad D, Saini R, Nagpal R. Calcipotriol in vitiligo: a preliminary study. *Pediatr Dermatol*. 1999;16(4):317-20.
417. Masood R, Nagpal S, Zheng T, Cai J, Tulpule A, Smith DL, et al. Kaposi sarcoma is a therapeutic target for vitamin D₃receptor agonist. *Blood*. 2000;96(9):3188-94.
418. Bohm M, Luger TA, Bonsmann G. Disseminated superficial actinic porokeratosis: treatment with topical tacalcitol. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40(3):479-80.
419. Chang SE, Jung EC, Hong SM, Choi JH, Sung KJ, Moon KC, et al. Keratosis lichenoides chronica: marked response to calcipotriol ointment. *J Dermatol*. 2000;27(2):123-6.
420. Gniadecki R. Calcipotriol for erythema annulare centrifugum. *Br J Dermatol*. 2002;146(2):317-9.
421. Potter JJ, Liu X, Koteish A, Mezey E. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its nuclear receptor repress human alpha1 (I) collagen expression and type I collagen formation. *Liver Int*. 2013;33(5):677-86.
422. Tao Q, Wang B, Zheng Y, Jiang X, Pan Z, Ren J. Vitamin D prevents the intestinal fibrosis via induction of vitamin D receptor and inhibition of transforming growth factor-beta1/Smad3 pathway. *Dig Dis Sci*. 2015;60(4):868-75.
423. Ren Z, Li W, Zhao Q, Ma L, Zhu J. The impact of 1,25-dihydroxy vitamin D₃ on the expressions of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta(1) in the retinas of rats with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;98(3):474-80.
424. Meredith A, Boroomand S, Carthy J, Luo Z, McManus B. 1, 25 Dihydroxyvitamin D₃ Inhibits TGFβ₁-Mediated Primary Human Cardiac Myofibroblast Activation. *PloS One*. 2015;10(6):e0128655.
425. Zhang GY, Cheng T, Luan Q, Liao T, Nie CL, Zheng X, et al. Vitamin D: a novel therapeutic approach for keloid, an in vitro analysis. *Br J Dermatol*. 2011;164(4):729-37.

426. Isik S, Ozuguz U, Tutuncu YA, Erden G, Berker D, Acar K, et al. Serum transforming growth factor-beta levels in patients with vitamin D deficiency. *Eur J Intern Med.* 2012;23(1):93-7.
427. Usategui A, Criado G, Del Rey MJ, Fare R, Pablos JL. Topical vitamin D analogue calcipotriol reduces skin fibrosis in experimental scleroderma. *Arch Dermatol Res.* 2014;306(8):757-61.
428. Terao M, Yang L, Matsumura S, Yutani M, Murota H, Katayama I. A vitamin D analog inhibits Th2 cytokine-and TGF β -induced periostin production in fibroblasts: a potential role for vitamin D in skin sclerosis. *Dermatoendocrinol.* 2015;7(1):e1010983.
429. Vacca A, Cormier C, Piras M, Mathieu A, Kahan A, Allanore Y. Vitamin D deficiency and insufficiency in 2 independent cohorts of patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2009;36(9):1924-9.
430. Caramaschi P, Dalla Gassa A, Ruzzenente O, Volpe A, Ravagnani V, Tinazzi I, et al. Very low levels of vitamin D in systemic sclerosis patients. *Clin Rheumatol.* 2010;29(12):1419-25.
431. Calzolari G, Data V, Carignola R, Angeli A. Hypovitaminosis D in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2009;36(12):2844-5.
432. Arnson Y, Amital H, Agmon-Levin N, Alon D, Sánchez-Castañón M, López-Hoyos M, et al. Serum 25-OH vitamin D concentrations are linked with various clinical aspects in patients with systemic sclerosis: a retrospective cohort study and review of the literature. *Autoimmun Rev.* 2011;10(8):490-4.
433. Atteritano M, Santoro D, Corallo G, Visalli E, Buemi M, Catalano A, et al. Skin Involvement and Pulmonary Hypertension Are Associated with Vitamin D Insufficiency in Scleroderma. *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):2103.
434. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Tunçbilek E. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. Altıncı Baskı. Güneş Kitabevi; 2005:95-110.
435. Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol.* 1997;11(8):1165-79.
436. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene.* 2004;338(2):143-56.
437. Khan MI, Bielecka ZF, Najm MZ, Bartnik E, Czarnecki JS, Czarnecka AM, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in breast and renal cancer: current state and future approaches (review). *Int J Oncol.* 2014;44(2):349-63.
438. Kılıç S, Silan F, Hız M, Işık S, Öğretmen Z, Özdemir O. Vitamin D Receptor Gene BSMI, FOKI, APAI, and TAQI Polymorphisms and the Risk of Atopic Dermatitis. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;26(2):106-10.

439. Succaria F, Kurban M, Kibbi AG, Abbas O. Clinicopathological study of 81 cases of localized and systemic scleroderma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013;27(2):e191-6.
440. Kreuter A, Wischnewski J, Terras S, Altmeyer P, Stucker M, Gambichler T. Coexistence of lichen sclerosus and morphea: a retrospective analysis of 472 patients with localized scleroderma from a German tertiary referral center. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(6):1157-62.
441. Mertens J, Seyger M, Kievit W, Hoppenreijns E, Jansen T, Kerkhof P, et al. Disease recurrence in localized scleroderma: a retrospective analysis of 344 patients with paediatric-or adult-onset disease. *British Journal of Dermatology.* 2015;172(3):722-8.
442. Kolahi S, Khabbazi A, Khodadadi H, Estiar MA, Hajjaliloo M, Emrahi L, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in Iranian Azary patients with Behcet's disease. *Scand J Rheumatol.* 2015;44(2):163-7.
443. Hekimsoy Z, Dinç G, Kafesçiler S, Onur E, Güvenç Y, Pala T, et al. Vitamin D status among adults in the Aegean region of Turkey. *BMC Public Health.* 2010;10(1):782.
444. Erden G, Ozdemir S, Ozturk G, Erden A, Kara D, Isik S, et al. Vitamin D Levels of Anesthesia Personnel, Office Workers and Outdoor Workers in Ankara, Turkey. *Clin Lab.* 2016;62(5):931-7.
445. Uçar F, Taşlıpınar MY, Soydaş AÖ, Özcan N. Ankara Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesine Başvuran Hastalarda 25-OH Vitamin Düzeyleri. *Eur J Basic Med Sci.* 2012;2(1):12-5.
446. Erkal MZ, Wilde J, Bilgin Y, Akinci A, Demir E, Bodeker RH, et al. High prevalence of vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism and generalized bone pain in Turkish immigrants in Germany: identification of risk factors. *Osteoporos Int.* 2006;17(8):1133-40.
447. Van der Meer I, Middelkoop B, Boeke A, Lips P. Prevalence of vitamin D deficiency among Turkish, Moroccan, Indian and sub-Saharan African populations in Europe and their countries of origin: an overview. *Osteoporos Int.* 2011;22(4):1009-21.
448. Haliloğlu Ö, Kasaci T, Yavuz D. Seasonal vitamin D status and endothelial function in healthcare workers. *Turk J Med Sci.* 2016;46(1):72-8.
449. Cinar N, Harmanci A, Yildiz BO, Bayraktar M. Vitamin D status and seasonal changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in office workers in Ankara, Turkey. *Eur J Intern Med.* 2014;25(2):197-201.
450. Matsuoka LY, Wortsman J, Haddad JG, Kolm P, Hollis BW. Racial pigmentation and the cutaneous synthesis of vitamin D. *Arch Dermatol.* 1991;127(4):536-8.

451. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Positive association between 25-hydroxy vitamin D levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. *Am J Med.* 2004;116(9):634-9.
452. Bogh MK, Schmedes AV, Philipsen PA, Thieden E, Wulf HC. Vitamin D production after UVB exposure depends on baseline vitamin D and total cholesterol but not on skin pigmentation. *J Invest Dermatol.* 2010;130(2):546-53.
453. Mohseni H, Hosseini SA, Amani R, Ekrami A, Ahmadzadeh A, Latifi SM. Circulating 25-Hydroxy Vitamin D Relative to Vitamin D Receptor Polymorphism after Vitamin D3 Supplementation in Breast Cancer Women: A Randomized, Double-Blind Controlled Clinical Trial. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;18(7).
454. Rasheed H, Hegazy RA, Gawdat HI, Mehaney DA, Kamel MM, Fawzy MM, et al. Serum Vitamin D and Vitamin D Receptor Gene Polymorphism in Mycosis Fungoides Patients: A Case Control Study. *PLoS One.* 2016;11(6):e0158014.
455. Sobeih S, Mashaly HM, Gawdat H, Amr K, Hamid MFA, Shaalan E. Evaluation of the correlation between serum levels of vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphisms in an Egyptian population. *Int J Dermatol.* 2016;55(12):1329-35.

EKLER

Ek-1

Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması

Hasta Takip Formu

Tarih:..../..../.....

Hastanın;

1. Adı-Soyadı:
2. Dosya no:
3. Yaş:
4. Cinsiyet: Kadın Erkek
5. Mevsim: Sonbahar Kış İlkbahar Yaz
6. Hastalık süresi:.....
7. Hastalık öncesinde enjeksiyon yapıma hikayesi: Evet Hayır
8. Hastalık öncesinde radyoterapi alma hikayesi: Evet Hayır
9. Tetikleyici ilaç kullanım hikayesi (hastalık başlangıcından 12 ay öncesine kadar)
 - Bisoprolol
 - Bleomisin
 - Peplomisin
 - D-penisilamin
 - Bromokriptin
 - Karbidopa+L-hidroksitriptofan
 - Pentazosin
 - Balicatib
10. Aile hikayesi: Var Yok
11. Tutulan bölgeler:
 - Baş-boyun
 - Üst ekstremit
 - Gövde ön/arka yüz
 - Alt ekstremit

12. Hastalık alt tipi:

- Sınırlı morfea
- Lineer morfea
- Jeneralize morfea (2 ya da daha fazla anatomik bölgede (baş-boyun, gövde ön yüz, gövde arka yüz, her bir ekstremitte) >3 cm 4 ya da daha fazla plak)
- Pankslerotik morfea
- Mikst varyant

13. Aldığı tedavi:

- Topikal tedavi
- Sistemik tedavi
- Fototerapi

14. En az 3 ay tedavi almış olan hastalarda başlangıçtaki belirtilerin azalması durumu var mı? (sertlikte azalma, renkte solma, boyutta küçülme gibi)

- Evet
- Hayır

15. Hastalığın şu andaki aktivite durumu: Stabil Progresif

16. D vitamini desteği alma (son 1 ayda) : Evet Hayır

17. 15. Soruya yanıt evet ise son 1ayda alınan total doz (IU):

18. Deri fototipi:

Fototip	Deri rengi	Özellikler
I	Beyaz, çok açık deri renkli, kızıl veya sarı saçlı, mavi gözlü, çiller mevcut	Her zaman yanar, hiç bronzlaşmaz
II	Beyaz, çok açık deri renkli, kızıl veya sarı saçlı, mavi, ela veya yeşil gözlü,; çok açık renkli beyaz ırk	Genellikle yanar, çok zor bronzlaşır
III	Krem beyaz, açık deri renkli; daha koyu renkli beyaz ırk	Bazen hafifçe yanar, genellikle bronzlaşır
IV	Kahverengi deri renkli; Akdenizli beyaz ırk	Çok nadiren yanar, çok kolay bronzlaşır
V	Koyu kahverengi; Ortadoğulular, İspanyollar, zenciler	Çok çok nadiren yanar, çok kolay bronzlaşır
VI	Siyah; zenciler	Asla yanmaz, çok kolay bronzlaşır

19. Düzenli güneş koruyucu kullanımı: Her zaman Sıklıkla Nadiren
Hiç

20. Eşlik eden hastalık:

- Hipertansiyon
- Tip II Diyabetes mellitus
- Kardiyovasküler hastalık
- Kalp yetmezliği
- Osteoporoz
- Karaciğer yetmezliği
- Nefrotik sendrom
- Kronik böbrek yetmezliği
- Obezite
- Malabsorpsiyon (gluten enteropatisi, kistik fibrozis gibi)
- Hipotiroidi
- Hiperlipidemi
- Diğer

21. Kullanılan ilaçlar:

- Antiepileptik (fenitoin, fenobarbital)
- Antifungal (ketokonazol)
- Glukokortikoid
- Antitüberküloz ilaçları (rifampisin, izoniazid)
- Antiretroviral ilaçlar
- Diğer:.....

Ek-2**Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması****Kontrol Grubu Takip Formu**

Tarih:

...../...../.....

Katılımcının;

1. Adı-Soyadı:
2. Dosya no:
3. Yaş:
4. Cinsiyet: Kadın Erkek
5. Mevsim: Sonbahar Kış İlkbahar Yaz
6. Aile hikayesi: Var Yok
7. D vitamini desteği alma (son 1 ayda) : Evet Hayır
8. 7. Soruya yanıt evet ise son 1 ayda alınan total doz (IU):
9. Düzenli güneş koruyucu kullanımı: Her zaman Sıklıkla Nadiren
Hiç
10. Deri Fototipi:

Fototip	Deri rengi	Özellikler
I	Beyaz, çok açık deri renkli, kızıl veya sarı saçlı, mavi gözlü, çiller mevcut	Her zaman yanar, hiç bronzlaşmaz
II	Beyaz, çok açık deri renkli, kızıl veya sarı saçlı, mavi, ela veya yeşil gözlü,; çok açık renkli beyaz ırk	Genellikle yanar, çok zor bronzlaşır
III	Krem beyaz, açık deri renkli; daha koyu renkli beyaz ırk	Bazen hafifçe yanar, genellikle bronzlaşır
IV	Kahverengi deri renkli; Akdenizli beyaz ırk	Çok nadiren yanar, çok kolay bronzlaşır
V	Koyu kahverengi; Ortadoğulular, İspanyollar, zenciler	Çok çok nadiren yanar, çok kolay bronzlaşır
VI	Siyah; zenciler	Asla yanmaz, çok kolay bronzlaşır

12. Eşlik eden hastalık:

- Hipertansiyon
- Tip II Diyabetes mellitus
- Kardiyovasküler hastalık
- Kalp yetmezliği
- Osteoporoz
- Karaciğer yetmezliği
- Nefrotik sendrom
- Kronik böbrek yetmezliği
- Obezite
- Malabsorpsiyon (gluten enteropatisi, kistik fibrozis gibi)
- Hipotiroidi
- Hiperlipidemi
- Diğer

13. Kullanılan ilaçlar:

- Antiepileptik (fenitoin, fenobarbital)
- Antifungal (ketokonazol)
- Glukokortikoid
- Antitüberküloz ilaçları (rifampisin, izoniazid)
- Antiretroviral ilaçlar

Ek-3**GENETİK ARAŞTIRMALARDA****AYDINLATILMIŞ ONAM**

Hasta Grubu

Sayın.....

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı olarak ‘Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması’ isimli bir araştırma yapılmaktadır. Morfea derinin sertleşmesi, kalınlaşması ile kendini belli eden, nedeni henüz tam olarak bilinmeyen bir deri hastalığıdır. Bu hastalık deriye sınırlı olup genellikle iç organları etkilememektedir. Ancak yerleştiği yere göre baş-boyun bölgesinde ise gözü ve beyni etkileyebilmekte, kol ve bacak üzerinde ise kas dokusunda kayıplara ve eklem hareket kısıtlılıklarına yol açabilmektedir. Bu hastalığa sahip olanların aile bireylerinde de ortaya çıkma ihtimali vardır. Hastalığa neden olan faktörler içerisinde D vitamini ve D vitamininin vücudumuzdaki etkilerini gerçekleştirmesini sağlayan vitamin D reseptörü (VDR) adı verilen proteinin yer alabileceği öngörülmüş olup çalışmamızda VDR proteinin üretilmesini sağlayan gen bölgesinde hastalığı olmayan bireylere göre farklılık olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu tip bir çalışma için az miktarda kan örneği yeterli olmaktadır. Eğer kabul ederseniz sizi de araştırmaya katmak istiyoruz.

Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlarla kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmanızdan dolayı sizden herhangi bir para talep edilmeyecektir. Aynı şekilde size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Toplanan kanlar öncelikle yurt içi, çok gerekli olduğu zaman yurtdışında bir laboratuvarında tetkik edilecektir.

Araştırmaya katılmak isterseniz öncelikle Dr. Sema KOÇ YILDIRIM tarafından muayene edilecek, genetik analiz için kolunuzdan 3 tüp (3+3+3=9 ml) kan alınacaktır.

Kan alınırken iğne batması nedeniyle hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alırken kanamanın uzaması ya da enfeksiyon gelişmesi riskleri olabilir. Yaptığımız testler sadece bu araştırmayla ilgili bir cilt hastalığı taşıyıp taşımadığınızı gösterecektir. Elde edilecek sonuçlar teşhis ve tedavi yönünden ileride bilimsel katkı sağlayabilecektir. Ayrıca bu hastalığa yol açabilecek genleri taşıdığımız belirlense bile bunun sizin tedavinize doğrudan bir katkısı olmayacaktır.

Kişiyi ait genetik bilgiler maddi ve sosyal açıdan istismar edilebilecek bilgilerdir. Örneğin genetik testte biyolojik anne ve babayı belirlemek mümkündür. O nedenle, araştırma sonuçlarının yalnızca bilimsel amaçlarla ve kimliğinizi gizli tutarak kullanılacağını tekrar vurgulamak istiyoruz. Araştırma sonucunda kendinizde bu hastalık görülme bile hastalığa yol açabilecek genleri taşıdığımız ve çocuğunuza kalıtmış olduğunuz

ortaya çıkabilir. Bu bilgileri herhangi bir ücret talep etmeden size bildirebiliriz. Bilgi edinmek istemiyorsanız lütfen yazılı formun altında belirtiniz.

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar saklanabilir ve başka genetik araştırmalarda örneğin kontrol örneği olarak kullanılabilir. Lütfen yazılı formun altındaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyerek bu konudaki görüşünüzü belirtiniz.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler kimlik belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçlar dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Araştırmaya katılmak zorunda olmadığınız gibi araştırmaya katılmayı kabul ettiğinizde, istediğiniz anda ayrılma hakkına da sahipsiniz. Ancak bu kararınızı bize önceden bildirirseniz araştırmanın bozulmasına meydan vermemiş olursunuz. Katılmak istemediğinizde şu anda sürdürülen tedavi işlemleri bundan etkilenmeyecektir.

Katılımcının Beyanı

Dr. Sema KOÇ YILDIRIM tarafından morfea genetiği ile ilgili bir araştırma hakkında bana bilgi verildi. Araştırmanın amacı ve uygulama biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. Araştırma sırasında hastalığımla ilgili sorularım Prof. Dr. Ayşen KARADUMAN, Dr.Sema KOÇ YILDIRIM (0312 305 1706) ve genetik araştırma ile ilgili sorularım için Doç. Dr. İncilay LY (0312 305 1652) ile temas edebileceğim bana bildirildi.

İstediğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılımımın tamamen gönüllü olduğu, katılmam ya da katılıp daha sonra araştırmadan çekildiğim durumda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü onayım ile kendimin katılmasına olurum vardır.

_____	_____	_____	_____
Katılımcı İmza	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel

_____	_____	_____	_____
Veli/Vasi İmza	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel

Tanıktanık	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel
İmza			

Hekim:

Adı Soyadı :

Adres/Tel :

İmza :

Görüşme tarih ve saati: :

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri,

Öğrenmek istiyorum ()

Öğrenmek istemiyorum ()

Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin gelecekte her türlü genetik çalışmada (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

Ek-4**GENETİK ARAŞTIRMALARDA****AYDINLATILMIŞ ONAM****Kontrol Grubu**

Sayın.....

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı olarak ‘Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması’ isimli bir araştırma yapılmaktadır. Morfea derinin sertleşmesi, kalınlaşması ile kendini belli eden, nedeni henüz tam olarak bilinmeyen bir deri hastalığıdır. Bu hastalık deriye sınırlı olup genellikle iç organları etkilememektedir. Ancak yerleştiği yere göre baş-boyun bölgesinde ise gözü ve beyni etkileyebilmekte, kol ve bacak üzerinde ise kas dokusunda kayıplara ve eklem hareket kısıtlılıklarına yol açabilmektedir. Bu hastalığa sahip olanların aile bireylerinde de ortaya çıkma ihtimali vardır. Hastalığa neden olan faktörler içerisinde D vitamini ve D vitamininin vücudumuzdaki etkilerini gerçekleştirmesini sağlayan vitamin D reseptörü (VDR) adı verilen proteinin yer alabileceği öngörülmüş olup çalışmamızda VDR proteinin üretilmesini sağlayan gen bölgesinde hastalığı olmayan bireylere göre farklılık olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu tip bir çalışma için az miktarda kan örneği yeterli olmaktadır. Eğer kabul ederseniz sizi de araştırmaya katmak istiyoruz.

Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlarla kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmanızdan dolayı sizden herhangi bir para talep edilmeyecektir. Aynı şekilde size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Toplanan kanlar öncelikle yurt içi, çok gerekli olduğu zaman yurtdışında bir laboratuvarında tetkik edilecektir.

Araştırmaya katılmak isterseniz öncelikle Dr. Sema KOÇ YILDIRIM tarafından muayene edilecek, genetik analiz için kolunuzdan 3 tüp (3+3+3=9 ml) kan alınacaktır.

Kan alınırken iğne batması nedeniyle hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alırken kanamanın uzaması ya da enfeksiyon gelişmesi riskleri olabilir. Yaptığımız testler sadece bu araştırmayla ilgili bir cilt hastalığı taşıyıp taşımadığınızı gösterecektir. Elde edilecek sonuçlar teşhis ve tedavi yönünden ileride bilimsel katkı sağlayabilecektir. Ayrıca bu hastalığa yol açabilecek genleri taşıdığımız belirlense bile bunun sizin tedavinize doğrudan bir katkısı olmayacaktır.

Kişiyi ait genetik bilgiler maddi ve sosyal açıdan istismar edilebilecek bilgilerdir. Örneğin genetik testte biyolojik anne ve babayı belirlemek mümkündür. O nedenle, araştırma sonuçlarının yalnızca bilimsel amaçlarla ve kimliğinizi gizli tutarak kullanılacağını tekrar vurgulamak istiyoruz. Araştırma sonucunda kendinizde bu hastalık görülme bile hastalığa yol açabilecek genleri taşıdığımız ve çocuğunuza kalıtılmış olduğunuz

ortaya çıkabilir. Bu bilgileri herhangi bir ücret talep etmeden size bildirebiliriz. Bilgi edinmek istemiyorsanız lütfen yazılı formun altında belirtiniz.

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninizle tabidir. Bu örnekler uzun yıllar saklanabilir ve başka genetik araştırmalarda örneğin kontrol örneği olarak kullanılabilir. Lütfen yazılı formun altındaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyerek bu konudaki görüşünüzü belirtiniz.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler kimlik belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçlar dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Araştırmaya katılmak zorunda olmadığınız gibi araştırmaya katılmayı kabul ettiğinizde, istediğiniz anda ayrılma hakkına da sahipsiniz. Ancak bu kararınızı bize önceden bildirirseniz araştırmanın bozulmasına meydan vermemiş olursunuz. Katılmak istemediğinizde şu anda sürdürülen tedavi işlemleri bundan etkilenmeyecektir.

Katılımcının Beyanı

Dr. Sema KOÇ YILDIRIM tarafından morfea genetiği ile ilgili bir araştırma hakkında bana bilgi verildi. Araştırmanın amacı ve uygulama biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. Araştırma sırasında hastalığımla ilgili sorularım Prof. Dr. Ayşen KARADUMAN, Dr.Sema KOÇ YILDIRIM (0312 305 1706) ve genetik araştırma ile ilgili sorularım için Doç. Dr. İncilay LY (0312 305 1652) ile temas edebileceğim bana bildirildi.

İstediğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılımımın tamamen gönüllü olduğu, katılmam ya da katılıp daha sonra araştırmadan çekildiğim durumda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü onayım ile kendimin katılmasına olurum vardır.

_____	_____	_____	_____
Katılımcı İmza	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel

_____	_____	_____	_____
Veli/Vasi İmza	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel

Tanıktanık	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel
İmza			

Hekim:

Adı Soyadı :

Adres/Tel :

İmza :

Görüşme tarih ve saati: :

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri,

Öğrenmek istiyorum ()

Öğrenmek istemiyorum ()

Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin gelecekte her türlü genetik çalışmada (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

Ek-5**Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması****ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN ÇOCUK RIZA FORMU-Hasta Grubu**

Sevgili Kardeşim,

Benim adım Dr. Sema Koç Yıldırım. Morfea, lineer morfea hastalığı ile ilgili bir araştırma yapıyoruz. Amacımız bu hastalarda vitamin D düzeyi ve Vitamin D ile ilgili gen bölgelerindeki değişikliklerin morfea hastalığına yatkınlıkla bir ilişkisi olup olmadığını değerlendirmektir. Araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğiz. Bu araştırmaya katılmanı öneriyoruz.

Araştırmayı ben, Dr. Sema Koç Yıldırım, Prof. Dr. Ayşen Karaduman, Doç. Dr. İncilay Lay ve Dr. Tahmina Najafova birlikte yapıyoruz. Bu araştırmaya katılacak olursan senden kan alacağız. Kan alınırken canın biraz acıyabilir ama çabuk geçecektir.

Bu araştırmanın sonuçları senin gibi morfea hastalığı olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacaktır. Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz, sonuçları bildireceğiz ama senin adını söylemeyeceğiz.

Bu araştırmaya katılıp katılmamak için karar vermeden önce anne ve baban ile konuşup onlara danışmalısın. Onlara da bu araştırmadan bahsedip onaylarını/izinlerini alacağız. Anne ve baban tamam deseler bile sen kabul etmeyebilirsin. Bu araştırmaya katılmak senin isteğine bağlı ve istemezsen katılmazsın. Bu nedenle hiç kimse sana kızmaz ya da küsmez. Önce katılmayı kabul etsen bile sonradan vazgeçebilirsiniz, bu tamamen sana bağlı. Kabul etmediğin durumda da doktorlar muayene ve diğer işlemlerde sana önceden olduğu gibi iyi davranır, önceye göre farklılık olmaz.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek olan soruları istediğin zaman bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim bu kağıtta yazıyor. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan aşağıya lütfen adını ve soyadını yaz ve imzanı at. İmzaladıktan sonra sana ve ailene bu formun bir kopyası verilecektir.

Çocuğun adı, soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı, soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı, soyadı, ünvanı: Sema Koç Yıldırım

Adres :

Tel: 0312 305 1704

İmza:

Ek-6**Lokelize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması****ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN ÇOCUK RIZA FORMU-Kontrol Grubu**

Sevgili Kardeşim,

Benim adım Dr. Sema Koç Yıldırım. Morfea, lineer morfeahastalığı ile ilgili bir araştırma yapıyoruz. Amacımız bu hastalarda vitamin D düzeyi ve Vitamin D ile ilgili gen bölgelerindeki değişikliklerin morfea hastalığına yakınlıkla bir ilişkisi olup olmadığını değerlendirmektir. Araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğiz. Bu araştırmaya katılmanı öneriyoruz.

Araştırmayı ben, Dr. Sema Koç Yıldırım, Prof. Dr. Ayşen Karaduman, Doç. Dr. İncilay Lay ve Dr. Tahmina Najafova birlikte yapıyoruz. Bu araştırmaya katılacak olursan senden kan alacağız. Kan alınırken canın biraz acıyabilir ama çabuk geçecektir.

Bu araştırmanın sonuçları morfea hastalığı olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacaktır. Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz, sonuçları bildireceğiz ama senin adını söylemeyeceğiz.

Bu araştırmaya katılıp katılmamak için karar vermeden önce anne ve baban ile konuşup onlara danışmalısın. Onlara da bu araştırmadan bahsedip onaylarını/izinlerini alacağız. Anne ve baban tamam deseler bile sen kabul etmeyebilirsin. Bu araştırmaya katılmak senin isteğine bağlı ve istemezsen katılmazsın. Bu nedenle hiç kimse sana kızmaz ya da küsmez. Önce katılmayı kabul etsen bile sonradan vazgeçebilirsin, bu tamamen sana bağlı. Kabul etmediğin durumda da doktorlar muayene ve diğer işlemlerde sana önceden olduğu gibi iyi davranır, önceye göre farklılık olmaz.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek olan soruları istediğin zaman bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim bu kağıtta yazıyor. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan aşağıya lütfen adını ve soyadını yaz ve imzanı at. İmzaladıktan sonra sana ve ailene bu formun bir kopyası verilecektir.

Çocuğun adı, soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı, soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı, soyadı, ünvanı: Sema Koç Yıldırım

Adres :

Tel: 0312 305 1704

İmza:

Tarih:

Ek-7**Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması****ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN VELİ ONAM FORMU**

Hasta Grubu

Sayın.....

Morfea, lineer morfea hastalığı ile ilgili bir araştırma yapıyoruz. Amacımız bu hastalarda vitamin D düzeyi ve Vitamin D ile ilgili gen bölgelerindeki değişikliklerin morfea hastalığına yatkınlıkla bir ilişkisi olup olmadığını değerlendirmektir. Araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğiz. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar ve Biyokimya Anabilim Dalları'nın ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmayı ben, Dr. Sema Koç Yıldırım, Prof. Dr. Ayşen Karaduman, Doç. Dr. İncilay Lay ve Dr. Tahmina Najafova birlikte yapıyoruz. Araştırmayı kabul ederseniz çocuğunuz Dr.Sema Koç Yıldırım/Dr. Ayşen Karaduman tarafından muayane edilecektir. Sonrasında çocuğunuzdan 3 tüp (3+3+3=9 ml) kan alınacaktır.

Bu araştırmanın sonuçları morfea hastalığı olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacaktır. Çocuğunuz ile ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacaktır. Ancak çalışmanın kalitesinin denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecek, çalışmaya katıldığınız için size de ek bir ödeme yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır.

Velinin beyanı

Sayın Dr. Dr.Sema Koç Yıldırım/Dr. Ayşen Karaduman tarafından Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar ve Biyokimya Anabilim Dalları'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya çocuğum 'katılımcı' olarak davet edildi.

Eğer bu araştırmaya katılırsak hekim ile aramızda kalması gereken çocuğuma ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum.

Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında çocuğuma ait kişisel bilgilerin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebiliriz. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimizi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca çocuğumun tıbbi durumuna herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabiliriz.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımızda; herhangi bir saatte, Dr. Sema Koç Yıldırım'ı 0312 305 1704 no'lu telefondan ve HÜTF Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı adresinden arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun çocuğumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkisine herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde çocuğumun "katılımcı" olarak yer alması kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Velinin adı, soyadı:

Velinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı, soyadı, ünvanı: Dr. Sema Koç Yıldırım

Adres : HÜTF Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı

Tel: 0312 305 1704

İmza:

Tarih

Ek-8**Lokalize sklerodermalı hastalarda serum vitamin D düzeylerinin ve vitamin D reseptör gen polimorfizminin araştırılması****ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN VELİ ONAM FORMU****Kontrol Grubu**

Sayın.....

Morfea, lineer morfea hastalığı ile ilgili bir araştırma yapıyoruz. Amacımız bu hastalarda vitamin D düzeyi ve Vitamin D ile ilgili gen bölgelerindeki değişikliklerin morfea hastalığına yatkınlıkla bir ilişkisi olup olmadığını değerlendirmektir. Çalışma sırasında hastalığı olanlarla olmayanlar arasında farklılık olup olmadığı da değerlendirilecektir. Araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğiz. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar ve Biyokimya Anabilim Dalları'nın ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmayı ben, Dr. Sema Koç Yıldırım, Prof. Dr. Ayşen Karaduman, Doç. Dr. İncilay Lay ve Dr. Tahmina Najafova birlikte yapıyoruz. Araştırmayı kabul ederseniz çocuğunuz Dr.Sema Koç Yıldırım/Dr. Ayşen Karaduman tarafından muayane edilecektir. Sonrasında çocuğunuzdan 3 tüp (3+3+3=9 ml) kan alınacaktır.

Bu araştırmanın sonuçları morfea hastalığı olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacaktır. Çocuğunuz ile ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacaktır. Ancak çalışmanın kalitesinin denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecek, çalışmaya katıldığınız için size de ek bir ödeme yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz.

Velinin Beyanı

Sayın Dr. Dr.Sema Koç Yıldırım/Dr. Ayşen Karaduman tarafından Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar ve Biyokimya Anabilim Dalları'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya çocuğum 'katılımcı' olarak davet edildi.

Eğer bu araştırmaya katılırsak hekim ile aramızda kalması gereken çocuğuma ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında çocuğuma ait kişisel bilgilerin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebiliriz. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimizi önceden bildirmemim uygun olacağıın bilincindeyim)

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımızda; herhangi bir saatte, Dr. Sema Koç Yıldırım'ı 0312 305 1704 no'lu telefondan ve HÜTF Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı adresinden arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun çocuğumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkisine herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde çocuğumun "katılımcı" olarak yer alması kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Velinin adı, soyadı:

Velinin imzası:

Tarih:

Araştırıcının adı, soyadı, ünvanı: Dr. Sema Koç Yıldırım

Adres : HÜTF Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı

Tel: 0312 305 1704

İmza:

Tarih:

Ek-9



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 1032

Konu :

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 25 EKİM 2016 SALI
Toplantı No : 2016/21
Proje No : GO 16/619 (Değerlendirme Tarihi: 11.10.2016)
Karar No : GO 16/619- 01

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ayşen KARADUMAN' nın sorumlu araştırmacı olduğu, Doç. Dr. İncilay LAY, Dr. Tahmina NAJAFOVA ile birlikte çalışacakları ve Dr. Sema Koç YILDIRIM' nın uzmanlık tezi olan, GO 16/619 kayıt numaralı ve "**Lokalize Sklerodermalı Hastalarda Serum Vitamin D Düzeylerinin Ve Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizminin Araştırılması**" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|------------------------------------------|--------------------------------------------|
| 1. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Başkan) | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Üye) | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye) | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye) | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye) |
| İZİNLİ | |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) | İZİNLİ |
| | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALCIN (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |