

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NON-SEGMENTAL VİTİLİGO İLE HLA GENOTİPİ VE  
OKSİDATİF STRES ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Dr. Yıldız HAYRAN**

**Temel İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2019**



**T.C  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NON-SEGMENTAL VİTİLİGO İLE HLA GENOTİPİ VE  
OKSİDATİF STRES ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Dr. Yıldız Hayran**

**Temel İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr.Füsun ÖZMEN**

**ANKARA  
2019**

**ONAY SAYFASI**

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Non Segmental Vitiligo İle HLA Genotipi ve Oksidatif Stres Arasındaki İlişki**

**Öğrenci: Yıldız HAYRAN**

**Danışman: Doç. Dr. Füsun ÖZMEN**

Bu tez çalışması 09-12-2019 tarihinde jürimiz tarafından "Temel immünoloji Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. A. Lale DOĞAN*  
*Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü*

**Tez Danışmanı:** *Doç. Dr. Füsun ÖZMEN*  
*Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü*

**Üye:** *Prof. Dr. Ayşegül ATAK YÜCEL*  
*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi*



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

12 Aralık 2019



**Prof. Dr. Diclehan Orhan**

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

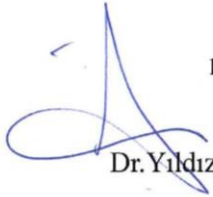
Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayımlanan “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren .. ay ertelenmiştir.<sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

12/12/2019

  
Dr. Yıldız Hayran

1 “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Füsun Özmen danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr.Yıldız Hayran



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca ve tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile bana yardımcı olan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Füsun Özmen'e,

Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalında desteklerini yakından hissettiğim, bilimsel ve sıcak bir öğrenme, çalışma ve üretme ortamı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. A. Lale Doğan, Prof. Dr. Dicle Güç, Prof. Dr. Güneş Esendağlı ve Doç. Dr. Hande Canpınar'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen G. Özge Ergen'e,

Eğitim hayatım boyunca desteklerini hep yanımda hissettiğim sevgili eşim Mutlu Hayran'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yıldız Hayran

## ÖZET

**Hayran Y., Non-Segmental Vitiligo ile HLA Genotipi Ve Oksidatif Stres Arasındaki İlişki, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2019.** Vitiligo deri, deri ekleri ve mukozalarda keskin sınırlı, depigmente yamalarla karakterize kronik, otoimmün bir hastalıktır. Hastalık etiyojisi ve patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik olarak yatkın bireylerde çevresel faktörlerin tetiklediği fonksiyonel melanosit kaybının hastalık oluşumundaki esas etken olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda non-segmental vitiligolu hastalarda hastalık aktivitesi, yaygınlığı ile HLA ve oksidatif stresi yansıtan total antioksidan kapasitesi (TAK) arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniğinde vitiligo tanısıyla takip edilen 91 hasta ve 100 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalarda demografik ve klinik özellikleri kaydedildi. HLA tiplendirimi periferik kandan yapıldı. SSO (Sekans Spesifik Oligonükleotid) PCR (Polymerase chain reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile HLA-A, HLA-DRB1 ve HLA-DQB1 SSO kitleri kullanılarak yapıldı. Hasta ve kontrol grubunda TAK düzeyleri karşılaştırmalı olarak ölçülerek klinik özellikler ile ilişkisi değerlendirildi. Vitiligolu hastalarda HLA-A\*02 allel frekansında artış (risk oranı=2,2; %95 GA=1,20-4,02; p=0,010), HLA-A\*11 (OR: 0,39; %95 GA: 0,17-0,87; p=0,019) ve HLA-DRB1\*01 (OR= 0,39; %95 GA= 0,16-0,92; p=0,029) frekans oranlarında azalma izlendi. HLA-A\*02 alleli özellikle geç başlangıçlı vitiligo (hastalık başlangıç yaşı > 30 yaş) riskinde artışa neden olmaktadır (risk oranı:3,67; %95 GA: 1,63-8,26; p=0,002). HLA-A\*26 alleli erken başlangıçlı vitiligo, HLA-DQB1\*02 ve HLA-DRB1\*07 alleleri yaygın vitiligo ve erken başlangıçlı vitiligo ile ilişkili olduğu gösterildi. Serum TAK düzeyleri vitiligolu hastalar ve sağlıklı kontrollerde benzerdi ve vitiligolu hastalarda TAK düzeyleri ile vitiligo klinik özellikleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı (tüm p>0,05). Ancak serum TAK düzeyleri HLA-DRB1\*01 alleli bulunmayan hastalarda belirgin olarak düşüktü. Çalışmamız HLA-A\*02 allelinin Türk hastalarda vitiligo yatkınlığını arttırdığını, HLA-A\*11 ve HLA-DRB1\*01 allellerinin vitiligo için koruyucu olduğunu göstermiş ve HLA-TAK arasındaki olası bir ilişkiyi ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Vitiligo, deri, HLA, oksidatif stres, TAK



## ABSTRACT

**Hayran Y., The Relationship Between Non- Segmental Vitiligo, HLA Genotype and Oxidative Stress, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Basic Immunology Program, Master's Thesis, Ankara, 2019.** Vitiligo is an autoimmune skin diseases characterized by acquired loss of functional melanocytes. Although the pathogenesis of vitiligo remains poorly understood, oxidative stress and autoimmune dysregulations are considered to play the main role in the apoptosis of melanocytes along with genetic predisposition. The role of HLA in susceptibility to vitiligo has been investigated in Morocco, India and Brazil. Both HLA class I and II alleles were found to increase in vitiligo patients. The aim of this study in to evaluate HLA profile and total antioxidant capacity (TAC) and their relationship to clinical characteristic of vitiligo patients. Ninety-one vitiligo patients and 100 healthy controls were included in the study. Demographic and disease specific features of the patients were recorded. We analyzed HLA frequencies using polymerase chain reaction-sequence-specific primers (PCR-SSO). Serum TAC levels were measured and compared between vitiligo patients and controls. HLA-A\*02 allele frequency was increased (OR=2.2, CI=1.2-4.02, p=0.010), HLA-A\*11 (0,39, CI=0.17-0.87, p=0.019) and HLA-DRB1\*01 (OR=0.39, CI=0.16-0.92, p=0.029) frequencies were decreased in vitiligo patients. HLA-A\*02 allele especially increased the risk of late onset (Vitiligo onset >30 years of age) vitiligo (OR:3.67, 95% CI: 1.63-8.26, p=0.002). HLA-A\*26 allele was associated with early onset vitiligo, HLA-DQB1\*02 and HLA-DRB1\*07 alleles were associated with widespread and early onset vitiligo. Serum TAC levels were similar between vitiligo patients and healthy controls and no significant correlation was observed between TAC levels and diseases characteristics. TAC levels were significantly lower in patients who did not had a HLA-DRB1\*01 allele. Our study showed that HLA-A\*02 increases, HLA-A\*11 and HLA-DRB1\*01 decreases vitiligo susceptibility in Turkish patients as well as a possible relationship between HLA and TAC.

**Key words:** Vitiligo, skin, HLA, oxidative stress

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Vitiligo	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Etyopatogenez	4
2.1.4. Klinik Özellikler	6
2.1.5. Tanı	11
2.1.6. Ayırıcı Tanı	12
2.1.7. Histopatoloji	12
2.1.8. Tedavi	13
2.2. HLA-MHC Sistemi	17
2.2.1. Tarihçe	17
2.2.2. MHC	18
2.2.3. HLA Antijenlerinin Yapısı	20
2.2.4. HLA Antijenlerinin Görevi	21
2.2.5. HLA Moleküllerinin Tiplendirilmesi	22
2.2.6. HLA Antijenlerinin Hastalıklarla İlişkisi	23
2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Korunma	23
2.3.1. Oksidanlar	24
2.3.2. Antioksidanlar	26
2.3.3. Oksidatif Stresin Genetik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Reaksiyonlar Üzerindeki Etkisi	28

2.3.4. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi	30
2.3.5. Oksidatif Stresin Hastalıklarla İlişkisi	30
<b>3. BİREYLER VE YÖNTEM</b>	<b>33</b>
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu	33
3.2. Hastaların Değerlendirilmesi	33
3.3. DNA izolasyonu ve HLA Tiplendirmesi	35
3.4. TAK'ın Değerlendirilmesi	39
3.5. İstatistiksel Analiz	40
<b>4. BULGULAR</b>	<b>41</b>
4.1. Demografik ve Klinik Özellikler	41
4.2. Vitiligolu Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde HLA-A* Allel Sıklıkları	42
4.3. Vitiligolu Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde HLA-DQB1* Allel Sıklıkları	46
4.4. Vitiligolu Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde HLA-DRB1 Allel Sıklıkları	48
4.5. Vitiligo Tanısıyla Takip Edilen Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde Serum TAK Seviyeleri	51
<b>5. TARTIşMA</b>	<b>56</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>68</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>70</b>
<b>8. EKLER</b>	
Ek 1. Etik Kurul Kararı	
Ek 2. Hasta Değerlendirme Formu	
Ek 3. Dijital Makbuz	
Ek 4. Orjinallik Ekran Çıktısı	
<b>9. ÖZGEÇMİş</b>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>8-OH-G</b>	8-hidroksiguanozin
<b>AP-1</b>	Aktivatör protein 1
<b>CAT</b>	Katalaz
<b>CRT</b>	Kalretikülin
<b>CTL</b>	Sitotoksik T lenfosit
<b>CTLA-4</b>	Sitotoksik T hücre ile ilişkili antijen-4
<b>DC</b>	Dendritik hücre
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DOPA</b>	Dihidroksifenilalanin
<b>ER</b>	Endoplazmik Retikulum
<b>GSH</b>	Glutatyon
<b>GSH-Px</b>	Glutatyon peroksidaz
<b>HLA</b>	İnsan lökosit antijen
<b>IgG</b>	İmmün globülin G
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>IκB</b>	Nükleer faktör kappa B inhibitörü
<b>iHSP70</b>	Uyarılabilir ısı şok protieni 70
<b>LC</b>	Langerhans hücresi
<b>MART</b>	T hücrelerince tanınan antijen
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>MHC</b>	Majör doku uygunluk kompleksi
<b>NADPH</b>	Nikotin adenin dinükleotit fosfat
<b>NFAT</b>	Aktive T hücrelerinin nükleer faktörü
<b>NF-κB</b>	Nükleer faktör-kappa B
<b>NOX</b>	NADPH oksidaz
<b>OH</b>	Hidroksil
<b>RA</b>	Retinoik asid
<b>ROR</b>	Reaktif oksijen radikalleri
<b>SOD</b>	Süperoksit dismutaz
<b>SOD2</b>	Manganaz süperoksit dismutaz
<b>SSO</b>	Dizilim spesifik oligonükleotit tiplendirme

<b>SSP</b>	Dizilim spesifik hazırlama
<b>TAK</b>	Total antioksidan kapasite
<b>Th</b>	Yardımcı T hücre
<b>TNF</b>	Tümör nekrozis faktör
<b>Treg</b>	Düzenleyici T hücresi
<b>UPR</b>	Katlanmamış protein yanıtı
<b>UVA</b>	Ultraviöle A
<b>XBP1</b>	X-Box bağlayıcı protein 1

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. El üzerinde depigmente vitiligo yamaları, Ankara Numune EAH Dermatoloji arşivinden	6
2.2. Kaşta lökotrişi, Ankara Numune EAH Dermatoloji arşivinden	7
2.3. Vitiligolu bir hastada saç sakallarda izole beyazlaşma, Ankara Numune EAH Dermatoloji arşivinden	8
2.4. HLA sınıf I, sınıf II ve sınıf III'te yer alan genler	18
2.5. MHC gen kompleksinin kodominant kalıtımı	19
2.6. HLA sınıf I ve sınıf II moleküllerin şematik gösterimi	21
2.7. Enzimatik antioksidanlar ve katalizledikleri reaksiyonlar	27
4.1. Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerin serum TAK düzeylerinin karşılaştırılması	52
4.2. Serum TAK düzeylerinin vitiligo alt tipi (a), hastalık aktivitesi (b) ve başlangıç yaşına (c) göre değişimlerinin karşılaştırılması	53
4.3. Serum TAK düzeyleri ile hastalık yaygınlığı (a), hastalık süresi (b) ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki korelasyonun incelenmesi	54
4.4. HLA-DRB1*01 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların serum TAK seviyelerinin karşılaştırılması	55

**TABLolar**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Vitiligo'nun Klinik Tipleri	8
<b>4.1.</b>	Vitiligolu hastaların klinik özellikleri	42
<b>4.2.</b>	Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde HLA-A allel sıklığı	43
<b>4.3.</b>	HLA-A*02 Alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması	44
<b>4.4.</b>	HLA-A*11 Alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması	45
<b>4.5.</b>	Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde HLA-DQB1 allel sıklığı	46
<b>4.6.</b>	HLADQB1*02 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması	47
<b>4.7.</b>	Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde HLA-DRB1 allel sıklığı	48
<b>4.8.</b>	HLA-DRB1*01 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması	49
<b>4.9.</b>	HLA-DRB1*07 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması	51

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vitiligo deri ve mukozaları tutan, keskin sınırlı ve depigmente yamalarla karakterize kronik otoimmün bir hastalıktır. Sıklığı tüm dünyada değişmekle birlikte ortalama %1 olduğu tahmin edilmektedir. Vitiligo kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülmekle birlikte kadınların hekime başvuru sıklığının erkeklerden fazla olması nedeniyle yapılan çalışmalarda yalancı bir kadın hakimiyeti saptanmaktadır. Vitiligo her yaşta görülmekle birlikte ailede vitiligo hikayesi olan hastalarda daha erken yaşlarda ortaya çıkma eğilimindedir.

Vitiligonun patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Ancak genetik olarak yatkın bireylerde yoğun stress, fiziksel travma, enfeksiyon ve güneş yanığı gibi faktörlerin tetiklediği otoimmün melanosit hasarının hastalık patogenezinde temel mekanizma olduğu düşünülmektedir. Vitiligoda ailesel yatkınlık sıktır. Yapılan çalışmalar vitiligo tanısı alan hastaları %25-50'sinde pozitif aile hikayesi olduğunu göstermiştir (1). Ancak monozigotik ikizlerde vitiligo sıklığının %20-25 olması vitiligonun klasik Mendel yasalarına göre kalıtılmadığını, vitiligonun multifaktöryel bir hastalık olduğunu göstermektedir.

Vitiligoda fonksiyonel melanosit hasarının büyük bir kısmı immün aracıdır. Melanosit hasarından sorumlu primer hücre melanosit spesifik sitotoksik CD8<sup>+</sup> T hücreleridir. Bu hücreler vitiligolu hastaların hem dolaşımlarında hem de perilezyonel deri örneklerinde bol miktarda bulunmaktadır (2-6). CD8<sup>+</sup> T hücreler hastalık aktivitesi ile koreledir ve bu hücreler in vitro melanositleri eradike edilebilir (4).

Vitiligo patogenezinde rol oynayan bir diğer T lenfositler de düzenleyici T hücreleridir (*Reguluar T cell*, Treg). Vitiligo tanısıyla takip edilen hastalarda yapılan çalışmalar vitiligoda Treg'lerde sayıca azalma ve fonksiyonlarında ise bozukluklar saptamışlardır (3, 7, 8). Bu durum bozulmuş periferik tolerans ile sonuçlanır.

Majör doku uygunluk kompleksi (*Major Histocompatibility Complex*, MHC), insanlarda 6. kromozomun kısa kolunda bulunan ve MHC molekülerini kodlayan bir gen kompleksidir. İlk kez insan lökositlerinde tanımlandığından dolayı insan lökosit antijen (*Human leukocyte Antigen*, HLA) olarak da bilinmektedir. MHC kompleksi MHC sınıf I (HLA-A, HLA-B ve HLA-C), MHC sınıf II (HLA-DP, HLA-DQ ve HLA-DR) ve MHC sınıf III olmak üzere üç bölümden meydana gelmektedir. HLA melokülleri intrasellüler ve ekstrasellüler peptitleri CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> T hücrelere sunarak



bu hücelere bağlı immün reaksiyonları başlatırlar. Bu özellikleri ile HLA molekülleri onları kodlayan MHC lokusları birçok inflamatuvar ve otoimmün hastalığın patogenezinde rol almakla suçlanmışlardır.

Reaktif oksijen radikalleri (ROR) normal hücreselel metabolizması sonucu üretilirler. Düşük konsantrasyonlarda hücrenin birçok fizyolojik işlevi için gerekliyken yüksek konsantrasyonlarda başta DNA, lipid, protein olmak üzere birçok hücre bileşeninin yapı ve fonksiyonunu olumsuz yönde etkilemektedirler (9-11). Oksidan/antioksidan dengesinin oksidan lehine değişmesi oksidatif stres olarak isimlendirilir ve nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklar ile kanser gelişimine katkı sağladığı gösterilmiştir (9, 12, 13). Vitiligoda oksidan/antioksidan dengesinde bozukluklar mevcuttur ve buna sekonder epidermiste ROR birikir. Artan ROR DNA, protein ve lipitlerde fonksiyon kaybına neden olur (14, 15). ROR hem direk melanosit hasarı tetiklemesi hem de ROR'ne bağlı değişen proteinlerin otoantijen olarak davranarak otoimmün reaksiyonları tetiklemesi ile melanosit hasarına neden olur.

Çalışmamızda vitiligo tanısıyla takip edilen hastalarda HLA-A, HLA-DQ ve HLA-DR allel sıklıkları ve TAK düzeylerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması ayrıca vitiligolu hastalarda HLA allel sıklıkları ve TAK düzeylerinin vitiligoya ait klinik özellikler ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Vitiligo

#### 2.1.1. Tanım

Vitiligo, fonksiyonel melanositlerin kaybına sekonder gelişen deri, deri ekleri ve mukozalarda keskin sınırlı, depigmente yamalarla karakterize kronik, otoimmün bir hastalıktır.

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Vitiligo en sık görülen depigmentasyon bozukluklarından ve sıklığının tüm dünyada %0,5-2 arasında olduğu tahmin edilmektedir (16, 17). Vitiligo için risk faktörü olabilecek herhangi bir etnik grup bildirilmemiştir. Ancak farklı ülkelerden farklı etnik gruplarda yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda vitiligo sıklığının değiştiği görülmektedir. En yüksek vitiligo prevalansı Hindistan'dan yapılmış bir çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada vitiligo sıklığı %8,8 olarak rapor edilmiştir (18). Vitiligo sıklığı Çin ve Danimarka'da yapılmış çalışmalarda ise sırasıyla %0,093 ve %0,38 olarak raporlanmıştır (19, 20).

Vitiligo tüm yaş grupları göz önüne alındığında kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülür ancak vitiligo kadınlarda 1. dekatta erkeklerde ise 5. dekatta pik yapar. Bu nedenle genç kadınlardaki vitiligo sıklığı genç erkeklerden fazladır (21). Kadın hastalarda kozmetik kaygılar ve bu nedenle hastaneye başvurma oranları fazladır. Bunun sonucunda çalışmalara daha sık dahil edilirler ve bu da vitiligo prevalansında tüm yaş gruplarında yalancı bir kadın hakimiyetinin görülmesine neden olmaktadır (16, 22-24).

Vitiligo hemen her yaşta görülebilir ve yapılan çalışmalarda vitiligonun çocuk ve adölesanlardaki sıklığı ile erişkinlerdeki sıklığı benzerdir (16). Ancak aile hikayesi pozitif olan hastalarda vitiligonun daha erken yaşlarda başladığı gösterilmiştir (1, 25). Pozitif aile hikayesi vitiligolu hastalarda sık görülür. Çalışmalar arası farklar görülmekle birlikte vitiligolu hastalarda pozitif aile hikayesi oranlarının %56,8 gibi yüksek oranlara ulaşabildiği ve pozitif aile hikayesi varlığının vitiligo geliştirme riskini arttırdığı gösterilmiştir (25-28).

### **2.1.3. Etyopatogenez**

Vitiligo genetik ve çevresel faktörlerin neden olduğu multifaktöryel bir hastalıktır. Birçok hastada hastalık başlangıcında yoğun stress, fiziksel travma, enfeksiyon, güneş yanığı gibi tetikleyici faktörlerin varlığından bahseder ancak Koebner fenomeni dışında diğer faktörlerin vitiligoya neden olduğu kanıtlanamamıştır. Hastalığın temelinde deride fonksiyonel melanositlerde total kayıp ya da azalma mevcuttur ve bu kayıpların nedenini açıklamaya yönelik otoimmün, nöronal ve otositotoksik teoriler gibi birçok teori ortaya atılmıştır (29, 30).

#### **Genetik Yatkınlık**

Genetik yatkınlık vitiligo patogenezinde önemli bir yere sahiptir. Yapılan çalışmalarda vitiligo tanısı almış hastaların 1. ve 2. derece akrabalarında vitiligo görülme sıklığının %25-50 arasında değiştiği gösterilmiştir (1). Yine aynı çalışmada vitiligolu hastaların kardeşlerinde vitiligo görülme sıklığının % 6,1 olduğu belirtilmiştir. Çalışmaya dahil edilen monozigot ikizlerde ise vitiligo sıklığının % 23 olması vitiligo kalıtımının klasik Mendel yasaları ile açıklanamayacağı, genetik faktörlerin yanı sıra çevresel tetikleyicilerin de hastalık gelişiminde rol oynadığı görüşünü ortaya atmıştır (1).

#### **Otoimmün Patogenez**

Vitiligo hastaları ve yakınlarında artmış otoimmün hastalık sıklığı vitiligo patogenezinde otoimmün mekanizmaların rol oynayabileceği görüşünü ortaya atmıştır. Vitiligo hastaları ve birinci derece yakınlarında Tip-1 diyabet, Haşimato başta olmak üzere otoimmün tiroid hastalıkları, pernisiyöz anemi, sistemik lupus eritematozus, Addison hastalığı sıklıklarında artış saptanmıştır (1). Vitiligo tedavisinde kullanılan topikal ve sistemik steroid, UVA ile fotokemoterapi ve kalsinörin inhibitörleri gibi immünsüpresif ve immünmodülatör ajanlara hastaların iyi yanıt vermesi de otoimmün teoriyi desteklemektedir (31).

Vitiligolu hastaların kanlarında organ spesifik olan ve organ spesifik olmayan birçok otoantikörün varlığı gösterilmiştir (32). Bu antikorların sıklığı farklı çalışmalarda değişmekte ve antikor saptanan hastaların bazılarında hastalık

görülmemesi nedeniyle antikorların tam işleyişi bilinmemektedir (32-34). Ancak, vitiligo hastalarında artmış organ spesifik otoantikor varlığının gelecekte oluşabilecek bir otoimmün hastalığın habercisi olabileceği gösterilmiştir (35).

Vitiligo patogenezinde humoral immün yanıtın rolü melanositik antijenlere karşı oluşmuş otoantikorların bulunmasıyla belgelenmiştir (36, 37). Bu antikorların ayrıca lezyonel vitiligo epidermisinde kompleman bileşeni C3 ile birlikte bulunabildiği gösterilmiştir (38). Vitiligo patogenezi ile ilişkilendirilmiş en önemli melanositik antijenler tirozinaz, tirozinle ilişkili protein-1 ve -2 (*tyrosinase-related protein-1 ve tyrosinase-related protein-2*, TRP-1 ve TRP-2), glikoprotein 100 (gp100), transkripsiyonel faktörler SOX9 ve SOX10 ve Melanin konsantrasyon edici hormon reseptör 1'dir. (*Melanin-concentrating hormone receptor 1*, MCH-R1) (37, 39-41).

Melanosit spesifik sitotoksik CD8<sup>+</sup> T hücreleri, melanosit hasarından sorumlu primer hücrelerdir. Vitiligolu hastaların periferik kanında yüksek konsantrasyonlarda granzim, perforin ve interferon gama (INF- $\gamma$ ) salgılayabilen melanosit-reaktif sitotoksik T hücreleri bulunur (2-4). Hastalarda ayrıca perilezyonel deri biyopsilerinde artmış lenfositik infiltrasyon mevcuttur ve yapılan çalışmalarda bu T hücrelerin tip-1 efektör yanıtına doğru polarize olduğu gösterilmiştir (4-6). CD8<sup>+</sup> T hücreler hastalık aktivitesi ile korelasyon gösterir ve bu hücreler in vitro melanositleri eradike edilebilir (4). Lezyonlu deriden elde edilen T hücreleri spesifik melanosit antijenlerini tanımak için özelleşirler ve etkilenmemiş normal derideki melanositlere göç ettiklerinde melanositlerin apoptozunu indüklerler (4). CD8<sup>+</sup> T hücreleri aynı zamanda kutanöz lenfosit antijeni (CLA) de eksprese ederler (42). Dolaşımdaki CLA / HLA-DR / CD8<sup>+</sup> T hücreleri de perilezyonel deriye göç eder, aktive olur (granzyme-B<sup>+</sup>, perforin<sup>+</sup>) ve melanosit apoptozunu uyarırlar.

Çok sayıda yeni bulgu vitiligo patogenezinde düzenleyici T hücrelerinin (Treg) kritik rolünü desteklemektedir (7). Nitekim vitiligo hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında self-reaktif T hücrelerinin proliferasyon ve aktivasyonunu baskılayarak periferik toleransın devamını sağlayan Treg hücrelerde azalma görülmüştür (3, 8). Dolaşımdaki Treg hücrelerinin sayısındaki azalmanın yanı sıra bu hücrelerin fonksiyonlarında da bozulma izlenmiştir. Yapılan çalışmalarda aktif vitiligolu hastalarda Treg hücrelerinin uyarılmış CD8<sup>+</sup> T hücrelerin proliferasyon ve sitokin üretimini inhibe etme konusunda yetersiz kaldıkları gösterilmiştir (7).

Vitiligoya özgü bozulmuş sitokin ağı, Treg'lerin azalmasına ve fonksiyonlarının azalmasına katkıda bulunabilir. Treg fonksiyonunun ve proliferasyonunun fizyolojik indükleyicileri olan TGF- $\beta$  ve IL-10'un, aktif vitiligo lezyonlarında azaldığı saptanmıştır (43, 44). Bu durum bozulmuş periferik tolerans ile sonuçlanır. Vitiligo tedavisi için gelecekteki stratejiler arasında, son zamanlarda farelerde yapılan ve ümit verici sonuçları görülen Treg sayısını ve düzenleyici fonksiyonları iyileştirmeyi hedefleyen tedaviler yer alabilir (45).

#### 2.1.4. Klinik Özellikler

Vitiligolu hastalarda en sık normal deri ile çevrili total amelanotik (süt ya da tebeşir beyazı) keskin sınırlı, oval ya da yuvarlak makül ve yamalar görülür (Şekil 2.1.). Epidermal değişikliklerin eşlik etmediği vitiligo lezyonlarında nadiren eritem izlenebilir. Sıklıkla iyi sınırlı ve simetrik olan vitiligo lezyonları, zamanla sentrifugal olarak genişler. Koyu tenli hastalarda ya da bronzlaşma sonrası vitiligo ve normal deri arasındaki kontrast farkı belirginken, açık tenli hastalarda lezyonların tanınması zor olduğundan Wood ışığı ile lezyonların incelenmesi önerilir.



**Şekil 2.1.** El üzerinde depigmente vitiligo yamaları, Ankara Numune EAH Dermatoloji arşivinden

Vitiligo vücudun herhangi bir yerinde ortaya çıkabilir. Ancak normalde göreceli olarak hiperpigmente olan yüz, ellerin dorsal yüzleri, aksilla, umbilikus, inguinal ve anogenital bölgeleri tutma eğilimindedir. Yüzde vitiligo lezyonları sıklıkla periorbital ve perioral bölgelerde, ekstremitelerde ise diz, dirsek ve parmaklarda izlenir. Deride kronik travma ve sürtünmeye maruz kalan bölgeler de (aksilla, inguinal bölge, kemik çıkıntılarının üzerleri, belde kemer ve omuzda askı ile temas eden bölgeler) vitiligonun sık izlendiği lokasyonlardır.

Lökotrişi (Şekil 2.2.) hastaların %10-60'ında izlenir ve hastalık aktivitesi ile korale değildir. Kafada vitiligo lezyonları tek ya da multiple depigmente yamalar, yama oluşturmeyen dağınık beyaz saçlar ya da total depigmentasyon şeklinde prezente olur ve 30 yaşından önce izole olarak saçlarda görülen beyazlaşmaların vitiligonun bir alt tipi olabileceği düşünülmektedir (Şekil 2.3.).



**Şekil 2.2.** Kaşta lökotrişi, Ankara Numune EAH Dermatoloji arşivinden



**Şekil 2.3.** Vitiligolu bir hastada saç sakallarda izole beyazlaşma, Ankara Numune EAH Dermatoloji arşivinden

### **Klinik Sınıflama**

Vitiligo, depigmente lezyonların yaygınlığı ve dağılımı esas alınarak yapılan sınıflamaya göre lokalize, jeneralize ve üniversal olmak üzere üç klinik tipte sınıflandırılabilir (46). Fokal, unilateral (segmental) ve mukozal vitiligo lokalize formun; vulgaris, akrofasiyal, mikst vitiligo ise jeneralize formun alt tipleridir (Tablo 2.1.).

**Tablo 2.1.** Vitiligo'nun Klinik Tipleri

VİTİLİGO KLİNİK TİPLERİ
Lokalize
Fokal
Unilateral/segmental
Mukozal
Jeneralize
Vulgaris
Akrofasiyal
Miks
Üniversal

### **Lokalize vitiligo**

Fokal vitiligo lezyonlarında bir alanda tek ya da multiple depigmente maküller izlenir. Belirgin segmental yayılım göstermemesi ile segmental vitiligodan ayrılır. Çoğunlukla boyun ve gövde yerleşimli olan fokal vitiligo lezyonları çocukluk çağında sık görülür (47).

Ünilateral/segmental vitiligo deride ünilateral tek bir segmentte tek ya da multiple maküllerle karakterizedir. En sık yüzde trigeminal bölgeyi etkilemekle birlikte multiple segment tutulumunun izlendiği ya da diğer vitiligo formları ile birlikte görülen formları da tanımlanmıştır (48). Segmental vitiligo Koebner fenomeninin görülmemesi, otoimmün hastalıklarla birlikteliğinin ve hastalık progresyon riskinin az olması ile diğer vitiligo alt tiplerinde ayrılır (47, 49).

Mukozal vitiligo, dudak başta olmak üzere mukozaların tutulduğu vitiligo tipidir. Mukozal vitiligo lezyonları diğer vitiligo tiplerine eşlik edebildiği gibi izole mukozal lezyonlar şeklinde de görülebilir (50).

### **Jeneralize vitiligo**

Vitiligonun en sık görülen alt tipidir (30). Hastalık başlangıç yaşı genellikle segmentel vitiligo ile karşılaştırıldığında daha geçtir ve depigmente yamalar ekstensör yüzler başta olmak üzere tüm vücutta yaygın olarak izlenir. Jeneralize vitiligonun vulgaris, akrofasiyal vitiligo ve mikst vitiligo olmak üzere üç alt tipi bulunmaktadır.

Vitiligo vulgariste lezyonlar başta el, ayak, diz, dirsekler, perioral bölge, göz çevresi ve genital bölge olmak üzere vücudun her bölgesinde izlenebilir (30).

Akrofasiyal vitiligo, distal ekstremiteler ve yüz tutulumunun görüldüğü vitiligo alt tipidir. Mikst tip ise vitiligonun segmental, akrofasiyal ve vulgaris alt tiplerine ait lezyonların kombinasyonları halinde izlendiği tiptir.

Üniversal vitiligo, tüm vücutta tam ya da tama yakın depigmentasyonun izlendiği tiptir. Üniversal vitiligonun multipl endokrinopatilerle birlikteliği bildirilmiştir (47).

Vitiligonun bu klasik alt tipleri dışında bazı klinik varyantları da tanımlanmıştır. Bunlar; depigmente makülleri çevreleyen eritemli ve eleve sınırın izlendiği İnflamatuvar vitiligo, depigmente maküllerin birkaç milimetre çapında olduğu konfeti benzeri bir görünüm ile karakterize punktat vitiligo, normal ve



depigmente deri arasında hipopigmente üçüncü bir hattın izlendiği trikrom vitiligo, dört ve beş farklı renk tonunun izlendiği kuadrikrom ve pentakrom vitiligodur.

### **Hastalık Seyri**

Vitiligo hastalığının başlangıcı genellikle sinsidir. Vitiligoya ait lezyonlar genellikle ilk bahar ve yaz aylarında bronzlaşmanın etkisi ile normal deri ve depigmente yamalar arasındaki kontrast farkının artması ile fark edilir. Erken lezyonların evrimsel gelişimi tam olarak bilinmemektedir ancak normal görünümlü deride depigmentasyon ile sonuçlanan yavaş ve progresif bir melanin kaybının olduğu, total pigment kaybı sonrası oluşan depigmente maküllerin de sentrifugal olarak yayıldığı düşünülmektedir. Hastalık seyri vakalar arası farklılıklar gösterir. Hastalık yayılımı yeni lezyon çıkışı, var olan lezyonların sentrifugal yayılımı ya da ikisini birlikteliği şeklinde olabilir. Progresyon genellikle yavaştır ve yıllar içinde lezyonlar stabilize olur ancak total vücut depigmentasyonun birkaç hafta için tamamlandığı hızlı progrese olan vitiligolar da bildirilmiştir. Vitiligo lezyonlarında güneş maruziyeti sonrası ya da spontan bir miktar repigmentasyon izlenebilir ancak tam ve stabil spontan repigmentasyon oldukça nadirdir.

### **Hastalık Aktivitesinin Klinik Belirteçleri**

Vitiligo hastalığında aktif ve progresif hastalığın klinik belirteçleri arasında Koebner fenomeni, trikrom lezyonlar, inflamatuvar lezyonlar ve konfeti benzeri lezyonlar sayılabilir. Van Geel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Koebner fenomeni varlığında vitiligo lezyonlarının kapladığı vücut yüzey alanının arttığı ve tedaviye yanıtın azaldığı gösterilmiştir (51). Trikrom lezyonlar depigmente yama ile normal deri arasında hipopigmente geçiş zonunun izlendiği lezyonlardır. Bu prezentasyon aktif, hızlı ilerleyen hastalık ile ilişkili bulunmuştur (52). İnflamatuvar vitiligo vitiligonun nadir bir prezentasyonudur. Özellikle lezyon kenarlarında belirgin eritem, deskuamasyon ve kaşıntı ile karakterize hipopigmente ya da depigmente lezyonlar şeklinde kendini gösterir. Erken histopatolojik incelemede T hücrelerinden zengin belirgin interfaz dermatiti dikkati çeker (53). Lezyonlardaki inflamatuvar faz kısa sürer ancak hızlı depigmentasyon ile sonuçlanır. Konfeti benzeri depigmentasyon geniş depigmente yamaların çevresinde gruplar halinde kümelenmiş 1-5 milimetre

çaplarında depigmente maküller ile karakterizedir. Konfeti benzeri depigmentasyon, Vitiligo Alan Şiddet İndeksi ve Koebner Fenomeni Vitiligo Skoru yüksek olan hastalarda hızlı ilerleyen vitiligonun klinik bir göstergesi olabilir (54).

### **Vitiligo ile İlişkili Hastalıklar**

Vitiligo hastalarında başta diğer otoimmün hastalıklar olmak üzere birçok genetik, kronik ve inflamatuvar hastalığın arttığı gösterilmiştir. Gill ve arkadaşlarının yaptığı ve 1098 vitiligo hastasının dahil edildiği bir çalışmada hastaların %20'sinde en az bir adet otoimmün hastalık saptanmıştır. Hastaların %12,9'unda tiroid hastalıkları, %3,8'inde alopesi areata, %0,9'unda inflamatuvar bağırsak hastalıkları, %0,5'inde pernisiyöz anemi, %0,3'ünde sistemik lupus eritematozus, %0,3'ünde Guillain-Barre sendromu, %0,2'sinde myasthenia gravis ve %0,2'sinde Sjögren sendromu görülmüştür (55). Otoimmün tiroid hastalıkları vitiligo ile ilişkisi en iyi bilinen otoimmün hastalıklardandır. Özellikle vitiligo hastalık süresi uzun, tutulan vücut yüzey alanı geniş olan kadın hastalıklarda otoimmün tiroid hastalıkları riskinin arttığı ve bu hastaların düzenli aralıklarla bu yönden taranmaları gerektiği gösterilmiştir (56). Sedighe ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hastaların %36,7'sında anti-tiroid peroksidaz (anti-TPO) %32,1'inde de anti-tiroglobulin (anti-TG) antikor pozitifliği saptanmakla birlikte kliniğe yansıyan tiroid hastalığı oranı daha düşüktür (57).

Vitiligo ve metabolik sendrom birlikteliği son yıllarda daha fazla araştırılmış ve vitiligo hastalarında glukoz intoleransı ve lipid anormallikleri ile karakterize metabolik sendrom sıklığının arttığı gösterilmiştir (58, 59). Yapılan çalışmalarda melanositlerin yağ dokuda adipositler arasında da bulunduğu ve anti-inflamatuvar/antioksidan etkileri ile metabolik sendrom gelişimini önleyebildiği, vitiligo gelişiminden sonra melanosit kaybı ile metabolik sendrom riskinin arttığı düşünülmektedir (60-62). Vitiligo hastalarında ayrıca Alopesi areata, atopik dermatit ve psoriasis gibi etyopatogenezi vitiligo ile benzer immün aracılı deri hastalıklarının sıklığında da artış görülmektedir (55, 63-65).

#### **2.1.5. Tanı**

Vitiligo hastalığında tanı ayrıntılı öykü ve fizik muayene ile konmaktadır. Yüz, el dorsumları, ekstremitelerin ekstansör yüzleri, aksilla, umbilikus gibi vitiligonun

klasik tutulum alanlarında normal deri ile çevrili yuvarlak ya da oval depigmente yama varlığında tanı koymak oldukça kolaydır. Öyküde lezyonların güneş maruziyeti sonrası belirginleşmesi, fiziksel travma ya da stres sonrası ortaya çıkması, hastada ve ailede otoimmün hastalık varlığı tanıda klinisyene yardımcı olur. Gelişmekte olan vitiligo lezyonlarında ve deri fototipi 1-2 olan açık ten renkli kişilerde normal deri ile vitiligo lezyonları arasında kontrast farkı az olabileceğinden tanıda Wood lambasından faydalanılır (30, 66). Wood lambası 365 nm’de ultraviyole A (UVA) ışığı yayan, depigmente ve hipopigmente lezyonların ayırımında kullanılan bir el cihazıdır. Wood ışığı altında normal deri ve incelenen lezyon arasındaki kontrast farkının artması lezyonun depigmente olduğunu düşündürmektedir.

Vitiligo tanısında nadiren deri biyopsisi ve histopatolojik incelemeye ihtiyaç duyulur. Çok açık ten renkli kişilerde ve yeni oluşmaya başlamış vitiligolarda klinik olarak kesin tanının konulması güç olabilir. Ayrıca vitiligo ayırıcı tanısında düşünülen diğer hastalıkların kesin ekartasyonu için histopatolojik incelemeye ihtiyaç duyulabilir.

### **2.1.6. Ayırıcı Tanı**

Vitiligo hastalığının ayırıcı tanısında birçok enfeksiyon, inflamatuvar hastalık, neoplazi, kimyasal lökoderma ve genetik sendrom yer almaktadır. Komplet depigmentasyon varlığında ayırıcı tanıda öncelikle kimyasal ya da ilaçla indüklenen lökoderma, postinflamatuvar depigmentasyon, melanom ya da skleroderma ile ilişkili lökoderma, treponematosiz ve onkoserkiyazisin geç dönem lezyonları; inkomplet depigmentasyon varlığında ise postinflamatuvar hipopigmentasyon, pitriazis versikolor ve lepra gibi diğer enfeksiyonlar düşünülmesi gerekir.

### **2.1.7. Histopatoloji**

Histopatolojik inceleme vitiligo tanısı için sıklıkla başvuru olan bir yöntem değildir, ancak pitriazis versikolor ve lepra gibi enfeksiyöz hastalıklar; lupus, sarkoidoz ve morfea gibi inflamatuvar hastalardan ayırımında yardımcıdır. Histopatolojisinde vitiligoya benzer total melanosit kaybı izlene ilaç ya da kimyasal madde ile indüklenen lökoderma, piebaldizm ve Waardenburg sendromunun ayırımı güçtür.

Normal deri ile vitiligo lezyonları arasındaki en önemli fark vitiligolu deride izlenen fonksiyonel melanositlerdeki kayıptır (67). Bu kayıp Fontana-Masson boyanma ya da dihidroksifenilalanin (DOPA) tekniği ile doğrulanabilir (68, 69). Aktif ve inaktif melanositlerin değerlendirilmesinde HMB-45, Mel-5 ve NKI/beteb de tanımlanabilecek diğer boyama yöntemleridir (30). Melanositlerde tam kaybın izlendiği klasik vitiligo yamalarının yanı sıra melanositlerin tamamen kaybolmadığı lezyonlar da tarif edilmiştir. Özellikle vitiligo hastalık süresinin uzun olduğu hastalardan alınan biyopsilerde dikkati çeken bu durum, melanositlerin zamanla kendini yenileyebileceği görüşünü ortaya atmıştır (29).

Vitiligo lezyonlarının normal deri ile komşu bölgelerinde melanositler normal derideki melanositlerle karşılaştırıldığında daha büyük görünürler ve intrasitoplazmik vakuoller belirgindir. Ayrıca melanin granülleri ile dolu uzun dendritik uzantıları da dikkati çeker (69).

İnflamatuvar değişiklikler erken ve gelişmekte olan vitiligo lezyonlarında daha siktir. Lezyonal ve peri lezyonal deride CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> lenfositlerden zengin inflamatuvar hücre infiltrasyonu dikkati çekmektedir (70). Fonksiyonel olarak vitiligo hastalarından izole edilen bu hücrelerin lezyonel olmayan deride melanosit spesifik sitotoksositeye neden oldukları gösterilmiştir (4).

### **2.1.8. Tedavi**

Vitiligo tedavisinde birçok farmakolojik, fiziksel ve cerrahi yöntem kullanılmakla birlikte tam kür elde etmek güçtür. Bu nedenle tedavideki öncelikli amaç melanositlerin otoimmün hasarını kontrol altına almak, depigmentasyonu stabilize etmek ve çevre normal deriden vitiligo alanlarına melanosit göçünü uyarak kozmetik olarak kabul edilebilir sonuçlar elde etmektir.

Vitiligo hastalığında kullanılan tedaviler genel olarak medikal ve cerrahi tedaviler olmak üzere iki ana grupta incelenebilir.

### **Kortikosteroidler**

Vitiligonun medikal tedavisinde en sık kullanılan ajanlardandır. Kortikosteroidler etkilerini aktif vitiligo lezyonlarında inflamatuvar yanıtı baskılayarak gösterir. Melanosit bölünmesi ve migrasyonları üzerindeki direkt etkisi

tam olarak aydınlatılamamıştır. Kortikosteroid tedavisine en iyi yanıt çocuklarda ve baş-boyun bölgesi gibi güneş gören bölgelerde izlenmiştir (71).

### **Topikal Kortikosteroid Tedavisi**

Topikal kortikosteroid tedavisi vücut yüzey alanının %10'undan azının etkilendiği lokalize vitiligo hastalığında etkili ve maliyeti düşük bir tedavi olması nedeniyle ilk basamak tedavide en sık tercih edilen ajanlardandır (72). Yapılan bir meta-analizde tutulan vücut yüzey alanının %20'nin altında olan hastalarda sınıf 1 (süperpotent) ya da sınıf 2-3 (yüksek potent) topikal kortikosteroid kullanımı sonrası hastaların yarısında %75 üzerinde repigmentasyon elde edildiği gösterilmiştir (73). Atrofi süperpotent ve potent topikal steroid kullanan hastalarda önemli bir yan etkidir ve hastaların %14 ile %2'sinde izlenmiştir (73). Yan etkilerin minimize edilmesi için sınıf 1 kortikosteroidler 6-8 haftalık sıklıslar halinde ya da haftada iki kez şeklinde, haftanın diğer günlerinde topikal takrolimus ya da daha düşük potentli kortikosteroidler kullanılarak, uygulanması önerilmektedir. Yaklaşık 3 ay sonunda klinik iyileşme görülmezse topikal steroid tedavisi kesilmektedir (72, 74). Topikal steroid tedavisi vitiligoda tek başına ya da topikal tretinoin, topikal kalsipotriol ya da fototerapi ile kombine edilerek kullanılabilir (75-77).

### **Sistemik Kortikosteroid Tedavisi**

Vitiligo hastalığında yüksek doz pulse tedavi, mini pulse tedavi rejimi ya da düşük doz günlük oral doz gibi birçok farklı sistemik kortikosteroid tedavi rejimleri mevcuttur. Sistemik kortikosteroid tedavisinin hızlı ilerleyen vitiligo hastalığında hastalık yayılımını durdurduğu ve repigmentasyonu uyardığı gösterilmiştir (78, 79). Ancak sistemik steroid tedavisinin olası yan etkileri göz önüne alındığında vitiligo tedavisinde kullanımı tartışmalıdır.

### **İntralezyonel Kortikosteroid Tedavisi**

İntralezyonel steroid tedavisinin, enjeksiyonla ilişkili ağrı ve olası atrofi riski nedeniyle vitiligo hastalığının tedavisinde kullanımı önerilmemektedir.

## **Topikal Kalsinörin İnhibitörleri**

Topikal takrolimus %0,1 pomad ve pimekrolimus %1 kremin vitiligo tedavisinde etkin olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Özellikle pediatrik hastalardaki tedavi yanıt oranları topikal steroid tedavileri ile benzer bulunmuş ve atrofiye yol açmadığından çocuklarda ve derinin ince olduğu göz çevresi ve benzeri bölgelerde kullanımının güvenli olduğu belirtilmiştir (80). Topikal kalsinörin inhibitörleri tedavisinde en iyi yanıt yüz lezyonlarında ve/veya güneş maruziyeti ile kombinasyonunda elde edilirken, ekstremitte lezyonları gibi dirençli vitiligolarda hastaların oklüzyon tedavisinden yarar gördükleri gösterilmiştir (80-82). Topikal kalsinörin inhibitörleri vitiligo tedavisinde tek başına ya da topikal steroidler, dar band UVB fototerapi ve 308 nm Excimer lazer ile kombine edilerek kullanılabilir (83, 84). Uygulama bölgesinde yanma, batma, kaşıntı ve irritasyon en sık görülen yan etkilerdir (81).

## **Foto(kemo)terapi**

Dar band UVB tedavisi immünosüpresif etkisinin yanı sıra melanosit diferansiyasyon ve melanin üretimini uyarması ile vitiligo tedavisinde kullanılan etkili bir ajandır (85). Vücut yüzey alanının %20'sinden fazlasının etkilendiği vitiligo hastalarında etkili ve güvenilir bir tedavi seçeneğidir. Tedavi dozu 100-250 mJ/ cm<sup>2</sup> olacak şekilde başlanır ve minimal eritem dozuna ulaşıncaya kadar her seansta %10-20 oranında doz artışı uygulanır. Tedavi haftada 2-3 gün uygulanır ve tedavinin 6. ayında klinik yanıt elde edilmezse hasta yanıtızsız kabul edilerek tedavi sonlandırılır (86). Psöralen UVA (PUVA) tedavisi ile karşılaştırıldığında dar band UVB tedavisi hem daha etkili hem de yan etki bakımından daha güvenilir bulunmuştur (87, 88).

## **Sistemik Tedaviler**

### **Sistemik Kortikosteroid Tedavisi**

Vitiligo hastalığında yüksek doz pulse tedavi, mini pulse tedavi rejimi ya da düşük doz günlük oral doz gibi birçok farklı sistemik kortikosteroid tedavi rejimleri mevcuttur. Sistemik kortikosteroid tedavisinin hızlı ilerleyen vitiligo hastalığında hastalık yayılımını durdurduğu ve repigmentasyonu uyardığı gösterilmiştir (78, 79).

Ancak sistemik steroid tedavisinin olası yan etkileri göz önüne alındığında vitiligo tedavisinde kullanımı tartışmalıdır.

### **Diğer İmmünsüpresif ve Biyolojik Tedaviler**

Vitiligolu hastalarda sistemik immünsüpresif tedavilerin değerlendirildiği çalışmalar sınırlıdır ve genellikle sınırlı sayıda hastanın dahil edildiği vaka kontrol çalışmaları ya da vaka serileri şeklindedir.

Sistemik siklosporin tedavisi 6mg/kg/gün dozunda kullanılabilir ancak tedavi etkinliği düşük düzeydedir (82). Benzer şekilde siklofosfamid 50 mg, 2 kez gün dozunda kullanıldığında vitiligoda repigmentasyon alanlarının görüldüğü bildirilmiştir (82).

Anti-TNF- $\alpha$  ajanlarının vitiligodaki yerinin değerlendirildiği çalışmalarda etanersept tedavisinin vitiligo lezyonlarında değişikliğe neden olmadığını ancak infliksimab tedavisi ile kısmi yanıt edildiği bildirilmiştir (89, 90).

Son yıllarda vitiligo patogenezi ile ilgili yapılan çalışmalar yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesini sağlamışlardır. Janus kinase inhibitörlerinin (tofositinib ve ruksolitinin) kullanıldığı vaka raporlarında vitiligo lezyonlarında repigmentasyon bildirilmiştir (91, 92). Bir başka vaka raporunda topikal Janus kinase kullanımı ile yüz lezyonlarında belirgin repigmentasyon elde edildiği belirtilmiştir (93).

### **Cerrahi Tedaviler**

Cerrahi tedaviler, klasik vitiligo tedavisine yanıt vermeyen, sınırlı ve stabil vitiligosu olan hastalarda uygulanmaktadır. Bu amaçla otolog deri greftleme, dermoepidermal bileşkeyi içeren ince greftler, emme büllerinin oluşturulması, kültüresüz epidermal süspanسیونların nakli ve benzeri yöntemlerle sağlıklı melanosit ve keratinositler vitiligolu alana nakledilerek vitiligo bölgesinde çoğalmaları sağlanır (82).

### **Depigmentasyon Tedavisi**

Vitiligo lezyonlarının vücut yüzey alanının %50'den fazlasını kaplayan hastalarda, vücutta vitiligo lezyonlarının sınırlı olduğu ancak el ve yüz gibi bölgelerde yaygın lezyonları olan hastalarda ve klasik vitiligo tedavisine yanıt vermeyen

hastalarda depigmentasyon tedavisi klinik olarak kabul edilebilir sonuçlar verebilir. Monobenzen etil ester (MBEH) depigmentasyon tedavisinde kullanılan bir hidrokinon türevidir (82). Topikal olarak %20 MBEH içeren kremler günde 2-3 kez olacak şekilde depigmentasyonun elde edilmek istendiği bölgeye uygulanır.

MBEH tedavisinin yanı sıra kriyoterapi ve Alexandrite lazerler depigmentasyon amaçlı kullanılabilen diğer tedavilerdir (82, 94).

## 2.2. HLA-MHC Sistemi

Bağışıklık sistemi organizmayı enfeksiyöz ya da enfeksiyöz olmayan tehlikelerden korumak için yabancı antijenleri tanıyarak onlarla savaşmak üzere özelleşmiştir. Bu korumada T hücreleri çok önemli rol oynarlar. T hücreleri antijen sunucu hücrece spesifik yüzey moleküllerinde sunulan protien yapıdaki antijenleri tanıyarak immün yanıt oluştururlar. Hücre yüzeyinde bulunarak T hücrelerine antijen prezentasyonunda görev alan bu moleküller MHC (*major histocompatibility complex*, majör doku uygunluk kompleksi) olarak adlandırılırlar.

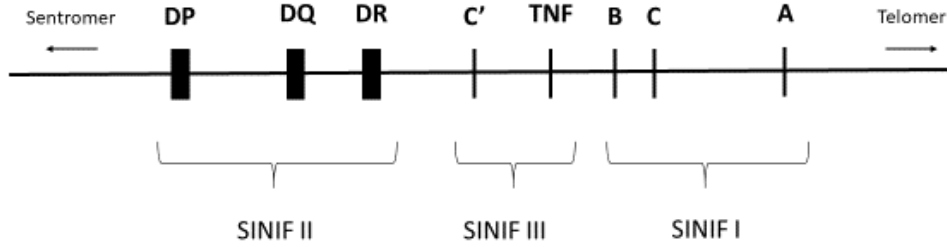
### 2.2.1. Tarihçe

İlk kez 1936 yılında Peter Gorer fare eritrositlerinin tavşan serumunu aglütine ettiği gösterilmiştir. Sonraki yıllarda George Snell ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda farklı genetik yapılara sahip farelerde tümör ve doku nakillerinin rejeksiyon ile sonuçlandığı gösterilmiştir ve bu rejeksiyonun sebebinin 6. kromozomda bulunan gen kompleksindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. 6. kromozom üzerinde bulunan bu dev gen kompleksi MHC olarak isimlendirilmiştir. 1952 yılında Jean Dausset daha önce fare eritrositleri üzerinde gösterilen antijenlerin benzerlerinin insan lökositleri üzerinde de bulunduğunu kanıtlamıştır. İlk kez insan lökositleri üzerinde gösterildiğinde bu antijenler HLA (human lökosit antijeni) adını almıştır (95). Baruj Benacerraf ve arkadaşlarının 1960'lı yıllarda yaptıkları çalışmaları ile farklı türlere ait canlıların aynı antijen ile karşılaştıklarında o antijene karşı farklı antikor ürettiklerini gösterilmesi ile HLA'nın immün yanıtındaki önemini anlaşılmaya başlanmıştır. Snell, Dausset ve Benacerraf, HLA ile ilgili çalışmaları nedeniyle 1980 yılında Nobel Tıp ve Fizyoloji Ödülüne layık görülmüşlerdir.



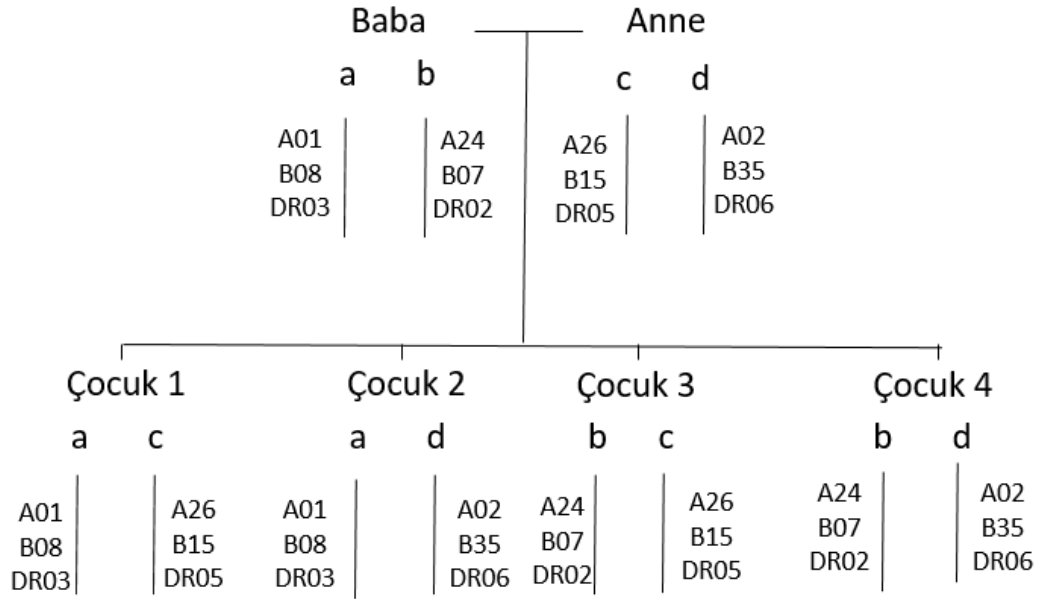
### 2.2.2. MHC

Majör doku uygunluk kompleksi, insanlarda 6. kromozomun kısa kolunda bulunan ve MHC molekülerini kodlayan bir gen kompleksidir. MHC kompleksi MHC sınıf I, MHC sınıf II ve MHC sınıf III olmak üzere üç bölgeden meydana gelmektedir. MHC class I'de başta HLA-A, B ve C olmak üzere E, F, G, H ve X molekülleri; MHC class II'de başta HLA DP, DQ ve DR olmak üzere DM ve TAP molekülleri kodlanır. MHC class III'te HLA molekülleri kodlanmaz. Bu bölgede tümör nekrozis faktör (TNF), kompleman komponentleri (C2, C4, faktör B) ve benzeri inflamasyonda önemli görevler alan faktörleri kodlanır (Şekil 2.1.).



**Şekil 2.4.** HLA sınıf I, sınıf II ve sınıf III'te yer alan genler

HLA genleri yakından bağlantılıdır ve tüm MHC gen kompleksi her iki ebeveyinden kodominant Mendel yasalarına göre kalıtılır. Bir aile içindeki HLA haplotiplerinin ayrılması aile HLA çalışmaları ile belirlenebilir (Şekil 2.2.). İki kardeş %25 ihtimalle aynı HLA dizilimlerine sahipken, %50 ihtimalle tek bir haplotipi paylaşır ve %25 ihtimalle ortak haplotipe sahip olmazlar.



**Şekil 2.5.** MHC gen kompleksinin kodominant kalıtımı

HLA haplotiplerindeki farklı HLA lokuslarında yer alan rastgele antijen kombinasyonu sayısı muazzamdır, ancak bazı HLA haplotipleri bazı popülasyonlarda şans eseri beklenenden daha sık bulunur. Örneğin HLA-A1, B8 ve DR17 haplotipi, %5'lik bir sıklıkla beyaz ırkta en sık görülen HLA haplotipidir.

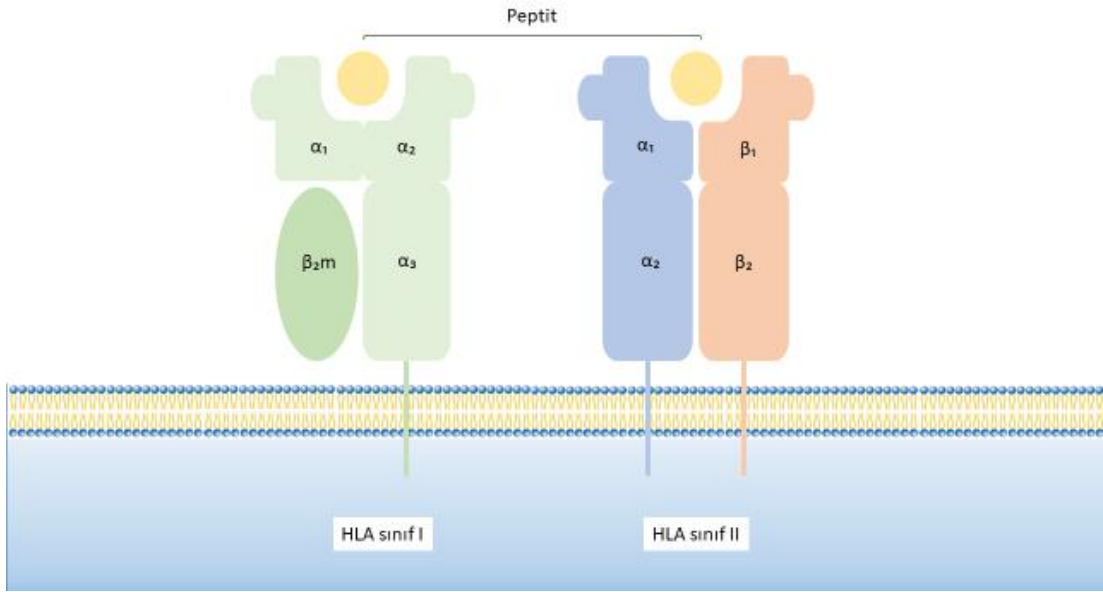
MHC, insanlarda bilinen en polimorfik antijenlerdir. MHC polimorfizmi özellikle antijen bağlama bölgelerini kodlayan genlerde yoğun olup tüm molekül boyunca dağılmamıştır (96). Oluktaki amino asit değişiklikleri oluşturan değişikliklere neden olur. Bu da farklı peptitlerin bağlanabildiği farklı alanlar oluşturur (97). HLA antijenlerinin dağılımı ve sıklığı farklı etnik gruplar arasında değişiklik gösterir. Farklı coğrafik bölgelerde izlenen HLA polimorfizm değişiklikleri, bu bölgelerdeki enfeksiyon ya da inflamatuvar selektif basınca sekonder evrimleştiği ve değişime uygun bireylerin hayatta kalarak o bölgedeki popülasyonu oluşturdukları düşünülmektedir.

### 2.2.3. HLA Antijenlerinin Yapısı

HLA sınıf I molekülleri tüm çekirdekli hücrelerde eksprese edilirken HLA sınıf II molekülleri başta makrofajlar olmak üzere dendritik hücreler, endotel hücreleri ve B hücreler gibi antijen sunucu hücrelerinde yüzeylelerinde eksprese edilir.

Sınıf I moleküller HLA sınıf I genleri tarafından kodlanan glikozillenmiş ağır zincir ve ona kovalent olmayan bağlarla bağlanmış ekstrasellüler  $\beta_2$  mikroglobülininden ( $\beta_{2m}$ ) meydana gelmektedir (Şekil 2.3) (98). Sınıf I ağır zincir 3 ekstrasellüler bölge ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  ve  $\alpha_3$ ), bir transmembran ve bir intrasitoplazmik bölgeye sahiptir.  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$  bölgeleri çok değişken amino asit sekanslarına sahiptir ve bu değişken alanlar HLA sınıf I moleküllerin antijenik spesifitesini tayin ederler.  $\alpha_3$  ve  $\beta_{2m}$  bölgeleri immün globülin benzeri bölgeyi oluştururlar (99). Ağır zincir  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$  alanları 8 antiparalel  $\beta$  iplikleri ve 2 antiparalel  $\alpha$  heliksinden oluşan özel bir oluk oluştururlar. Bu oluğa, sunulacak olan 8-10 amino asit uzunluğundaki peptitler bağlanır.

Sınıf II gen ürünleri olan DR, DP ve DQ birbirine kovalent olmayan bağlarla bağlanmış iki glikozillenmiş polipeptit zincirinden oluşur ( $\alpha$  ve  $\beta$ ) (Şekil 2.3).  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerinin genel yapıları birbirine benzerdir. Sınıf II HLA molekülleri, ekstrasellüler bölüm;  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  ve  $\beta_2$  olarak bilinen bölgeler, kısa bir transmembran ve bir sitoplazmik bölümden oluşurlar. Polipeptit zincirlerinin  $\alpha_1$  ve  $\beta_1$  bölgeleri antijen sunum oluşunu oluştururlar ve oluşun her iki kenarı açık olduğundan 12 amino asit ve daha uzun peptitlerin bağlanmalarına olanak sağlar.



**Şekil 2.6.** HLA sınıf I ve sınıf II moleküllerin şematik gösterimi

#### 2.2.4. HLA Antijenlerinin Görevi

Zinkernagel ve Dougherty 1974 yılında T lenfositlerin immün yanıtı indüklemeleri için antijen sunan hücrelerdeki MHC moleküllerini tanıyan uygun reseptörlere sahip olmaları gerektiğini gösterdi (100). Sunulacak olan peptidin MHC moleküllerine bağlı olduğu ve peptit-MHC komplekslerin hücre yüzeyinde T hücresi reseptörü tarafından tanındığı fenomene MHC kısıtlaması adı verilir.

HLA moleküllerinin spesifik peptit bağlama özellikleri, peptit bağlama ceplerinde (*pocket*) lokalize sınırlı sayıda amino asit dizileri tarafından belirlenir (101). Farklı HLA molekülleri, bağlı peptit dizilerinde karakteristik amino asit paternlerine sahiptir (97).

Sınıf I veya Sınıf II HLA moleküllerine bağlanacak olan peptitlerin yapısı ve kaynağı farklıdır. Sınıf I moleküllerle T hücrelerine sunulan antijenler hedef hücrede üretilmiş endojen antijenlerken, sınıf II moleküllerle T hücrelerine sunulan antijenler ekzojen kaynaklı antijenlerdir (102). Sınıf I moleküller tüm çekirdekli hücreler tarafından eksprese edilir ve sınıf I molekül-peptit kompleksi CD8<sup>+</sup> T lenfosit yüzeyinde bulunan T hücre reseptörü tarafından tanınır (103). Sınıf II ekspresyonu genel olarak B lenfositler, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler ve Langerhans

hücreleri başta olmak üzere profesyonel antijen sunucu hücreler ile sınırlıdır. Ekstrasellüler ekzojen proteinler endositoz ile hücre içine alınır ve asidik endozomal kompartmanlarda degrade edilir. Oluşan peptitler sınıf II molekülere bağlanır ve HLA-peptit kompleksi CD4<sup>+</sup> T reseptörü tarafından tanınmak üzere hücre yüzeyine taşınır (104).

### **2.2.5. HLA Moleküllerinin Tiplendirilmesi**

#### **Serolojik Yöntemler**

Kompleman aracılı mikrolenfositotoksosite yöntemi HLA sınıf I ve sınıf II antijenlerin tayini için kullanılan standart serolojik tiplendirme yöntemidir. Periferik kan lenfositleri HLA sınıf I antijenlerini eksprese ederler ve bu nedenle HLA-A, HLA-B ve HLA-C'nin serolojik tiplendirilmesinde kullanılırlar. HLA sınıf II moleküllerin tiplendirilmesi için B lenfositler kullanılır. Serolojik tiplendirmede, her bir kuyucukta bilinen HLA spesifitesine sahip serum içeren 60-72 kuyucuklu plaklar kullanılır. Lenfositler kuyucuklara eklenerek inkübe edilir ve lenfositlerde antikor bağımlı lizis oluşturmak üzere kompleman eklenir. Antijen ve antikor bağlanmasının olduğu alanlarda lizis izlenir ve canlı/ölü ayrımı yapılarak antijen tayini yapılır.

#### **Moleküler Yöntemler**

Son yıllarda HLA tiplendirmesinde moleküler yöntemler klasik serolojik yöntemlerin yerini hızla almaya başlamıştır. Hızlı ve kolay uygulanır olması, serolojik yöntemlerle ayırt edilemeyen HLA alt tiplerinin tayini, hücre ayrıştırılması ve benzeri zahmetli basamaklara ihtiyaç duymaması ve kan dışı dokularda da HLA tayinini mümkün kılmaları moleküler yöntemlerin tercih edilme nedenlerindedir.

Dizilim spesifik oligonükleotit tiplendirme (*Sequence Specific Oligonucleotide typing*, SSO) ilk geliştirilen yöntemdir. Bu yöntemde HLA lokusuna özgün primerler kullanılarak o lokus çoğaltılır. Spesifik oligonükleotitler katı bir ortama (kuyucuk, membran ya da boncuk) bağlanır ve reaktifin eklenmesi ile hibridizasyon gerçekleşir. Yıkama işlemini takiben enzim işaretli avidin ortama eklenir ve böylece DNA'nin işaretlenmesi sağlanır. Sonraki basamakta ortama enzim substratının ilave edilmesi

sonucunda bağlanmanın gerçekleştiği oligonükleotit prob ve dolayısıyla mevcut HLA alleli tespit edilmiş olur.

Dizilim spesifik hazırlama ((Sequence Specific Priming, SSP) yönteminde DNA'nın belirli bir bölgesi için primerler hazırlanır. Mevcut DNA'da primere özgü segment mevcut ise amplifikasyon gerçekleşir. Amplifikasyon sonucu oluşan ürünlerin gösterilmesinde elektroforez kullanılır.

Sekans bazlı tiplendirme ve tek zincir konformasyon polimorfizmi HLA tayininde kullanılan diğer yöntemlerdir.

### **2.2.6. HLA Antijenlerinin Hastalıklarla İlişkisi**

HLA antijenleri ile ilgili literatür bilgileri arttıkça bu antijenler ile belirli hastalıklar arasındaki ilişki gösterilmeye başlanmıştır. HLA- hastalık arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılamamıştır ve HLA'nın yanı sıra diğer genler ve çevresel faktörlerin de bu hastalıkların oluşumunda önemli rollere sahip olduğu bilinmektedir. En sık HLA ile ilişkilendirilmiş hastalıklar otoimmün hastalıklar, enfeksiyonlar ve alerjik hastalıklardır. Behçet hastalığında HLA-B51 ve ankilozan spondilitte HLA-B27 en iyi bilinen örneklerdendir. HLA moleküllerinin dermatolojik hastalıklardaki rolü en çok psoriaziste incelenmiş ve HLA-Cw6 psoriazis için risk faktörü olarak belirlenmiştir. HLA-vitiligo ilişkisini inceleyen çalışmalar sınırlıdır ve en sık vitiligo ile ilişkilendirilen HLA alleli HLA-A\*02'dir.

### **2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Korunma**

Reaktif oksijen radikalleri (ROR) normal hücrel metabolizma sonucu canlı organizmalar tarafından üretilir. Düşük konsantrasyonlarda hücrenin fizyolojik işlevleri sırasında görev alırlar ancak yüksek konsantrasyonlarda başta lipid, protein ve DNA olmak üzere birçok hücre bileşeni ile etkileşerek onları modifiye ederler (9-11). Oksidan/antioksidan dengesinin oksidan lehine değişmesi oksidatif stres olarak isimlendirilir. Oksidatif stres kanser, nörolojik hastalıklar, ateroskleroz, hipertansiyon, diyabet, kronik obstruktif akciğer hastalığı, astım ve benzeri birçok hastalığın oluşmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (9, 12, 13, 105, 106). Aerobik organizmalar ROR'in zararlı etkilerinden korunmada görev alan birçok enzimatik ve non-enzimatik

antioksidan sistemlere sahiptirler. Ancak patolojik durumlarda antioksidan sistemler aşılabilir ve oksidatif stresin etkileri izlenir.

### 2.3.1. Oksidanlar

#### ROR'lerin Endojen Kaynakları

ROR, normal hücreyel metabolizmanın bir sonucu olarak moleküler oksijenden üretilir. ROR serbest radikaller ve radikal olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren moleküller serbest radikal olarak adlandırılır. İki serbest radikal eşleştirilmemiş elektronlarını paylaştıklarında oluşan moleküle ise radikal olmayan molekül adı verilmektedir. Fizyolojik öneme sahip 3 majör ROR: süperoksit anyonu ( $O_2^- \cdot$ ), hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ) ve hidrojen peroksittir ( $H_2O_2$ ).

Süperoksit anyonu, moleküler oksijene 1 elektron ilave edilmesi ile oluşur. Bu işleme nikotin adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidaz veya mitokondriyal elektron taşıma sistemi aracılık eder. Süperoksit anyonunun üretildiği başlıca yer mitokondridir. Normal şartlar altında elektronlar mitokondriyel elektron transport zinciri aracılığı ile oksijene aktarılarak  $H_2O$  oluştururlar ancak elektronları %1-3'ü sistemden sızarak süperoksit üretirler. NADPH oksidaz polimorfonükleer lökositler, monositler ve makrofajlarda bulunur. Fagositoz sırasında bu hücreler bakterisidal aktivite ile sonuçlanan yüksek miktarda süperoksit üretirler. Süperoksit, süperoksit dismutaz etkisiyle hidrojen peroksite dönüştürülür.

Hidrojen peroksit plazma membranından kolaylıkla diffüze olur. Hidrojen peroksit ayrıca ksantin oksidaz, amino asit oksidaz ve NADPH oksidaz enzimleri aracılığı ile ve peroksisomlarda metabolik reaksiyonlar sırasında moleküler oksijen tüketimi sırasında oluşur (107, 108).

Hidroksil radikalleri en reaktif ROR'dir ve protien, lipid, karbonhidrat ve DNA'yi hasarlandırabilir. Diğer majör endojen oksidanlar arasında hipoklorik asit, peroksil radikalleri ve hidroperoksil radikalleri sayılabilir. Majör endojen oksidan seviyeleri kolaylıkla kan, plazma ve bronkoalveolar lavajda ölçülerek oksidasyonun belirteçleri olarak kullanılabilir.

### **Ekzojen Oksidan Kaynakları**

Sigara dumanının kendisi birçok oksidan ve serbest radikal içerir (109). Ayrıca, sigara dumanının alveollere girmesi ile nötrofil ve makrofaj birikimine neden olarak endojen oksidan üretimi de tetiklenmiş olur.

Ozon maruziyeti bronş ve alveol epitelinde lipid peroksidasyonu ve nötrofil göçüne neden olur. Kısa süreli maruziyet miyeloperoksidaz ve eozinofil katyonik proteinler gibi inflamatuvar mediyatörlerin yanı sıra laktat dehidrogenaz ve albümin salınımına neden olarak inflamasyon ve doku harabiyetine neden olur (110).

Hiperoksi, akciğerler ya da diğer dokularda normal oksijen basıncından daha yüksek seviyelerde oksijen varlığıdır. Hiperokside artmış oksijen miktarına sekonder artmış reaktif oksijen ve azot türevleri üretimi mevcuttur (111, 112).

İyonlaştırıcı radyasyon oksijen varlığında hidroksil, süperoksit ve organik radikalleri hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlere dönüştürür. Bu hidroperoksit türleri, demir ve bakır gibi aktif metal iyonları ile Fenton reaksiyonuna girerek ROR oluştururlar (113, 114). Ultraviyole A (UVA) fotonları porfirin, riboflavin ve NADPH oksidaz gibi endojen foto duyarlaştırıcıları aktive ederek oksidatif reaksiyonları tetikleyebilir. Uzun süreli maruziyetlerde özellikle deri maligniteleri ile sonuçlanabilecek bu ROR üretimi kısa süreli ve aralıklı maruziyetlerde terapötik amaçlarla kullanılır (115).

Demir, cıva, bakır, kadmiyum, nikel, arsenik ve kurşun gibi ağır metal iyonları ROR oluşumunu indükler ve lipid peroksidasyonu yaparak ya da nükleer proteinler ve DNA ile reaksiyona girerek enzim aktivitesinde azalmaya ve hücre hasarına neden olurlar (116). Fenton tipi reaksiyon, metal aracılı serbest radikal oluşumunun en önemli mekanizmalarından biri. Bu reaksiyonda süperoksit iyonu ve hidrojen peroksit metal iyonları ile etkileşerek OH radikallerini oluştururlar. Metallerin katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan ROR, DNA bazlarını modifiye edebilir. Bakır, çinko ve nikel ve benzeri metal iyonlarının indüklediği oksidatif stres sonucu üç baz değişimi görülebilir. Bunlar: G→C, G→T ve C→T'dir. Reid ve arkadaşları G→C değişiminin genellikle demir iyonlarının katalize ettiği ROR oluşumu sonrasında, C→T değişiminin ise genellikle bakır ve nikel iyonlarının katalize ettiği ROR oluşumu sonrasında izlendiğini gözlemlemişlerdir (117).



### 2.3.2. Antioksidanlar

İnsan vücudunda oksidanların etkisini dengelemeye çalışan birçok antioksidan mekanizma mevcuttur. Bunlar enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki ayrı grupta incelenebilir.

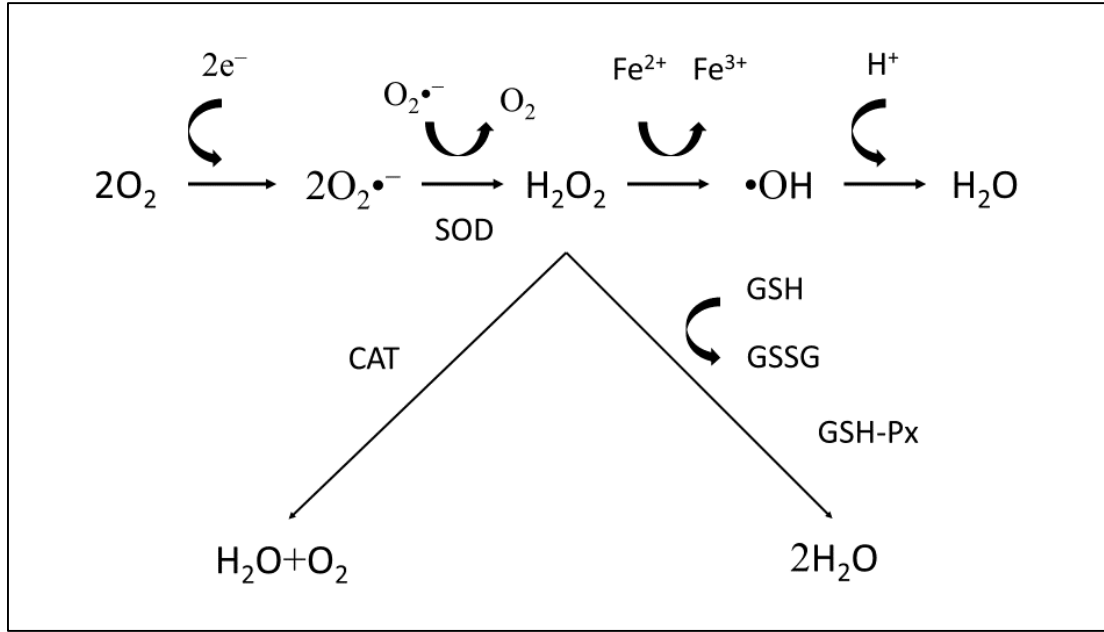
#### Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksiti hidrojen peroksit ve oksijene katalizler (118). SOD'un farklı hücre bölümlerinde bulunan iki ayrı formu tanımlanmıştır. Sitozolde bulunan SOD, bakır ve çinko içerirken mitokondride bulunan SOD manganez içerir. Ekstrasellüler SOD hücre dışı sıvıların başlıca enzimatik antioksidanıdır.

Katalaz (CAT) başta eritrositler, çizgili kas hücreleri, miyokart, böbrek ve karaciğer olmak üzere tüm aerob hücrelerde bulunur. CAT'ın %80'i peroksizomlarda ve %20'si sitozolde bulunmaktadır. CAT, SOD aktivitesi sonucu oluşan hidrojen peroksiti su ve oksijene katalizler.

Glutatyon Peroksidazlar (GSH-Px), aktif bölgesinde selenosistein içeren özel bir amino asit dizisi bulunduran tetramerik enzimler ailesidir. Sellüler GSH-Px, membrana bağlı GSH-Px, gastrointestinal GSH-Px ve ekstrasellüler GSH-Px. GSH-Px, glutatyon gibi düşük moleküler ağırlıklı tiyollerini kullanarak  $H_2O_2$  ve lipit peroksitleri ilgili alkollerine indirger.

Enzimatik antioksidanlar ve katalizledikleri reaksiyonlar Şekil 2.4.'te özetlenmiştir.



Şekil 2.7. Enzimatik antioksidanlar ve katalizledikleri reaksiyonlar

### Non-Enzimatik Antioksidanlar

Non-enzimatik antioksidanlar vitaminler (C ve E vitaminleri),  $\beta$ -karoten, ürik asit ve glutathione (GSH) gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikleri içerir.

Suda çözünen bir vitamin olan vitamin C (Ascorbik Asid) süperoksit, hidroperoksil, ve hipokloröz asit ROR ile doğrudan etkileşir ve serbest oksijen radikallerini non-enzimatik olarak temizler. Vitamin C ayrıca serbest Vitamin E serbest radikallerini yeniden Vitamin E'ye dönüşümünde görev alır.

Vitamin E yağda çözünen bir vitamindir ve özellikle hücre membranının serbest radikallere karşı korunmasında görevi alır.  $\alpha$ -tokoferol vitamin E'nin en aktif formudur ve hücredeki majör membranla ilişkili antioksidandır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan peroksil radikallerine elektron vererek antioksidan aktivite gösterir. Vitamin E ayrıca kanser hücrelerinde apoptozu tetikler ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder (119).

GSH, tüm hücre kompartmanlarında bol miktarda bulunur ve majör çözünebilirlikte antioksidandır. GSH / GSSG oranı oksidatif stresin en önemli belirleyicilerinden biridir. GSH başta glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve transferaz

olmak üzere birçok antioksidan enzimin kofaktörüdür. GSH proapoptotik ve antiapoptotik sinyal yollarını etkileyerek hücreyi apoptozisten korur, Nükleer Faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) ve benzeri transkripsiyon faktörlerini aktive eder ve Vitamin C ve E'nin aktif formlarına dönüşmesinde görev alır (120).

Karotenoidler ( $\beta$ -karoten) bitkilerde bulunan pigmentlerdir. Primer olarak  $\beta$ -karoten peroksil, hidroksil ve süperoksit radikalleriyle reaksiyona girer. Karotenoidler düşük oksijen basıncında antioksidan etki gösterirken yüksek oksijen basıncında prooksidan etkileri olabileceği gösterilmiştir (121). Hem karotenoidler hem de retinoik asitler (RA) transkripsiyon faktörlerini regüle etme kapasitesine sahiptirler (122).  $\beta$ -karoten NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile IL-6 ve TNF- $\alpha$  üretimini inhibe ederken RA, retinoik asit reseptör aracılığı ile hücre siklusunda arrest ve apoptozisi indüklerler (123, 124).

### **2.3.3. Oksidatif Stresin Genetik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Reaksiyonlar Üzerindeki Etkisi**

Oksidatif stres, ROR'nin birikmesi ya da antioksidanların azalmasına bağlı olarak ROR-antioksidan dengesinin bozulması nedeniyle oluşur. Oksidatif stres durumunda hücreler koruyucu enzimler, transkripsiyon faktörler ya da yapısal proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu arttırarak ya da bu genleri susturarak redoks dengesini yeniden sağlamaya çalışırlar (125). Vücutta okside ve redükte glutasyon oranı (2GSH/GSSG) oksidatif stresin en önemli belirleyicilerindedir. Vücutta yüksek oranda ROR üretimi DNA'nın yapısını değiştirebilir, protein ve lipidlerin yapısını değiştirebilir, stresle indüklenen transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir ve proinflamatuvar sitokin üretimini arttırabilir.

### **Oksidatif Stresin DNA Üzerindeki Etkileri**

ROR baz degradasyonu, tek ya da çift sarmal DNA kırıkları, pürin ya da pirimidin modifikasyonları, mutasyonlar, delesyon ve translokasyon gibi birçok DNA modifikasyonuna neden olabilir. DNA modifikasyonlarının büyük bir kısmı karsinogenez, yaşlanma, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklarla yakından ilişkilidir. 8-hidroksiguanozin (8-OH-G) oluşumu ROR bağlı DNA hasarlarından en iyi bilinenidir ve karsinogenezin potansiyel bir belirteçidir (126). Genlerin promotör bölgeleri, transkripsiyon faktörleri için bağlanma dizileri içerir ve oksidatif strese çok

duyarlıdır. Transkripsiyon faktör bağlanma bölgelerinde oluşan 8-OH-G transkripsiyon faktörlerin bağlanmasını etkileyerek ilgili genlerin ekspresyonunu değiştirir (127).

### **Oksidatif Stresin Lipitler Üzerindeki Etkileri**

ROR lipid peroksidasyonunu indükleyerek hücre membranının yapısını bozar, membrana bağlı reseptörleri inaktive eder ve hücre geçirgenliğini artırır (128). Malondialdehit (MDA) ve doymamış aldehyitler gibi lipit peroksidasyon ürünleri, protein çapraz bağları oluşturarak hücresel proteini inhibe edebilirler. 4-hidroksi-2-nonenal da hücre içi GSH'yi azaltır, peroksit üretimini indükler, epidermal büyüme faktörü reseptörünü aktive eder ve fibronektin üretimini uyarır (129-132). İzoprostanlar ve tiyobarbitürik asit gibi lipit peroksidasyon ürünleri, oksidatif stresin indirek biyobelirteçleri olarak kullanılabilir.

### **Oksidatif Stresin Proteinler Üzerindeki Etkileri**

ROR spesifik amino asitlerde oksidasyon, protein zincirlerinde fragmentasyon, protein yükünde değişiklik ve çapraz bağlanmalara neden olur bu da proteinlerin spesifik proteazlara duyarlılıklarını artırarak degrade olmalarını kolaylaştırır (133). Proteinlerdeki methionin ve sistein kalıntıları oksidasyona daha duyarlıdır (134). Sülfhidril grupları ya da methionin kalıntılarının oksidasyonu proteinlerde konformasyonel değişikliklere, proteinlerin katlanmalarında bozulma ve degradasyona neden olur (134-136). Enzimlerin oksidatif modifikasyonu da enzimlerde inaktivasyon ile sonuçlanır (137).

### **Oksidatif Stresin Sinyal İletimi Üzerindeki Etkileri**

ROR sinyal iletiminde görev alan birçok genin ekspresyonunu değiştirebilir (138). Artmış GSH/GSSG oranı hücrenin oksidatif hasardan korunmasında oldukça önemlidir. Bu oranın bozulması inflamatuvar yanıtta yer alan NF- $\kappa$ B, aktivatör protein 1 (AP-1) ve hipoksi ile indüklenen faktör 1 gibi redoks sensitif transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna neden olur.

NF- $\kappa$ B ROR, serbest radikaller ve UV maruziyetine yanıt olarak aktive olabilir (139). Nükleer faktör kappa B inhibitörünün (I $\kappa$ B) fosforilasyonu NF- $\kappa$ B'yi

serbestleştirerek gen transkripsiyonunu aktive etmek üzere nükleusa girmesine izin verir (140). IκB'leri serin kalıntılarında fosforilleyen bazı kinazlar bildirilmiştir ve bu kinazlar NF-κB'nin oksidatif sinyallerle aktive olmasında hedef bölgelerdir (141). Redüktan ajanlar NF-κB'nin nükleusa bağlanmasını arttırırken oksidan ajanlar azaltmaktadır. IκB'nin oksidatif degradasyonuna bağlı NF-κB aktivasyonu antioksidan savunmada görev alan birçok genin transkripsiyonunu arttırır böylece oksidan denge yeniden sağlanır. NF-κB ayrıca IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α ve benzeri inflamatuvar yanıtta görev alan birçok genin ekspresyonunu regüle eder (142, 143).

### **2.3.4. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi**

İnsanlarda oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Bunlar; flow sitometri ile lökosit ve trombositlerde ROR tayini, ROR ile indüklenmiş modifiye lipit, protein ve DNA tayini, enzimatik oksidan/antioksidan ölçümü ve total antioksidan kapasite (TAK) ölçümüdür (144). TAK, vücut sıvılarındaki non-enzimatik antioksidan kapasiteyi ölçer ve bir litre vücut sıvısında nötralize olan oksidanların mol cinsinden düzeyidir. Reaksiyon mekanizmaları, hidrojen atomu transferini ve tek elektron transferini içerir. Tek elektron transferini kullanan yöntemler indirekt yöntemleridir ve antioksidanların indirgeme kapasitelerini ölçerler. Oysa hidrojen atomu transferini kullanan yöntemler direk yöntemlerdir ve antioksidan kapasite ölçümü belli bir belirtecin oksidasyonunun inhibisyonu ile belirlenir (145, 146).

### **2.3.5. Oksidatif Stresin Hastalıklarla İlişkisi**

Oksidatif stres, oksijen kullanan metabolik reaksiyonlar sonucu artmış miktarda ROR üretimi ya da oksidan/antioksidan dengesinin oksidanlar yönünde değişmesi sonucu oluşur. ROR, hücrel metabolik aktive ya da sigara dumanı, hava kirliliği ve radyasyon gibi çevresel faktörler sonucu oluşur. ROR yapılarında bulunan eşleşmemiş elektronlar nedeniyle oldukça reaktif moleküllerdir ve protein, karbonhidrat, yağ ve nükleik asitler gibi hücre için hayati öneme sahip moleküllerle reaksiyona girerek onları yapı ve işlevlerini değiştirebilir. Bu nedenle oksidan/antioksidan dengesinin korunması hücrenin yaşaması, çoğalması, aktivasyonu ve organ fonksiyonu için kritiktir.

Oksidatif stres ve ROR çok çeşitli hastalıkların patogenezinde suçlanmaktadır ve bu hastalıkların çoğu insanlarda başlıca ölüm nedenlerindedir. Kanserler, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik hastalıklar ROR ile en sık ilişkilendirilen hastalıklardır.

ROR'ne sekonder meydana gelen DNA hasarı karsinogenezin başlatılması ve ilerlemesine neden olan etkenlerden biridir. Kanser patogenezinde ROR'un neden olduğu DNA değişiklikleri mutasyonlar, baz modifikasyonları, gen duplikasyonları ve onkogenlerin aktivasyonu sayılabilir (147).

ROS başta hipertansiyon ve iskemi olmak üzere çok sayıda kalp-damar hastalığına neden olur ve patogenezdaki etkileri karmaşıktır. Vasküler hücreler aynı anda multipl NADPH oksidaz (NOX) enzimleri eksprese ederler ve birçok ROR ile ilişkili kardiyovasküler hastalık NOX1, NOX2, NOX4 ve NOX5'in değişen ekspresyon düzeylerine bağlı olduğu düşünülmektedir. NOX1 büyük damar düz kas hücrelerinin migrasyonu, proliferasyonu ve hipertrofisi için gereklidir (148). NOX4 farklılaşmaya aracılık eder ve NOX2 hipertansiyon ile ilişkilidir (149, 150).

ROR mikroglial hücrelerde, NOX enzim ekspresyonu aracılığıyla nörolojik hastaların progresyonunda görev alır. Düşük ROR konsantrasyonları beyin fonksiyonları için gerekli iken yüksek konsantrasyonlarda ROR nörotoksositeye bağlı nörolojik hastalık oluşumuna katkıda bulunur (151, 152). Alzheimer hastalığı ROR'ne bağlı nörodejeneratif hastalıklara iyi bir örnektir. Çözünür amiloid, mikroglial aktivasyon ve uzun süreli ROR üretimine neden olarak nörodegeneratif hasarın başlaması ve devam etmesine yardımcı olur (153).

Oksidatif stres vitiligoda melanosit kaybında olası patojenik etkenlerinden biri olarak kabul edilir (154). Vitiligoda epidermis boyunca tetrahidrobiyopterinin hatalı geri dönüşümü hücre içinde artmış  $H_2O_2$  üretimine neden olmaktadır (155). Ayrıca mitokondriyel bozukluklar ve azalmış antioksidan destek mekanizmalarına bağlı artmış intrasellüler ROR üretimi vitiligoda artmış sistemik oksidatif stres kavramını desteklemektedir (156-158). Biriken ROR DNA hasarı, lipid ve protein peroksidasyonuna neden olur (14, 15). Birçok proteinin yapısı değişir ve  $H_2O_2$  aracılı oksidatif hasara sekonder bu proteinlerde kısmi ya da tam fonksiyon kaybı gözlenir.  $H_2O_2$  ayrıca tirozinazı direk ya da DOPA aracılı inhibe edebilir (159). Tüm bunlara

ek olarak artmış ROR melanositlerde otoantijen olarak görev yapıp otoimmüniteyi uyuracak olan anormal proteinlerin oluşumuna neden olur (160).

Bu çalışmanın amacı non-segmental vitiligolu hastalarda vitiligo klinik özellikleri, TAK ve HLA birlikteliğinin araştırılmasıdır.

### 3. BİREYLER VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Ocak 2017 - Eylül 2018 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Polikliniğinde vitiligo tanısı alan ya da aynı tanı ile takip edilen 91 hasta ile vitiligo hastaları ile yaş ve cinsiyet bakımından benzer 100 sağlıklı gönüllü deneyleri için çalışmaya dahil edildi. Vitiligo ve benzeri otoimmün hastalığı olan ya da ailesinde vitiligo hastalığı olan sağlıklı gönüllüler çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara çalışmaya katılmadan önce, çalışma ile ilgili ayrıntılı bilgi verildi ve tüm katılımcıların aydınlatılmış onamları alındı. Mevcut çalışma için etik kurul izni, Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Etik Kurulundan alındı (E-17-1182). Çalışma, Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu (TUEK) desteği ile yürütüldü.

Tezin deneyleri Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, Araştırma laboratuvarında yapıldı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. 18 yaşından büyük olmak
2. Vitiligo tanısı almış olmak
3. Çalışmaya katılmayı kabul ederek 'Bilgilendirilmiş Onam Formunu okuyup imzalayarak
4. Çalışmaya katılmadan önce en az 3 ay boyunca, serum oksidan/antioksidan dengesini değiştirebilecek ilaç (Vitamin C ve E vb.) kullanmamış olmak

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

1. Segmental vitiligosu olmak
2. Gebe olmak
3. Emzirenler
4. 18 yaşından küçük hastalar

#### 3.2. Hastaların Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara tam bir fizik ve dermatolojik muayene yapıldı. Vitiligo tanısı klasik lezyonlarda (normal deri ile çevrili, keskin sınırlı, oval ya da irregüler şekilli süt beyazı makül ya da yamalar) Wood ışığı yardımı ile klinik



olarak kondu (30, 66). Atipik hipo/depigmente lezyonların tanısı için lezyondan 4 mm'lik punch biyopsi alındı ve histopatolojik incelemesi yapıldı. Biyopsi sonucu vitiligo ile uyumlu gelen hastalar çalışmaya dahil edilirken kesin tanı konulamayan ya da vitiligo dışı bir tanı alan hastalar çalışmadan çıkarıldı.

Vitiligo hastalarında yaş, cinsiyet, vitiligo alt tipi, başlangıç yaşı, hastalık yaygınlığı, hastalık aktivitesi, eşlik eden özellikler (atopi, alopesi, halo nevüs, lökonişi ve Koebner), kullanmakta oldukları ve geçmişte kullandıkları tedaviler, tedavi yanıtları, hastada ve ailesinde otoimmün hastalık öyküsü sorgulandı ve hasta takip formlarına kaydedildi.

Çalışmamızda vitiligo alt tipi kaydedilirken hastalar öncelikle non-segmental, segmental ve sınıflandırılmamış olarak 3 grubu ayrıldı. Daha sonra non-segmental vitiligo hastaları akrofasiyel, mukozal, jeneralize, üniversal, miks ve nadir formlar olmak üzere 6 alt grubu; sınıflandırılmamış vitiligolu hastalar fokal ve mukozal olmak üzere 2 alt gruba ayrılırken (161) segmental vitiligolu hastalar çalışma dışında bırakılmıştır.

Vitiligo lezyonlarının yaygınlığı el ünitesi (hastanın avuç içi ve parmakların volar yüzlerinin dahil edildiği, vücut yüzey alanının %1'i kabul edilen yüzey) cinsinden kaydedildi.

Hastalarda depigmentasyon derecesi %100 (tam depigmentasyonun izlendiği makül ve yamalar), %90 (depigmente yamaların üzerinde pigment noktaların izlendiği makül ve yamalar), %75 (depigmente alanların pigmente alanlarda fazla olduğu makül ve yamalar), %50 (pigmente ve depigmente alanların eşit olduğu makül ve yamalar), %25 (pigmente alanların depigmente alanlardan fazla olduğu makül ve yamalar) ve %10 (depigmente noktaların izlendiği pigmente makül ve yamalar) olmak üzere 6 grupta incelendi.

Hastalık şiddeti Vitiligo Aktivite ve Şiddeti İndeksi (VASİ) ile ifade edildi. VASİ;

$$(VASİ) = \sum \text{Tüm vücut alanları} (\text{el birimi}) \times (\text{rezidüel pigmentasyon})$$

formülü ile hesaplandı (162).

Vitiligo hastalık aktivitesi VIDA skoru ile ifade edildi. VIDA skoru -1 ile +4 arasında değişen ve yüksek skorun aktif hastalığı yansıttığı 6 dereceli bir ölçektir. VIDA skorunda +4; son 6 hafta içerisinde vitiligonun aktif olduğu hastaları, +3; son 3

ay içerisinde vitiligonun aktif olduğu hastaları, +2; son 6 ay içerisinde vitiligonun aktif olduğu hastaları, +1 ; son 1 yıl içerisinde vitiligonun aktif olduğu hastaları, 0; en az 1 yıldır vitiligonun stabil olduğu hastaları ve -1; en az 1 yıldır vitiligonun stabil olduğu ve spontan repigmentasyonun izlendiği hastaları ifade eder (163).

Tüm katılımcılarda eşlik edebilecek otoimmün hastalık (Alopesi areata, pernisyöz anemi, Haşimato tiroiditi ve tip-1 diyabet) varlığı fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri ile araştırıldı ve takip formlarına kaydedildi.

### 3.3. DNA izolasyonu ve HLA Tiplendirmesi

HLA moleküler tiplendiriminde kullanılacak DNA'nın izolasyonu için, çalışmaya dahil edilen hastaların ön kollarından EDTA'lı tüpe, 4 ml venöz kan alındı. DNA izolasyonu yapıncaya kadar bu kanlar -20 °C de saklandılar.

DNA izolasyonu, QIAamp DNA Blood mini kit, (QIAGEN, ABD) kullanılarak

Protokol:

1. 1.5 mL' lik tüpün dibine 20 µl Protease konulur.

2. Üzerine 200 µl örnek konur.

3. Üzerine 200 µl AL Buffer eklenir.

15 sn. vortexlenir. (Homojen bir solüsyon oluşturulmalıdır).

4. 10 dk. 56 °C'de inkübasyon yapılır

5. Kısa santrifüjlenir (damlalar çöktürülür).

6. 200 µl (96-100%) ethanol eklenir.

15 sn vortex + Kısa santrifüjlenir (damlalar çöktürülür).

7. Kolon, 2 mL kollektör içine yerleştirilir.

Karışım, dikkatlice kolona aktarılır (kenarı ıslatılmamalı)

Kapak kapatılır ve 6000xg (8000-10.000 rpm'de) 1dk santrifüj edilir.

QIAamp spin kolonu, yeni / temiz 2 mL kollektöre yerleştirilir ve eski kollektör atılır. (Gerekirse, kolon boşalincaya kadar tekrar santrifüj yapılır).

Not : Buffy coat dan DNA hazırlarken tam hızda santrifüjlenmesi önerilir.

8. Kolona 500 µl AW1 Buffer eklenir (Kapak kenarı ıslatılmamalıdır).

Kapak kapatılır ve 1 dk. 6000g x (8000-10.000 rpm)'de santrifüj edilir.

QIAamp spin kolonu, yeni / temiz 2 mL kollektöre yerleştirilir ve eski kollektör atılır.

**9.** Kolona 500 µl AW2 Buffer eklenir (Kapak kenarı ıslatılmamalıdır).

Kapak kapatılır ve tam hız'da (20.000xg; 14.000-17.000 rpm)'de 3 dk. santrifüjlenir. 10. basamak ile devam edilir ya da AW2 Buffer taşıma ihtimalini elimine etmek için 9a basamağı yapıp 10. basamağa devam edilebilir.

9a. (İsteğe bağlı): QIAamp spin kolonu yeni bir 2 µl'lik kollektöre (kit ile birlikte verilmemektedir) yerleştirilir ve kollektör atılır. 1 dk tam hızda santrifüj edilir.

**10.** Kolon temiz bir 1.5 mL'lik mikro santrifüj tüpüne (kit ile birlikte verilmemektedir) yerleştirilir ve kollektörü atılır.

Kolon dikkatlice açılır ve 200 µl dH<sub>2</sub>O eklenir.

5 dk. Oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 1 dk. 6000xg (8000-10.000 rpm) santrifüj edilir. (1 µl'den az DNA içeren örneklerin 50 µl AE Bufferi içinde ya da suda sulandırılması önerilir).

DNA kalitesinin belirlenmesi ve miktarının ölçülmesi için NanoDrop 1000 (Thermo, ABD) cihazı kullanıldı. UV-spektrofotometrik olarak 260 nm ve 280 nm dalga boylarında optik dansite ölçümleri yapıldı. Ölçüm için 1,5µl DNA kullanıldı. Kalite standartı olarak A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> oranının 1,7-1,9 olmasına dikkat edildi ve kantitasyon değeri ng/µl olarak verildi. Elde edilen DNA'lar HLA tiplendirimi yapılmaya kadar -20 °C de saklandılar..

SSO-PCR Yöntemi ile HLA Tiplendirimi: Lifecodes (Immucor, Wisconsin, ABD) SSOP kiti kullanılarak, PCR- Hibridizasyon- Luminex aşamalarından oluşur.

PCR Protokolü:

1. Her hastanın A, DQ, DR lokusları amplifiye edilir. Her lokus için mix hazırlanır.

Mix A, B, C, DQ, DR için ayrı ayrı hazırlanır.

Hesaplama:

Master Mix: 15 µl

ddH<sub>2</sub>O: 29.5 µl

Taq Pol. : 0.5 µl

Bu karışım hasta sayısı kadar hazırlanır ve bu karışımdan 45' er µl her örnek tüpüne dağıtılır.

2. Her hastanın 5 µl DNA sı , her lokusu için tüpün dibine bırakılır.
3. Her lokus için A sırasındaki bütün hastalara 45 µl A mixinden,  
DQ, DR sırasındaki bütün hastalara 45 µl DQ ve DR mixinden olmak üzere dağıtılır.
4. Thermal Cyclers'a konulur (Labcyclers, Sensequest GmbH, Almanya)

RUN → START → SSO PCR → OK

Program 2 saat 16 d. da biter.

Hibridizasyon Protokolü:

1. Isı bloğu 56 °C ye getirilir.
2. Her lokusa ait Beadler ısı bloğunda 7dk. ısıtılır. (A, DQ, DR)
3. Bu arada her hastanın her lokusuna 5 µl. PCR ürününden konulur. (Tüplerin dibine)
4. Beadler ısı bloğundan alınır.
5. Sonikatöre konulur. 15 sn. tutulur.
6. Daha sonra vorteksde 15 sn. vortekslenir.
7. A lokusunun beadleri A sırasına, DQ, DR beadleride kendi sıralarına 15 µl. dağıtılır.

Pipet dik tutulur, ilk önce almadan bir kez çek-bırak yapılır. Sonra dağıtılmaya başlanır. 15 µl. çekildiğinden emin olunur. 8 hastadan fazla çalışıldığı durumda arada bir vorteksleme daha yapılır. Dağınık durma arttıkça homojenizasyon artmış olur. Plate kuyusuna değdirmeden, sol taraftan bırakılır.

8. Bu şekilde inkübasyona bırakılır. Hibridizasyona başlamadan önce plate hasta sırasından bir fazla olacak şekilde kesilir.

9. Thermal Cycler' a konulur.

RUN → START → SSO HİBRİDİZASYON → OK

56 °C' de 10dk. Aşamasında Streptovidin solüsyonunu hazırlanır.

Hesaplama:

Kuyu sayısı(n) iken;

Dilüsyon solüsyonu: 170 µl. \* n+1

Streptovidin: 0.85 \* n+1 olarak yapılır.

10. Her kuyuya 170 µl. olacak şekilde hızlı bir şekilde dağıtılır.

Dağıtırken, yukarıdan kuyulara değmeyecek şekilde, hızlı bir şekilde dağıtılır.

15 ml. lik falcon tüpüne solüsyon hazırlanır ve tercihen filtresiz pipet uçları kullanılır.

Luminex Protokolü:

Cihaz olarak 100 Analyzer ( Luminex, ABD) kullanıldı.

1. Hibridizasyona başlamadan cihaz açılır.

2. Kendisi *warm-up* yapacak ce yeşile dönmesi beklenir.

3. Sonra prime ikonuna basılarak basınç ayarlaması yapması sağlanır. İşi bitince stand-by durumuna geçer.

4. Alkol wash yapılır. (%70'lik isopropanol)

Bunları yapabilmek için *eject* ikonuna tıklanır. Küvetin içindeki atık kutusu boşaltılır. İçine hangi solüsyonu istersek koyarız. Eject'e tıklanır, kapatılır. Sonra da *wash-up* yapılır.

5. Alkolle yıkama bittikten sonra su, sonra sheat solüsyonu küvete konulur ve yıkama aynı şekilde yapılır. Hibridizasyonun bitmesi beklenir.

6. Hibridizasyon bittikten sonra PCR cihazında Sealing sökülür.

7. *Eject* ile çekmece açılır. Plate yerleştirilir.

8. Çalışmaya başlamadan önce *sheat* ile tekrar *wash-up* yapılır.

9. Note Pad'de isim listesi hazırlanır.

Sonrasında MATCH IT programı ile analizler yapılır.

### 3.4. TAK'ın Değerlendirilmesi

Vitiligo tanısıyla takip edilen hastalar ve sağlıklı kontrollerde serum TAK seviyeleri Rel Assay Total Antioksidan Status test kiti (Rel Assay, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Bunun için hasta ve kontrol grubuna katılanların ön kollarından kuru tüpe 5 ml kan alındı.

Serumları ayrılarak, üç tüpe bölüştürüldü ve kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  de saklandılar.

Çalışmaya katılan bireylerden 5 ml. kan kırmızı kapaklı boş biyokimya tüplerine alındı.

Numunenin toplanması: Kan alındıktan sonra ortalama 30-45 dk bekletilmelidir (bu kan materyallerinin çökmesi özellikle eritrositlerin santrifüj sırasında parçalanıp hemoliz oluşturmaması konusunda önemlidir) ardından 3.000 rpm de 5dk çevrilir (çökme gerçekleşmedi ise işlem tekrarlanır)

Numune saklanması: Sanrifüj işlemi ile kandan ayrılan serum tercihen Eppendorf tüplerine alınıp kapağı kapatıldı ve  $-80^{\circ}\text{C}$  de kullanılıncaya kadar saklandı.

Test çalışma prensibi:

Serum örneklerinde bulunan antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna çevirir. 660 nm absorbansdaki değişim total antioksidan miktarıyla alakalıdır. Kitin kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standardı ile yapılır.

Bileşenler:

Tüm reaktifler ve standartlar kullanıma hazırdır.

Reaktif 1		Tampon Solüsyonu
Asetat Tampon		0.4 mol/L pH5.8
Reaktif 2		Prokromogen Solüsyonu
ABTS		30 mmol/L
Standart	Trolox	1 mmol / L
QC Seviye 1	Trolox	0.5 mmol / L
QC Seviye 2	Trolox	2.0 mmol / L

Numune Çalışması: Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS300 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Çalışma adımları:

Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl alındı, numuneden 18 µl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 660 nm yapıldı ardından Reaktif 2'den 45 µl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660 nm yapıldı.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Tüm istatistiksel analizler Windows için SPSS (IBM Corp., NY, USA, 21.0) programı kullanılarak yapıldı ve tanımlanmış olan tüm parametreler vaka ve kontrol grupları arasında karşılaştırmaları yapılarak analiz edildi. Kategorik değişkenler yüzde ve oran ile tarif edildi ve Ki-kare ve ya Fisher's exact testi kullanılarak gruplar arası fark belirlendi. Tüm sayısal değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadıkları histogram ve Kolmogorov-Smirnov testleri kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılan sayısal değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama ( $\pm$ standart sapma), normal dağılmayan sayısal değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortanca (çeyrekler arası aralık) kullanıldı. Sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında Student-t ya da Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Sayısal değişkenlerin korelasyon analizinde Spearman ya da Pearson testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik ve Klinik Özellikler

Ocak 2017 - Eylül 2018 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniğine başvuran, klinik ya da histopatolojik olarak vitiligo tanısı almış 91 hasta ve 100 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Hastaların %59,3'ü (n=54) kadın %40,7'si (n=37) erkekti. Yaş ortalaması  $39,8 \pm 13,2$  yıl olarak hesaplandı

Vitiligo hastalık süresi ortanca değeri 8 ay (2-21) ve başlangıç yaşı 26 (13-40) idi. Hastaların %55,8'inde erken başlangıçlı vitiligo ve %44,2'sinde geç başlangıçlı vitiligo mevcuttu. jeneralize vitiligo en sık izlenen vitiligo alt tipi idi ve hastaların %61,5'inde görüldü. Hastaların %34,6'sında akrofasiyel vitiligo ve %3,8'inde fokal vitiligo mevcuttu. Hastalık yaygınlığı (VASI) ortanca değeri 4 (1,17-10,25) olarak hesaplandı. Hastaların %33,8'inde vitiligoya eşlik eden ek bir otoimmün hastalık mevcuttu. Hastaların %7,7'sinde alopesi areata, %25,3'ünde Haşimato tiroiditi, %1,1'inde pernisiyöz anemi, %1,1 Tip 1 diyabetes mellitus izlendi. Hastaların %20,9'unda en az bir, birinci derece akrabasında vitiligo hikayesi mevcuttu. Hastalık aktivitesi ve depigmentasyon dereceleri diğer hastalık özellikleri ile birlikte Tablo 4.1.'de ayrıntılı olarak listelenmiştir.



**Tablo 4.1.** Vitiligolu hastaların klinik özellikleri

<b>Hastalık Özellikleri</b>	<b>N (%)</b>
Vitiligo başlangıç yaşı, yıl	26 (13-40)
Hastalık süresi, ay	8 (2-21)
VASI	4 (1,17-10,25)
Vitiligo tipi	
Jeneralize	48 (61,5)
Akrofasiyel	27 (34,6)
Fokal	3 (3,8)
Hastalık aktivitesi (VIDA)	
-1	20 (26,3)
0	11 (14,5)
+1	9 (11,8)
+2	17 (22,4)
+3	16 (21,1)
+4	3 (3,9)
Depigmentasyon derecesi	
%25	8 (13,8)
%50	9 (15,5)
%75	16 (27,6)
%90	16 (27,6)
%100	9 (15,5)
Ek otoimmün hastalık varlığı	
Var	26 (33,8)
Yok	51 (66,2)
Ailede vitiligo hikayesi	
Var	19 (20,9)
Yok	72 (79,1)

#### 4.2. Vitiligolu Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde HLA-A Allel Sıklıkları

Tablo 4.2.'de vitiligo hastaları ve sağlıklı gönüllülerde HLA-A allel sıklıkları özetlenmiştir. HLA-A\*02 vitiligolu hastaların %46,2'sinde izlenirken sağlıklı kontrollerin %28'inde izlendi. HLA-A\*02 alleli vitiligo riskini 2,2 kat (%95 GA: 1,20- ,024; p=0,010) arttırmaktaydı.

**Tablo 4.2.** Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde HLA-A allel sıklığı

HLA-A* allelere	Vitiligo Hastaları (n=91) n (%)	Sağlıklı Kontroller (n=100) n (%)	p	OR	%95 GA
01	10 (14,1)	22 (22)	0,28		
02	42 (46,2)	28 (28)	<b>0,010</b>	2,2	1,20-4,02
03	21 (29,6)	25 (25)	0,71		
11	10 (11)	24 (24)	<b>0,019</b>	0,39	0,17-0,87
23	4 (5,6)	6 (6)	0,92		
24	17 (23,9)	28 (28)	0,68		
26	11 (15,5)	12 (12)	0,51		
29	6 (8,5)	4 (4)	0,22		
30	8 (11,3)	7 (7)	0,33		
31	1 (1,4)	4 (4)	0,32		
32	5 (7)	8 (8)	0,82		
33	2 (2,8)	8 (8)	0,16		
68	3 (4,2)	6 (6)	0,61		

HLA-A\*02 allel bakımından (+) ve (-) hastalar vitiligo başlangıç yaşı bakımından birbirinden farklıydı (Tablo 4.3.). HLA-A\*02 (-) olan hastaların ortalama başlangıç yaşı 23 iken (10-39,25), HLA-A\*02 (+) olan hastalarda 32 (20-46) idi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (0,037). Vitiligolu hastalar ayrıca başlangıç yaşlarına göre erken başlangıçlı (başlangıç yaşı <30) ve başlangıçlı (başlangıç yaşı > 30) olmak üzere iki grupta incelendiğinde HLA-A\*02 alleli erken başlangıçlı vitiligolu hastaların %42,9'unda izlenirken geç başlangıçlı vitiligolu hastaların %57,1'inde izlendi. HLA-A\*02 allel varlığı geç başlangıçlı vitiligo riskini 3,68 kat arttırmaktaydı (%95 GA: 1,63-8,26; p=0,001)

HLA-A\*02 (+) ve (-) hastalar yaş (p=0,73), cinsiyet (p=0,13), Vitiligo alt tipi (p=0,69), hastalık yaygınlığı (p=0,47), depigmentasyon derecesi (p=0,89), hastalık aktivitesi (p=0,22), hastalık süresi (p=0,23), vitiligo dışı otoimmün hastalık varlığı (p=0,57), ailede vitiligo varlığı (p=0,56) bakımından benzerdi (Tablo 4.3.).

**Tablo 4.3.** HLA-A\*02 Alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması

Özellik	HLA-A*02 (+) N (%)	HLA-A*02 (-) N (%)	p
Yaş, yıl *	45,5 (13,6)	42,8 (14,5)	0,73
Cinsiyet			0,13
Kadın	28 (40)	62 (51,2)	
Erkek	42 (60)	59 (48,8)	
Vitiligo alt tipi			0,69
Fokal	13 (36,1)	17 (40,5)	
Jeneralize	23 (63,9)	25 (59,5)	
Vitiligo başlangıç yaşı			0,037
<30	15 (42,9)	28 (66,7)	
>30	20 (57,1)	14 (33,3)	
Hastalık yaygınlığı (VASI)**	5 (2-10,5)	3 (1,25-10,5)	0,47
Depigmentasyon derecesi			0,89
%25	5 (18,5)	3 (9,7)	
%50	3 (11,1)	6 (19,4)	
%75	7 (25,9)	9 (29)	
%90	8 (29,6)	8 (25,8)	
%100	4 (14,8)	5 (16,1)	
Hastalık aktivitesi (VIDA)			0,22
-1	10 (28,6)	10 (24,4)	
0	6 (17,1)	5 (12,2)	
+1	4 (11,4)	5 (12,2)	
+2	10 (28,6)	7 (17,1)	
+3	4 (11,4)	12 (29,3)	
+4	1 (2,9)	2 (4,9)	
Hastalık süresi, ay**	6 (1-15)	10 (2,7-25,2)	0,23
Vitiligo dışı ek otoimmün hastalık varlığı			0,57
Var	13 (37,1)	13 (31)	
Yok	22 (62,1)	29 (69)	
Ailede vitiligo varlığı			0,56
Var	10 (23,8)	9 (18,4)	
Yok	32 (76,2)	40 (81,6)	

\*: ortalama (standart sapma), \*\*: ortanca (çeyrekler arası aralık)

HLA-A\*11 vitiligo hastalarının %11'inde görülürken sağlıklı gönüllülerin %24'ünde izlendi. HLA-A\*11 vitiligo için koruyucuydu (OR: 0,39; %95 GA: 0,17-0,87; p=0,019).

Ailede vitiligo varlığı ile HLA-A\*11 ilişkisi değerlendirildiğinde ailede vitiligo hikayesi olan 19 hastanın tamamı HLA-A\*11 (-) iken ailede vitiligo hikayesi olan

hastaların hiçbirinde HLA-A\*11 görülmedi. Ancak klinik olarak anlamlı olan bu fark istatistiksel anlamlılık kazanmadı (p=0,11) (Tablo 4.4.)

HLA-A\*11 (+) ve (-) hastalar yaş (p=0,94), cinsiyet (p=0,99), vitiligo başlangıç yaşı (p=0,94) Vitiligo alt tipi (p=0,41), hastalık yaygınlığı (0,79), depigmentasyon derecesi (0,79), hastalık aktivitesi (0,73), hastalık süresi (0,99), vitiligo dışı otoimmün hastalık varlığı (p=0,25) bakımından benzerdi (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** HLA-A\*11 Alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması

Özellik	HLA-A*11 (+) N (%)	HLA-A*11 (-) N (%)	p
Yaş, yıl *	43,9 (13,2)	43,1 (14,4)	0,94
Cinsiyet			0,99
Kadın	16 (47,1)	74 (47,1)	
Erkek	18 (52,9)	83 (52,9)	
Vitiligo alt tipi			0,41
Fokal	2 (25)	28 (40)	
Jeneralize	6 (75)	42 (60)	
Vitiligo başlangıç yaşı			0,94
<30	4 (57,1)	39 (55,7)	
>30	3 (42,9)	31 (44,3)	
Hastalık yaygınlığı (VASI)**	3 (0,7-14)	4 (1,2-9,2)	0,79
Depigmentasyon derecesi			0,79
%25	1 (20)	7 (13,2)	
%50	0 (0)	9 (17)	
%75	2 (40)	14 (26,4)	
%90	2 (40)	14 (26,4)	
%100	0 (0)	9 (17)	
Hastalık aktivitesi (VIDA)			0,73
-1	1 (14,3)	19 (27,5)	
0	1 (14,3)	10 (14,5)	
+1	2 (28,6)	7 (10,1)	
+2	1 (14,3)	16 (23,2)	
+3	2 (28,6)	14 (20,3)	
+4	0 (0)	3 (4,3)	
Hastalık süresi, ay**	11 (1-26)	7,5 (2,7-20,2)	0,99
Vitiligo dışı ek otoimmün hastalık varlığı			0,25
Var	1 (14,3)	25 (35,7)	
Yok	6 (85,7)	45 (64,3)	
Ailede vitiligo varlığı			0,11
Var	0 (0)	19 (23,4)	
Yok	10 (100)	62 (76,6)	

Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontroller HLA-A\*01, HLA-A\*03, HLA-A\*23, HLA-A\*24, HLA-A\* 26, HLA-A\*29, HLA-A\*30, HLA-A\*31, HLA-A\*32, HLA-A\*33 ve HLA-A\*68 alleleri bakımından benzerdi (Tablo 3)

Vitiligolu hastalar ve sağlıklı gönüllerde benzer sıklıkta görülmesine rağmen HLA-A\*26 özellikle erken başlangıçlı vitiligolu hastalarda daha sık görüldü ( $p=0,009$ ). Vitiligo başlangıç yaşı  $<30$  olan hastaların %25,6'sında HLA-A\*26 izlenirken geç başlangıçlı vitiligolarda bu oran %8,3'tü.

### 4.3. Vitiligolu Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde HLA-DQB1\* Allel Sıklıkları

Tablo 4.5.'te vitiligo hastaları ve sağlıklı gönüllülerde HLA-DQB1 allel sıklıkları özetlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu HLA-DQB1\*02, HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*04, HLA-DQB1\*05 ve HLA-DQB1\*06 alleleri bakımından benzerdi

**Tablo 4.5.** Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde HLA-DQB1 allel sıklığı

HLA-DQB1* alleleri	Vitiligo Hastaları (n=91) n (%)	Sağlıklı Kontroller (n=100) n (%)	p
02	31 (34,1)	32 (32)	0,76
03	49 (53,8)	62 (62)	0,25
04	3 (3,3)	5 (5)	0,56
05	31 (34,1)	42 (42)	0,26
06	37 (40,7)	34 (34)	0,34

Hasta ve kontrol grubunda benzer sıklıkta olmalarına rağmen DQB1 alleleri ile vitiligo klinik özellikleri arasında ilişki izlendi. HLA-DQB1\*02 allel sıklığı ile hastalık yaygınlığı arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu. HLA-DQB1\*02 yaygın vitiligosu olan hastaların 41,7'sinde izlenirken sınırlı vitiligosu olan hastaların %20'sinde izlendi ( $p=0,048$ ). Yine HLA-DQB1\*02 vitiligo başlangıç yaşı  $<30$  olan hastaların %44,2'sinde izlenirken geç başlangıç vitiligolu hastaların %20,6'sinde mevcuttu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,030$ ). HLA-DQB1\*02 izlenen hastalar ayrıca HLA-DQB1\*02 izlenmeyen hastalarda yaşça belirgin olarak daha gençti ( $p=0,005$ ). Tablo 4.6.'da HLA-DQB1\*02 ile vitiligolu hastaların genel özellikleri arasındaki ilişkiler özetlenmiştir.

HLA-DQB1\*06 ile vitiligo aile hikayesi arasında istatistiksel anlamlılık sınırında bir fark gözlemlendi. Ailede vitiligo hikayesi olan hastaların 57,9'unda HLA-DQB1\*06 mevcutken aile hikayesi negatif olan hastalarda bu oran %35,2 idi ancak fark istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı ( $p=0,073$ ).

HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*04 ve HLA-DQB1\*05 ile yaş, cinsiyet, vitiligo alt tipi, vitiligo başlangıç yaşı, hastalık yaygınlığı, depigmentasyon derecesi, hastalık aktivitesi, hastalık süresi, vitiligo dışı ek otoimmün hastalık varlığı ve ailede vitiligo varlığı açısından anlamlı bir ilişki gözlemlenmedi.

**Tablo 4.6.** HLADQB1\*02 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması

Özellik	HLA-DQB1*02 (+) N (%)	HLA-DQB1*02 (-) N (%)	p
Yaş, yıl *	40,8 (15,3)	44,4 (13,5)	0,005
Cinsiyet			0,47
Kadın	17 (54,8)	37 (62,7)	
Erkek	14 (45,2)	22 (37,3)	
Vitiligo alt tipi			0,048
Fokal	6 (23,1)	24 (46,2)	
Jeneralize	20 (76,9)	28 (53,8)	
Vitiligo başlangıç yaşı			0,030
<30	19 (73,1)	24 (47,1)	
>30	7 (26,9)	27 (52,9)	
Hastalık yaygınlığı (VASI)**	5 (2,1-12)	3 (1-9,8)	0,11
Depigmentasyon derecesi			0,58
%25	4 (17,4)	4 (11,4)	
%50	4 (17,4)	5 (14,3)	
%75	6 (26,1)	10 (28,6)	
%90	4 (17,4)	12 (34,3)	
%100	5 (21,7)	4 (11,4)	
Hastalık aktivitesi (VIDA)			0,63
-1	8 (32)	12 (23,5)	
0	3 (12)	8 (15,7)	
+1	2 (8)	7 (13,7)	
+2	4 (16)	13 (25,5)	
+3	6 (24)	10 (19,6)	
+4	2 (8)	1 (2)	
Hastalık süresi, ay**	7,5 (1-20,8)	8 (2-21)	0,80
Vitiligo dışı ek otoimmün hastalık varlığı			0,26
Var	11 (42,3)	15 (29,4)	
Yok	15 (57,7)	36 (70,6)	
Ailede vitiligo varlığı			0,43
Var	8 (25,8)	11 (18,6)	
Yok	23 (78,9)	48 (81,4)	

#### 4.4. Vitiligolu Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde HLA-DRB1 Allel Sıklıkları

Vitiligolu hastalar ve sağlıklı gönüllülerin HLA-DRB1 allel frekansları Tablo 4.7.'de karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.

HLA-DRB1\*01 vitiligolu hastaların %8,8'inde ve sağlıklı kontrollerin %20'inde görüldü. Yapılan risk analizi sonucunda HLA-DRB1\*01'i vitiligo için koruyucu olduğu gösterildi (OR: 0,39; %95 GA: 0,32-0,91; p=0,029).

**Tablo 4.7.** Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde HLA-DRB1 allel sıklığı

HLA-DRB1* allelere	Vitiligo Hastaları (n=91) n (%)	Sağlıklı Kontroller (n=100) n (%)	p	OR	%95 GA
01	8 (8,8)	20 (20)	<b>0,029</b>	0,39	0,16-0,92
03	7 (7,7)	14 (14)	0,16		
04	25 (27,5)	22 (22)	0,38		
07	28 (30,8)	19 (19)	0,059		
08	2 (2,2)	6 (6)	0,19		
09	1 (1,1)	1 (1)	0,95		
10	4 (4,4)	4 (4)	0,89		
11	29 (31,9)	36 (36)	0,55		
12	2 (2,2)	1 (1)	0,61		
13	26 (28,6)	29 (29)	0,95		
14	7 (7,7)	9 (9)	0,75		
15	19 (20,9)	12 (12)	0,096		
16	11 (12,1)	9 (9)	0,49		

HLA-DRB1\*01 (+) ve (-) hastalar cinsiyet dışında (p=0,049); yaş (p=0,65), vitiligo alt tipi (p=0,25) vitiligo başlangıç yaşı (p=0,38), hastalık yaygınlığı (p=0,34), depigmentasyon derecesi (p=0,58), hastalık aktivitesi (p=0,44), hastalık süresi (p=0,72), vitiligo dışı otoimmün hastalık varlığı (p=0,59) ve ailede vitiligo varlığı (p=0,53) bakımından benzerdi (Tablo 4.8.).

**Tablo 4.8.** HLA-DRB1\*01 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması

Özellik	HLA-DRB1*01 (+) N (%)	HLA-DRB1*01 (-) N (%)	p
Yaş, yıl *	41,6 (16,6)	43,5 (13,7)	0,65
Cinsiyet			0,049
Kadın	10 (35,7)	91 (55,8)	
Erkek	18 (64,3)	72 (44,2)	
Vitiligo alt tipi			0,25
Fokal	1 (16,7)	29 (40,3)	
Jeneralize	5 (83,3)	43 (59,7)	
Vitiligo başlangıç yaşı			0,38
<30	5 (71,4)	38 (54,3)	
>30	2 (28,6)	32 (45,7)	
Hastalık yaygınlığı (VASI)**	2,6 (0,9-6)	4 (1,4-11,8)	0,34
Depigmentasyon derecesi			0,58
%25	3 (75)	5 (9,3)	
%50	0 (0)	9 (16,7)	
%75	1 (25)	15 (27,8)	
%90	0 (0)	16 (29,6)	
%100	0 (0)	9 (16,7)	
Hastalık aktivitesi (VIDA)			0,44
-1	1 (14,3)	19 (27,5)	
0	2 (28,6)	9 (13)	
+1	0 (8)	9 (13)	
+2	2 (28,6)	15 (21,7)	
+3	1 (14,3)	15 (21,7)	
+4	1 (14,3)	2 (2,9)	
Hastalık süresi, ay**	11 (1-23)	7,5 (2-20,3)	0,72
Vitiligo dışı ek otoimmün hastalık varlığı			0,59
Var	3 (42,9)	23 (32,9)	
Yok	4 (57,1)	47 (67,1)	
Ailede vitiligo varlığı			0,53
Var	1 (25,8)	18 (22)	
Yok	7 (78,9)	64 (78)	

HLA-DRB1\*07 ve -DRB1\*15 allele frekansları vitiligo hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında yüksek olmalarına karşın (sırasıyla %30,8'e karşı %19 ve %20,9'a 12) klinik olarak anlamlı olan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p'ler sırasıyla 0,052 ve 0,096). Öte yandan vitiligo hastalarında hastalık özellikleri ile DRB1\*07 ve DRB1\*15 arasındaki ilişki incelendiğinde DRB1\*07 (+) hastalarda yaygın vitiligo görülme sıklığının DRB1\*07 (-) hastalardan daha fazla



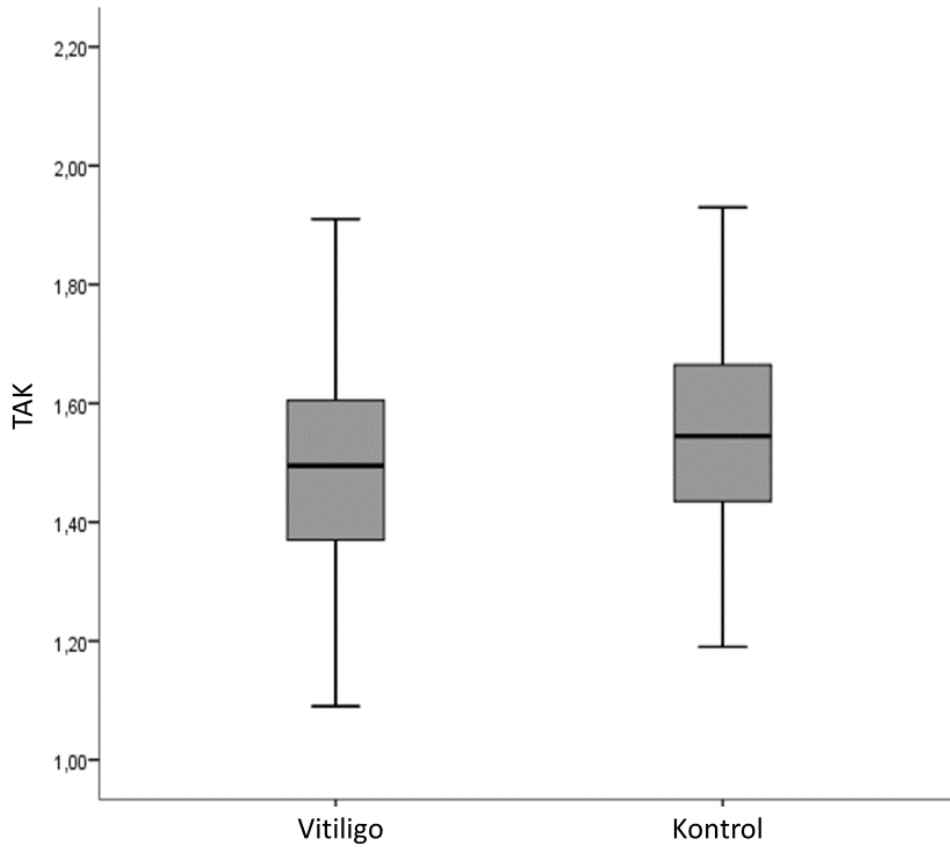
olduğu görüldü (%76,9'a karşılık %53,8;  $p=0,048$ ) (Tablo 10). DRB1\*07 alleli olan hastalar ayrıca bu alleli olmayan hastalardan belirgin olarak daha gençti ( $p=0,012$ ) Vitiligo başlangıç yaşı DRB1\*07 (+) hastaların %69,2'sinde <30 iken DRB1\*07 (-) hastalarda bu oran %49 idi ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,091$ ) (Tablo 10). HLA-DRB1\*15 (+) ve (-) hastalar yaş ( $p=0,69$ ), cinsiyet ( $p=0,88$ ) vitiligo alt tipi ( $p=0,25$ ) vitiligo başlangıç yaşı ( $p=0,98$ ), hastalık yaygınlığı (0,93), depigmentasyon derecesi (0,86), hastalık aktivitesi (0,55), hastalık süresi (0,99), vitiligo dışı otoimmün hastalık varlığı ( $p=0,1$ ) ve ailede vitiligo varlığı ( $p=0,090$ ) bakımından benzerdi (Tablo 4.9.).

**Tablo 4.9.** HLA-DRB1\*07 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların karşılaştırılması

Özellik	HLA- DRB1*07 (+) N (%)	HLA- DRB1*07 (-) N (%)	p
Yaş, yıl *	38,8 (13,3)	44,7 (14,2)	0,012
Cinsiyet			0,53
Kadın	23 (48,9)	78 (54,2)	
Erkek	24 (51,1)	66 (45,8)	
Vitiligo alt tipi			0,048
Fokal	6 (23,1)	24 (46,2)	
Jeneralize	20 (76,9)	28 (53,8)	
Vitiligo başlangıç yaşı			0,091
<30	18 (69,2)	25 (49)	
>30	8 (30,8)	26 (51)	
Hastalık yaygınlığı (VASI)**	5,2 (2,1-12,3)	3 (1-8,8)	0,054
Depigmentasyon derecesi			0,88
%25	4 (16,7)	4 (12,1)	
%50	4 (16,7)	4 (12,1)	
%75	7 (29,2)	9 (27,3)	
%90	5 (20,8)	11 (33,3)	
%100	4 (16,7)	5 (15,2)	
Hastalık aktivitesi (VIDA)			0,39
-1	9 (36)	11 (21,6)	
0	2 (8)	9 (17,6)	
+1	2 (8)	7 (13,7)	
+2	4 (16)	13 (25,5)	
+3	6 (24)	10 (19,6)	
+4	2 (8)	1 (2)	
Hastalık süresi, ay**	8,5 (3,3-16,3)	7 (2-24)	0,86
Vitiligo dışı ek otoimmün hastalık varlığı			0,26
Var	11 (42,3)	15 (29,4)	
Yok	15 (57,7)	36 (70,6)	
Ailede vitiligo varlığı			0,24
Var	8 (28,6)	11 (17,7)	
Yok	20 (71,4)	51 (82,3)	

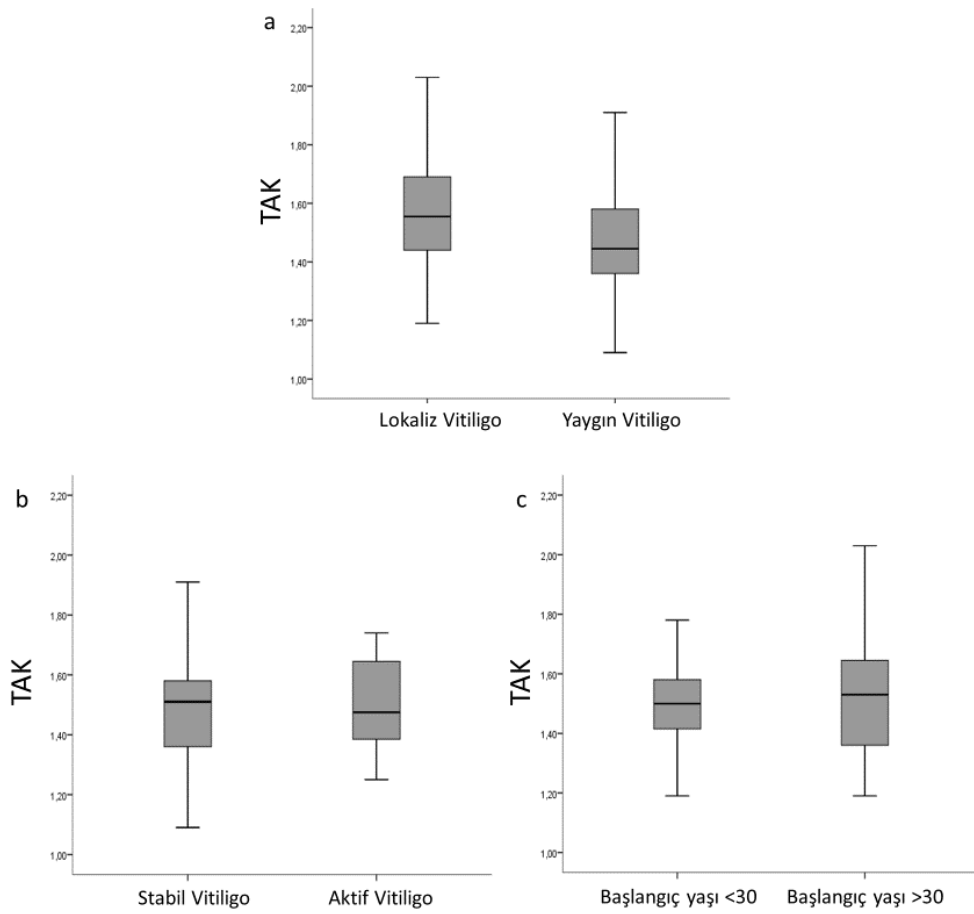
#### 4.5. Vitiligo Tanısıyla Takip Edilen Hastalar ve Sağlıklı Gönüllülerde Serum TAK Seviyeleri

Vitiligolu hastalarda ortalama TAK düzeyi 1,52 ( $\pm$ 0,19) ve sağlıklı gönüllülerde 1,56 (0,17) olarak ölçüldü. Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontroller serum TAK düzeyleri bakımından benzerdi ( $p=0,14$ ) (Şekil 4.1).



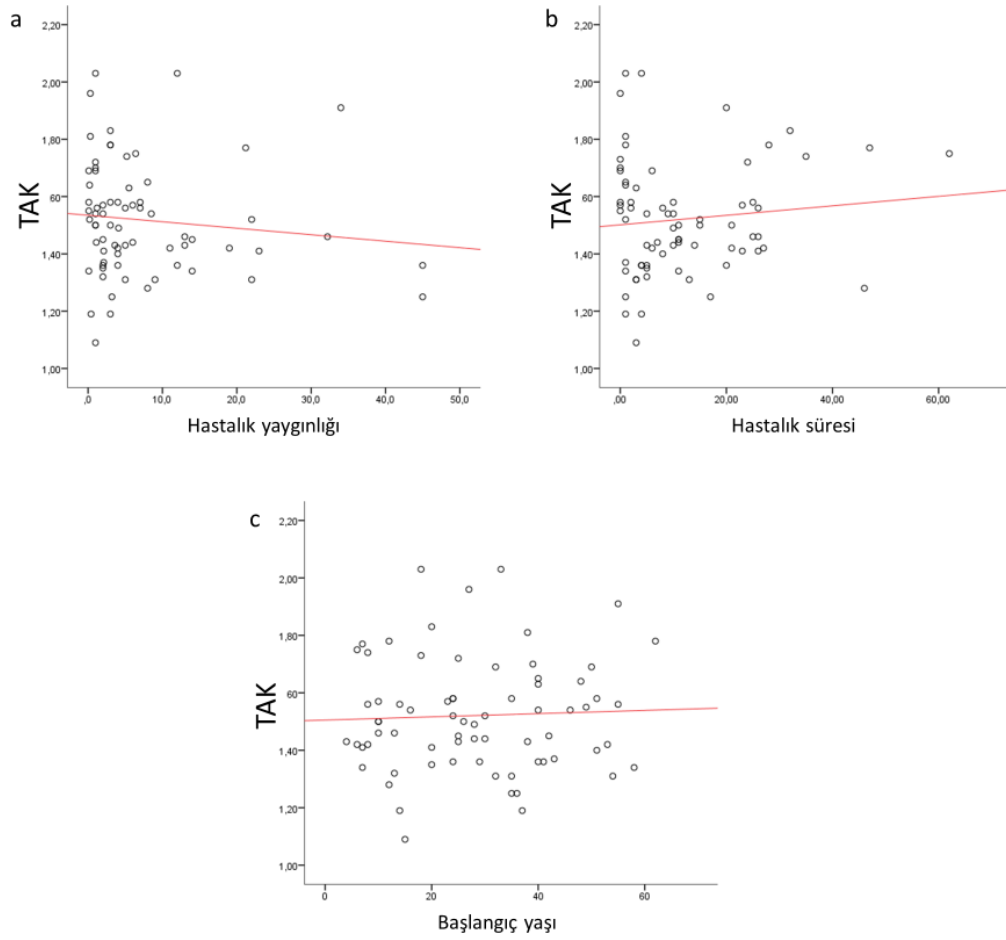
**Şekil 4.1.** Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerin serum TAK düzeylerinin karşılaştırılması

Vitiligo hastalarında serum TAK düzeyleri ile vitiligo klinik özellikleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde serum TAK düzeylerinin lokalize ve yaygın vitiligolu hastalarda ( $p=0,23$ ), aktif ve stabil vitiligolu hastalarda ( $p=0,77$ ) ve vitiligo başlangıç yaşı 30'un altında ve üstünde olan hastalarda ( $p=0,92$ ) benzer olduğu görüldü (Şekil 4.2.)



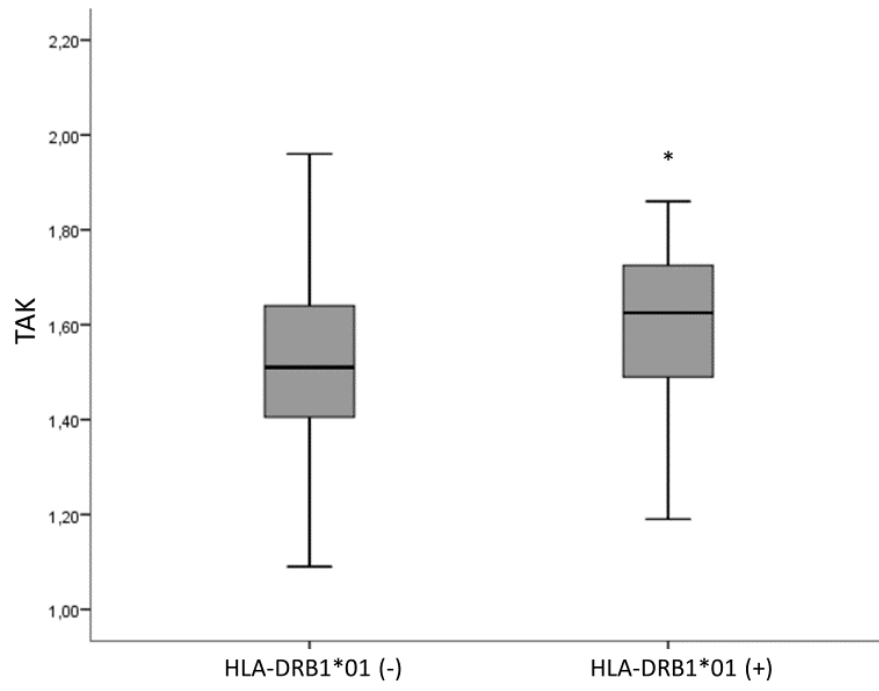
**Şekil 4.2.** Serum TAK düzeylerinin vitiligo alt tipi (a), hastalık aktivitesi (b) ve başlangıç yaşına (c) göre değişimlerinin karşılaştırılması

Vitiligolu hastalarda ayrıca serum TAK düzeyleri ile hastalık yaygınlığı ( $p=0,12$ ;  $r=0,19$ ), hastalık süresi ( $p=0,75$ ;  $r=0,04$ ) ve başlangıç yaşı ( $p=0,88$ ;  $r=0,02$ ) arasında korelasyon izlenmedi (Şekil 4.3)



**Şekil 4.3.** Serum TAK düzeyleri ile hastalık yaygınlığı (a), hastalık süresi (b) ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki korelasyonun incelenmesi

Vitiligo hastalarında serum TAK düzeyleri ile HLA ilişkisi incelendi. HLA-DRB1\*01 alleli bulunan hastalarda serum ortalama TAK düzeyleri  $1,61 (\pm 0,17)$  iken HLA-DRB1\*01 alleli bulunmayan hastalarda  $1,52 (\pm 0,18)$  idi. HLA-DRB1\*01 alleli bulunmayan hastaların serum TAK seviyeleri HLA-DRB1\*01 alleli bulunan hastalardan anlamlı derecede daha düşüktü ( $p=0,033$ ) (Şekil 4.4). Diğer sınıf I ve sınıf II HLA alleleri ile TAK arasında ilişki saptanmadı.



**Şekil 4.4.** HLA-DRB1\*01 alleli bulunan ve bulunmayan hastaların serum TAK seviyelerinin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA

HLA allelleri, T hücrelerine antijen sunarak spesifik bir immün reaksiyonun tetiklenmesini sağlayan histokompabilite glikoproteinlerini kodlar ve başta psöriazis, pemfigus vulgaris ve Behçet hastalığı olmak üzere birçok otoimmün ve inflamatuvar deri hastalığı için risk faktörü olarak belirlenmiştir (164-166). Çalışmamız HLA-A\*02 allelinin Türk hastalarda vitiligo riskini arttırdığını ve HLA-A\*11 allelinin vitiligo için koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. HLA-A allelleri ile vitiligoya ait hastalık özelliklerinin ilişkisi incelendiğinde HLA-A\*02 allelinin geç başlangıçlı vitiligo ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. HLA-DQB1 allel sıklıkları hasta ve kontrol gruplarında benzer olmasına rağmen HLA-DQB1\*02 yaygın vitiligosu olan hastalar ve erken başlangıçlı vitiligoda daha sık görülürken HLA-DQB1\*06 da vitiligo aile hikayesi pozitif olan hastalarda daha sık olduğu görüldü. HLA-DRB1\*01 allel sıklığı vitiligolu hastalar ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek bulundu. HLA-DR\*07 allel sıklığı da HLA-DQB1\*02'e benzer şekilde yaygın vitiligosu olan hastalar ve erken başlangıçlı vitiligoda daha sık görüldü. Serum TAK seviyeleri vitiligolu hastalar ve kontrol grubu arasında benzerdi. Ayrıca serum TAK seviyeleri ile vitiligo alt tipi, hastalık aktivitesi, başlangıç yaşı, hastalık süresi ve hastalık yaygınlığı gibi vitiligoya ait klinik özellikler arasında ilişki saptanmadı. HLA-DRB1\*01 negatif olan vitiligo hastalarının serum TAK düzeyleri HLA-DRB1\*01 pozitif olan hastalarda belirgin olarak düşüktü.

60 yıl önce keşfedilmesinden bu yana HLA, immün sistem fonksiyonlarının ve çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. Organ transplantasyonunda donör-alıcı uyumluluğunun belirlemedeki temel rolünün yanı sıra HLA genotiplemesi, bazı otoimmün hastalıkların tanısal çalışmasının bir parçası olarak rutin olarak yapılmaktadır. HLA, hücre içi ve hücre dışı antijenlerin sunumunda, doğal ve adaptif immün yanıtların düzenlenmesinde önemli rol oynarlar.

Daha önce yapılan çalışmalar hem sınıf I MHC hem de sınıf II antijenlerin vitiligo gelişiminde rolü olabileceğini göstermektedir. Deride hasar sonrası HLA-DR<sup>+</sup> melanositler izlenebilir. Bu melanositler antijen sunarak melanosit hasarı ile sonuçlanan lokal, organ spesifik otoimmün reaksiyonu tetikleyebilirler (167, 168). Melanositlerin yanı sıra deride hasar alanında CD4<sup>+</sup> T ve CD8<sup>+</sup> T hücre infiltrasyonu da artış görülmektedir (167, 169). HLA sınıf I molekülleri ile sitotoksik T hücrelerine

ve HLA sınıf 2 molekülleri ile yardımcı T hücrelerine sunulan antijenler fonksiyonel melanosit kaybıyla sonuçlanan immün reaksiyonu tetikleyebilirler.

HLA-A ile vitiligo arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma mevcuttur ancak bu çalışmaların sonuçları hasta popülasyonu ve etnik gruplara göre büyük değişiklikler gösterir. Ramire ve arkadaşlarının Brezilya'da yaptıkları çalışmalarında HLA-A\*02 allelinin 2.68 kat artmış vitiligo riski ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (170). Almanya'da yapılan bir başka çalışmada benzer şekilde HLA-A\*02 allel sıklığı ile artmış vitiligo riski arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir (171).

Türk toplumundan vitiligo-HLA ilişkisini inceleyen çalışmalar kısıtlıdır ve sonuçları çelişkilidir. Akay ve arkadaşlarının yaptığı ve 80 vitiligo hastasının dahil edildiği çalışmada HLA-A\*24 allelinin vitiligo riskini 3,9 kat ve HLA-A\*30 allelinin vitiligo riskini 1,1 kat arttırdığı gösterilmiştir. Hasta ve kontrol grubu HLA-A\*02 sıklığı bakımından benzerdi (17). Taştan ve arkadaşlarının Türkiye'de yaptıkları bir başka çalışmalarında ise HLA-A allellerinin artmış vitiligo riski ile ilişkili olmadığı ve HLA-A\*24 allelinin vitiligo için koruyucu olduğu gösterilmiştir (172).

HLA-A\*02 birçok otoantijenin sunumunda görev alır. Vitiligo patogenezinde rol oynadıkları düşünülen melanosit kaynaklı proteinler olan tirozinaz, gp100 ve MART-1/Melan-A da HLA-A\*02 aracılı sunulan antijenlerden birkaçıdır (173-175). Hayashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada artmış vitiligo riski MHC sınıf I bölgesindeki 20 kb'lık bir tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ile ilişkilendirilmiştir (176). Bu SNP periferik kan mononükleer hücrelerde HLA-A transkripsiyon artışına neden olan transkripsiyon regülatörü ile birlikte bulunur. Bu durum vitiligo hastalarında artmış HLA-A ekspresyonu ve artmış antijen sunumu ile sonuçlanır.

Vitiligo hastalarında HLA-A transkripsiyonundaki kalitatif artışın yanı sıra fonksiyonel değişiklikler de izlenmektedir. HLA-A\*02 pozitif vitiligo hastalarında sitotoksik T hücre reaktivitesini değerlendiren bir çalışmada sitotoksik T hücrelerin gp100, MelanA/MART-1 ve tirozinaz ile muamele edildikten sonra sitokin salınımları incelenmiştir (177). HLA-A pozitif vitiligolu hastalarda gp100 reaktivitesinde diğer melanosit otoantijenleri ile karşılaştırıldığında anlamlı artış izlenmiştir. Bu reaktivite artışı özellikle aktif vitiligo hastalarında ve yüzey alanı < %5 olan hastalarda belirgin olup HLA-A aracılı gp100 sunumunun vitiligo patogenezinde rol oynayabileceği hipotezini ortaya atmıştır.



HLA-A\*11 daha önce yapılan çalışmalarda hastalarla karşılaştırıldığında sağlıklı kontrollerde daha sık olduğu gösterilmiş ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ramire ve arkadaşlarının Brezilya'da ve Akay ve arkadaşlarının Türkiye'de yaptıkları çalışmalarda kontrol grubunda izlenen HLA-A\*11 sıklığının hastaların yaklaşık 2 katı sıklıkta olmasına rağmen sonuçlar istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşmamıştır (17, 170). Çalışmamız HLA-A\*11'in Vitiligo hastalarındaki koruyucu rolünü istatistiksel anlamlılık sınırında gösteren ilk çalışmadır. HLA-A\*11'in vitiligodaki koruyucu etkisi HLA-A\*11 moleküllerince taşınan spesifik peptit dizilerine bağlı olabilir. Otoimmün ve inflamatuvar deri hastalıklarında çalışılmamakla birlikte Burkitt's lenfomada HLA-A\*11'in doğal öldürücü hücrelere bağlı hücre lizisine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (178).

Daha önce yapılan çalışmalarda vitiligonun klinik özellikleri ve HLA alleleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Hastalık yaygınlığı ile HLA ilişkisi değerlendirildiğinde HLA-A\*32 allelinin lokalize vitiligo ve HLA-DQB1\*06, HLA-A\*25, HLA-A\*30, HLA-B\*13, HLA-B\*27 ve HLA-Cw\*06 allellerinin jeneralize vitiligo ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (170, 179). Vitiligo, ailesel yatkınlığın belirgin risk artışına neden olduğu bir hastalıktır ve HLA-pozitif aile hikayesi varlığını inceleyen çalışmalar HLA-A\*02, HLA-A\*28, HLA-A\*31, HLA-B\*44, ve HLA-DR\*07 allellerinin pozitif aile hikayesi olan hastalarda daha sık olduğunu göstermiştir (180, 181). Çalışmamızda hastalık yaygınlığı ve pozitif aile hikayesi ile HLA-A alleleri ile arasında ilişki gösterilememiştir.

HLA sınıf II allelerinden olan HLA-DQB1 ve HLA-DRB1'in vitiligo ile olan ilişkileri daha önce birçok çalışmada ortaya konmuştur. DQB1\*0201 Slovak popülasyonunda; HLA-DQB1\*0303 Çin, Alman ve İtalyanlarda; DQB1\*0503 Çin popülasyonunda artmış vitiligo riski ile ilişkili olduğu gösterilirken HLA-DQB1\*0602 allelinin Alman popülasyonunda vitiligo riski ile negatif korale olduğu gösterilmiştir(182-185). HLA-DRB1 allellerinden HLA-DRB1\*07 ve HLA-DRB1\*04'ün Brezilya, Fas, Çin, Hindistan, Meksika'da yapılan çalışmalarda vitiligo riskini arttırdıkları gösterilmiştir (170, 181, 186-188).

Taştan ve arkadaşlarının Türk popülasyonunda yaptıkları çalışmalarında DRB1\*03, DRB1\*04 ve DRB1\*07 allellerinin vitiligo için risk faktörü olduğu gösterilirken HLA-DQB1\*02, HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*04, HLA-DQB1\*05 ve

HLA-DQB1\*06 allel sıklıklarının, çalışmamızla benzer şekilde, vitiligolu hastalar ve sağlıklı gönüller arasında benzer olduğu gösterilmiştir (172). Öte yandan Akay ve arkadaşlarının yine Türkiye’de yaptıkları çalışmada HLA-DQB1\*05 ve HLA-DQB1\*06 allel sıklıkları vitiligo grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (17).

Çalışmamızda vitiligo riskini arttıran HLA-DQB1 ve HLA-DRB1 alleli saptanmazken HLA-DRB1\*01’in vitiligo riskine karşı koruyucu olduğu saptandı. Çalışmamıza benzer bir şekilde Finco ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da HLA-DRB1\*01 varlığının vitiligo için koruyucu olduğu gösterilmiştir (189). Fas’ta yapılan bir başka çalışmada ise DRB1\*03’in vitiligo için koruyucu olduğu ve DRB1\*03’ün varlığının vitiligo riskini azalttığı gösterilmiştir (186).

HLA sınıf II allel frekansı ile vitiligo hastalık özellikleri arasındaki ilişki incelendiğinde HLA-DQB1\*06 allel sıklığının, ailede vitiligo hikayesi pozitif olan hastalarda arttığı görüldü. Daha önce yapılan çalışmalarda HLA-A\*02, HLA-A\*28, HLA-A\*31, HLA-B\*44, HLA-DR4,21 HLA-DRB1\*07 ve HLA-DQw3 alleleri ile pozitif aile hikayesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (180, 181, 190). HLA-DQB1\*06 daha önceki çalışmalarda ailesel vitiligo ile ilişkilendirilmemiştir. HLA-DQB1\*06 Türk toplumunda ailesel vitiligo yatkınlığını gösteren bir belirteç olabilir.

HLA-DQB1\*02 ve HLA-DRB1\*07 frekansları vitiligolu hastalar ve kontrol grubu arasında benzer olmasına rağmen HLA-DQB1\*02 ve HLA-DRB1\*07, yaygın vitiligolu hastalar ve vitiligo başlangıç yaşı <30 olan hastalarda daha sık olarak bulundu. Yaygın vitiligo için risk faktörlerinin incelendiği HLA çalışmalarında, HLA-A\*25, HLA-A\*30, HLA-B\*13, HLA-B\*27, HLA-Cw\*06 ve HLA-DQB1\*06 yaygın vitiligo riskini arttırdıkları gösterilmiştir (170, 179). HLA-DQB1\*02 daha önce yaygın vitiligo riski ile ilişkilendirilmemiştir ve biz çalışmamızda HLA-DQB1\*02 allelinin Türk popülasyonunda yaygın ve erken başlangıçlı vitiligo için bir risk faktörü olabileceğini gösterdik. HLA-DRB1\*07 alleli de erken başlangıçlı vitiligo ile ilişkili bulundu. Hu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, bizim çalışmamıza benzer şekilde HLA-DRB1\*07 alleli erken başlangıçlı vitiligo ile ilişkilendirilmiştir (181). Erken başlangıçlı vitiligo riskini arttırdığı gösterilen diğer HLA alleleri ise HLA-DR4 ve HLA-DQB1\*03 şeklinde sıralanabilir (190, 191).

Vitiligo genellikle çocukluk ve genç erişkinlik döneminde başlayan bir hastalıktır. Hastaların yaklaşık yarısında vitiligo 20 yaş ve öncesinde başlar. Geç

başlangıçlı vitiligo farklı çalışmalarda 30 ya da 50 yaş sonrası başlayan vitiligo olarak tanımlandığından geç başlangıçlı vitiligo ve özellikleri ile ilgili veriler sınırlıdır (24, 192, 193). Geç başlangıçlı vitiligolu hastalarda tetikleyici faktör varlığı, vitiligoya eşlik edebilecek ek hastalık varlığı, pozitif aile hikayesi ve lökotrişi daha sık izlenir (193). 2002 yılında Burgos ve arkadaşları 56 multijenerasyon vitiligolu ailenin soy ağacı ve vitiligo özelliklerini inceleyerek 30 yaşından sonra başlayan, geç başlangıçlı vitiligonun erken başlangıçlı hastalıktan farklı olarak resesif genotip ve çevresel tetikleyici faktörlerin patogenezinde birlikte rol oynadığı ve HLA ile ilişkili olabilecek bir hastalık olduğu görüşünü ortaya atmıştır (194). Kanwar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada geç başlangıçlı vitiligolu hastalarda tetikleyici faktör varlığının erken başlangıçlı vitiligolu hastalarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak fazla olması bu hipotezi desteklemektedir (193). Çalışmamızda HLA-A\*02'nin geç başlangıçlı; HLA-A\*26, HLA-DQB1\*02 ve HLA-DRB1\*07'nin erken başlangıçlı vitiligo ile ilişkili olduğu gösterildi. Farklı HLA alleleri ile sunulan ve immün sistemi farklı yollarla uyaran ya da inhibe eden farklı antijenler vitiligo başlangıç yaşındaki bu değişimlerin nedeni olabilir.

HLA-DQ ve HLA-DR'nin vitiligo patogenezindeki rolünü inceleyen çalışmaların, HLA-A-vitiligo çalışmaları ile karşılaştırıldığında sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Vitiligo perilezyonel deride HLA-DR<sup>+</sup> makrofajlar tespit edilmiştir. Bu makrofajlar enflamasyon ve travmaya yanıt olarak melanozomal antijenleri sunabilirler (168). Steitz ve arkadaşlarının yaptığı deneysel vitiligo fare modelinde CD4<sup>+</sup> T lenfositleri yetersiz farelerde vitiligo gelişmediği görülmüştür (167). Daha sonra yapılan çalışmalar ile CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin, CD8<sup>+</sup> T hücre aracılı melanosit hasarı için de gerekli olduğu gösterilmiştir. CD4<sup>+</sup> T lenfositler bölgesel lenf nodunda melanositik self antijenlerin CD8<sup>+</sup> T lenfositlere sunulması ve T hücre aktivasyonunda görev alır. Ayrıca deride CD8<sup>+</sup> T lenfosit aracılı melanosit destrüksiyonunda da CD4<sup>+</sup> T lenfosit kaynaklı inflamasyona ihtiyaç duyulur (167). Literatürde vitiligo patogenezinde CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin önemli yere sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcut ancak CD4<sup>+</sup> T hücre alt sınıflarının ayrıntılı değişiklikleri hakkında çok sınırlı veri bulunmaktadır. Zhen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dolaşımdaki Th1, Th2, Th17 ve Treg yüzdeleri; FOXP3 ve benzeri transkripsiyon faktörlerinin mRNA ve protein düzeyleri ile IFN- $\gamma$ , IL-4, TGF- $\beta$  ve IL-17A serum düzeyleri incelenmiştir

(195). Sonuçlara göre vitiligo hastalarında Th1 ve Th17 sayı ve oranında artış saptanırken Th2 ve Treg sayı ve oranları kontrol grubu ile benzer olduğu gösterilmiştir. Ayrıca Th1/Treg ve Th17/Treg oranlarında da artış gösterilmiştir. Benzer sonuçlar hem mRNA hem de protein seviyeleri düzeyinde transkripsiyon faktörlerinde de gösterilmiştir. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında serum IL-17A düzeylerinde artış görülürken serum IFN- $\gamma$ , IL-4 ve TGF- $\beta$  düzeylerinin vitiligo hastaları ile kontrol grubunda benzer olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, dolaşımdaki CD4<sup>+</sup> T hücre alt gruplarında, Th1 ve Th17'nin, vitiligonun ilerlemesinde önemli rol oynadığı hipotezini ortaya atmıştır (195). Bir başka çalışmada Zhou ve arkadaşları non-segmental vitiligolu hastalarda periferik kanda Th17, Th1, serum IL-17A, TGF- $\beta$ 1 ve IL-21 düzeylerini araştırmıştır (196). Önceki araştırmalara benzer şekilde Th17 hücre frekansı ile serum TGF- $\beta$ 1 ve IL-21 düzeylerinde artış saptanmıştır. Çalışma ayrıca Th17 frekansı ile serum TGF- $\beta$ 1 ve IL-21 düzeylerinin korale olduğunu göstermiş ve vitiligolu hastalarda artmış TGF- $\beta$ 1 ve IL-21 düzeylerinin artmış Th17 differansiyasyonuna katkıda bulunabileceği hipotezi ortaya atılmıştır (196). Öte yandan Th1, Th2 ve Th17 sitokinlerin incelendiği bir başka çalışmada tüm sitokinler vitiligolu hastalarda kontrollerle karşılaştırıldığında artmış seviyelerde olduğu görülmüştür. Ancak Th1/Th2 sitokin oranlarının artması ve Th2 sitokinlerin vitiligo komplikasyonları olan hastalarda düşük olması Th2 sitokinlerin koruyucu rolü olduğunu düşündürmüştür (197).

Th1 ve Th17'in vitiligo patogenezindeki önemli rollerini gösteren çalışmalara rağmen Treg hücrelerin vitiligodaki en önemli CD4<sup>+</sup> T lenfosit olduğu görüşü yaygındır. Dolaşımdaki Treg sayısı akım sitometrisi ile değerlendirildiğinde vitiligo hastalarındaki Treg sayısının sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür (3, 8, 198). Azalmış periferik Treg sayısı ayrıca erken başlangıçlı vitiligolu hastalarda geç başlangıçlı hastalarla karşılaştırıldığında ve aktif vitiligolu hastalarda stabil hastalarla karşılaştırıldığında belirgin azaldığı görülmüştür (8). Ayrıca vitiligo lezyonlu deri ve perilezyonel dokularda da azalmış Treg sayısı görülmüştür (199, 200). Glisic ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HLA-DQB1 genotipleri ile Treg apoptozu arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir (201). Çalışmada HLA DQB1\*0302, DQB1\*0201 ve HLA DQB1\*0602'nin artmış Treg apoptozu ve azalmış Treg fonksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. HLA-DQB1, otoimmün

hastalıklarda self antijene karşı immün reaksiyonu inhibe eden Treg sayı ve fonksiyonlarını etkileyerek hastalık patogeneze katkı sağlayabilir.

Vitiligolu hastalarda Treg sayısının yanı sıra Treg fonksiyonlarında da çeşitli anomaliler mevcuttur. Progresif vitiligolu hastalarda Treg hücrelerin fonksiyonları, uyarılmış otolog CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin proliferasyonunu ve sitokin üretimini değerlendirilerek analiz edilmiş ve Treg fonksiyonlarında belirgin azalma gözlenmiştir (3, 198). Lili ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada artmış IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ile birlikte azalmış Treg süpresif kapasiteleri gösterilmiştir (3). Dwivedi ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise azalmış Forkhead box P3 (FoxP3), sitotoksik T hücre antijen 4 (CTLA-4) ve IL-10 seviyeleri gözlenmiştir (8). Transkripsiyon faktörü FoxP3 Treg'ler için spesifik bir belirteçtir ve Treg hücre gelişimi ve fonksiyonunu yönetiminde görev alır (202). FoxP3, iki önemli transkripsiyon faktörü olan aktive T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) ve NF- $\kappa$ B'yi direk inhibe ederek T yardımcı hücrelerin efektör fonksiyonlarını baskılar (203). Ayrıca gösterilmiştir ki farelerde, Treg'lerin spesifik olarak ortadan kaldırılması FoxP3<sup>+</sup> Treg'lerin tükenmesine, otoimmünitenin indüklenmesine yol açar (204). CTLA-4, T hücresi aktivasyonunun düzenlenmesi ve self antijenlere karşı toleransın sürdürülmesinde önemli rol oynayan T hücresi yüzey molekülüdür (205). Vitiligo hastalarında izlenen hem çözümlü (CTLA-4) hem de tam uzunluktaki (fICTLA-4) CTLA-4 mRNA'ları, Treg'lerin normal baskılayıcı kapasitesini bozarak vitiligonun oluşmasında rol oynarlar (206). Treg sayı ve fonksiyonundaki değişimler self tolerans kaybına neden olarak vitiligolu hastalarda melanozomal self antijenlere karşı gelişen immün yanıtın oluşmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir.

Vitiligo riskini arttıran ya da vitiligo için koruyucu olan HLA allellerinin tanımlanması bu HLA ile sunulan spesifik peptitlerin tanımlanmasına olanak sağlayabilir. MHC allellerinin otoimmün hastalıklar ile ilişkisi MHC' nin antijen sunma fonksiyonu nedeniyle önemlidir. MHC molekülleri tarafından sunulan peptitler sunuldukları allele özgü motiflere sahiptir (97). Peptitlerin belli bir MHC molekülüne olan afiniteleri peptit bağlama oluğunda bulunan peptit bağlama cebindeki amino asit dizileri tarafından belirlenir. Tip 1 diyabet, romatoid artrit ve otoimmün tirodit gibi otoimmün hastalıklarda peptit bağlama ceplerinde ortak amino asit dizileri gösterilmiştir (207-209). Singh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vitiligo

hastalarında HLA-A ve HLA-B  $\alpha$  zincirleri ile HLA-DR  $\beta$  zincirleri peptit bağlama ceplerindeki amino asit imzaları incelenmiş ve hem vitiligo riskini arttıran hem koruyucu olan spesifik diziler tanımlanmıştır (187).

Son yıllarda çok sayıda çalışma, oksidatif stres hipersensitivitesinin melanosit dejenerasyonunu belirlemede çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Vitiligo etiyopatogenezinde yer alan başta travma, stres ve UV olmak üzere majör enfeksiyon, maligniteler, nöral anormallikler, gebelik, kalsiyum dengesizliği ve benzeri stimulanların vitiligoda ROS'un aşırı üretiminden sorumlu olduğu bildirilmiştir (210). Ancak vitiligoda aşırı ROS üretimini başlatan etmen halen belirsizliğini koruyor. Mitokondriyal disfonksiyonun bu etmenlerden biri olduğu düşünülüyor. Kardiyolipin ve kolesterolün bozulmuş transmembran dağılımı gibi mitokondriyal membran lipid defektleri vitiligolu hastaların periferik kan lökositlerindeki artmış ROR üretiminden sorumlu olduğu bulunmuştur (211). ROR hücre metabolizması, proliferasyon, diferansiyasyon, apoptoz ve immün reaksiyonlar gibi birçok hücresel işlemler sırasında oluşur (212, 213). Bunun yanı sıra hava kirliliği, atmosferik gazlar, iyonizan veya UV radyasyon ve mikroorganizmalar gibi ekzojen etmenler de artmış ROR üretimini uyarırlar (212). Bu arada, melanositler katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak oksidatif strese karşı artmış bir duyarlılığa sahiptirler (158). Anormal antioksidan enzim aktivitesinin yanı sıra, melanin sentezi sırasında üretilen artmış ROR da stres altındaki melanositlerde ciddi hasar meydana getirir (214). Derideki melanin UV radyasyonu absorbe ederek melanosit ve keratinositleri UV'nin etkilerinden korumasına karşın sentezi sırasında hücre içi ROR seviyelerini yükselterek melanositleri oksidatif hasara duyarlı hale getirir (214). Vitiligolu hastalarda endojen ve ekzojen uyaranların neden olduğu artmış ROR üretimi birçok çalışmada gösterilmiştir (215). *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda vitiligoda bozulmuş antioksidan aktivite ile birlikte deride artmış miktarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikalleri tespit edilmiştir (215). Artmış üretimin yanı sıra azalmış eliminasyon da vitiligoda görülen artmış ROR seviyelerinden sorumludur. Yüksek düzeylerde tetrahidrobiopterin (6BH<sub>4</sub>) ve onun izomeri olan 7BH<sub>4</sub>'ün birikimine yol açan, biopterin metabolik sisteminin anormal fonksiyonları vitiligolu hastaların deri biyopsilerinde gösterilmiştir (216, 217). Biopterinler, melanogenezde görev alan fenilalanin hidrosilaz ve tirozinaz enzimlerinin inhibitörü olarak görev alırlar ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu stimüle

ederler (218-220). Buna ek olarak vitiligolu hastaların serum ve epidermisinde katalaz, glutasyon peroksidaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin seviyelerinde belirgin düşüklük izlenmiştir (158, 221, 222). Tüm bu bulgular vitiligoda redoks defekti olduğu ve buna bağlı oksidatif stresin arttığı teorisini desteklemektedir.

Artmış oksidatif stresin bir belirteci olan TAK daha önce sınırlı sayıda vitiligo hastasında incelenmiştir. Akoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 31 vitiligo tanısıyla takip edilen hasta ve 38 sağlıklı gönüllüde TAK seviyeleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. TAK vitiligolu hastalarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. Yine aynı çalışmada TAK seviyeleri ile vitiligo tipleri ve hastalık yaygınlığı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir ancak TAK seviyeleri ile hastalık özellikleri arasında bir ilişki saptanamamıştır (223). Yine Türkiye’den bir başka çalışmada TAK, 35 vitiligolu hasta ve 27 sağlıklı gönüllüde araştırılmıştır. Vitiligolu hastalarda TAK düşük bulunmasına rağmen fark bu çalışmada istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşmamıştır (224). Çalışmamızda benzer şekilde TAK seviyeleri vitiligo hastalarında düşük olmasına rağmen sonuçları istatistiksel anlamlılık seviyelerine ulaşamadı.

ROR birçok farklı mekanizma ile vitiligoda melanosit kaybına neden olurlar. ROR çok aktif radikaller olduğundan lipitler, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi biyolojik makromoleküllerin çoğuna zarar verir ve deoksiribonükleik asit (DNA) -protein çapraz bağları, DNA kırılmaları, lipit peroksidasyonu ve enzim aktivasyonu / inaktivasyonunu desteklerler (225). Vitiligoda ROR membran peroksidasyonuna, azalmış mitokondriyal membran potansiyeline, melanosit ve keratinositlerde vakualizasyon ve apoptozise neden olur (226). Artmış ROR üretimine sekonder apoptotik perilezyonel keratinositlerin mitakondrilerinde meydana gelen değişiklikler kök hücre faktörünün sentezini inhibe eder ve perilezyonel melanositlerin proliferere olma ve hayatta kalma davranışlarını olumsuz etkiler (227). Buna ek olarak antioksidan sistemdeki bozukluklar, membran lipitlerinin defektif sentezi ve elektron transport zincirindeki bozukluklar vitiligodaki melanositleri ROR’nin olumsuz etkilerine daha yatkın hale getirmektedir (211, 228). Tüm bu değişiklikler vitiligo gelişimi ile sonuçlanan melanositlerde yapısal ve fonksiyonel hasara neden olur.

ROR ayrıca melanositik antijenlerde değişimi ve yeni antijen oluşumunu uyararak vitiligo patogenezinde rol oynayabilir. Al-Shobaili ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ROR etkisiyle oluşan modifiye tirozinaz (okside tirozinaz, ROR-tirozinaz), non-segmental vitiligoda olası bir antijenik stimulan olarak araştırılmış (213). Farklı hastalık süresi ve şiddeti olan vitiligo hastaları ve sağlıklı kontrollerde antikorların okside tirozinaza bağlanma özellikleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. ROR etkisiyle tirozinaz konformasyon ve fonksiyonunda şiddetli değişiklikler izlenmiştir. Vitiligo hastalarından elde edilen IgG tipindeki otoantikorların sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında okside tirozinaza daha güçlü bağlandıkları görülmüştür. Ayrıca IgG antikorları ile hastalık şiddeti ve süresi arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir. Bu sonuçlar ROR ile modifiye edilen self antijenlerin vitiligo patogenezinde rol oynayabileceği hipotezini ortaya atmıştır.

Self antijenlerde oluşturdukları değişikliklerin yanı sıra ROR ayrıca oksidasyon / redüksiyon reaksiyonlarının protein katlanması için kritik olduğu ER'yi de etkiler. Vitiligoda ER stresi immatür ve yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine bu da katlanmamış protein yanıtının başlamasına neden olur. UPR, ER homeostazını restore ederek hücrenin hayatta kalmasını sağladığı gibi devam eden stres durumunda apoptotik kaskadı indükler (229). Gösterilmiş ki, faktör X-Box bağlayıcı protein 1 (XBP1) ve benzeri UPR bileşenleri, vitiligonun kimyasal tetikleyicilerine maruz kalan melanositlerde indüklenirler (230). Vitiligoya yatkın bireyler oksidatif stres ile sağlıklı bireyler kadar iyi baş edemezler. Elimine edilemeyen ROR birikerek uzamış UPR'a neden olur. Bu durum da melanosit apoptozu ile sonuçlanan interlökin-6 (IL-6), IL-8, IL-11 ve tümör nekroz faktörü (TNF) üretimini indükler (230). Oksidatif stres ayrıca tirozinaz ve Melan-A/MART-1 (T hücrelerce tanınan melanoma antijen 1) içeren egzozomların salınmasına, uyarılabilir ısı şok proteini 70'in (iHSP70) salınmasına ve kalretikülinin (CRT) redistribüsyonuna neden olur. Ubiquitin benzer bir ER proteini olan CRT monosit, makrofaj, nötrofil, T lenfosit, ve dentritik hücre yüzeyinde bulunur ve antijen prezentasyonu, kompleman aktivasyonu ve apoptotik hücrelerin temizlenmesine aracılık eder (231, 232). Vitiligoda yapılan çalışmalar oksidatif stres altındaki melanositlerde CRT'nin ER lümeninden ayrılarak melanosit yüzeyine yerleştiğini göstermiştir (231). Melanosit yüzeyine yerleşen CRT, apoptozis ile sonuçlanan immün sistem aktivasyonunun erken basamaklarından olan dentritik hücre



(DC) - melanosit temasını yönlendirebilir (233). CRT'nin artmış ekspresyonu melanositlerin DC aracılı apoptozise yatkınlığını artırır (231).

Vitiligoda otoimmüitenin başlamasında hem doğal hem de edinsel bağışıklık sistemi önemli rol oynar. Vitiligoda depigmente deriyi infiltre eden hücrelerin incelendiği çalışmalar göstermiştir ki erken vitiligo lezyonları esas olarak DC hücre infiltrasyonu izlenirken, geç lezyonlarda DC oranı azalarak matür T hücre popülasyonunda artış görülür (234). Hem aktif hem de stabil lezyonlarda CD4<sup>+</sup> T ve CD8<sup>+</sup> T artış görülür ancak CD8<sup>+</sup> T hücre artışı belirgin olduğundan vitiligoda CD4<sup>+</sup> T/ CD8<sup>+</sup> T oranı azalmıştır (199). Bu bulgular vitiligonun esas CD8<sup>+</sup> T hücre aracılı bir hastalık olduğu görüşünü desteklemektedir. Melanosit differansiyasyon antijenleri vitiligoda hücrel immüitenin hedef antijenleridir (235). Transforme melanositlerce eksprese edilerek melanin sentezinde görev alan başta Melan-A/MART-1, tirozinaz ve gp100 olmak üzere vitiligo hedef antijenleri langerhans hücreleri (LC) tarafından tanınır ve sunulur (236). Vitiligoda internal ve eksternal uyaranlar sonucunda aktive olan hücrelerden LC'nin, melanositlere karşı gelişen immün yanıtın erken safhasında görev aldığı düşünülmektedir (234). LC, melanositik antijenik peptitleri MHC sınıf I moleküller aracılığı ile bölgesel lenf nodunda CTL'lere sunar (237). Efektör T hücreler, diğer inflamatuvar infiltratlarla birlikte melanositlerin bulunduğu dermoepidermal bileşkeye göç ederler, aktive olur (CD69<sup>+</sup>, CD137<sup>+</sup>, granzyme-B<sup>+</sup>, perforin<sup>+</sup>, and CD107a<sup>+</sup>) ve melanosit apoptozunu uyarırlar (4, 238). CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin vitiligo patogeneziindeki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte Treg sayı ve fonksiyonundaki disregülasyonlara bağlı otoimmün reaksiyon gelişiminin kolaylaşması şeklinde olduğu düşünülmektedir (239).

Vitiligoda self tolerans kaybının tam mekanizması bilinmemektedir ancak ROR etkisiyle değişen self antijenler, oluşan neoantijenler ve Treg hücrelerindeki sayısal ve fonksiyonel değişimlerin bu tolerans kaybına neden olduğu düşünülmektedir. Öte yandan Byrne ve arkadaşlarının yaptığı ve melanomlu hastalarda vitiligo gelişimini inceledikleri çalışmalarında değişmiş self antijen, neoantijen ya da başka bir etken olmaksızın yüksek seviyelerde proinflamatuvar sitokin düzeylerinin otoimmüiteni başlatarak vitiligoya neden olabileceğini göstermişlerdir (240).

Oksidatif stres-HLA ilişkisi neoantijen/değişmiş antijen oluşumu, onların sunulması ve oksidatif stresin melanositler üzerindeki direkt hasarı ile sınırlı olmayabilir. Pemfiguslu hastalarda yapılan bir çalışmada pemfigus için risk faktörü olan tanımlanmış DRB1\*0402 ve DQB1\*0503 ile oksidatif stres ilişkisi incelenmiştir. DRB1\*0402 ve DQB1\*0503 allelerine sahip hastalarda TAK düşük bulunmuştur. Çalışmada ayrıca manganaz süperoksit dismutaz (SOD2), katalaz (CAT), oksidasyon rezistans 1 ve prostoglandin endoperoksit sentetaz gibi oksidatif stres yanıtında görev alan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonları da incelenmiştir. SOD2 ve CAT genlerinde down-regülasyon saptanmıştır. Yazarlar DRB1\*0402 ve DQB1\*0503 pozitif hastalarda görülen TAK düşüklüğünün sebebinin azalmış SOD2 ve CAT ekspresyonu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda vitiligo riskini arttırdığı görülen HLA-A\*02 alleli bulunan ve bulunmayan hastalar serum TAK düzeyleri bakımından benzerdi ancak HLA-DRB1\*01 alleline sahip olmayan hastalarda TAK düzeyleri belirgin olarak düşüktü. HLA-DRB1\*01 allel sıklığı vitiligo hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında düşüktü ve çalışmamız HLA-DRB1\*01 allelinin Türk toplumunda vitiligo için koruyucu olduğunu gösterdi. HLA-DRB1\*01 koruyucu etkisini TAK seviyelerini düşürerek gösteriyor olabilir. Ancak bu teorinin test edilebilmesi için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Vitiligolu hastalarda HLA-A\*02 allel sıklığı sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede artmıştır ve HLA-A\*02 vitiligo riskini 2,2 kat arttırmaktadır.
- HLA-A\*02 allel sıklığı geç başlangıçlı vitiligolu hastalarda yüksek olup HLA-A\*02 geç başlangıçlı vitiligo riskini 3,68 kat arttırmaktadır.
- HLA-A\*11 allel sıklığı kontrol grubunda vitiligolu hastalarla karşılaştırıldığında fazladır ve HLA-A\*11 vitiligo için koruyucudur.
- HLA-A\*11 allelinin koruyucu etkisi yaş ve cinsiyetten bağımsız olarak gözlenmektedir.
  - Vitiligo hastaları ve sağlıklı kontroller HLA-A\*01 HLA-A\*03, HLA-A\*23, HLA-A\*24, HLA-A\* 26, HLA-A\*29, HLA-A\*30, HLA-A\*31, HLA-A\*32, HLA-A\*33 ve HLA-A\*68 alleleri bakımından benzerdir.
- Vitiligolu hastalar ve sağlıklı gönüllerde benzer sıklıkta görülmesine rağmen HLA-A\*26 özellikle erken başlangıçlı vitiligolu hastalarda daha sık görülür.
- HLA-A alleleri ile hastalık şiddeti, pigmentasyon derecesi, hastalık aktivitesi, vitiligo alt tipi, ailede vitiligo varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır.
- Hasta ve kontrol grubu HLA-DQB1\*02, HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*04, HLA-DQB1\*05 ve HLA-DQB1\*06 alleleri bakımından benzerdir.
- HLA-DQB1\*02 yaygın vitiligosu olan ve vitiligo başlangıç yaşı <30 hastalarda siktir.
- HLA-DRB1\*01 sağlıklı kontrollerde vitiligolu hastalarla karşılaştırıldığında daha siktir ve HLA-DRB1\*01'i vitiligo için koruyucudur.
- DRB1\*07 allel frekansı yaygın vitiligosu olan hastalarda lokalize vitiligolu hastalardan daha siktir.
- Serum TAK düzeyleri vitiligolu hastalar ve sağlıklı kontroller arasında benzerdir.
- Vitiligo hastalarında serum TAK düzeyleri ile vitiligo alt tipi, hastalık yaygınlığı, hastalık aktivitesi, başlangıç yaşı ve hastalık süresi arasında ilişki bulunmamaktadır.
- HLA-DRB1\*01 alleli bulunan hastalarda serum TAK düzeyi, HLA-DRB1\*01 alleli bulunmayan hastalardan belirgin olarak yüksektir.

- Çalışmamız dermatolojik hastalıklarla majör doku uyumluluk kompleksi ve TAK arasında literatürde daha önceden belirlenmiş olan ilişkilere vitiligo ile HLA-A\*02, HLA-A\*11 ve HLA-DRB1\*01 arasındakileri tanımlayarak yenilerini eklemiştir. Ayrıca TAK düzeyi ile HLA alleleri arasında olası bir ilişki olabileceğini ve TAK seviyelerinin HLA allel tipine göre değişebileceğini göstermiştir. Bu bulgular, hem koruyucu hem de hastalık risk faktörü olarak majör doku uyumluluk kompleksleri ve TAK'nin rollerinin diğer dermatolojik hastalıklarda da incelenmesinin, bu hastalıkların immünolojik temelleri ve patogenezlerinin anlaşılmasında fayda sağlayacağı yolunda umut vericidir. HLA-A, HLA-DQ ve HLA-DR'nin yanı sıra HLA-B ve HLA-C'nin de incelendiği ve total oksidan kapasitesinin de değerlendirilerek oksidatif indeksin hesaplandığı geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Alkhateeb A, Fain PR, Thody A, Bennett DC, Spritz RA. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res.* 2003;16(3):208-14.
2. Middelkamp-Hup MA, Bos JD, Rius-Diaz F, Gonzalez S, Westerhof W. Treatment of vitiligo vulgaris with narrow-band UVB and oral *Polypodium leucotomos* extract: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21(7):942-50.
3. Lili Y, Yi W, Ji Y, Yue S, Weimin S, Ming L. Global activation of CD8+ cytotoxic T lymphocytes correlates with an impairment in regulatory T cells in patients with generalized vitiligo. *PLoS One.* 2012;7(5):e37513.
4. van den Boorn JG, Konijnenberg D, DelleMijn TA, van der Veen JP, Bos JD, Melief CJ, ve ark. Autoimmune destruction of skin melanocytes by perilesional T cells from vitiligo patients. *J Invest Dermatol.* 2009;129(9):2220-32.
5. Wankowicz-Kalinska A, van den Wijngaard RM, Tigges BJ, Westerhof W, Ogg GS, Cerundolo V, ve ark. Immunopolarization of CD4+ and CD8+ T cells to Type-1-like is associated with melanocyte loss in human vitiligo. *Lab Invest.* 2003;83(5):683-95.
6. van den Wijngaard R, Wankowicz-Kalinska A, Le Poole C, Tigges B, Westerhof W, Das P. Local immune response in skin of generalized vitiligo patients. Destruction of melanocytes is associated with the prominent presence of CLA+ T cells at the perilesional site. *Lab Invest.* 2000;80(8):1299-309.
7. Dwivedi M, Kemp EH, Laddha NC, Mansuri MS, Weetman AP, Begum R. Regulatory T cells in vitiligo: Implications for pathogenesis and therapeutics. *Autoimmun Rev.* 2015;14(1):49-56.
8. Dwivedi M, Laddha NC, Arora P, Marfatia YS, Begum R. Decreased regulatory T-cells and CD4(+)/CD8(+) ratio correlate with disease onset and progression in patients with generalized vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2013;26(4):586-91.
9. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40.
10. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res.* 1999;424(1-2):83-95.
11. Siems WG, Grune T, Esterbauer H. 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life Sci.* 1995;57(8):785-9.
12. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2003;53 Suppl 3:S26-36; discussion S-8.
13. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens.* 2000;18(6):655-73.

14. Salem MM, Shalhaf M, Gibbons NC, Chavan B, Thornton JM, Schallreuter KU. Enhanced DNA binding capacity on up-regulated epidermal wild-type p53 in vitiligo by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated oxidation: a possible repair mechanism for DNA damage. *FASEB J.* 2009;23(11):3790-807.
15. Giovannelli L, Bellandi S, Pitozzi V, Fabbri P, Dolara P, Moretti S. Increased oxidative DNA damage in mononuclear leukocytes in vitiligo. *Mutat Res.* 2004;556(1-2):101-6.
16. Kruger C, Schallreuter KU. A review of the worldwide prevalence of vitiligo in children/adolescents and adults. *Int J Dermatol.* 2012;51(10):1206-12.
17. Akay BN, Bozkir M, Anadolu Y, Gullu S. Epidemiology of vitiligo, associated autoimmune diseases and audiological abnormalities: Ankara study of 80 patients in Turkey. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010;24(10):1144-50.
18. Behl PN, Bhatia RK. 400 cases of vitiligo. A clinico-therapeutic analysis. *Indian J Dermatol.* 1972;17(2):51-6.
19. Lu T, Gao T, Wang A, Jin Y, Li Q, Li C. Vitiligo prevalence study in Shaanxi Province, China. *Int J Dermatol.* 2007;46(1):47-51.
20. Howitz J, Brodthagen H, Schwartz M, Thomsen K. Prevalence of vitiligo. Epidemiological survey on the Isle of Bornholm, Denmark. *Arch Dermatol.* 1977;113(1):47-52.
21. Kyriakis KP, Palamaras I, Tsele E, Michailides C, Terzoudi S. Case detection rates of vitiligo by gender and age. *Int J Dermatol.* 2009;48(3):328-9.
22. Shah H, Mehta A, Astik B. Clinical and sociodemographic study of vitiligo. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2008;74(6):701.
23. Onunu AN, Kubeyinje EP. Vitiligo in the Nigerian African: a study of 351 patients in Benin City, Nigeria. *Int J Dermatol.* 2003;42(10):800-2.
24. Dogra S, Parsad D, Handa S, Kanwar AJ. Late onset vitiligo: a study of 182 patients. *Int J Dermatol.* 2005;44(3):193-6.
25. Zhang Z, Xu SX, Zhang FY, Yin XY, Yang S, Xiao FL, et al. The analysis of genetics and associated autoimmune diseases in Chinese vitiligo patients. *Arch Dermatol Res.* 2009;301(2):167-73.
26. Alzolibani A. Genetic epidemiology and heritability of vitiligo in the Qassim region of Saudi Arabia. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2009;18(3):119-25.
27. Sun X, Xu A, Wei X, Ouyang J, Lu L, Chen M, et al. Genetic epidemiology of vitiligo: a study of 815 probands and their families from south China. *Int J Dermatol.* 2006;45(10):1176-81.
28. Nath SK, Majumder PP, Nordlund JJ. Genetic epidemiology of vitiligo: multilocus recessivity cross-validated. *Am J Hum Genet.* 1994;55(5):981-90.

29. Tobin DJ, Swanson NN, Pittelkow MR, Peters EM, Schallreuter KU. Melanocytes are not absent in lesional skin of long duration vitiligo. *J Pathol.* 2000;191(4):407-16.
30. Alikhan A, Felsten LM, Daly M, Petronic-Rosic V. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(3):473-91.
31. Daniel BS, Wittal R. Vitiligo treatment update. *Australas J Dermatol.* 2015;56(2):85-92.
32. Betterle C, Caretto A, De Zio A, Pedini B, Veller-Fornasa C, Cecchetto A, ve ark. Incidence and significance of organ-specific autoimmune disorders (clinical, latent or only autoantibodies) in patients with vitiligo. *Dermatologica.* 1985;171(6):419-23.
33. Vrijman C, Kroon MW, Limpens J, Leeflang MM, Luiten RM, van der Veen JP, ve ark. The prevalence of thyroid disease in patients with vitiligo: a systematic review. *Br J Dermatol.* 2012;167(6):1224-35.
34. Sawicki J, Siddha S, Rosen C. Vitiligo and associated autoimmune disease: retrospective review of 300 patients. *J Cutan Med Surg.* 2012;16(4):261-6.
35. Ongenaes K, Van Geel N, Naeyaert JM. Evidence for an autoimmune pathogenesis of vitiligo. *Pigment Cell Res.* 2003;16(2):90-100.
36. Harning R, Cui J, Bystryjn JC. Relation between the incidence and level of pigment cell antibodies and disease activity in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 1991;97(6):1078-80.
37. Okamoto T, Irie RF, Fujii S, Huang SK, Nizze AJ, Morton DL, ve ark. Anti-tyrosinase-related protein-2 immune response in vitiligo patients and melanoma patients receiving active-specific immunotherapy. *J Invest Dermatol.* 1998;111(6):1034-9.
38. Uda H, Takei M, Mishima Y. Immunopathology of vitiligo vulgaris, Sutton's leukoderma and melanoma-associated vitiligo in relation to steroid effects. II. The IgG and C3 deposits in the skin. *J Cutan Pathol.* 1984;11(2):114-24.
39. Kemp EH, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP. Autoantibodies to human melanocyte-specific protein pmel17 in the sera of vitiligo patients: a sensitive and quantitative radioimmunoassay (RIA). *Clin Exp Immunol.* 1998;114(3):333-8.
40. Hedstrand H, Ekwall O, Olsson MJ, Landgren E, Kemp EH, Weetman AP, ve ark. The transcription factors SOX9 and SOX10 are vitiligo autoantigens in autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Biol Chem.* 2001;276(38):35390-5.
41. Kemp EH, Waterman EA, Hawes BE, O'Neill K, Gottumukkala RV, Gawkrödger DJ, ve ark. The melanin-concentrating hormone receptor 1, a

- novel target of autoantibody responses in vitiligo. *J Clin Invest*. 2002;109(7):923-30.
42. Le Gal FA, Avril MF, Bosq J, Lefebvre P, Deschemin JC, Andrieu M, ve ark. Direct evidence to support the role of antigen-specific CD8(+) T cells in melanoma-associated vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2001;117(6):1464-70.
  43. Khan R, Gupta S, Sharma A. Circulatory levels of T-cell cytokines (interleukin [IL]-2, IL-4, IL-17, and transforming growth factor-beta) in patients with vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(3):510-1.
  44. Moretti S, Spallanzani A, Amato L, Hautmann G, Gallerani I, Fabiani M, ve ark. New insights into the pathogenesis of vitiligo: imbalance of epidermal cytokines at sites of lesions. *Pigment Cell Res*. 2002;15(2):87-92.
  45. Eby JM, Kang HK, Tully ST, Bindeman WE, Peiffer DS, Chatterjee S, ve ark. CCL22 to Activate Treg Migration and Suppress Depigmentation in Vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2015;135(6):1574-80.
  46. Nordlund JJ, Lerner AB. Vitiligo. It is important. *Arch Dermatol*. 1982;118(1):5-8.
  47. Halder RM, Chappell JL. Vitiligo update. *Semin Cutan Med Surg*. 2009;28(2):86-92.
  48. Ezzedine K, Gauthier Y, Leaute-Labreze C, Marquez S, Bouchtnei S, Jouary T, ve ark. Segmental vitiligo associated with generalized vitiligo (mixed vitiligo): a retrospective case series of 19 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(5):965-71.
  49. Mazereeuw-Hautier J, Bezio S, Mahe E, Bodemer C, Eschard C, Viseux V, ve ark. Segmental and nonsegmental childhood vitiligo has distinct clinical characteristics: a prospective observational study. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(6):945-9.
  50. Kanwar AJ, Parsad D, De D. Mucosal involvement in vitiligo: a comprehensive review of 241 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25(11):1361-3.
  51. van Geel N, Speeckaert R, De Wolf J, Bracke S, Chevolet I, Brochez L, ve ark. Clinical significance of Koebner phenomenon in vitiligo. *Br J Dermatol*. 2012;167(5):1017-24.
  52. Hann SK, Kim YS, Yoo JH, Chun YS. Clinical and histopathologic characteristics of trichrome vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(4):589-96.
  53. Le Poole IC, van den Wijngaard RM, Westerhof W, Das PK. Presence of T cells and macrophages in inflammatory vitiligo skin parallels melanocyte disappearance. *Am J Pathol*. 1996;148(4):1219-28.
  54. Sosa JJ, Currimbhoy SD, Ukoha U, Sirignano S, O'Leary R, Vandergriff T, ve ark. Confetti-like depigmentation: A potential sign of rapidly progressing vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73(2):272-5.



55. Gill L, Zarbo A, Isedeh P, Jacobsen G, Lim HW, Hamzavi I. Comorbid autoimmune diseases in patients with vitiligo: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(2):295-302.
56. Gey A, Diallo A, Seneschal J, Leaute-Labreze C, Boralevi F, Jouary T, ve ark. Autoimmune thyroid disease in vitiligo: multivariate analysis indicates intricate pathomechanisms. *Br J Dermatol*. 2013;168(4):756-61.
57. Sedighe M, Gholamhossein G. Thyroid dysfunction and thyroid antibodies in Iranian patients with vitiligo. *Indian J Dermatol*. 2008;53(1):9-11.
58. Sharma YK, Bansal P, Menon S, Prakash N. Metabolic syndrome in vitiligo patients among a semi-urban Maharashtrian population: A case control study. *Diabetes Metab Syndr*. 2017;11(S1):77-80
59. Atas H, Gonul M. Increased Risk of Metabolic Syndrome in Patients with Vitiligo. *Balkan Med J*. 2017;34(3):219-25.
60. Page S, Chandhoke V, Baranova A. Melanin and melanogenesis in adipose tissue: possible mechanisms for abating oxidative stress and inflammation? *Obes Rev*. 2011;12(5):e21-31.
61. Huggins RH, Janusz CA, Schwartz RA. Vitiligo: a sign of systemic disease. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2006;72(1):68-71.
62. Randhawa M, Huff T, Valencia JC, Younossi Z, Chandhoke V, Hearing VJ, ve ark. Evidence for the ectopic synthesis of melanin in human adipose tissue. *FASEB J*. 2009;23(3):835-43.
63. Percivalle S, Piccinno R, Caccialanza M. Concurrence of vitiligo and psoriasis: a simple coincidence? *Clin Exp Dermatol*. 2009;34(1):90-1.
64. Mohan GC, Silverberg JI. Association of Vitiligo and Alopecia Areata With Atopic Dermatitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Dermatol*. 2015;151(5):522-8.
65. Harris JE. Vitiligo and alopecia areata: apples and oranges? *Exp Dermatol*. 2013;22(12):785-9.
66. Gawkrödger DJ, Ormerod AD, Shaw L, Mauri-Sole I, Whitton ME, Watts MJ, ve ark. Guideline for the diagnosis and management of vitiligo. *Br J Dermatol*. 2008;159(5):1051-76.
67. Le Poole IC, van den Wijngaard RM, Westerhof W, Dutrieux RP, Das PK. Presence or absence of melanocytes in vitiligo lesions: an immunohistochemical investigation. *J Invest Dermatol*. 1993;100(6):816-22.
68. Kim YC, Kim YJ, Kang HY, Sohn S, Lee ES. Histopathologic features in vitiligo. *Am J Dermatopathol*. 2008;30(2):112-6.
69. Yaghoobi R, Omidian M, Bagherani N. Vitiligo: a review of the published work. *J Dermatol*. 2011;38(5):419-31.

70. Boissy RE, Dell'Anna ML, Picardo M. On the pathophysiology of vitiligo: possible treatment options. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2012;78(1):24-9.
71. Njoo MD, Westerhof W. Vitiligo. Pathogenesis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2001;2(3):167-81.
72. Sehgal VN, Srivastava G. Vitiligo treatment options: an evolving scenario. *J Dermatolog Treat.* 2006;17(5):262-75.
73. Njoo MD, Spuls PI, Bos JD, Westerhof W, Bossuyt PM. Nonsurgical repigmentation therapies in vitiligo. Meta-analysis of the literature. *Arch Dermatol.* 1998;134(12):1532-40.
74. Shaffrali F, Gawkrödger D. Management of vitiligo. *Clin Exp Dermatol.* 2000;25(8):575-9.
75. Kwon HB, Choi Y, Kim HJ, Lee AY. The therapeutic effects of a topical tretinoin and corticosteroid combination for vitiligo: a placebo-controlled, paired-comparison, left-right study. *J Drugs Dermatol.* 2013;12(4):e63-7.
76. Kumaran MS, Kaur I, Kumar B. Effect of topical calcipotriol, betamethasone dipropionate and their combination in the treatment of localized vitiligo. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2006;20(3):269-73.
77. Westerhof W, Nieuweboer-Krobotova L, Mulder PG, Glazenburg EJ. Left-right comparison study of the combination of fluticasone propionate and UV-A vs. either fluticasone propionate or UV-A alone for the long-term treatment of vitiligo. *Arch Dermatol.* 1999;135(9):1061-6.
78. Seiter S, Ugurel S, Tilgen W, Reinhold U. Use of high-dose methylprednisolone pulse therapy in patients with progressive and stable vitiligo. *Int J Dermatol.* 2000;39(8):624-7.
79. Radakovic-Fijan S, Furnsinn-Friedl AM, Honigsmann H, Tanew A. Oral dexamethasone pulse treatment for vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2001;44(5):814-7.
80. Lepe V, Moncada B, Castanedo-Cazares JP, Torres-Alvarez MB, Ortiz CA, Torres-Rubalcava AB. A double-blind randomized trial of 0.1% tacrolimus vs 0.05% clobetasol for the treatment of childhood vitiligo. *Arch Dermatol.* 2003;139(5):581-5.
81. Plettenberg H, Assmann T, Ruzicka T. Childhood vitiligo and tacrolimus: immunomodulating treatment for an autoimmune disease. *Arch Dermatol.* 2003;139(5):651-4.
82. Taieb A, Alomar A, Bohm M, Dell'anna ML, De Pase A, Eleftheriadou V, et al. Guidelines for the management of vitiligo: the European Dermatology Forum consensus. *Br J Dermatol.* 2013;168(1):5-19.
83. Nordal EJ, Guleng GE, Ronnevig JR. Treatment of vitiligo with narrowband-UVB (TL01) combined with tacrolimus ointment (0.1%) vs. placebo ointment,

- a randomized right/left double-blind comparative study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2011;25(12):1440-3.
84. Hui-Lan Y, Xiao-Yan H, Jian-Yong F, Zong-Rong L. Combination of 308-nm excimer laser with topical pimecrolimus for the treatment of childhood vitiligo. *Pediatr Dermatol.* 2009;26(3):354-6.
  85. De Francesco V, Stinco G, Laspina S, Parlangei ME, Mariuzzi L, Patrone P. Immunohistochemical study before and after narrow band (311 nm) UVB treatment in vitiligo. *Eur J Dermatol.* 2008;18(3):292-6.
  86. Rodrigues M, Ezzedine K, Hamzavi I, Pandya AG, Harris JE, Vitiligo Working G. Current and emerging treatments for vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2017;77(1):17-29.
  87. Westerhof W, Nieuweboer-Krobotova L. Treatment of vitiligo with UV-B radiation vs topical psoralen plus UV-A. *Arch Dermatol.* 1997;133(12):1525-8.
  88. Yones SS, Palmer RA, Garibaldinos TM, Hawk JL. Randomized double-blind trial of treatment of vitiligo: efficacy of psoralen-UV-A therapy vs Narrowband-UV-B therapy. *Arch Dermatol.* 2007;143(5):578-84.
  89. Rigopoulos D, Gregoriou S, Larios G, Moustou E, Belayeva-Karatzas E, Kalogeromitros D. Etanercept in the treatment of vitiligo. *Dermatology.* 2007;215(1):84-5.
  90. Ramirez-Hernandez M, Marras C, Martinez-Escribano JA. Infliximab-induced vitiligo. *Dermatology.* 2005;210(1):79-80.
  91. Craiglow BG, King BA. Tofacitinib Citrate for the Treatment of Vitiligo: A Pathogenesis-Directed Therapy. *JAMA Dermatol.* 2015;151(10):1110-2.
  92. Harris JE, Rashighi M, Nguyen N, Jabbari A, Ulerio G, Clynes R, et al. Rapid skin repigmentation on oral ruxolitinib in a patient with coexistent vitiligo and alopecia areata (AA). *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(2):370-1.
  93. Joshipura D, Alomran A, Zancanaro P, Rosmarin D. Treatment of vitiligo with the topical Janus kinase inhibitor ruxolitinib: A 32-week open-label extension study with optional narrow-band ultraviolet B. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(6):1205-7 e1.
  94. Rao J, Fitzpatrick RE. Use of the Q-switched 755-nm alexandrite laser to treat recalcitrant pigment after depigmentation therapy for vitiligo. *Dermatol Surg.* 2004;30(7):1043-5.
  95. Snell GD. Studies in histocompatibility. *Science.* 1981;213(4504):172-8.
  96. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000;343(10):702-9.
  97. Falk K, Rotzschke O, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Allele-specific motifs revealed by sequencing of self-peptides eluted from MHC molecules. *Nature.* 1991;351(6324):290-6.

98. Bjorkman PJ, Parham P. Structure, function, and diversity of class I major histocompatibility complex molecules. *Annu Rev Biochem.* 1990;59:253-88.
99. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature.* 1987;329(6139):506-12.
100. Zinkernagel RM, Doherty PC. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature.* 1974;248(5450):701-2.
101. Garrett TP, Saper MA, Bjorkman PJ, Strominger JL, Wiley DC. Specificity pockets for the side chains of peptide antigens in HLA-Aw68. *Nature.* 1989;342(6250):692-6.
102. Engelhard VH. Structure of peptides associated with class I and class II MHC molecules. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:181-207.
103. Pamer E, Cresswell P. Mechanisms of MHC class I--restricted antigen processing. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:323-58.
104. Cresswell P. Assembly, transport, and function of MHC class II molecules. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:259-93.
105. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, et al. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997;18(9):1763-6.
106. Fitzpatrick AM, Teague WG, Holguin F, Yeh M, Brown LA, Severe Asthma Research P. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(1):146-52 e8.
107. Dupuy C, Virion A, Ohayon R, Kaniewski J, Deme D, Pommier J. Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *J Biol Chem.* 1991;266(6):3739-43.
108. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1988;255(6 Pt 2):H1269-75.
109. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect.* 1985;64:111-26.
110. Hiltermann JT, Lapperre TS, van Bree L, Steerenberg PA, Brahim JJ, Sont JK, et al. Ozone-induced inflammation assessed in sputum and bronchial lavage fluid from asthmatics: a new noninvasive tool in epidemiologic studies on air pollution and asthma. *Free Radic Biol Med.* 1999;27(11-12):1448-54.
111. Comhair SA, Thomassen MJ, Erzurum SC. Differential induction of extracellular glutathione peroxidase and nitric oxide synthase 2 in airways of healthy individuals exposed to 100% O(2) or cigarette smoke. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000;23(3):350-4.

112. Matthay MA, Geiser T, Matalon S, Ischiropoulos H. Oxidant-mediated lung injury in the acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 1999;27(9):2028-30.
113. Biaglow JE, Mitchell JB, Held K. The importance of peroxide and superoxide in the X-ray response. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1992;22(4):665-9.
114. Chiu SM, Xue LY, Friedman LR, Oleinick NL. Copper ion-mediated sensitization of nuclear matrix attachment sites to ionizing radiation. *Biochemistry*. 1993;32(24):6214-9.
115. McAdam E, Brem R, Karran P. Oxidative Stress-Induced Protein Damage Inhibits DNA Repair and Determines Mutation Risk and Therapeutic Efficacy. *Mol Cancer Res*. 2016;14(7):612-22.
116. Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med*. 1995;18(2):321-36.
117. Reid TM, Feig DI, Loeb LA. Mutagenesis by metal-induced oxygen radicals. *Environ Health Perspect*. 1994;102 Suppl 3:57-61.
118. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol*. 1999;37(9-10):949-62.
119. White E, Shannon JS, Patterson RE. Relationship between vitamin and calcium supplement use and colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997;6(10):769-74.
120. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*. 2005;16(10):577-86.
121. Rice-Evans CA, Sampson J, Bramley PM, Holloway DE. Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? *Free Radic Res*. 1997;26(4):381-98.
122. Niles RM. Signaling pathways in retinoid chemoprevention and treatment of cancer. *Mutat Res*. 2004;555(1-2):81-96.
123. Donato LJ, Noy N. Suppression of mammary carcinoma growth by retinoic acid: proapoptotic genes are targets for retinoic acid receptor and cellular retinoic acid-binding protein II signaling. *Cancer Res*. 2005;65(18):8193-9.
124. Niizuma H, Nakamura Y, Ozaki T, Nakanishi H, Ohira M, Isogai E, et al. Bcl-2 is a key regulator for the retinoic acid-induced apoptotic cell death in neuroblastoma. *Oncogene*. 2006;25(36):5046-55.
125. Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1999;39:67-101.
126. Boiteux S, Radicella JP. Base excision repair of 8-hydroxyguanine protects DNA from endogenous oxidative stress. *Biochimie*. 1999;81(1-2):59-67.

127. Ghosh R, Mitchell DL. Effect of oxidative DNA damage in promoter elements on transcription factor binding. *Nucleic Acids Res.* 1999;27(15):3213-8.
128. Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med.* 1985;1(2):87-95.
129. Keller JN, Mark RJ, Bruce AJ, Blanc E, Rothstein JD, Uchida K, ve ark. 4-Hydroxynonenal, an aldehydic product of membrane lipid peroxidation, impairs glutamate transport and mitochondrial function in synaptosomes. *Neuroscience.* 1997;80(3):685-96.
130. Uchida K, Shiraishi M, Naito Y, Torii Y, Nakamura Y, Osawa T. Activation of stress signaling pathways by the end product of lipid peroxidation. 4-hydroxy-2-nonenal is a potential inducer of intracellular peroxide production. *J Biol Chem.* 1999;274(4):2234-42.
131. Suc I, Meilhac O, Lajoie-Mazenc I, Vandaele J, Jurgens G, Salvayre R, ve ark. Activation of EGF receptor by oxidized LDL. *FASEB J.* 1998;12(9):665-71.
132. Tsukagoshi H, Kawata T, Shimizu Y, Ishizuka T, Dobashi K, Mori M. 4-Hydroxy-2-nonenal enhances fibronectin production by IMR-90 human lung fibroblasts partly via activation of epidermal growth factor receptor-linked extracellular signal-regulated kinase p44/42 pathway. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002;184(3):127-35.
133. Kelly FJ, Mudway IS. Protein oxidation at the air-lung interface. *Amino Acids.* 2003;25(3-4):375-96.
134. Dean RT, Roberts CR, Jessup W. Fragmentation of extracellular and intracellular polypeptides by free radicals. *Prog Clin Biol Res.* 1985;180:341-50.
135. Keck RG. The use of t-butyl hydroperoxide as a probe for methionine oxidation in proteins. *Anal Biochem.* 1996;236(1):56-62.
136. Davies KJ. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects. *J Biol Chem.* 1987;262(20):9895-901.
137. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med.* 1990;9(4):315-25.
138. Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarotto E. Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem.* 2004;11(9):1163-82.
139. Pande V, Ramos MJ. Molecular recognition of 15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J2 by nuclear factor-kappa B and other cellular proteins. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15(18):4057-63.
140. Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(1):49-62.
141. Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene.* 2006;25(51):6680-4.

142. Ward PA. Role of complement, chemokines, and regulatory cytokines in acute lung injury. *Ann N Y Acad Sci.* 1996;796:104-12.
143. Akira S, Kishimoto T. NF-IL6 and NF-kappa B in cytokine gene regulation. *Adv Immunol.* 1997;65:1-46.
144. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:6501046.
145. Hollman PC, Cassidy A, Comte B, Heinonen M, Richelle M, Richling E, ve ark. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. *J Nutr.* 2011;141(5):989S-1009S.
146. Bartosz G. Non-enzymatic antioxidant capacity assays: Limitations of use in biomedicine. *Free Radic Res.* 2010;44(7):711-20.
147. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J Carcinog.* 2006;5:14.
148. Salazar G, Huang J, Feresin RG, Zhao Y, Griendling KK. Zinc regulates Nox1 expression through a NF-kappaB and mitochondrial ROS dependent mechanism to induce senescence of vascular smooth muscle cells. *Free Radic Biol Med.* 2017;108:225-35.
149. Munoz M, Lopez-Oliva ME, Rodriguez C, Martinez MP, Saenz-Medina J, Sanchez A, ve ark. Differential contribution of Nox1, Nox2 and Nox4 to kidney vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in obesity. *Redox Biol.* 2019;28:101330.
150. Forte M, Nocella C, De Falco E, Palmerio S, Schirone L, Valenti V, ve ark. The Pathophysiological Role of NOX2 in Hypertension and Organ Damage. *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2016;23(4):355-64.
151. Sorce S, Krause KH. NOX enzymes in the central nervous system: from signaling to disease. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(10):2481-504.
152. Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(1):57-69.
153. Manoharan S, Guillemin GJ, Abiramasundari RS, Essa MM, Akbar M, Akbar MD. The Role of Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Huntington's Disease: A Mini Review. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:8590578.
154. Schallreuter KU. Successful treatment of oxidative stress in vitiligo. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 1999;12(3):132-8.
155. Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, Beazley WD, Gaze DC, Tobin DJ, ve ark. In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 1999;4(1):91-6.

156. Dell'Anna ML, Maresca V, Briganti S, Camera E, Falchi M, Picardo M. Mitochondrial impairment in peripheral blood mononuclear cells during the active phase of vitiligo. *J Invest Dermatol.* 2001;117(4):908-13.
157. Maresca V, Roccella M, Roccella F, Camera E, Del Porto G, Passi S, ve ark. Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 1997;109(3):310-3.
158. Sravani PV, Babu NK, Gopal KV, Rao GR, Rao AR, Moorthy B, ve ark. Determination of oxidative stress in vitiligo by measuring superoxide dismutase and catalase levels in vitiliginous and non-vitiliginous skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2009;75(3):268-71.
159. Westerhof W, d'Ischia M. Vitiligo puzzle: the pieces fall in place. *Pigment Cell Res.* 2007;20(5):345-59.
160. Kuhlreiber WM, Hayashi T, Dale EA, Faustman DL. Central role of defective apoptosis in autoimmunity. *J Mol Endocrinol.* 2003;31(3):373-99.
161. Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T, Katayama I, Hamzavi I, Lan CC, ve ark. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2012;25(3):E1-13.
162. Hamzavi I, Jain H, McLean D, Shapiro J, Zeng H, Lui H. Parametric modeling of narrowband UV-B phototherapy for vitiligo using a novel quantitative tool: the Vitiligo Area Scoring Index. *Arch Dermatol.* 2004;140(6):677-83.
163. Njoo MD, Das PK, Bos JD, Westerhof W. Association of the Kobner phenomenon with disease activity and therapeutic responsiveness in vitiligo vulgaris. *Arch Dermatol.* 1999;135(4):407-13.
164. Harden JL, Krueger JG, Bowcock AM. The immunogenetics of Psoriasis: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015;64:66-73.
165. Brochado MJ, Nascimento DF, Campos W, Deghaide NH, Donadi EA, Roselino AM. Differential HLA class I and class II associations in pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris patients from a prevalent Southeastern Brazilian region. *J Autoimmun.* 2016;72:19-24.
166. Ryu HJ, Seo MR, Choi HJ, Baek HJ. Clinical phenotypes of Korean patients with Behcet disease according to gender, age at onset, and HLA-B51. *Korean J Intern Med.* 2018;33(5):1025-31.
167. Steitz J, Bruck J, Lenz J, Buchs S, Tuting T. Peripheral CD8+ T cell tolerance against melanocytic self-antigens in the skin is regulated in two steps by CD4+ T cells and local inflammation: implications for the pathophysiology of vitiligo. *J Invest Dermatol.* 2005;124(1):144-50.
168. Le Poole IC, Luiten RM. Autoimmune etiology of generalized vitiligo. *Curr Dir Autoimmun.* 2008;10:227-43.



169. Oyarbide-Valencia K, van den Boorn JG, Denman CJ, Li M, Carlson JM, Hernandez C, ve ark. Therapeutic implications of autoimmune vitiligo T cells. *Autoimmun Rev.* 2006;5(7):486-92.
170. Ramire LD, Marcos EV, Godoy DA, de Souza-Santana FC. Association of class I and II HLA alleles and haplotypes with susceptibility to vitiligo: a study of patients with vitiligo from southeast Brazil. *Int J Dermatol.* 2016;55(6):e347-55.
171. Schallreuter KU, Levenig C, Kuhl P, Loliger C, Hohl-Tehari M, Berger J. Histocompatibility antigens in vitiligo: Hamburg study on 102 patients from northern Germany. *Dermatology.* 1993;187(3):186-92.
172. Tastan HB, Akar A, Orkunoglu FE, Arca E, Inal A. Association of HLA class I antigens and HLA class II alleles with vitiligo in a Turkish population. *Pigment Cell Res.* 2004;17(2):181-4.
173. Cox AL, Skipper J, Chen Y, Henderson RA, Darrow TL, Shabanowitz J, ve ark. Identification of a peptide recognized by five melanoma-specific human cytotoxic T cell lines. *Science.* 1994;264(5159):716-9.
174. Bakker AB, Schreurs MW, de Boer AJ, Kawakami Y, Rosenberg SA, Adema GJ, ve ark. Melanocyte lineage-specific antigen gp100 is recognized by melanoma-derived tumor-infiltrating lymphocytes. *J Exp Med.* 1994;179(3):1005-9.
175. Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, Robbins PF, Rivoltini L, Topalian SL, ve ark. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(9):3515-9.
176. Hayashi M, Jin Y, Yorgov D, Santorico SA, Hagman J, Ferrara TM, ve ark. Autoimmune vitiligo is associated with gain-of-function by a transcriptional regulator that elevates expression of HLA-A\*02:01 in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(5):1357-62.
177. Mandelcorn-Monson RL, Shear NH, Yau E, Sambhara S, Barber BH, Spaner D, ve ark. Cytotoxic T lymphocyte reactivity to gp100, MelanA/MART-1, and tyrosinase, in HLA-A2-positive vitiligo patients. *J Invest Dermatol.* 2003;121(3):550-6.
178. Gavioli R, Zhang QJ, Masucci MG. HLA-A11-mediated protection from NK cell-mediated lysis: role of HLA-A11-presented peptides. *Hum Immunol.* 1996;49(1):1-12.
179. Zhang XJ, Liu HS, Liang YH, Sun LD, Wang JY, Yang S, ve ark. Association of HLA class I alleles with vitiligo in Chinese Hans. *J Dermatol Sci.* 2004;35(2):165-8.
180. Misri R, Khopkar U, Shankarkumar U, Ghosh K. Comparative case control study of clinical features and human leukocyte antigen susceptibility between familial and nonfamilial vitiligo. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2009;75(6):583-7.

181. Hu DY, Ren YQ, Zhu KJ, Lv YM, Cheng H, Zhang Z, ve ark. Comparisons of clinical features of HLA-DRB1\*07 positive and negative vitiligo patients in Chinese Han population. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25(11):1299-303.
182. Zamani M, Spaepen M, Sghar SS, Huang C, Westerhof W, Nieuweboer-Krobotova L, ve ark. Linkage and association of HLA class II genes with vitiligo in a Dutch population. *Br J Dermatol*. 2001;145(1):90-4.
183. Buc M, Fazekasova H, Cechova E, Hegyi E, Kolibasova K, Ferencik S. Occurrence rates of HLA-DRB1, HLA-DQB1, and HLA-DPB1 alleles in patients suffering from vitiligo. *Eur J Dermatol*. 1998;8(1):13-5.
184. Orecchia G, Perfetti L, Malagoli P, Borghini F, Kipervarg Y. Vitiligo is associated with a significant increase in HLA-A30, Cw6 and DQw3 and a decrease in C4AQ0 in northern Italian patients. *Dermatology*. 1992;185(2):123-7.
185. Yang S, Wang JY, Gao M, Liu HS, Sun LD, He PP, ve ark. Association of HLA-DQA1 and DQB1 genes with vitiligo in Chinese Hans. *Int J Dermatol*. 2005;44(12):1022-7.
186. Bouayad A, Benzekri L, Hamada S, Brick C, Hassam B, Essakalli M. Association of HLA alleles and haplotypes with vitiligo in Moroccan patients: a case-control study. *Arch Dermatol Res*. 2013;305(10):925-32.
187. Singh A, Sharma P, Kar HK, Sharma VK, Tembhre MK, Gupta S, ve ark. HLA alleles and amino-acid signatures of the peptide-binding pockets of HLA molecules in vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2012;132(1):124-34.
188. Orozco-Topete R, Cordova-Lopez J, Yamamoto-Furusho JK, Garcia-Benitez V, Lopez-Martinez A, Granados J. HLA-DRB1 \*04 is associated with the genetic susceptibility to develop vitiligo in Mexican patients with autoimmune thyroid disease. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(1):182-3.
189. Finco O, Cuccia M, Martinetti M, Ruberto G, Orecchia G, Rabbiosi G. Age of onset in vitiligo: relationship with HLA supratypes. *Clin Genet*. 1991;39(1):48-54.
190. Dunston GM, Halder RM. Vitiligo is associated with HLA-DR4 in black patients. A preliminary report. *Arch Dermatol*. 1990;126(1):56-60.
191. Fain PR, Babu SR, Bennett DC, Spritz RA. HLA class II haplotype DRB1\*04-DQB1\*0301 contributes to risk of familial generalized vitiligo and early disease onset. *Pigment Cell Res*. 2006;19(1):51-7.
192. Kong YL, Ching VHL, Chuah SY, Thng TG. Retrospective study on the characteristics and treatment of late-onset vitiligo. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2017;83(5):625.
193. Kanwar AJ, Mahajan R, Parsad D. Effect of age at onset on disease characteristics in vitiligo. *J Cutan Med Surg*. 2013;17(4):253-8.

194. Arcos-Burgos M, Parodi E, Salgar M, Bedoya E, Builes J, Jaramillo D, ve ark. Vitiligo: complex segregation and linkage disequilibrium analyses with respect to microsatellite loci spanning the HLA. *Hum Genet.* 2002;110(4):334-42.
195. Zhen Y, Yao L, Zhong S, Song Y, Cui Y, Li S. Enhanced Th1 and Th17 responses in peripheral blood in active non-segmental vitiligo. *Arch Dermatol Res.* 2016;308(10):703-10.
196. Zhou L, Shi YL, Li K, Hamzavi I, Gao TW, Huggins RH, ve ark. Increased circulating Th17 cells and elevated serum levels of TGF-beta and IL-21 are correlated with human non-segmental vitiligo development. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015;28(3):324-9.
197. Gholijani N, Yazdani MR, Dastgheib L. Predominant role of innate pro-inflammatory cytokines in vitiligo disease. *Arch Dermatol Res.* 2019.
198. Ben Ahmed M, Zaraa I, Rekik R, Elbeldi-Ferchiou A, Kourda N, Belhadj Hmida N, ve ark. Functional defects of peripheral regulatory T lymphocytes in patients with progressive vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2012;25(1):99-109.
199. Abdallah M, Lotfi R, Othman W, Galal R. Assessment of tissue FoxP3+, CD4+ and CD8+ T-cells in active and stable nonsegmental vitiligo. *Int J Dermatol.* 2014;53(8):940-6.
200. Ono S, Tanizaki H, Otsuka A, Endo Y, Koyanagi I, Kataoka TR, ve ark. Coexistent skin lesions of vitiligo and psoriasis vulgaris. Immunohistochemical analyses for IL-17A-producing cells and regulatory T cells. *Acta Derm Venereol.* 2014;94(3):329-30.
201. Glisic S, Klinker M, Waukau J, Jailwala P, Jana S, Basken J, ve ark. Genetic association of HLA DQB1 with CD4+CD25+(high) T-cell apoptosis in type 1 diabetes. *Genes Immun.* 2009;10(4):334-40.
202. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003;299(5609):1057-61.
203. Bettelli E, Dastrange M, Oukka M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(14):5138-43.
204. Kim J, Lahl K, Hori S, Loddenkemper C, Chaudhry A, deRoos P, ve ark. Cutting edge: depletion of Foxp3+ cells leads to induction of autoimmunity by specific ablation of regulatory T cells in genetically targeted mice. *J Immunol.* 2009;183(12):7631-4.
205. Gribben JG, Freeman GJ, Boussiotis VA, Rennert P, Jellis CL, Greenfield E, ve ark. CTLA4 mediates antigen-specific apoptosis of human T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(3):811-5.



206. Dwivedi M, Laddha NC, Imran M, Shah BJ, Begum R. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4) in isolated vitiligo: a genotype-phenotype correlation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011;24(4):737-40.
207. Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature.* 1987;329(6140):599-604.
208. Winchester R. The molecular basis of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Adv Immunol.* 1994;56:389-466.
209. Menconi F, Osman R, Monti MC, Greenberg DA, Concepcion ES, Tomer Y. Shared molecular amino acid signature in the HLA-DR peptide binding pocket predisposes to both autoimmune diabetes and thyroiditis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(39):16899-903.
210. Glassman SJ. Vitiligo, reactive oxygen species and T-cells. *Clin Sci (Lond).* 2011;120(3):99-120.
211. Dell'Anna ML, Ottaviani M, Bellei B, Albanesi V, Cossarizza A, Rossi L, et al. Membrane lipid defects are responsible for the generation of reactive oxygen species in peripheral blood mononuclear cells from vitiligo patients. *J Cell Physiol.* 2010;223(1):187-93.
212. Trouba KJ, Hamadeh HK, Amin RP, Germolec DR. Oxidative stress and its role in skin disease. *Antioxid Redox Signal.* 2002;4(4):665-73.
213. Al-Shobaili HA, Rasheed Z. Oxidized tyrosinase: A possible antigenic stimulus for non-segmental vitiligo autoantibodies. *J Dermatol Sci.* 2015;79(3):203-13.
214. Denat L, Kadekaro AL, Marrot L, Leachman SA, Abdel-Malek ZA. Melanocytes as instigators and victims of oxidative stress. *J Invest Dermatol.* 2014;134(6):1512-8.
215. Jain A, Mal J, Mehndiratta V, Chander R, Patra SK. Study of oxidative stress in vitiligo. *Indian J Clin Biochem.* 2011;26(1):78-81.
216. Schallreuter KU, Wood JM, Ziegler I, Lemke KR, Pittelkow MR, Lindsey NJ, et al. Defective tetrahydrobiopterin and catecholamine biosynthesis in the depigmentation disorder vitiligo. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1226(2):181-92.
217. Hasse S, Gibbons NC, Rokos H, Marles LK, Schallreuter KU. Perturbed 6-tetrahydrobiopterin recycling via decreased dihydropteridine reductase in vitiligo: more evidence for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stress. *J Invest Dermatol.* 2004;122(2):307-13.
218. Schallreuter KU, Wood JM, Pittelkow MR, Gutlich M, Lemke KR, Rodl W, et al. Regulation of melanin biosynthesis in the human epidermis by tetrahydrobiopterin. *Science.* 1994;263(5152):1444-6.
219. Wood JM, Schallreuter-Wood KU, Lindsey NJ, Callaghan S, Gardner ML. A specific tetrahydrobiopterin binding domain on tyrosinase controls melanogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;206(2):480-5.

220. Wood JM, Chavan B, Hafeez I, Schallreuter KU. Regulation of tyrosinase by tetrahydropteridines and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;325(4):1412-7.
221. Khan R, Satyam A, Gupta S, Sharma VK, Sharma A. Circulatory levels of antioxidants and lipid peroxidation in Indian patients with generalized and localized vitiligo. *Arch Dermatol Res.* 2009;301(10):731-7.
222. Arican O, Kurutas EB. Oxidative stress in the blood of patients with active localized vitiligo. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2008;17(1):12-6.
223. Akoglu G, Emre S, Metin A, Akbas A, Yorulmaz A, Isikoglu S, ve ark. Evaluation of total oxidant and antioxidant status in localized and generalized vitiligo. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(7):701-6.
224. Yesilova Y, Turan E, Ucmak D, Selek S, Halil Yavuz I, Tanrikulu O. Reduced serum paraoxonase-1 levels in vitiligo: further evidence of oxidative stress. *Redox Rep.* 2012;17(5):214-8.
225. Bickers DR, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol.* 2006;126(12):2565-75.
226. Bellei B, Pitisci A, Ottaviani M, Ludovici M, Cota C, Luzi F, ve ark. Vitiligo: a possible model of degenerative diseases. *PLoS One.* 2013;8(3):e59782.
227. Prignano F, Pescitelli L, Becatti M, Di Gennaro P, Fiorillo C, Taddei N, ve ark. Ultrastructural and functional alterations of mitochondria in perilesional vitiligo skin. *J Dermatol Sci.* 2009;54(3):157-67.
228. Jian Z, Li K, Song P, Zhu G, Zhu L, Cui T, ve ark. Impaired activation of the Nrf2-ARE signaling pathway undermines H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress response: a possible mechanism for melanocyte degeneration in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 2014;134(8):2221-30.
229. Farrukh MR, Nissar UA, Afnan Q, Rafiq RA, Sharma L, Amin S, ve ark. Oxidative stress mediated Ca<sup>2+</sup> release manifests endoplasmic reticulum stress leading to unfolded protein response in UV-B irradiated human skin cells. *J Dermatol Sci.* 2014;75(1):24-35.
230. Toosi S, Orlow SJ, Manga P. Vitiligo-inducing phenols activate the unfolded protein response in melanocytes resulting in upregulation of IL6 and IL8. *J Invest Dermatol.* 2012;132(11):2601-9.
231. Zhang Y, Liu L, Jin L, Yi X, Dang E, Yang Y, ve ark. Oxidative stress-induced calreticulin expression and translocation: new insights into the destruction of melanocytes. *J Invest Dermatol.* 2014;134(1):183-91.
232. Gardai SJ, McPhillips KA, Frasch SC, Janssen WJ, Starefeldt A, Murphy-Ullrich JE, ve ark. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell.* 2005;123(2):321-34.

233. Garg AD, Krysko DV, Verfaillie T, Kaczmarek A, Ferreira GB, Marysael T, ve ark. A novel pathway combining calreticulin exposure and ATP secretion in immunogenic cancer cell death. *EMBO J.* 2012;31(5):1062-79.
234. Sanchez-Sosa S, Aguirre-Lombardo M, Jimenez-Brito G, Ruiz-Arguelles A. Immunophenotypic characterization of lymphoid cell infiltrates in vitiligo. *Clin Exp Immunol.* 2013;173(2):179-83.
235. Palermo B, Campanelli R, Garbelli S, Mantovani S, Lantelme E, Brazzelli V, ve ark. Specific cytotoxic T lymphocyte responses against Melan-A/MART1, tyrosinase and gp100 in vitiligo by the use of major histocompatibility complex/peptide tetramers: the role of cellular immunity in the etiopathogenesis of vitiligo. *J Invest Dermatol.* 2001;117(2):326-32.
236. Laddha NC, Dwivedi M, Mansuri MS, Gani AR, Ansarullah M, Ramachandran AV, ve ark. Vitiligo: interplay between oxidative stress and immune system. *Exp Dermatol.* 2013;22(4):245-50.
237. Sandoval-Cruz M, Garcia-Carrasco M, Sanchez-Porras R, Mendoza-Pinto C, Jimenez-Hernandez M, Munguia-Realpozo P, ve ark. Immunopathogenesis of vitiligo. *Autoimmun Rev.* 2011;10(12):762-5.
238. Wei C, Jian Z, Wang L, Qiang H, Shi Q, Guo S, ve ark. Genetic variants of the APE1 gene and the risk of vitiligo in a Chinese population: a genotype-phenotype correlation study. *Free Radic Biol Med.* 2013;58:64-72.
239. Ezzedine K, Eleftheriadou V, Whitton M, van Geel N. Vitiligo. *Lancet.* 2015;386(9988):74-84.
240. Byrne KT, Turk MJ. New perspectives on the role of vitiligo in immune responses to melanoma. *Oncotarget.* 2011;2(9):684-94.

## 8. EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Kararı



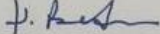
T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU  
Ankara İli 1. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği  
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E.Kurul –E-17-1182

1182-no'lu çalışma

Hastanemiz Dermatoloji Kliniği'nden "Non-Segmental vitiligo ile HLA Genotipi ve oksidatif stres arasındaki ilişki" konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

10.01.2017

  
Prof. Dr. Hürrem Bodur  
Etik Kurul Başkanı

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İrtibat, Etik Kurul EKadıoğlu  
Talatpaşa Bulvarı No:5. Altındağ/Ankara  
Tel: 0 (312) 508 5158-5174

## Ek 2. Hasta Değerlendirme Formu

Non-Segmental Vitiligolu Hastalarda Hastalık Aktivitesi, HLA Ve Artmış Oksidatif Stres İlişkisinin İncelenmesi

### HASTA TAKİP FORMU

AD-SOYAD:

TC:

TEL:

YAŞ:

CİNSİYET:

VİTİLİGO ALTTİPİ:

Non-segmental		
	Akrofasiyel	
	Mukozal	
	Generalize	
	Universal	
	Mixed (segmental vitiligo ile birlikte)	
	Nadir Formlar	
Segmental		
	Unisegmental, bi ya da multisegmental	
Sınıflandırılmamış		
	Fokal	
	Mukozal	

(Vitiligo Global Issues Consensus Conference (1) between 2011-2012)

HASTALIK BAŞLANGIÇ YAŞI:

HASTALIK YAYGINLIĞI (VASI):

Baş-Boyun %:

Üst ekstremite %:

Alt ekstremite %:

Gövde Mukoza %:

Mukoza %:

Toplam %:

HASTALIK AKTİVİTESİ (VIDA -1 ile +4 arası değer alır):



EŞLİK EDEN ÖZELLİKLER:

- Atopi  
 Alopesi  
 Halo nevüs  
 Lökotrişi  
 Köbner

HASTADA OTOİMMUN HASTALIK ÖYKÜSÜ:

Alopesi areata  Var  
Var   
Yok

Haşimato tiroiditi

Pernisyöz anemi  Var  
Var   
Yok  Yok

Diyabet

AİLEDE OTOİMMUN HASTALIK ÖYKÜSÜ:

- Var  
 Yok

### Ek 3. Dijital Makbuz



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Yıldız Hayran  
Ödev başlığı: Yıldız Tez  
Gönderi Başlığı: Non-Segmental Vitiligo ile HLA Gen...  
Dosya adı: Y\_Id\_z\_Tez.docx  
Dosya boyutu: 1.26M  
Sayfa sayısı: 109  
Kelime sayısı: 22,535  
Karakter sayısı: 149,789  
Gönderim Tarihi: 12-Ara-2019 07:22AM (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1232860399



#### Ek 4. Orjinallik Ekran Çıktısı

### Non-Segmental Vitiligo ile HLA Genotipi Ve Oksidatif Stres Arasındaki İlişki

#### ORJINALLIK RAPORU

%7	%5	%2	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	<a href="http://onlinelibrary.wiley.com">onlinelibrary.wiley.com</a> İnternet Kaynağı	%1
2	<a href="http://www.biotronhealthcare.com">www.biotronhealthcare.com</a> İnternet Kaynağı	%1
3	<a href="http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	%1
4	<a href="http://www.journalagent.com">www.journalagent.com</a> İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Izmir Katip Āelebi Āniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	Submitted to International Medical University Öğrenci Ödevi	<%1
7	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	<%1
8	Ramire, Leandro D., Elaine V. C. Marcos, Deise A. S. Godoy, and Fabiana C. de Souza-Santana. "Association of class I and II HLA	<%1

## 9. ÖZGEÇMİŞ

<b>Ad ve Soyadı:</b>	Dr. Yıldız Hayran
<b>Doğum Yeri – Tarihi</b>	Bulgaristan - 1984
<b>Yabancı dil</b>	İngilizce (ileri düzey)
<b>Çalışmakta olduğu kurum</b>	Ankara Şehir Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği
<b>Akademik Ünvanı</b>	Uzman Doktor

### **Dermatoloji Asistanlık Eğitimi**

**2010-2014**

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları

### **Eğitim**

**2003 - 2009** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

**1999 – 2003** Milli Piyango Anadolu Lisesi, İzmir

### **Dermatoloji Uzmanlık Tezi**

Rozasea'lı hastalarda vasküler endotelial büyüme faktör polimorfizminin araştırılması (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sibel Ersoy Evans)

### **Yayınlar**

- **Hayran Y**, Lay İ, Mocan MC, Bozduman T, Ersoy-Evans S. Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms in Rosacea: A Case-Control Study. J Am Acad Dermatol. 2019;81(2):348-54
- **Hayran Y**, Allı N, Yücel Ç. Serum IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , and IL-36 $\gamma$  levels in Patients with Hidradenitis Suppurativa: Association with Disease Characteristics, Smoking, Obesity, and Metabolic Syndrome. Archives of Dermatological Research. 2019 Nov 13. (Epub ahead of print)
- **Hayran Y**, İncel Uysal P, Öktem A, Gür Aksoy G, Akdoğan N, Yalçın B. Factors Affecting Adherence and Patient Satisfaction with Treatment: A Cross Sectional Study of 500 Patients with Acne Vulgaris. J Dermatolog Treat. 2019 May 28. (Epub ahead of print)
- **Hayran Y**, Öktem A, Şahin B, İncel Uysal P, Allı N, Yalçın B. Elevated neutrophil to lymphocyte ratio as an indicator of secondary erythema nodosum, a retrospective observational study. Turk J Med Sci. 2019;49(2):624-34

- Tabanlıoğlu-Onan D, İncel-Uysal P, **Hayran Y**, Şahin-Dalgiç G, Hayran M, Artüz F, et al. Dermatoscopic assessment of nailfold capillary abnormalities in Behçet's disease and correlation of the findings with disease activity and severity. *Dermatol Sin.* 2019;37(1):40-5
- Öktem A, **Hayran Y**, Arı E, Yalçın B. Minimise the regular laboratory monitoring during the systemic isotretinoin treatment: data of 704 patients with acne vulgaris. *J Dermatolog Treat.* 2019;30(8):813-7
- Öktem A, **Hayran Y**, Uysal P, Atılan A, Yalçın B. Evaluation of the Importance of Immunological Profile for Pemphigus Vulgaris in the Light of Necessity to Modify Compensation Theory. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2018;26(2): 100-4
- Akdoğan N, İncel-Uysal P, Öktem A, **Hayran Y**, Yalçın B. Educational level and job status are the most important factors affecting compliance to oral antihistamine therapy for patients with chronic urticarial. *J Dermatolog Treat.* 2019;30(2):183-8
- Bozduman T, Ersoy Evans S, Karahan S, **Hayran Y**, Akbiyik F, Lay İ. Genetic Risk Factors for Psoriasis in Turkish Population: -1540 C/A, -1512 Ins18, and +405 C/G Polymorphisms within the Vascular Endothelial Growth Factor Gene. *Ann Dermatol.* 2016;28(1):30-9.