T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Gökay BOZKURT

VİTİLİGOLU OLGULARDA MHC GEN POLİMORFİZMLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Yıldız SABUNCUOĞLU

EDİRNE – 2006

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Gökay BOZKURT

VİTİLİGOLU OLGULARDA MHC GEN POLİMORFİZMLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Yıldız SABUNCUOĞLU

Tez No : 103

EDİRNE – 2006

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki Jüri tarafından

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınav Tarihi: 02/02/2006

Prof.Dr. Çetin ALGÜNEŞ

JÜRİ BAŞKANI

Prof.Dr. Kadir KAYMAK

ÜYE

Doç.Dr. Gökay BOZKURT

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana verdikleri destekten dolayı değerli hocalarım; T.Ü.Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D. Başkanı Prof. Dr. Çetin ALGÜNEŞ'e, danışman hocam Doç. Dr. Gökay BOZKURT'a ve Yrd. Doç. Dr. Funda S. PALA'ya, yardımlarından dolayı Tıbbi Biyoloji A.D.'daki arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yıldız SABUNCUOĞLU

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
TARİHÇE	4
EPİDEMİYOLOJİ	5
MELANİN, DAĞILIMI VE MELANOGENEZ	5
ETYOLOJİ VE PATOGENEZİ	7
KLİNİK	9
HİSTOPATOLOJİ	14
TEDAVİ	15
İMMÜN SİSTEM VE BAĞIŞIKLIK	18
BAĞIŞIKLIK SİSTEM GENETİĞİ	21
HLA TİPLENDİRMESİ YÖNTEMLERİ	28
HLA'NIN KLİNİKTEKİ ÖNEMİ	30
HLA VE HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ	31
GEREÇ VE YÖNTEMLER	34
KULLANILAN CİHAZLAR VE KİMYASALLAR	35
YÖNTEM	36
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	38
BULGULAR	39
TARTIŞMA	49
SONUÇLAR	54
ÖZET	54
SUMMARY	56
KAYNAKLAR	57
RESİMLEMELER LİSTESİ	62
ÖZGEÇMİŞ	64
EKLER	65

SİMGE VE KISALTMALAR

CD	:	Cluster of Differentation (T-Lenfosit Antijenleri)
CTLs	:	Sitotoksik T-Lenfositleri
CTLA	:	Sitotoksik T-Lenfositi Antijenleri
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
DOPA	:	3,4-dihidroksifenilalanin
HLA	:	Human Leucocyte Antigens (İnsan Lökosit Antijenleri)
Ig	:	İmmünglobülin
MC1R	:	Melanokortin 1 Reseptör Geni
MHC	:	Major Histocompatibility Complex (Büyük Doku Uyumu Kompleksi)
MIC	:	MHC Sınıf I Bağlantılı Gen Bölgesi
NK	:	Doğal öldürücü hücreler (Naturel Killer Cell)
PCR	:	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PUVA	:	Psoralen Ultraviyole A
SBT	:	Sequence Based Typing (Dizi Bazlı Tipleme)
SSOP	:	Sequence Spesific Oligonucletide Hybridisation (Diziye Özgül Oligonükleotid ile Hibridizasyon)
SSP	:	Sequence Spesific Primer (Diziye Özgül Primer)
TCR	:	T Hücre Reseptörleri
TSH	:	Tiroid Stimülan Hormon
UVR	:	Ultraviyole Radyasyon
α-MSH	:	Alfa Melanosit Stimülan Hormon
5-MOP	:	5-metoksipsoralen
8-MOP	:	8-metoksipsoralen

GİRİŞ VE AMAÇ

Vitiligo, deriye renk veren melanin pigmenti ve melanositlerin fonksiyon kaybı sonucu deride renk açılması ile karakterize bir pigmentasyon bozukluğudur (1). Vitiligo her iki cinste eşit olarak görülmekte; her ırkta ve yeryüzünün her bölgesinde rastlanılmaktadır. Değişik büyüklükte ve lokalizasyonda, depigmente, keskin sınırlı ve genellikle simetrik maküllerle seyretmektedir (1,2).

Vitiligonun insidansı etnik gruplara ve coğrafik dağılımlara göre %0,1-2 oranında değişiklik göstermektedir (3-5). Olguların %50'sinde hastalık 20 yaşından önce başlamaktadır (2,6).

Vitiligonun etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen günümüzde bu konuda otositotoksik, otoimmün, nöral ve biyokimyasal kökenli hipotezler daha ağırlıklı olarak düşünülmektedir (1,2,5-7).

Vitiligo etyopatogenezinde odak noktası melanin pigmentidir. Melanin pigmenti yapımı tirozinden başlamaktadır. Tirozinaz enzimi aracılığı ile ilk önce 3,4-dihidroksifenilalanin (Dopa) sonra da dopakinon oluşmaktadır. Bu enzimatik oksidasyon sürecini, enzimatik olmayan bir spontan oksidasyonlar zinciri tamamlar. Bu sırada oluşan ara ürünlerden indol türevlerinin katılması ile de melanin makro molekülü ortaya çıkar. Ömelanin ve feomelanin olmak üzere başlıca iki melanin pigmenti bulunmaktadır. Ömelaninler; kahverengi ve siyah renkli pigmentlerdir. Feomelaninler ise sarı veya kırmızı renkli olup, bu

iki melanin tipi her bireyde değişik oranlarda bulunmaktadır. Ömelanin ve feomelanin pigment içerikleri deride, alfa melanosit stimülan hormonunun (α-MSH), melanokortin 1 reseptörü (MC1R) ile etkileşime girmesi ile düzenlenmektedir (8,9).

Vitiligolu hastalar ve ailelerinde Tiroid, Diabetes mellitus, Adrenal yetmezlik, Lupus eritematozus, Alopesi areata, Miyastenia gravis, Pernisiyöz anemi, Romatoid artrit, Sarkoidoz, Kronik aktif hepatit, Vogt Koyanagi Harada sendromu, Otoimmün poliglandular sendrom, Multiple otoimmün hastalık, Psöriyazis, Liken planus (1), Addison's hastalığı (6,10) gibi hastalıkların sıklığında artış gözlenmektedir.

Otoimmün hastalıklarla insan lökosit antijenleri (HLA) arasında var olan ilişki bilinmektedir (1-15). Vitiligo ile HLA antijenleri arasında da benzer tarzda bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Bu konu ile ilgili olarak farklı populasyonlarda yapılan çalışmaların, farklı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Örneğin vitiligo ile HLA ilişkisi araştırılan serolojik çalışmalarda, ilişki bulunan HLA antijenleri Kuveyt populasyonunda HLA B21, Cw06 ve DR53 (3,6,11,12), Slovak populasyonunda A02 ve Dw07 (3,6,11,13), Afrikan-Amerikan populasyonunda DR04 ve DQw03 (3,6,11,12), İtalyan populasyonunda A30, B27, Cw06, DR07 (11) ve DQw03 (3,6,11), Amerikan Caucasian populasyonunda DR04 (3,6,11,12), Kuzey İtalyan populasyonunda A03 (6,11), Faslı Yahudilerde B13 (11,13) ve Yemenli Yahudilerde Bw35 (6,11), Kuzey İtalyan populasyonunda A30, Cw06 ve DQw03 (6,11,13), Doğu Macar populasyonunda DR01 ve DR03 (3,6,11), Kuzey Alman populasyonunda A02, Bw60 ve Dw12 (3,6,11,12), Alman populasyonunda Cw07 ve DR06 (11) ve Umman yerlilerinde Bw06 ve DR07 (3,6,11,12), Japon populasyonunda A31, B46 ve Cw04 (13) olarak saptanmıştır. HLA ilişkisini araştırmalara yönelik moleküler çalışmalarda ise Slovak populasyonunda HLA DRB1*0701, DQB1*0201 ve DPB1*1601 (14) ve Alman populasyonunda DRB4*0101 ve DQB1*0303 (11) allelleri pozitif bir ilişki göstermektedir. HLA-vitiligo ilişkisi araştırılan linkaj çalışmasında ise Han etnik grubundan gelen Çinli populasyonunda yapılan HLA A*2501, A*30, B*13, B*27 ve Cw*0602 allelleri ile pozitif bir ilişkinin varlığı ve HLA A*66 içinse negatif bir ilişkinin varlığı ileri sürülmüştür (3,13). Han etnik grubundan gelen Çinli populasyonunda yapılan başka bir çalışmada HLA DQA1*0302, DQB1*0303 ve DQB1*0503 allelleri ile pozitif bir ilişkinin varlığı ve HLA DQA1*0501 içinse negatif bir ilişkinin varlığı ileri sürülmüştür (15). HLA-vitiligo arasında negatif bir ilişkiyi rapor eden serolojik çalışmalar ise Kuveyt populasyonunda A19, DR52 (3,11) ve İtalyan populasyonunda DR01, DR03 (3,11) antijenleridir. Türk populasyonunda yapılan ve

tek çalışma olan Taştan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada DRB1*03, DRB1*04 ve DRB1*07 allelleri vitiligo ile ilişkilendirilmiştir (3,11).

Farklı araştırma gruplarında çelişen sonuçların elde edilmiş olması, HLA gen bölgesi polimorfizmleri ile vitiligo arasındaki ilişkinin ortaya konması açısından çalışmaların henüz yeterli olmadığı sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Çalışmamızda 3 kuşaktan beri Trakya Bölgesi'nde yaşayan vitiligolu olgular ile HLA gen bölgesi arasındaki ilişki araştırılması amaçlanmış olup, vitiligo hastalığı ile arasındaki ilişki hakkında bilgi edinilmesi, vitiligo hastalığının erken tanısı, prognozunun belirlenmesi, kalıtımdaki yerinin saptanması, populasyonlara göre vitiligo-HLA ilişkisinin değişiklik gösterip göstermemesi, vitiligo tedavisinin yönlendirilmesi, farmakogenetik bilimine katkıda bulunulması ve vitiligolu olgulara genetik danışmanlığın verilebilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

GENEL BİLGİLER

Vitiligo, edinsel ya da kalıtsal olabilen, tüm dünyada sık rastlanılan, her yaş grubunda ortaya çıkabilen, deriye renk veren melanin pigmentinin kaybı sonucu deride renk açılması ile karakterize bir pigment bozukluğu hastalığıdır. Klinik olarak; keskin sınırlı, değişik büyüklük ve lokalizasyonlarda, süt beyazı renginde, genellikle simetrik, bazen unilateral ve dermatomal dağılım gösteren maküllerle karakterizedir. Primer olarak deri, bunun yanı sıra göz, kulak ve leptomeninksleri de tutabilmektedir (2-6,8,16).

TARİHÇE

Vitiligo hakkındaki en eski belgelere MÖ 1500 dolaylarında Ebers papirüslerinde rastlanmıştır. Bazı kültürlerde lepra ile karıştırılan vitiligo, ilk kez burada lepradan ayrı bir tablo olarak tanımlanmıştır. Vitiligo kelimesinin nereden geldiğine dair çok fazla hipotez vardır. Vitiligodaki depigmente alanlar, benekli danalardaki beyaz yamalara benzetilmiştir. Kelimenin Latince leke ya da hata anlamına gelen ‘vitium’ veya fizikçi Celsus’un kullandığı ‘dana’ anlamına gelen ‘vitelius’ kelimelerinden türediğine inanılmaktadır. Hint literatürlerinde ise ‘kilas’ ve ‘palita’ kelimeleri derideki beyaz yamaları belirtmek için kullanılmaktadır (16-18).

EPİDEMİYOLOJİ

Vitiligo, tüm dünyada değişik oranlarda görülmekle beraber, insidansı dünya genelinde %0.1-2'dir (3-5,16). Değişik merkezlerce yapılan bazı çalışmalarda vitiligo sıklığının Amerika Birleşik Devletleri'nde %1, Danimarka'da %38, Japonya'da %2, Rusya'da %0.14, Libya'da %0.33 (17), Çin'de %1.8 (3), Amerikan Caucasian'da %0.38 (10) oranında olduğu belirtilmiştir. Ülkemizde ise yayınlanan bilimsel makale, kongre bildirisi ve tez çalışmalarına göre vitiligonun ağırlıklı insidans oranı %0.9 dur (17).

Vitiligo her iki cinste eşit sıklıkta görülmektedir. Doğumdan itibaren yaşamın her devresinde rastlanılabilen hastalığın, 20 yaşın altında başlama sıklığı %50 dolaylarında olduğu belirtilmektedir (2,6,16-18). Hastalığın başlamasında ruhsal ya da fiziksel bir stres anamnezinin çoğunlukla bulunduğu (2), %20-40 oranında olguda aile öyküsü olduğu gözlenmiştir (3,10). Yapılan bir araştırmaya göre vitiligolu olgularda aile öyküsünün %6-38 oranında gözlendiği belirtilmektedir (6). Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1030 vitiligo olgusunun 120'sinde aile öyküsü bildirilmektedir (19). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise vitiligolu olgularda %12.4 oranında aile öyküsü belirtilmektedir (2).

MELANİN, DAĞILIMI VE MELANOGENEZ

Melanin pigmenti, deri rengindeki ırksal ve etnik farklılıklar; melanozomların sayısı, büyüklüğü, şekli, dağılımı ve yıkımı ile ilişkilidir (2).

Melanin ve Dağılımı

Melanin, bir dizi enzim aracılığıyla, tirozinin oksitlenmesinden ortaya çıkan, kahverengi, siyah, büyük bir renk molekülüdür (20).

Melaninlerin hücrenin merkezinde toplanmasına veya hücre içinde dağılmasına göre fenotipsel anlamda değişime neden olabilmektedir. Eğer renk koyulaşacaksa melaninler mikrotübüller boyunca hücrenin kenarlarına doğru dağılır, renk açılacaksa melaninler mikrotübüller boyunca hücrenin ortasında toplanırlar. Melanin, epidermis hücreleri içinde bolca bulunur, Albino kişilerde melanin pigmenti bulunmaz (21). Melanin spiral şekilde kıvrılmış proteinlerle bağlanarak 'melano proteinler'i yapar. Melanin taşıyan hücreler

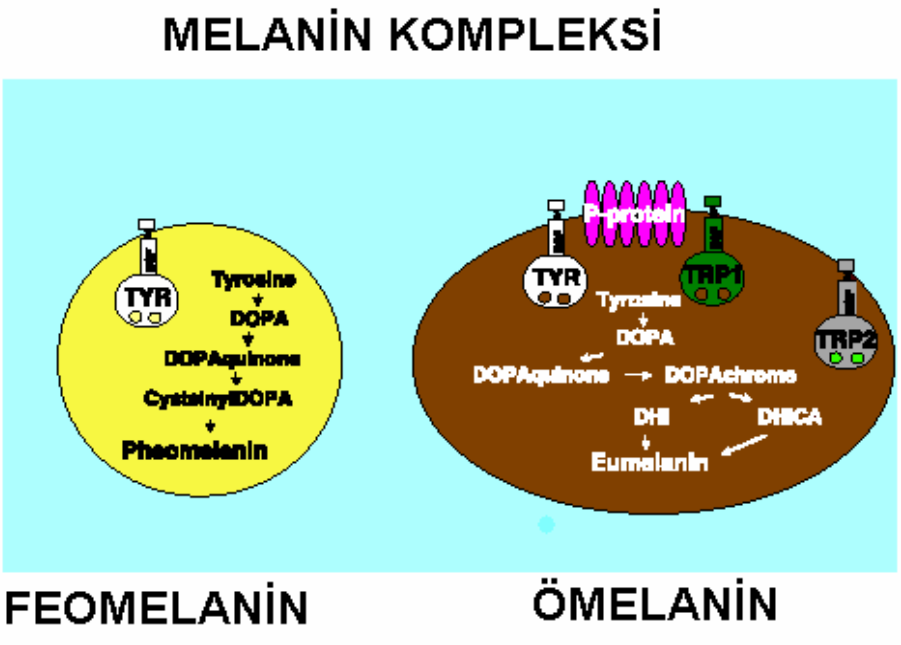
‘melanofor’ ya da ‘melanosit’ olarak adlandırılır (20). Melanositler epidermiste bazal tabaka üzerinde yerleşmişlerdir. Bazal tabakanın her 4-10 hücresine 1 melanosit düşer. Erişkin bir kişideki total epidermal melanosit sayısı yaklaşık $2x10^9$’dur. Melanosit yoğunluğu vücut bölgelerine göre değişmekle birlikte ırklar, bölgeler ve cinsiyetler arasında da farklılık göstermezler (22). En yoğun olarak yüzün orta bölgesi ile genital bölgede, en seyrek olarak da tırnak yatağının distalinde bulunurlar. Melanosit sayısı 30 yaşından sonra her 10 yılda yaklaşık %10-20 arasında azalır. Epidermal melanositlerde bu azalmaya karşılık aktivite artışı olur. Melanositlerin tümü aktif değildir. Güneş gören yerlerde diğer yerlere göre 2 kat daha fazla aktif melanosit bulunur (17).

Melanogenez

Melanositlerin görevi melanin pigmenti yapımıdır. Melanositlerde pigment yapımı melanozom denilen hücre içi organellerde gerçekleşir. Melanozomlarda melanin yapımına ise melanogenez denir (17).

Deri rengi, melanin sentezi ve dağılımından başka, melanozomlar içindeki melanin miktarına ve kimyasal bileşimine de bağlıdır. Melanin insan cildinde kahverengi-siyah ömelanin ve sarı-kızıl feomelanin (Şekil 1) olmak üzere 2 temel formda bulunur (17). Her iki melanin tipi de insan saçında, epidermiste bulunmaktadır. Bu iki pigmentin sentez aşamaları benzerdir ve tirozinaz enzimi tarafından kontrol edilmektedir (9). Bu melaninler biyokimyasal yapı ve melanozomlar içindeki yapısal görünüm açısından farklıdırlar. Ömelanozomlar eliptiktir ve az çözünen yüksek molekül ağırlıklı ömelanin içerirler. Feomelanozomlar ise küreseldir ve düşük molekül ağırlıklı çözünebilir sisteinden zengin feomelanin içerirler (17).

Memelilerin pigmentasyonu, ömelanin ve feomelaninin rölatif değerlerine bağlıdır. Kızılsaçlı, açık beyaz tenli kişiler derilerinde ve saçlarında feomelanin baskınlığı ve/veya ömelanin üretiminin bozulması ile ultraviyole radyasyonu (UVR) ve güneşte kararma riski ile karşı karşıyadırlar. Feomelanin seviyeleri alev kızılı renkli saça sahip olanlarda en fazla iken, kızıl harici insan saçı renklerinin çoğunda ömelanin hakimiyeti vardır (8).



Şekil 1. Feomelanin ve ömelaninin oluşumu (23)

ETYOLOJİ VE PATOGENEZİ

Vitigonun etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen çeşitli teoriler üzerinde durulmakta ve bunların bir veya birkaç tanesinin aynı anda etkili olabileceği düşünülmektedir. Bunlar otositotoksik, otoimmün, nöral ve biyokimyasal hipotezlerdir. Otositotoksik ve otoimmün hipotezleri ortak olarak birleşik hipotez olarak da adlandırılır (16-18). Bunların dışında aile öyküsü de göz önünde bulundurulmalıdır (2,5,6,16-21).

Otositotoksik Hipotez

Otositotoksik hipotezin temelinde yer aldığı düşünülen oksidatif stresin, hücre ölümüne yol açmak suretiyle, birçok patolojik olayda rol oynadığı bilinmektedir. Bu teori, artmış melanosit aktivitesinin, hücre ölümüne neden olduğu düşüncesine dayanır. Vitiligolu olgularda, artmış melanosit aktivasyonu varlığında, melanin üretimi süresince ortaya çıkan toksik ara maddelere bağlı olarak melanositlerin yıkılması, otositotoksik teori olarak adlandırılır (16-17). Örneğin oksidatif strese bağlı melanosit dejenerasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksitin (H_2O_2) epidermisde birikmesi sonucu vitiligo hastalığını aktif hale geldiği düşünülmektedir (5,24).

Otositotoksik hipotezini savunanların ileri sürdüğü diğer bir düşünce ise; melanosit membranına yerleşen serbest radikal bağlayıcı tioredüktazın değişik nedenlere bağlı olarak inhibisyonudur. Bu enzim kalsiyumla inhibe olur. Kalsiyum konsantrasyonu, kontrollerle kıyaslanınca vitiligolu keratinositlerin membranlarında daha yüksek olarak saptanılmıştır (17).

Otoimmün Hipotez

Vitiligo hastalığının, çeşitli immün sistem hastalıkları ile birlikte görülmesinden dolayı etyolojide otoimmünite bozukluklarının da rol oynayabileceği düşünülmüştür. Vitiligo ile sıklıkla ilişkili olan otoimmün Tiroid hastalıklarının yanı sıra, Juvenil diabetes mellitus, Pernisiyöz anemi, Addison hastalığı ve Alopesi areatanın vitiligo ile birlikte görülmesi (5,16-18), erken lezyonlarda dermisde lenfositlerin bulunması ve T-lenfositler üzerinden etki eden psoralen+ultraviyole A'nın (PUVA) tedavi edici etkisi immün hipotezi destekleyen diğer bulgulardır (16,17).

Vitiligolu hastalarda hem humoral hem de hücresel immün aktivitede değişiklikler olabilir (5).

Vitiligolu hastalarda Melan-A/Mart1'e (melanosomal bir antijen) özgü CD8 pozitif T hücreleri periferal kanda yüksek oranda bulunmaktadır. İlginç bir şekilde, Melan-A/Mart1'e özgü CD8 pozitif T-lenfositleri melanomalı olgularda melanosit yıkımını hızlandırmakta ve bu da T hücrelerinin vitiligo ile ilişkili olabileceğini düşündürtmektedir (5,6,16,24).

Vitiligo, apoptozu düzenleyen moleküllerin regülasyon bozukluğuna bağlı olarak da gelişebilir. Vitiligoda in vivo melanosit apoptozunun otoreaktif T hücreler veya makrofajlar tarafından indüklenebileceği bildirilmiştir (17).

Nöral Hipotez

Sinir uçlarından salgılanan nörokimyasal mediatörler ile melanositlerin etkileşimi nöral hipotezin temelidir (1,5,16-18). Klinik olarak segmental tutulumun olması, lezyonlu alanda terleme ve lokal ısı artışı, kanama zamanının uzaması, hastalığın emosyonel stres sonrasında başlayabilmesi bu hipotezi destekleyici bulgulardır. Ayrıca viral ensefalit, multipl

skleroz, nörofibromatozis, Horner sendromu gibi sinir sistemini ilgilendiren bazı hastalıklara da vitiligonun eşlik ettiği görülür (5,16,18). Lepramatöz lepra da artmış vitiligo prevalansı, melanogenezin sinirsel kontrolünün kaybı sonucu olabilir (17).

Bazı çalışmalarda vitiligolu hastalarda asetilkoline bağlı depigmentasyon bildirilmiştir. Yaşlandıkça saçların beyazlaşmasının saçlarda kolinesteras miktarının azalmasına dolayısıyla asetilkolin miktarının artmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Böylece artan asetilkolin miktarının depigmentasyona neden olabileceği bildirilmiştir (16-18).

Biyokimyasal Hipotez

Melanin pigmentinin ana görevi hücre nükleusunu zararlı ultraviole ışınlarından korumaktır (5,17-21). Hem kan yoluyla gelen hem de havayla temas edilerek karşılaşılan oksijen, ultraviole etkisiyle aktive olur. Bu durum çiftleşmemiş elektron içeren ve bu nedenle de hücrede ileri derecede yıkım yapma gücüne sahip olan serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açar. Antioksidan sistem bu radikalleri kontrol altına alabilmek için katalaz ve peroksidaz gibi enzimleri kullanır (1,5,17,21).

Serbest radikallerin bir kısmı ise melanin tarafından inaktifleştirilir. Oksidatif stres hem antioksidanların hem de reaktif oksijen türevlerinin artması sonucu gelişebilir. Melanin molekülünün yükünün artışı ile prostaglandin sentezi sırasında oluşan peroksitler inaktive edilemeyecek ve lipid peroksit oluşumu ile membranları zarara uğratması önlenemeyecektir. Böylece melanozom transferi bozulacaktır. Bir yandan da otositotoksik etki ile birlikte melanin molekülleri melanositlerin yıkımına neden olacaktır (17).

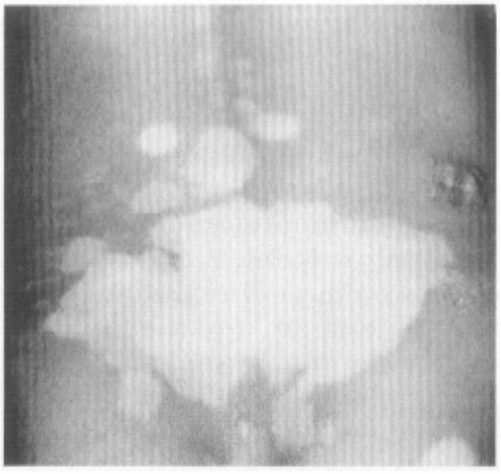
KLİNİK

Tipik vitiligo makülü birkaç mm'den cm'lerce büyüklüğe ulaşabilen boyutlarda, yuvarlak ya da oval, oldukça iyi sınırlı, tebeşir beyazı ya da süt beyazı renginde bir maküldür (5,16-18). Klinik olarak renk değişikliği dışında belirti yoktur. Bu bölgelerdeki kıllar da genellikle beyazlaşır, hatta bazen deri normalken bile sadece kıllar beyazlaşabilir. Bu maküller birleşerek plak yapar (16-18).

Tek olabileceği gibi, çok sayıda hatta yüzlerce çeşitli boyutlarda makül gözlenebilir. Aktif lezyonların çevresi hiperpigmente olabilir. Bazen bu sırada hipopigmente geçiş zonu görülebilir. Buna 'Trikrom Vitiligo' (Şekil 2) denir (2,5,6,16-18) ve daha çok erken fazlarda ve koyu tenli kişilerde görülür (17). Geçiş zonu iki ayrı tonda olduğunda 'Kuadrikrom Vitiligo' dan söz edilir. İyileşmeye başlayan vitiligo lezyonlarının kenarında veya perifoleküler alanda hiperpigmentasyon şeklinde, koyu tenli kişilerde görülür (16-18). 'Pentakrom Vitiligo' da ise beyaz, esmer, kahverengi pigmentasyonla normal deri rengi bir arada gözlenir. 'İnflamatuar Vitiligo'eritamatöz ve kabarık bordürü ile Tinea Versikolor'a benzemektedir (5,6,16-18). Vitiligonun tüm maküllerinin eritemi güneş ışığını takiben oluşur ama bir vitiligo makülü kendi kendine klinik olarak bir inflamatuar dermatoza benzemez. Konfeti maküller, tipik deri renginde ve 1-2 mm çapında tesadüfen ya da perifoliküler olabilir (16,17).

Vitiligo, genellikle güneşe maruz kalan alanlar, vücut orifisleri etrafı, kemik çıkıntıları üstü, intertrijinöz alanlar ve el sırtından başlar. Köbner fenomeni nedeniyle cerrahi operasyon, radyoterapi, şiddetli güneş yanığı, kontakt dermatit ve psoriasis sonrasında da gelişebilir. Ayrıca emosyonel stres, ateşli hastalık, gebelik gibi durumlar da hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilir (16,17).

Vitiligo hastalığının vücuttaki dağılımını araştıran Onunu ve Kubeyinje 351 vitiligolu olgudan oluşan bir çalışmada %32 kol ve bacaklarda, %18.2 yüzde ve %9.1 baş ve boyun bölgesinde tutulum saptanmıştır. Gövdede %23.8 oranında ve dudaklar, vulva, meme ucu ve gingivanın mukozal alanlarında ise %7.4 lezyon saptanmıştır (25).



Şekil 2. Trikrom vitiligo (22)

Vitiligonun Klinik Sınıflandırılması

Vitiligo yerleşim ve büyüklüğüne göre 3'e ayrılır: Generalize, lokalize ve üniversal vitiligo (4-6,10,11,16,22,25).

a) Generalize vitiligo: En sık görülen vitiligo tipidir (Şekil 3) (10,16,17,22). Depigmente maküller rastgele dağılımlı, yaygın ve simetriktir. En sık yüz, göğüs üst kısmı, el sırtları, lumbosakral, aksillar ve inguinal bölgeler tutulur. Diz, dirsek gibi travma bölgelerinin tutulumuna da eğilim vardır. Diğer etkilenen yüzeyler; bileklerin iç yüzü, malleoluslar, umblikus, tibia ön yüzüdür. Vitiligo makülleri periofisyalde olabilir; ağız ve anüs çevresindeki deri etkilenebilir (16,17).



Şekil 3. Generalize vitiligoda depigmentasyon (22)

Generalize vitiligo farklı formlarda görülür. Akrofasial formda, parmakların distalinde ve yüzde orifislerin etrafında depigmente maküler lezyonlar bulunur (5,16,17,21). Vulgaris formda, simetrik çok belirgin lezyonlarla tipik maküler lezyonları mevcuttur (5). Yaygın formda ise, düzensiz fakat yaygın dağılımlı maküller mevcuttur (5,17,22).

b) Lokalize vitiligo: Beyaz renkte, keskin sınırlı, çeşitli sayı ve boyutlardaki maküler alanlar ile karakterizedir. Fokal ve segmental olmak üzere 2 formda bulunmaktadır (17).

Fokal formda dermatomal yayılımı olmayan tek veya birkaç depigmente makülden oluşur (6,16-18). Vitiligolu çocukların %20'si fokal paterne sahiptir (16,17). Segmental

formunda ise depigmente maküller asimetrik dermatomal yerleşim göstermektedir. Genellikle çocuklarda gözlenen segmental form (6), erişkin vitiligoluların %5'ini oluşturur (16,17).

Hann ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 208 segmental vitiligolu hasta incelenmiş ve bunların %41.3'ünün ilk 9 yaş, %28.4'ünün de 10-19 yaşları arasında başladığını tespit etmişlerdir. Hastaların %87'sinde tek lezyon, %13'ünde ise çok sayıda lezyon bulmuşlardır. Trigeminal tutulum %52, torasik tutulum %22.8 ve servikal tutulum ise %17.4 olarak bildirilmiştir (26).

c) Üniversal vitiligo: Üniversal vitiligoda, vücudun %80'inden fazlasında depigmentasyon gelişmesi ile karakterizedir (5,6,16-18,21). Sıklıkla multiple endokrin sendromlarla ilişkilidir (16).

Taştan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 42 vitiligolu olgunun 34 olgu generalize vitiligo olup bunların arasından 6 olguda ailesel vitiligo öyküsü bulunmaktadır. 3 olgu akrofasial, 3 olgu fokal ve 1 olgu üniversal tutulum gözlendiği bildirilmektedir (11).

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2247 vitiligolu olgunun %25.9'u fokal, %46.1'i vulgaris, %2.9'u üniversal, %10.8'i akrofasial ve %14.2'si segmental tutulum gözlendiği bildirilmektedir (4).

Vitiligo ayrıca, plastik ve kauçuk endüstrisinde çalışan işçilerde fenolik bileşikler, tiyo alkoller, katekol deriveleri, merkaptoaminler ve hidrokinon monobenzil eteri gibi maddelerle temas sonucu mesleksel vitiligo gelişebilmektedir. Bu tip vitiligo daha çok erişkin insanlarda, el parmakları gibi temas bölgelerinde olmakta ve sıklıkla guttat maküller şeklinde seyretmektedir (17).

Vitiligo bölmeli olmasına göre 2'e ayrılır: segmental (Tip A), nonsegmental (Tip B) vitiligo (5,24,25).

a) Segmental vitiligo: Uzun süren ve Koebner fenomenon ile ilişkili olan ve genellikle Tiroid, Juvenil diabetes mellitus, Pernisiyöz anemi ve Addison hastalığı gibi otoimmün hastalıklarla birlikte görülen vitiligo tipidir (Şekil 4) (5). Vitiligo erken yaşta başlamalı ve 1-2 yılda hızlı yayılmalıdır (22,23).



Şekil 4. Segmental vitiligo (22)

b) Nonsegmental vitiligo: Lokalize, generalize, akrofasial gibi segmental olmayan bütün durumları kapsar (5,22,24).

VİTİLİGO İLE BİRLİKTE GÖRÜLEBİLEN HASTALIKLAR

Vitiligolu olgularda deri, otoimmün veya sistemik olmak üzere bazı hastalıklar sıklıkla görülmektedir. Bu hastalıklar Halo nevüs (17,18), Alopesi areata (1,6,18), Lökotrişi, Liken skleroatrofikus, Morfea (17), Liken planus (1,17), Atopik dermatit, Lupus eritematozus, Tiroid (1,6,10,17,18,25), Diabetes mellitus (1,6,10,17,18,25), Pernisiyöz anemi (1,6,10,17,25), Addison hastalığı (6,10,17), Adrenal yetmezlik, Miyastenia gravis, Romatoid artrit, Sarkoidoz, Kronik aktif hepatit, Vogt Koyanagi Harada sendromu, Otoimmün poliglandular sendrom, Multiple otoimmün hastalık sıklıkla görülen hastalıklar olarak bildirilmektedir (1).

Vitiligolu olgularda çok sayıda Halo nevüs'e rastlanmaktadır (17). Alopesi areata'nın vitiligolu hastalarda insidansı %16 olarak bildirilmektedir (6,18).

Tiroid hastalıkları vitiligoda en sık görülen sistemik hastalık grubudur (1,6). Hipertiroidi, hipotiroidi, Hashimoto tiroiditi, Basedow-Graves hastalığı vitiligoya oldukça sık eşlik eden tiroid hastalıklarıdır. Tiroid hastalarının %30'undan fazlasında vitiligo gözlenmektedir (6). Laberge ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 133 generalize vitiligolu aile araştırılmış ve olguların 30'u ailesel tiroid probandına sahip olduğu bildirilmiştir. Ailesel

tiroid probandına sahip 22'si hipotiroidizm, 8'i ise hipertiroidizm gözlendiği bildirilmektedir (10).

Diabetes mellitus vitiligolu olgularda insidansı %1-7.1 arasında değişmektedir. Diyabetik hastalarda ise %4.8 vitiligo görülebilmektedir (17,18). Onunu ve ark. yaptığı bir çalışmada 351 vitiligolu olgunun %1.7'inde Diabetes mellitus bildirilmektedir (24).

Pernisiyöz anemili hastalarda %1.6-10.6 oranında vitiligo bulunduğu bildirilmiştir (17). Genel ortalaması %5.3 olarak bildirilmektedir (6). Addisson hastalığının insidansı %2 olarak bildirilmektedir (18).

HİSTOPATOLOJİ

Vitiligoda asıl olay melanositlerin desktrüksiyonu olarak görülmektedir. Gümüş boyalar ya da dopa reaksiyonu ile uzun süren vitiligo lezyonlarında melanositler görülmemektedir. Hipopigmente olan erken lezyonlar ve genişleyen lezyonların periferik zonunda birkaç dopa pozitif melanosit ve bazal tabakada bir miktar melanin granülü görülmektedir. Öte yandan vitiligo maküllerinin kenarında melanositler, bol melaninli, uzun dendritli ve büyük görülmektedir (16,18).

Elektron mikroskobik incelemelerinde, aktif lezyonun kenarında hem melanositlerde hem de keratinositlerde dejeneratif değişikliklere rastlanmaktadır. Ayrıca melanositler vitiligolu olgularda nekrotik görünümlü olup anormal sitoplazmik uzantılara, mitokondri ve hücre membranına sahip olmaktadır. Langerhans hücrelerinde ise melanositler bazal tabakada artmış, suprabazal tabakada azalmıştır (17).

Klinik Tanı

Vitiligo hastalığının tanısında tipik yerleşimli, ilerleyici, süt beyazı maküller bulunmakta ve bunların dışında tanı yapılmadığından, çok gerekli durumlarda histopatolojik, elektron mikroskobik incelemelere veya dopa reaksiyonu tekniklerine başvurulabilir. Süt beyazı maküller nedeni ile sarımsı veya grimsi beyaz renkteki hipomelanotik lezyonların ayırımında Wood ışığı muayenesine gerek duyulabilir. Wood ışığı, 365 nm dalga boylu bir

ultraviyoledir. Vitiligo Wood ışığı ile depigmente maküller, mavimsi bir beyazlık şeklinde görülür (17).

Melanoblastların melanositlere dönüşümünün olmaması halinde derinin bazı bölgelerinde melanosit eksikliğine bağlı doğumsal renksizlikler olmaktadır. Bu duruma Piebaldizm (Şekil-5) denir. Piebaldizm de doğumda alına uzanan renksiz bir perçem, elleri, ayakları, omuzları, üst kolları, üst uyluk bölümlerini tutmayan, simetrik pigmentasyon bölgeleri ile bunların içinde bulunan az sayıda normal pigmentasyonlu lekelerden oluşan bir hastalık tablosu söz konusudur (2). Nevüs pigmentosis, konjenital, unilateral, stabil, beyazımsı makülleri bulunmaktadır. Tinea versikolor alba, Wood ışığı ile sarımsı görüntü veren lezyonlardır (17).



Şekil 5. Piebaldizm (22).

TEDAVİ

Vitiligolu hastaların tedaviye verdikleri yanıt genellikle yavaştır ve iyileşme oranı düşüktür. Olguların geneli göz önüne alındığında repigmentasyon oranı %15-25 oranındadır (18).

Tedaviden önce hastaya, hastalığı hakkında bilgi verilmeli, tedavinin uzun sürebileceği anlatılmalıdır. Uygulanacak tedavi hastanın yaşına, mesleğine, sosyoekonomik

durumuna, lezyonların yaygınlığına, yerleşim yerlerine ve daha önce uygulanmış olan tedavilere göre seçilmelidir (16,18).

Medikal Tedaviler

1) Fotokemoterapi kullanılan tedaviler: Psoralen plus ultraviole A (PUVA) veya doğal ultraviole (PUVASOL) olarak bilinmektedir (5). PUVA, psoralen grubu ilaçların, ışık spektrumu 320-400 nm dalga boyunda olan UV-A ile uyarılarak, melanosit aktivasyonu ve melanin yapımı artışına neden olması esasına dayanır. Psoralenlerin kullanımı, tarihteki belki en eski tedavi yöntemlerindendir. Eski Hint ve Mısır uygarlıklarına kadar dayandığını gösteren belgeler bulunmaktadır (2,18). Şu an dünyada kullanılan 3 psoralen türevi vardır: a) 5-metoksipsoralen (5-MOP), b) 8-metoksipsoralen (8-MOP), c) 4,5,8-trimetilpsoralen (TMP) (2,5,16,17).

Psoralenlerin uygulamasını takiben emilimlerinden yaklaşık olarak 2 saat sonra derideki en yüksek yoğunluğa erişirler. Uyarılmaları ise UV-A spektrumunda en üst düzeydedir. Bu nedenle ilaç alımından 2 saat sonra UV-A ışınlaması ile tedavi yürütülmelidir. Psoralen alımından sonra 18-24 ay gibi uzun bir süre PUVA tedavisi gerekir (16,17). Altı ay yaklaşık 50 seanstan sonra herhangi bir sonuç elde edilmezse tedavi kesilmelidir. Haftada 2-3 kez uygulanan tedavide gerek güneş ışığı ile kombinasyon olasılığı, gerekse de en az toksik oluşu nedeni ile TMP tercih edilmelidir. Ancak PUVA tedavisi tam repigmentasyon oldukça ender olarak sağlanmaktadır. Psoralenlerin lokal kullanımları ise, lokal toksik reaksiyona neden olduğundan pek uygun değildir (2,16).

Psoralen ve UV-A Tedavisi için:

- Hastanın 10 yaşından büyük olması,
- Hastanın gebe veya laktasyon döneminde olmaması,
- Tutulmanın distal alanlarda ve mukozalar gibi dirençli bölgelerde olmaması,
- Hastanın 100-300 seanslık tedaviyi kabul etmesi gerekmektedir (18).

PUVASOL (psoralen+güneş) tedavisi, oral 0.5-0.8 mg/kg psoralen alımının ardından yaklaşık 2 saat sonra güneşe çıkma prensibine dayanır. Koruyucu UVA gözlükler oral psoralen alımından 24 saat sonraya kadar kullanılmalıdır (16). Haftada 3 gün uygulanır (17,18).

Geniş Bant UVB spektrumu 290-320 nm dalga boyundadır. Mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte (5), eritem ve deride aktinik hasar oluşması, özellikle karsinojenik özellik taşıması nedeniyle kullanımını kısıtlamıştır (17).

Dar Bant UVB spektrumu 310-315 nm dalga boyundadır. Daha az eritem ve kserozis gelişmesi, kısa sürede sonuç vermesi, yanında ek ilaç alımı gerektirmemesi, gebelerde ve çocuklarda güvenle kullanılması avantajlarıdır (5).

2) Kortikosteroidler: Kortikosteroidler topikal, intralezyonel, intramüsküler ve oral şekilde kullanılabilir. Tam olarak etki mekanizması bilinmemekle birlikte (5), steroidlerin immünsüpresif ve antiinflamatuar etkileri ile vitiligo lezyonlarında sıkça rastlanan inflamasyonları azalttıkları ve aynı zamanda serum antimelanosit antikorlarını azaltarak immün sistemi etkiledikleri düşünülmektedir (16,17).

3) Karotenoid tedavisi: Lokal ve sınırlı sayıda lezyonu olan hastalara kaplama ve kamuflaj önerilebilir. Kaplama ve kamuflaj ß karoten içeren bazı boyalar ve makyajlarla yapılabilir (18). ß karoten, serbest radikallerin inaktivasyonu etkisi ile melanin molekülünün yükünü hafifletir, melanin stabilizasyonu ve belki de onarımı yönünde olumlu etki ile hücre membranlarını dirençli hale getirerek yeni melanosit yıkımını önlemektedir (2). Karotenoidler ayrıca deriyi boyadıklarından normal deri ile vitiligolu bölge arasındaki faklılığı da azaltırlar (17).

4) Depigmentasyon tedavisi: %50'nin üzerinde tutulumu olan, 40 yaşından büyük, diğer tedavilere cevap vermeyen, kalıcı depigmentasyona razı olan hastalara uygulanabilir. Tüm derisinin beyazlaşmasına ve güneşte yanmasının kolaylaşmasına rağmen hasta tedaviyi kabul ederse bir ekstremiteye %20'lik preparat uygulanır. 2-3 ay sonunda hasta ve hekim sonuçtan memnunsa tedaviye tüm vücutta devam edilir. Tam sonuçlar 1-3 yılda alınır (18). Melanositleri yıkan hidrokinon monobenzil eter kullanılır. Kontakt dermatit, kaşıntı, deri kuruluğu, korneada pigment birikimi, saçlarda grileşme gibi yan etkiler görülebilir. Tedavi sonrasında yüksek faktörlü güneşten koruyucular kullanılmalıdır (17).

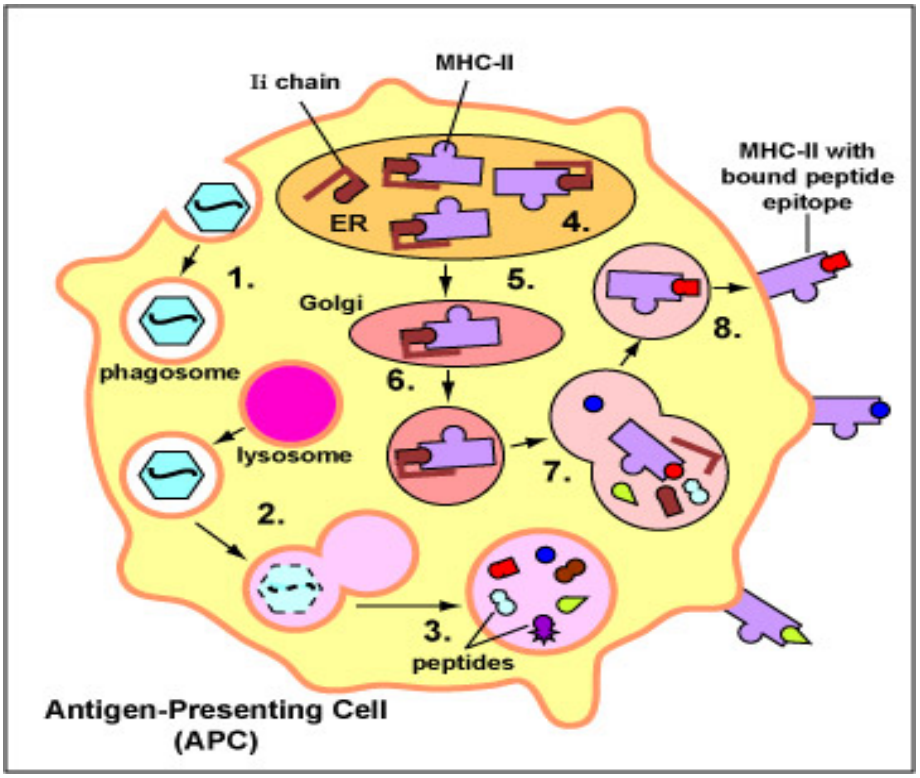
Cerrahi Tedaviler

Vitiligo tedavisinde cerrahi yöntem, son iki yılda stabil olan, diğer tedavi yöntemlerine cevap vermeyen vitiligo olgularında, normal pigmente deriden alınan otolog melanositlerin vitiligo lezyonlarına transplant edilmesi esasına dayanır. Vitiligo tedavisinde, cerrahi yöntem uygulanmak üzere seçilen hastalarda; keloid oluşumuna eğilimi olmaması ve hastanın 18 yaş üzerinde olması gibi faktörlerin varlığına dikkat edilmesi gerekmektedir (5,16,17).

İMMÜN SİSTEM VE BAĞIŞIKLIK

İnsan vücudunun doku ve organları, bütün yabancı organizma ve toksinlere karşı direnme yeteneğindedir. Bazı mikroplara ise hayat boyu yenilmeden kalırlar ki bu yeteneğe bağışıklık (immünite) denir (21). Latince ‘immunis’ (vergi vermeyen) sözcüğünden türemiştir (27). İmmün sistem bireyi enfeksiyon ve dış etkenlerden korumak üzere gelişmiştir. İmmün sistemde kemik iliği, timüs, dalak, lenf düğümleri, tonsiller, fagositler, plazma hücreleri, immünglobülinler gibi elemanlar görev alırlar. Organizma için yabancı olan ve immün sistemi uyaran elemanlar ‘antijen’ adını alırlar. Proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler, antijenik moleküllerdir. Ayrıca yaşlı eritrositler, polen taneleri, bakteri toksinleri, bakteri ve virüslerin kendileri, antijen niteliğinde birçok kimyasal bileşik içerirler. Bir canlıdan diğerine transplant edilen dokular da antijenik özellik taşır (21). Vücuda giren antijen bir cevap oluşmasına sebep oluyorsa ‘immünojen’ denir. Her antijen immünojen değildir (27).

Organizma kendisine zarar verecek yabancı maddelere (antijen), karşı immün cevap olarak vücudu koruyucu ‘antikor’ (immünglobulin, Ig) oluşturur. İmmünglobulinler kendilerine spesifik olan antijenleri kolaylıkla tanırlar ve onu hemen yok ederler (21,28).



Şekil 6. Protein molekülünün parçalanması ve immün sistem (29)

İmmün sistem doğal, aktif ve pasif bağışıklık olarak gruplandırılabilir:

Doğal Bağışıklık

İnsanı herhangi bir yabancı etkenle karşılaşmadan önce yani doğuştan sahip olduğu bağışıklıktır. Tabiatta insan dışındaki organizmaları etkileyen bazı hastalıklara karşı tüm insanlar doğal bağışıklık gösterir (21,27,28). Örneğin; Herpes simplex virüsü, tavşanlarda öldürücü olduğu halde insanlarda doğuştan bağışıklık olmasından dolayı sadece dudaklarda uçuklara sebep olmaktadır (21).

Doğal bağışıklıkta esas olarak lenfoid sistemin yardımcı hücreleri immün yanıtı geliştirirler. Bu yanıtta özellikle makrofaj ve nötrofillerin oluşturduğu fagositler ve doğal öldürücü (natural killer-NK) hücreler rol oynamaktadır (27,28).

Aktif Bağışıklık

Bu bağışıklık tipinde, mikropları ya doğal yolla alarak ya da bizzat zayıflatılmış mikroplar organizmaya verilerek (aşı) bir immün cevap oluşur. 2'ye ayrılır: Doğal yollarla kazanılan bağışıklık, aşı yoluyla kazanılan bağışıklık

Doğal yollarla kazanılan bağışıklık: Bu bağışıklık vücudun sonradan karşılaştığı öldürücü bakteriler, virüsler, polenler, yaşlı eritrositler, büyük moleküllü proteinler, lipoproteinler ve toksinlere ve hatta diğer hayvanlardan gelen yabancı dokulara karşı oluşur. Burada dikkati çeken en önemli nokta vücudun direnci veya bağışıklığı spesifik olup, sadece saldırgan organizmaya karşı duyarlı olmasıdır (28).

Aşı yoluyla kazanılan bağışıklık: Organizmaya zayıflatılmış mikroplar verilerek sağlanır, böylece vücutta önceden antikor birikimi sağlanır ve mikrop vücuda girince kolayca yok edilebilir. Bu işleme 'aşı' denilmektedir (21).

Bir antijenin tanınmasında ve daha sonra bağışıklık tepkimelerinin gösterilmesinde anahtar hücre lenfositlerdir. Kırmızı kemik iliğinden türemiş iki tip lenfosit populasyonu ayrılabilir. T-tipi ya da 'timüs lenfositleri' birincil olarak hücre bağışıklıklarına (mantarlara, virüslere ve yabancı dokulara karşı gösterilen tepki) karşı tepki gösterir. B-tipi ya da 'bursal lenfositler' dolaşım sistemine özgü (vücut sıvısına ilişkin) antikorların üretiminden sorumludur (bakteri ve tekrarlanan virüs enfeksiyonlarında olduğu gibi) (19,28).

Aşı yoluyla kazanılan bağışıklıkta hücresel ve humoral cevap olmak üzere 2 şekilde cevap oluşturulur.

i) Hücresel immün cevap: Mantar, polen, yabancı doku gibi etkenlere karşı T-lenfositleri, fagositler, nötrofiller, bazofiller, eozinofiller, mast hücreleri ve doğal öldürücü hücreler ile cevap sağlanır (30). Doğumdan önce kemik iliğinden timüse gelen kök hücreleri (stem cell) yüzeyine, onları karakterize eden CD4 ve CD8 gibi bir takım yüzey glikoproteinleri (reseptörler) eklenerek olgunlaşırlar (31). T-lenfositlerinin dış yüzeyleri düz olup, antijen ancak büyük doku uygunluğu kompleksi (Major histocompability complex=MHC) ile bir kompleks oluşturunca ve hassas bir bölüm (determinant) oluştururlar. Olgun T-lenfositleri antijenleri tanıyarak çıkardıkları özel enzimler veya kemotaksi yoluyla

onları kendilerine yapıştırıp eritir ve yok ederler. Bu olay doku naklinde organları reddetmekten sorumlu hücresel bağışıklığı sağlar (21,28).

ii) Humoral immün cevap: Bakterilere ve virüs enfeksiyonlarına karşı B-lenfositleri, antikorlar, komplemanlar, interferon, interlökin, koloni stimulan faktör gibi sitokinler ve bazı kemokinler ile cevap sağlanır (30). Kemik iliğinde B-lenfositlerini oluşturacak lenfoblastların yüzeylerine immünglobulinler (Ig) bağlanır. B-lenfositlerinin yüzeylerinde IgM, IgD, IgG, IgA ve IgE gibi immünglobulin reseptörleri yer almaktadır. B-lenfositleri salgıladıkları antikorlar sayesinde antijenleri yok ederler (21,28,31).

Pasif Bağışıklık

Vücut bazı ani olaylarda ihtiyacı olan antikorları hemen üretemez, bu durumda kendisinin üretemediği antikorlar dışarıdan verilerek zararlı etkiye karşı korunması sağlanmış olur. Pasif bağışıklık için özel antikorlu serumlar hazırlanır ve hastaya verilir.

Yeni doğan çocuğa anneden plasenta yoluyla geçen bağışıklıkta bir pasif bağışıklıktır. Bağışık hücre nakli ile elde edilen bağışıklık şekline ‘adaptif bağışıklık’ denir ki, bu da bir pasif bağışıklıktır (28).

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ GENETİĞİ

Bağışıklık sisteminin kendinden olanı ve olmayanı tanıması için gerekli olan ‘doku antijenleri’ni kodlayan gen bölgesi, Büyük Doku Uyum Kompleksi, MHC olarak adlandırılır. İlk olarak kemirgenlerde tanımlanan bu bölgenin insandaki karşılığı, 6. kromozomun kısa kolu (6p21.31) üzerinde yerleşmiş olup, yaklaşık olarak 4 mega bazlık (Mbp) bir yer kaplar. İlk olarak beyaz kan hücrelerinde gösterilen genler, ‘İnsan Lökosit Antijenleri’, Human Leucocyte Antigens, HLA bölgesi olarak da adlandırılır. Çok sayıda genin yer aldığı yaklaşık 4000 kilobaz (kb) büyüklüğündeki bu bölgede immün yanıtla ilgili tanımlanamamış bazı genlerde yer alır (28-32).

HLA allellerinin tanımlanması, belirli hastalıklar ile spesifik HLA antijenleri veya haplotipleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. HLA-hastalık ilişkilerinin büyük çoğunluğunun etyolojik yapısı bilinmemektedir (33,34).

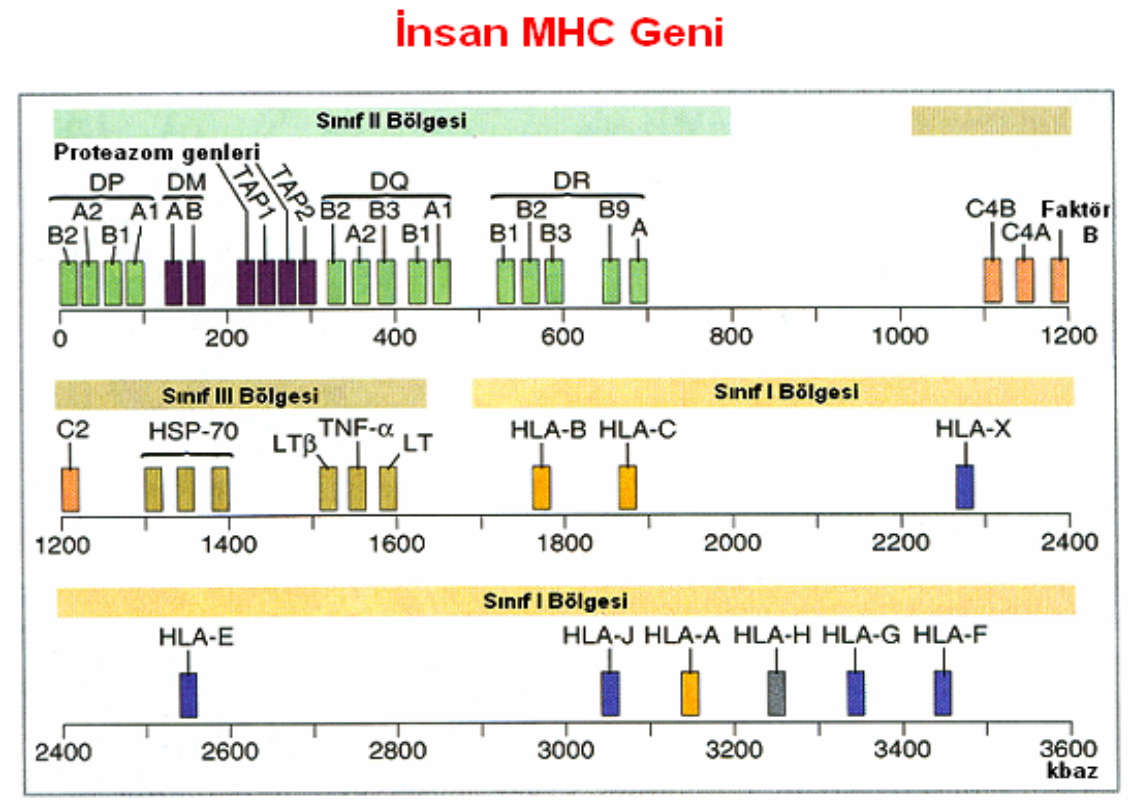
11 Nisan 1958'de ikiz doğum yapan bir gebede aşırı kanama nedeniyle kan grubundan kan transfüzyonunu takiben gelişen hipotansiyon, titreme ile seyreden tablonun neden ortaya çıktığı araştırılırken, hastanın multipar olduğu ve buna bağlı olarak serumunda transfüze lökositleri aglütine eden paternal HLA moleküllerine karşı gelişmiş yüksek titrede antikorların varlığı ilk kez gösterildi. Böylece hücresel yöntemle HLA tiplerinin ve farklılıklarının saptanmasına başlandı.

Dausset tarafından keşfedilen ve ilk saptanılan antijen bugün HLA-A2 olarak bildiğimiz ancak Mac adı verilen antijendir. Bunu bugün Bw4 ve Bw6 olarak bildiğimiz antijenlerin 1963'te van Rood tarafından bulunması izlemiştir. Bir yıl sonra Bodmerler HLA-A grubunu tanımladılar ve Mac antijenini içerdiğini gösterdiler. MHC' yi oluşturan gen bölgesi bugün için oldukça iyi tanımlanmış bulunmaktadır (27,28,34-37).

Her bir HLA antijeni kendisine özgül bir gen tarafından kontrol edilir. MHC genlerinin kalıtsal yola iletimi Mendel yasalarına göre olur. Her ebeveynde iki haplotip olup bunlardan bir tanesi çocuğa iletilir. Bir HLA haplotipi tek bir kromozom üzerinde bulunan spesifik allel serisidir. HLA tiplemesi bireyin fenotipini gösterir. Haplotiplerin saptanması için ailedeki bireylerin HLA tayininin yapılması gerekir. Bireyin iki haplotipi belirlendiği zaman genotipi saptanmış olur (36).

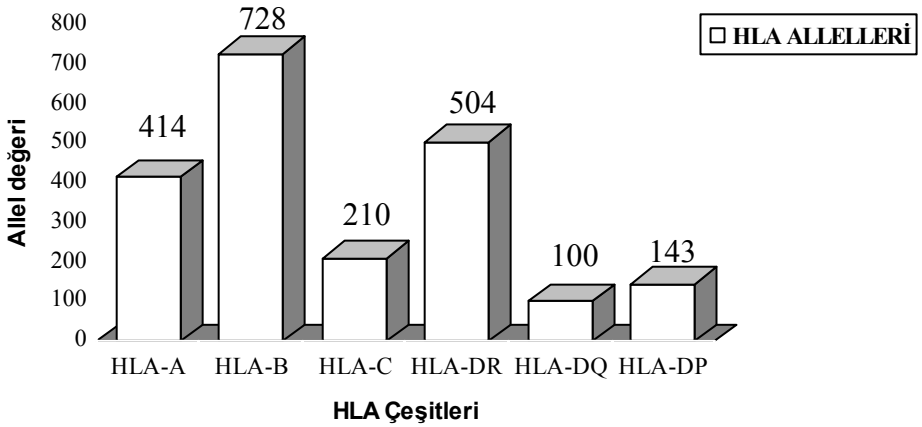
Sınıf II MHC molekülleri antijen sunulmasında görevlidir. Antijen sunan hücreler yabancı antijenleri hücre içinde peptidlere parçalar ve MHC Sınıf II molekülleri bu peptidleri bağlar. CD4 T-lenfositleri ise antijen sunan hücrenin yüzeyinde bulunan ve Sınıf II molekülleri ile ilişkili olan antijeni tanırlar. CD4 T-lenfositleri yüzeyindeki TCR (T hücre reseptörleri) antijen-Sınıf II protein kompleksini bağlar ve CD4 T hücresinden açığa çıkan sitokinler immün yanıtı tetikler (Şekil 6), (36).

Günümüzde insan MHC gen bölgesi tamamen dizilenmiş olup 28 Ekim 1999 tarihli NATURE dergisinde yayınlanmıştır. MHC gen bölgesinde 3.673.800 nükleotid ve bulunmaktadır. İnsanda MHC gen bölgesi 200'den fazla farklı gen içermekte ve 4 sınıfa ayrılmaktadır: Sınıf I, Sınıf II, Sınıf III ve Sınıf IV (27-35). MHC gen bölgesi 4.464 farklı allel içermektedir (38).



Şekil 7. İnsan MHC geni (29)

HLA'ların gen düzeyinde ifade edilmesini sağlayan Sınıf I ve Sınıf II MHC gen bölgeleridir. Sınıf III ve Sınıf IV gen bölgeleri bağışıklık sistemi fonksiyonları ile ilgili olsalar da HLA olarak isimlendirilmezler (34). Şekil 7'de MHC gen bölgesinde gen gruplarının yerleşim yerleri ve komşulukları gösterilmektedir.



Şekil 8. 2005 yılında yapılan güncellemeye göre HLA allelleri (38)

2005 yılı İmmüno-genetik/HLA grubu çalışmaları sonucu güncellemeye göre HLA-A 414, HLA-B 728 ve HLA-DR 504 allel tanımlanmıştır (38) (Şekil 8).

HLA'ların Adlandırılması

MHC, kodlanan proteinlerin özelliklerine göre Sınıf I, II, III olarak alt bölgelere ayrılır. Sınıf I bölgesi, MHC'nin telomerik ucunda yer alır. HLA-A,-B,-C olarak da tanınan klasik transplantasyon antijenlerini ve HLA-E,- F,-G gibi klasik olmayan Sınıf I antijenleri kodlayan gen lokuslarını, HLA-H,-J,-K,-L,-X gibi psödogenleri ve gen segmentlerini içerir. Sınıf II bölgesi ise sentromere yakın yerleşmiş olup; HLA-DRA,-DRB,-DQA,-DQB,-DPA,-DPB,-DNA,-DMA,-DMB,-DOA,-DOB lokusları yanı sıra çeşitli psödogenler, LMP2, LMP7, TAP1, TAP2 gibi antijen işlenmesinde rol alan genler bu bölgede yer alır. HLA-DRB ile HLA-B bölgeleri arasında Sınıf III genleri bulunur, C4B, C4A, Bleferidin, C2, HSP-70, TNF-a, TNF-b bu bölgede kodlanan bazı genlerin ürünüdür (Tablo 2). Adı geçen lokusların bir kısmı, çok sayıda polimorfik allelin kodlanmasından sorumludur ki HLA tiplendirimi ile amaçlanan da bu allellerin ve kodladıkları antijenlerin belirlenmesidir (34-39).

Terminolojik olarak adlandırılırken gen bölgesini belirlemek üzere HLA başa yazılır. HLA'nın lokusunu gösteren harfler büyük yazılır. Serolojik yöntem ile çalışılmış ise lokusu belirten harflerin hemen arkasından allelin numarasını belirten rakam ilave edilir. Moleküler yöntemle çalışılmış ise lokusu belirten harflerin ardından '*' öneki ile allel numarası yazılır (30) (Tablo 1).

Tablo 1. HLA allelleri tanımlanırken kullanılan terminoloji (32)

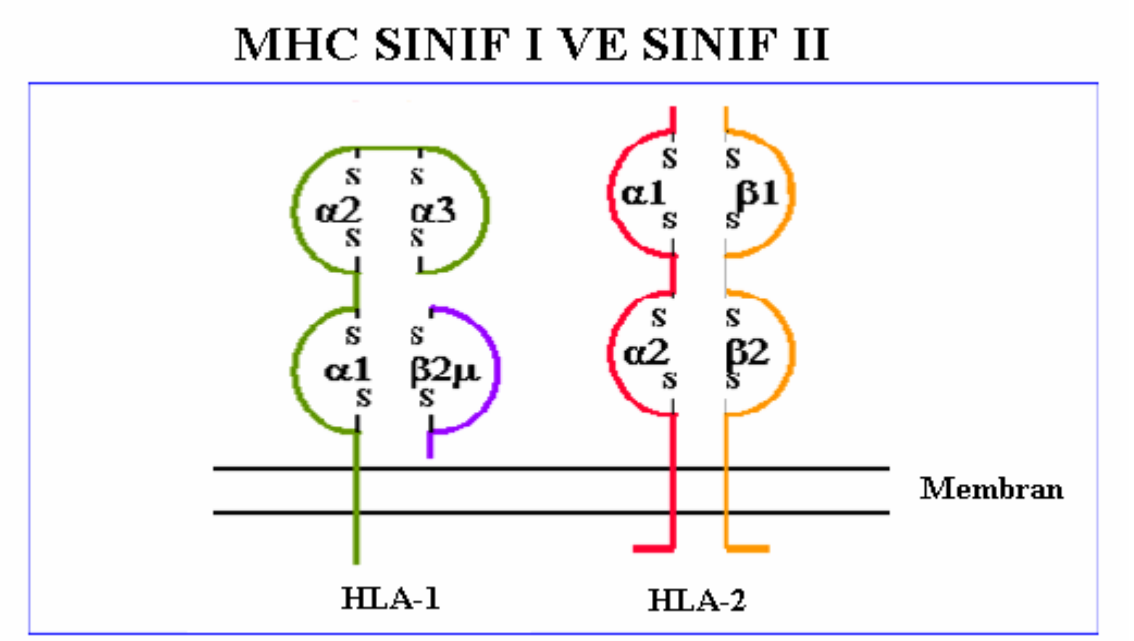
TERMİNOLOJİ	RAKAM SIRA NO	İFADE ETTİĞİ BİLGİ
HLA	-	HLA bölgesini ifade eder ve bir HLA genine ön ek olarak kullanılır
HLA.DRB1	-	Belli bir HLA lokusu Ör:DRB1
HLA-DRB1***13**	1-2	Spesifik bir antijeni (Ör:DR13) kodlayan bir aile grubunu tanımlar
HLA-DRB1*13**01**	3-4	Spesifik bir HLA allelini tanımlar (DR13ün 01 alleli)
HLA-DRB1*1301**N**	5/9	Eksprese edilmeyen (**N**ull) bir alleli gösterir, L harfi ise zayıf ekspresyon işaretidir.
HLA-DRB1*1301**02**	5-6	Sessiz (Sinonim) mutasyonu olan bir alleli ifade eder
HLA-DRB1*13010**102**	7-8	Kodlama bölgesi (ekson) dışında mutasyonu olan bir alleli gösterir.
HLA-DRB1!*13010**102N**	5/9	Kodlama bölgesi dışında mutasyonu olan Null bir alleli gösterir.

Tablo 2. HLA bölgesindeki genlerin adları (32)

Adı	Eski Adı	Moleküler Özellikler
HLA-A	-	Sınıf ά-zinciri
HLA-B	-	Sınıf ά-.zinciri
HLA-C	-	Sınıf ά-zinciri
HLA.E	E,'6.2'	Sınıf I gen
HLA-F	F, '5.4'	Sınıf I gen
HLA-G	G,'60'	Sınıf I gene
HLA-H	H,AR,'12..4'	Sınıf I psödogen
HLA-J	cda12	Sınıf I psödogen
HLA-K	HLA-7O	Sınıf I psödogen
HLA-L	HLA-92	Sınıf I psödogen
HLA-N	HLA-30	Sınıf I gen
HLA-S	HLA.17	Sınıf I gen
HLA-X	HLA-X	Sınıf I gen fragmanı
HLA-Z	HLA-Z1	HLA Sınıf II bölgesi içinde Sınıf I gen fragmanı
HLA-DRA	DRά	DRά zinciri
HLA-DR81	DRβI,DR1B	DR1,DR2,DR3,DRA,DR5 gibi özellikleri belirleyen DR β1-zinciri
HLA.DRB2	DrβII	DRβ-benzeri sekanslar taşıyan bir psödogen
HLA-DRB3	DRβIII,DR3B	DR52 ve Dw24, Dw25, Dw26 yı belirleyen DR β3 zinciri
HLA.DRB4	DrβIV,DR48	DR53' ü belirleyen DR β4.zinciri
HLA-DRB5	DRβIII	DR51' i belirleyen DR β5.zinciri
HLA-DRB6	DRBX,DRBO	DR1,DR2 ve DR10 haplotiplerinde bulunan DRB psödogeni.
HLA-DRB7	DRBΨ1	DR4,DR7 ve DR9 haplotiplerinde bulunan DRB psödogeni.
HLA.DRB8	DRBΨ2	DR4,DR7 ve DR9 haplotiplerinde bulunan DRB psödogeni.
HLA.DRB9	M4,2 β ekson	DRS psödogeni
HLA-DQA1	DQά 1 , DQ1A	DQά- zinciri,eksprese edili**r.**
HLA-DQB1	DQβ1, DQ1B	DQβ- zinciri,eksprese edilir.
HLA.DQA2	DXά-DO2A	DQ ά- zincirle ilişkili dizi,ekspresyon
HLA-DQB2	DXβ,DQ2B	DQ β-zincirle ilişkili dizi, ekspresyon
HLA-DQB3	DVβ,DQB3	DQ β -zincirle ilişkili dizi, ekspresyon
HLA.DOA	DZά,DQά,DNA	DQ ά- zinciri
HLA-DOB	Doβ	DO β - zinciri
HLA-DMA	RiNG6	DM ά- zinciri
HLA-DMB	RiNG7	DM β-zinciri
HLA-DPA1	DPά1,D.P1A	DP ά-zinciri,eksprese edilir,
HLA-DPB1	DPβ1,DP1B	DP β - zinciri,eksprese edilir,
HLA.DPA2	DPά2, DP2A	DP ά- zincirle ilişkili psödogen
HLA-DPB2	DPβ2, DP2B	DP β-zincirle ilişkili psödogen
HLA-DPA3	DPA3	DP ά. Zincirle ilişkili psödogen
TAP1	ABCB2, RING4,Y3.PSF1	ABC (ATP Binding Cassette) transporter
TAP2	ABCB3,RING11,Y1. PSF2	ABC (ATP Binding Cassette) transporter
PSMB9	LMP2, RING12	Proteosomla ilişkili dizi
PSMB8	LMP7, RING10	Proteosomla ilişkili dizi
MICA	MICA, PERB11,1	Sınıf I zincirle ilişkili gen
MICB	MICB, PERB11.2	Sınıf I zincirle ilişkili gen
MICC	MICC, PERB11.3	Sınıf I zincirle ilişkili psödogen
MICD	MICD,PERB11.4	Sınıf I zincirle ilişkili psödogen
MICE	MICE.PEHB11.5	Sınıf I zincirle ilişkili psödogen

Sınıf I MHC Molekülleri

Sınıf I antijenler tüm çekirdekli hücrelerin membranında taşınır ve CD8 (sitotoksik/supresör) T-lenfositleri ile köprü oluşturarak MHC sınırlı immün yanıtın ortaya çıkmasını sağlarlar. Sınıf I molekülünün tüm bireylerde ortak olan, 15. kromozomdan kodlanan ve hafif zincir (beta-β) özelliğinde beta-2 mikroglobulin alt birimi vardır. Bunun dışında 6. kromozom üzerindeki MHC bölgesi tarafından kodlanan bir ağır zincir (alfa-α) bulunmaktadır (28,29,31,34,35,38) (Şekil 9).



Şekil 9. MHC Sınıf I ve Sınıf II molekülleri (29)

Ağır zinciri kodlayan Sınıf I genleri HLA-A (414 allel),-B (728 allel),-C (210 allel),-E (8 allel),-F (20 allel) ve -G (23 allel) işlevsel HLA izoformlarını oluşturur. Bunlardan ilk üçü klasik formlarını oluşturur (30,35). Diğer üçü ise klasik olmayan doğal öldürücü hücreler (NK) ile ilişkili, immün yanıtta görev almaktadırlar. Buna ilaveten HLA-H,-J,-K,-L ve -X olarak adlandırılan ve bugün için henüz immünolojik özelliği olmadığı düşünülen yalancı genler bulunmaktadır (30-33,35) (Tablo 2).

MHC Sınıf I moleküllerinin belirtilen bir görevi, hücre içerisindeki peptidleri hücre yüzeyine taşımaktır. Burada amaçlanan örneğin bir viral enfeksiyon sırasında sentezlenen viral peptidlerin hücre yüzeyine taşınmasını ve böylece bireye ait olmayan bu moleküllerin

sitotoksik T-lenfositleri tarafından tanınmasını sağlayarak enfekte hücrelerin öldürülmesine giden süreci başlatmaktır (34,37). Ayrıca MHC Sınıf I moleküllerinden A*0201'in melanosit antijenlerine özgü olan $CD^{+}8$ sitotoksik T-lenfositleri (CTLs) ile vitiligo hastalığı arasında doğrudan ilişki gösterdiği belirtilmiştir (40,41).

Sınıf II MHC Molekülleri

Sınıf II molekülleri monositler, aktive T-lenfositleri ve B-lenfositleri ile Langerhans ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunabilmekte yani sadece antijen sunan hücreler Sınıf II moleküllerini yüzeyinde taşıyabilmektedir. Bu bölge genleri 6. kromozom üzerinde yerleşmiş olan altı izoform (HLA-DM,-DN,-DZ/DO,-DP,-DQ ve -DR) ve her birinde 2 alfa ve 2 beta zinciri bulunmaktadır (28,31-34). HLA-DRA (2 allel),-DRB (503 allel),-DQA1 (32 allel),-DQB1 (68 allel),-DPA1 (23 allel),-DPB1 (120 allel),-DMA (4 allel),-DMB (7 allel),-DOA (12 allel),-DOB (9 allel). HLA-DRB kendi içinde 9 farklı formda bulunmaktadır. Bunlar HLA-DRB1 (422 allel),-DRB2 (1 allel),-DRB3 (42 allel),-DRB4 (13 allel),-DRB5 (18 allel),-DRB6 (3 allel),-DRB7 (2 allel),-DRB8 (1 allel),-DRB9 (1 allel) dır. Klasik Sınıf II antijenleri olan HLA-DR,-DQ ve -DP'nin sentezlenmesini sağlamaktadırlar (37,38).

Sınıf II molekülleri CD4 taşıyan T-lenfositlerine antijen sunmaktadırlar. Hücre dışında sentezlenen proteinlerden kaynaklanan (eksojen) peptidleri sunarak CD4 taşıyan yardımcı T-lenfositlerinin uyarılmalarını sağlar, böylece immün yanıt oluşumunda rol alan B-lenfosit, diğer T-lenfositler gibi hücrelerin kontrol edilmesinde rol alırlar (28-32).

Sınıf III MHC Molekülleri

HLA-DRB ile HLA-B bölgeleri arasında Sınıf III genleri bulunmaktadır. C4B, C4A, Bleferidin, C2, HSP-70, TNF-a, TNF-b bu bölgede kodlanan bazı genlerin ürünüdür. Serumda serbest halde bulunurlar ve serolojik olarak tayin edilebilmektedirler. Transplantasyon antijenleri olarak rol oynamadıkları gibi T-lenfositlerine de antijen sunmamaktadırlar (27-31).

Sınıf IV MHC Molekülleri

Sınıf III gen bölgesinin distalinde, Sınıf I MHC gen bölgesi içinde yer alan MIC (MHC Sınıf I bağlantılı) gen bölgesi Sınıf IV MHC olarak kabul edilmektedir. MIC gen bölgesi MHC'den farklı bir düzenleyici kontrol altındadır. Hücresel stresten (37) ve sıcak şoku gibi hücresel şok durumlarında ekspresyonu artmaktadır. MIC geninin yapısı diğer Sınıf I genlerinden farklı çok uzun ilk bir başlangıç intronuna (10 kb) sahiptir (34). Yedi tane MIC geni olmasına rağmen bunlardan sadece ikisi; MIC-A (60 allel) ve MIC-B (25 allel) eksprese olmaktadır. MICC-MICG genleri psödogenlerdir. Eksprese oldukları hücreler fibroblastlar, epitel hücreleri ve kısmen de bağırsak epitel hücreleridir. Bu genlerin doğal bağışıklıkta rol oynadıkları ya da interferonların yapılmadığı durumlarda immün yanıta katıldıkları düşünülmektedir. MIC-A ve MIC-B molekülleri doğal katil hücreler (NK), T-lenfositleri ve bazı CD8 T hücrelerinin reseptörleri tarafından tanınır (30,34,39).

HLA TİPLENDİRİLMESİ YÖNTEMLERİ

Serolojik Tiplendirme Yöntemler

Mikrolenfositotoksite testi (National Institute of Health yöntemi olarak da bilinmektedir) olarak tanımlanan bu yöntem, Gorer ve Amos tarafından tanımlanmış, Terasaki ve Mc Clelland tarafından modifiye edilmiş olup; 1960'lardan beri kullanılmaktadır. Yerini moleküler yöntemlere bıraksa da halen uygun verici adaylarının taranması amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır (32).

Önceden içerisine çeşitli Sınıf I ve II antijenlerine karşı elde edilmiş antikorların dağıtıldığı 60-72 kuyucuklu plaklar hazırlanır ve derin dondurucuda saklanır. Çalışma aşamasında eritilen plaklara incelenecek bireyin lenfositleri her bir kuyuya 1µl olarak dağıtılır. 30 dakikalık bir inkübasyonu takiben yine her kuyuya yaklaşık 6 ml tavşan komplemanı eklenir ve tekrar inkübasyona 30-45 dakika devam edilir. Antijen-antikor bağlanmasının olduğu kuyularda hücre ölümü gerçekleşecek, diğer kuyularda ise hücreler canlılıklarını bir süre korumaya devam edeceklerdir. Ölü-canlı ayırımı yapabilecek bir boyama sistemi ile mikroskopta ilk okuma yapılır. Bunun sonucunda ölüm gerçekleşen kuyulardaki HLA antijenlerinin geniş, özgül antijenler olması ve çapraz reaksiyonlar gibi durumlar değerlendirilerek rapor hazırlanır (30,33-38).

Serolojik yöntemlerde elde edilen sonuçlar split (alt grup) sonucu olarak verilmelidir. Broad (üst grup) sonucu yeterli veri değerine sahip değildir. Örneğin HLA-DR5 bir broad antijendir. DR11 ve DR12 bunun split antijenleridir. Birbirinden önemli amino asit farklılıkları göstermektedir. Değerlendirme aşamasında bu bir dezavantajdır (35,39).

Serolojik tiplendirme eğer Sınıf II için yapılacaksa B-lenfosit izolasyonu veya T-lenfosit, monosit eliminasyonu gereklidir. Her zaman yeterli B-lenfositi elde edilemeyebilir. Ayrıca ortama monosit vs. gibi kolay ölen hücrelerin karışması sonuçların özgüllüğünü engellemektedir (35,39).

Moleküler Tiplendirme Yöntemleri

DNA boyutunda çok sayıda polimorfizm içeren bir gen için ideal olan moleküler tiplendirmedir. Bu gelişme kandan hücre ayrıştırılması gibi zahmetli ve pahalı yöntemleri ortadan kaldırırken kan dışı dokulardan da DNA izolasyonunu mümkün kılmaktadır (35,38).

Moleküler yöntemlerin avantajları: Özgün, esnek olmaları, yeni alleller tanımlandıkça yeni reaktiflerin geliştirilebilmesi, istenen duyarlıkta çalışma yapabilecek seçeneklerin mevcut olması, çalışmalarda canlı hücre gerektirmemesi, bireyin hastalık ya da tedavi durumundan etkilenmemesi, serolojik ve hücresel yöntemlere göre otomasyona daha uygun olması, eş zamanlı olarak çok sayıda örneğin çalışılabilmesi, HLA genlerindeki tüm çeşitliliklerin gösterilebilmesi, serolojik olarak tanımlanamayan allellerin tanımlanabilmesi olarak özetlenebilir (32,39).

a) Sekansa özgün primerler kullanılması (‘Sequence Spesific Primer’, SSP): Bu yöntemde primerler, hangi allel için hazırlanmışlar ise DNA’nın o alleli taşıyan kısmına bağlanarak (annealing) PCR reaksiyonunun başlamasını sağlarlar. O allele spesifik kuyucukta primerin özgün olduğu DNA segmenti varsa çoğalma (amplifikasyon) gerçekleşir. Her kuyucuğa kontrol amacı ile çeşitlilik göstermeyen bir hücresel proteini kodlayan gene özgün primer seti eklenir. Böylece pozitif reaksiyon olan kuyularda iki adet ürün görünürken, negatif olarak değerlendirilen reaksiyonlarda sadece kontrol için kullanılan genin çoğaldığı görülür (32). Elde edilen sonuçlar bilgisayarda program ile değerlendirilir. Avantajı PCR’dan sonra jel sonucuna göre ikinci bir işlem yapmadan sonuç verilmesidir (30,39).

b) Sekansa özgü oligonükleotidler kullanarak hibridizasyon yapılması (‘Sequence Specifik Oligonucleotide Hybridisation’, SSOP): Hedeflenen bölgelerdeki en polimorfik kısımları tiplendirmek için kullanılır. Yöntemin temeli PCR’a dayanır. Uygun primerler kullanılarak çoğaltılan HLA bölgesi katı bir yüzeye (Naylon membran, boncuklar, kuyucuklar) aktarılarak, 15-22 baz uzunluğunda biotinle işaretli problarla hibridize edilir. Bunu takiben ortama enzimle işaretli avidin eklenerek avidin-biotin etkileşmesi sağlanır. En son olarak avidini işaretlemekte kullanılan enzimin substratı ortama eklenince biotinle işaretli problarla hibridize olan DNA bölgesi görünür hale gelir (30,39).

c) Nükleik asitlerin dizi analizi (‘Sequence Based Typing’, SBT): Vericinin aile dışından olduğu durumlarda veya klasik yöntemlerle ayırt edilemeyen alleller için DNA dizileme yapılarak allelin kimliği belirlenir. Burada ilk olarak tanımlanması istenen bölgenin kalıp dizisi uygun primerler kullanılarak PCR’da çoğaltılır. Daha sonra bu kalıp dizi, dizileme metotlarıyla dizilenerek her nükleotidleri sırayla tanımlanır ve farklılığın yeri saptanır (30). SBT yönteminin birden fazla PCR aşaması gerektirdiği ve maliyetinin daha yüksek olması dezavantajıdır (32).

HLA’NIN KLİNİKTEKİ ÖNEMİ

1) HLA tiplendirmesinin en sık kullanıldığı alan kan grupları tayiniyle birlikte organ ve doku nakilleridir. Nakillerde en çok HLA-A,-B,-DR gruplarının alıcı ve verici arasındaki uyumuna bakılır (27-32).

2) Babalık tayininde kan gruplarının tayini ile birlikte kullanılmaktadır. Çocuğun babada bulunan haplotiplerden en azından birini taşıması gerekmektedir (27,32).

3) Antropolojik araştırmalarda toplumların göçleri ve kökeni hakkında bilgi toplamak için kullanılmaktadır (27,30,32).

4) Hastalıklara yatkınlığın belirlenmesinde tanı amacıyla kullanılır. Örneğin HLA-B27 pozitifliği ankilozan spondilitli hastaların tanısını %90 oranında destekleyen bir laboratuar bulgusudur (27,30,32).

5) Birden fazla trombosit transfüzyonu almış ya da alacak olan kişilerde gelişebilecek red

yanıtlarını önceden kestirmek için vericilerin ve alıcının HLA tiplerini bilmek önemlidir (27,30).

HLA VE HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

HLA allelleri hakkındaki bilgiler arttıkça, bazı HLA allelleri ve hastalıklar arasındaki ilişkiler de ortaya konmaya başlanmıştır. Bu hastalıklar; otoimmün, viral, alerjik, nörolojik, endokrin vs. kökenli olabilir (Tablo-3). Bu grup hastalıkların pek çoğunda HLA dışında çok sayıda gen ve çevresel etkenler rol oynar. Bu yüzden hastalıklar ile HLA'nın tek başına ilişkisini belirlemek zordur. Yine de bazı HLA gruplarıyla hastalıklar arasındaki kuvvetli ilişkiler gösterilmiştir. Bunun en tipik örneği ankilozan spondilit ile HLA-B27 arasındaki ilişkidir.

Tablo 3. Hastalıklar ve ilişkili HLA bölgeleri

HASTALIKLAR	İLİŞKİLİ HLA BÖLGELERİ
Ankilozan Spondilit	B-27
Akut Anteriyor Üveyit	B-27
Behçet Hastalığı	B-05
Çölyak Hastalığı	DQ-02
Graves Hastalığı	DR-03
Hemakromatoz	A-03
İnsüline Bağımlı Diabet	DQ-06, DQ-08
Jüvenil Romatoid Artrit	DQ-02
Konjenital Adrenal Hiperplazi (21-OH yetmezliği)	Bw-47
Kronik Hepatit	B-08
Miyastenia Gravis	DR-02, B-08
Multiple Skleroz	DR-02, DQ-06
Narkolepsi	DQ-06
Psöriyazis Vulgaris	Cw-06
Reiter Sendromu	B-27
Romatoid Artrit	DR-04
Subakut Tiroidit	B-35

HLA ile hastalıklar arasındaki ilişki henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir. Bu ilişkiyi açıklamaya yönelik olası teoriler bulunmaktadır. Bu teoriler;

1. HLA molekülleri T-lenfositlerinin antijeni tanımasına aracılık eden moleküllerdir. HLA'nın yapısındaki polimofizmler antijene verilen cevabı etkileyebilmektedir. Örneğin; HLA-DRB1*1302 allelinin ağır malarya riskini azalttığı saptanmıştır. Bunun sebebinin ise HLA-DRB1*1302 allelinin beta zincirindeki tek bir amino asit değişiminden kaynaklandığı ortaya konmuştur (30).

2. MHC Sınıf II moleküllerinin anormal ekspresyonu, normalde Sınıf II antijenlerini göstermeyen hücrelerde Sınıf II antijenlerinin eksprese edilmesi, bazı hastalıklara neden olabilmektedir. Normalde hücre yüzeyinde bulunan moleküller devamlı değişmektedir. Eğer normalden farklı olarak bir hücre yüzeyinde Sınıf II molekülleri belirirse, antijen sunan hücre görevini görerek immün sistemi uyarır (27).

3. MHC'nin embriyonik gelişimde çeşitli formlardaki omurga anomalileri, HLA lokusundaki değişimleri bağlı gibi görünmektedir. Bazı fetal antijenler yaşamın erken dönemlerinde bulunurlar ve HLA antijenlerinin oluşumu sırasında kaybolurlar. Genetik yapı, kromozomun bu bölgesinde pek çok gelişim bozukluğunun haritalanmış olmasıyla tanınmaktadır. Bundan dolayı MHC'nin, embriyolojik gelişimde gerekli olan hücreler arası proteinleri kodlayan bir sistemin aktivasyonunda görevli olabileceği düşünülmektedir (27).

4. HLA antijenik peptidler için seçici özellik göstermektedir. Sadece belirli HLA molekülleri vücuttaki antijenik peptidleri T-lenfositlere sunabilmekte ve belirli HLA moleküllerinin antijen bağlanma yeri, hastalığın oluşmasında sorumlu antijenik peptid fragmentlerini kabul etmektedir. Örneğin; HLA-B27 molekülü bazı peptidleri almada özel bir konumda olabilir. Bu nedenle ancak bu grubu taşıyan şahıslar ankiloza spondilite yakalanabilir (27).

5. HLA moleküllerinin reseptör gibi davranma olasılığı vardır. Bu da herhangi bir etiolojik etkenle karşılaştığında, eğer o etkenin reseptörü ise etkene bağlanarak hastalığa sebep olabileceği ihtimalini doğurur (30).

6. HLA moleküllerinin antijenik yapısı virüs veya diğer patojenlere benzerlik gösterebilir. Bu benzerlik nedeniyle immün yanıt körelebilir veya tam tersine patojenik ajana benzerlik gösteren HLA moleküllerine karşı çapraz bir reaksiyon ortaya çıkabilir (36).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ÖRNEKLEMİN OLUŞTURULMASI

Çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı Polikliniği'ne vücudunda depigmente maküler lezyonlarla başvuran, klinik tablosu ve Wood ışığı muayenesi ile vitiligo tanısı konulan, 9 kadın, 11 erkek toplam 20 olgu ile sağlıklı gönüllülerden oluşan 30 kişilik kontrol grubu alındı. Olgu ve kontrol grubu Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dermatoloji Polikliniğine başvuran olgulardan oluşturulduğu için yaş sınırlaması getirilmedi.

Vitiligo tanısı alan, üç kuşaktır Trakya bölgesinde yaşayan, birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan hastalar olgu grubuna seçildi. Olgu grubuna yaş, cinsiyet, hastalık süresi, hastalığın başlama yaşı, geçirilmiş hastalıklar, geçirilmiş ameliyatlar, vitiligo ve diğer her hangi bir nedenle kullanmış oldukları tedaviler öğrenildi. Aynı hastalık varlığı açısından aile hikayesi alındı. Ayrıca ailede olabilecek kalıtsal geçişli hastalıklar açısından sorgulandılar**.** Vitiligonun klinik sınıflamasına göre olgular gruplandırıldı. Hastaların deri tipleri ise Fitzpatrick deri fototiplerine göre belirlendi (Tablo 4) (17).

Kontrol grubu da üç kuşaktır Trakya bölgesinde oturan sağlıklı gönüllüler arasından oluşturuldu. Yaş, cinsiyet, şimdiye kadar geçirdiği hastalıklar, ameliyatlar, kullandığı ilaçlar sorgulandılar.

Tablo 4. Fitzpatrick deri fototipleri

Deri Fototipi	Deri rengi	Güneş yanığı ve bronzlaşma anamnezi
I	Beyaz	Daima yanar, hiçbir zaman bronzlaşmaz.
II	Beyaz	Daima yanar, bazen bronzlaşır.
III	Beyaz	Minimal yanar, minimal bronzlaşır.
IV	Açık kahverengi	Yanar, daima bronzlaşır.
V	Koyu kahverengi	Nadir yanar, koyu kahverengi pigmentasyon gösterir.
VI	Siyah	Hiçbir zaman yanmaz, siyah pigmentasyon gösterir.

Olgularımızın seçiminde, vitiligoya eşlik eden sistemik ve dermatolojik her hangi bir hastalığı olmamasına özen gösterildi. Bu nedenle olgular, vitiligoya eşlik eden hastalıklar açısından anamnestik olarak sorgulandılar ve olguların gerekli sistemik ve dermatolojik muayeneleri yapıldı. Vitiligonun en sık eşlik ettiği hastalıklar arasında yer alan diabetes mellitus, tiroid hastalıkları (hipertiroidi, Hachimato Tiroiditi, graves hastalığı) pernisiyöz anemi açısından klinik ve anamnestik verilerin dışında rutin olarak vitiligo tanısı koyulan tüm hastalarda uyguladığı üzere; açlık kan şekeri düzeyi, kan biyokimyası, tam kan sayımı ile folik asit, vitamin B-12 kan düzeyi ve TSH (tiroid stimülan hormon), T3, T4, tiroid otoantikorları (anti-TPO Ak, anti-troglobulin Ak) düzeyleri bakıldı.

Çalışmaya alınan her hastaya, çalışma hakkında bilgi içeren ve hastanın onayının alındığını belgeleyen "Bilgilendirilmiş Olur Formu" (Ek I) imzalatıldıktan sonra, her bir olgu için ekte örneği görülen "Vitiligo Hasta Takip Formu" doldurudu (Ek II). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınmıştır (Ek III).

KULLANILAN CİHAZLAR VE KİMYASALLAR

- Thermal Cycler: Techne ve 9700 Applied Biosystems
- Maxicell Submarine Yatay Elektroforez Sistemi
- (–) 20 ^{0}C Derin Dondurucu (kitleri saklamak üzere)
- Buzdolabı (kan örneklerini saklamak üzere)
- UV Transluminatör Vilber Lourmat
- Spektrofotometre (Hitachi, Digi-Lab, U-1800, Japan)

- Vorteks (Yellow line, Tts 2)
- Soğutmalı santrifüj (Hettich Zentrifugen, German)
- Macherey Nagel İzolasyon Kiti (MACHEREY-NAGEL,GmbH & Co. KG)
- Olerup SSP HLA Kiti (Olerup SSP^{TM} HLA-A-B-DRD SSP Combi Tray, Lot No: N84)
- Taq Polimeraz (Rapidozym GmbH, Lot: 0505)
- Tris
- EDTA
- Borik asit
- Etidium bromür

YÖNTEM

DNA İzolasyonu

Araştırma materyali olarak kullanılacak genomik DNA'lar olguların periferik kanlarından elde edildi. Kan 2 adet 2 cc'lik EDTA'lı tüplere alınıp DNA izolasyonu; Macharey Nagel İzolasyon Kiti ile kolon yöntemi kullanılarak yapıldı. İzole edilen DNA'nın kalitatif açıdan değerlendirilmesi amacı ile agaroz jelde test elektroforezi uygulandı. UV transluminatör görsel olarak kaliteli olduğuna karar verilen DNA çözeltilerinin kantitatif açıdan da değerlendirilebilmesi amacıyla spektrofotometre ile 260 ve 280 nm dalga boylarında DNA miktarları ölçüldü. 260/280 nm oranı 1-1,8 arasında olan DNA'lar çalışmaya uygun kabul edildi.

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Kantitatif kontrolleri yapılmış DNA'lara allel tiplemesi SSP yöntemi kullanılarak yapıldı. SSP yönteminin temeli; çoğaltılması istenen allele tamamen spesifik, yanlış eşleşme ihtimali en aza indirgenmiş oligonükleotid primerler ve Taq polimerazla allel bölgesinin çoğaltılmasıdır. Primer allel bölgesiyle eşleşmediği zaman amplifikasyon meydana gelmemektedir. Bu çalışmada DNA'lar, HLA kitinin protokolüne uygun olarak çalışıldı. Kit içeriğinde bulunan 312 µl'lik karışımına 8,3 µl'lik Taq polimeraz eklenip vorteks ile işleme tabi tutuldu. Kitin kontrol kuyucukları olan 24., 72. ve 96. kuyucuklara 3 µl karışım konuldu ve üzerine 7 µl steril distile su eklenerek 10 µl'ye tamamlandı. Daha sonra karışıma 505 µl

steril distile su ve 205 µl DNA çözeltisi eklenerek vortekslendi. 10 µl'lik mikro pipet ile allellere spesifik primerler bulunan 93 kuyucuklu plakaya, kuyucuk başına 10 µl gelecek şekilde amplifikasyon karışımı konuldu. Plaka striple kapatılarak PCR cihazına konuldu ve Tablo 5'te verilen PCR protokolü uygulandı.

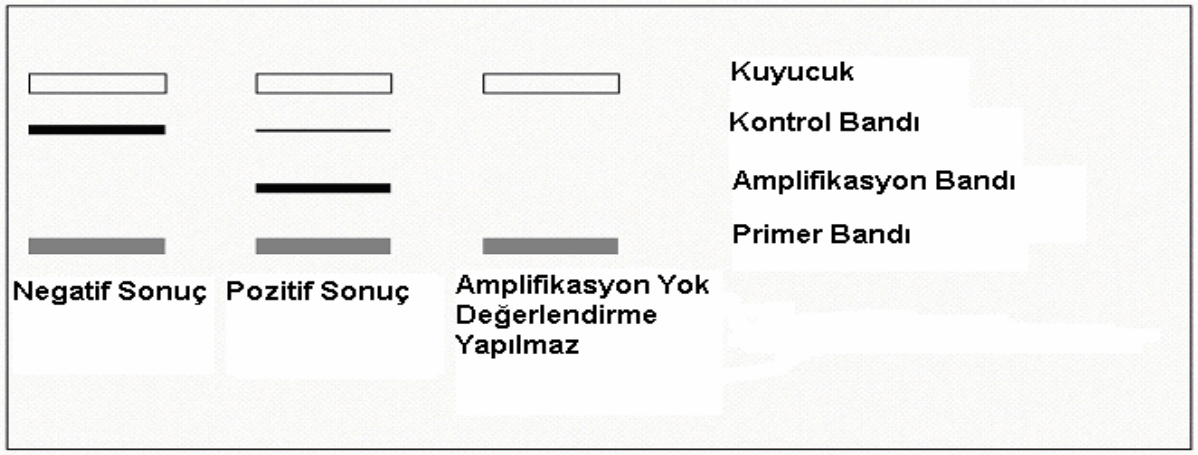
Tablo 5. PCR protokolü

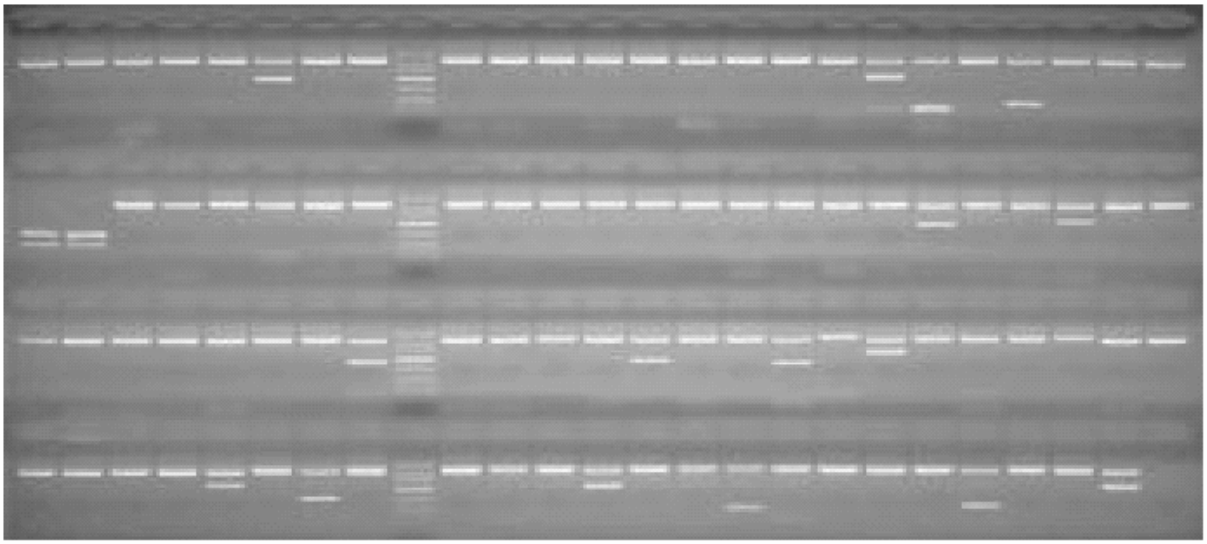
AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Başlangıç Denaturasyonu	94 ºC	120 sn	1 siklus
2.	Denaturasyon	94 ºC	10 sn	10 siklus
	Bağlanma	65 ºC	60 sn	10 siklus
3.	Denaturasyon	94 ºC	10 sn	20 siklus
	Bağlanma	61 ºC	50 sn	20 siklus
	Uzama	72 °C	30 sn	20 siklus
4.	Son	+ 4 ºC	sonsuz	

Jel Elektroforezi

PCR ürünleri %0,5'lik Tris, Borik asit ve EDTA karışımı (TBE), 2 g agaroz ve 5 µl etidyum bromür ile hazırlanmış jelde 160 volt 450 amp. 17 dakika yürütülecek ve jeller UV transluminatörde değerlendirildi. Amplifikasyon olan kuyucuklar "pozitif" olarak, amplifikasyon olmayan kuyucuklar "negatif" olarak değerlendirildi (Tablo 6). Sonuçlar Start Score (Helmberg SCORE^{TM}, olerup 20050801, German) bilgisayar yazılımı ile değerlendirildi.

Tablo 6. Amplifikasyon ürünlerini değerlendirme tablosu





Şekil 10. Agaroz jelde amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin istatistiksel analizi Istatistica Axa 7.1 versiyon paket programı (Lisans No: Axa 507C775506FAN3 SN.) kullanılarak yapıldı. Vitiligo ve kontrol grubunun tanımlayıcı istatistikleri hesaplandı. İstatistiksel değerlendirmede, yaş ve hastalık başlangıç yaşı değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi ve normal dağılıma uygunluk gösterdikleri için karşılaştırmalarda bağımsız gruplarda t testi kullanıldı. Sosyo-demografik özellikler, HLA allelleri (-A,-B ve -DRB1) ve diğer nitel değişkenler bakımından olgu ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, $p<0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza üç kuşaktan beri Trakya Bölgesi'nde yaşayan, sistemik ve dermatolojik başka bir hastalığı bulunmayan 20 vitiligolu olgu ve 30 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Olgu grubunun 9'u (%45) kadın, 11'i (%55) erkekti. Yaşları 14 ile 60 arasında olup, yaş ortalaması ise 37.85±13.705 idi. Kontrol grubunun ise 16'sı (%53.3) kadın, 14'ü (%46.7) erkekti. Yaşları 21 ile 80 arasında olup, yaş ortalaması ise 35.60±12.719 idi. Vitiligo ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarının sosyo-demografik bilgileri

Sosyo-Demografik Özellikler		**Hasta (n=20)**	**Kontrol (n=30)**	**İstatistiksel değerlendirme**
Yaş		37.85±13.705	35.60±12.719	t= 0.594 p= 0.555
Cinsiyet	**Kadın**	9 (%45)	16'ü (%53.3)	χ^2= 0.053
	Erkek	11 (%55)	14'ü (%46.7)	p=0.817

Vitiligolu olgularda hastalığın başlangıç yaşı 7-49 yaş arasında olup, yaş ortalaması 27.5±11.993 olarak bulundu ve başlangıç yaşının kadınlarda ortalama 13.15 iken erkeklerde 26.09 olduğu görüldü (Tablo 10). Hastalık süresi 2-31 yıl arasında değişip, ortalama 10.35 yıl idi.

Hastaların 7'si (%35) sorguda aile içerisinde başka bireylerde de vitiligo öyküsü bulunduğunu bildirdi (Tablo 8).

Tablo 8. Ailede vitiligo öyküsü olması ve olmaması

Ailede Vitiligo Öyküsü	Vitiligo Öykü Sayısı (n=20)	İstatistiksel Analiz
Olan	7 (%35)	χ^2= 1.8 p= 0.180
Olmayan	13(%65)	

Olguların deri fototipleri; 1 hastada tip I (%5), 13 hastada tip II (%65) ve 6 hastada tip III (%30) olarak saptandı. Deri fototipi tip IV, tip V ve tip VI olan hastamız bulunmamaktadır (Tablo 9).

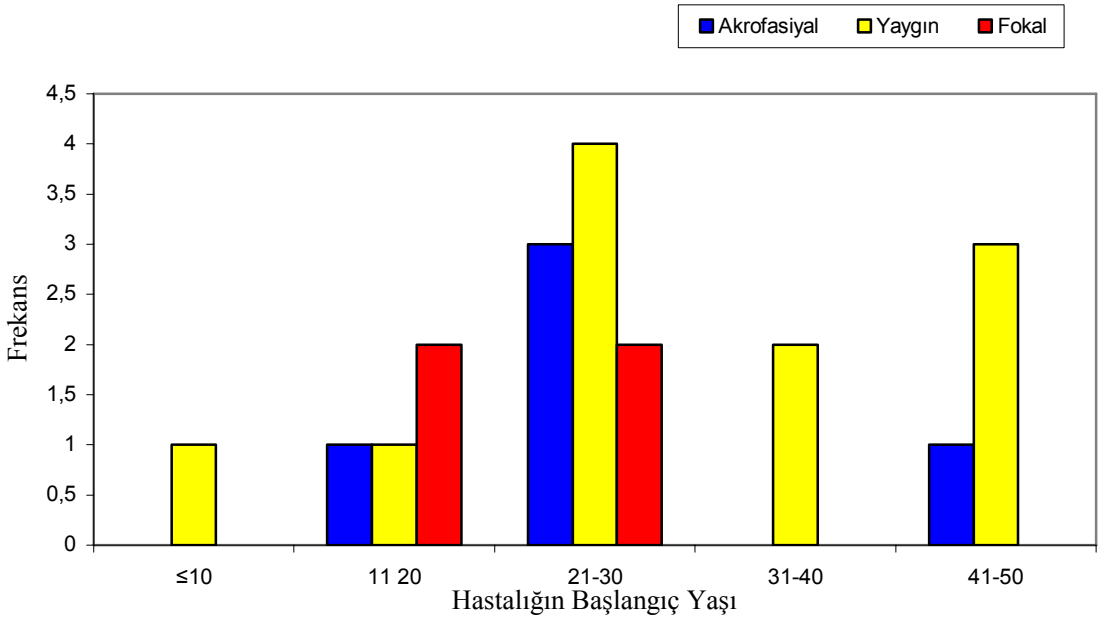
Tablo 9. Deri fototiplerinin vitiligo grubunda dağılımı

Deri Fototipi	Hasta Grubu	İstatistiksel Analizi
Tip I	1 (%5)	χ^2= 10.9 p= 0.004
Tip II	13 (%65)	
Tip III	6 (%30)	

Hastalığın klinik dağılımı Akrofasiyal Generalize form 5 (%25), Yaygın Generalize form 11 (%55) ve Fokal Lokalize form 4 (%20) olarak belirlendi. Kadınlarda ve erkeklerde hastalığın dağılımında bir farklılık olmadığı ve hastalığın en sık 21-30 yaşları arasında başladığı belirlendi (Tablo 10, Şekil 11).

Tablo 10. Hastalarda yaş ve tutuluma göre klinik dağılım

Başlangıç yaşı	Cinsiyet		Klinik sınıflandırma		
	Bayan	**Erkek**	**Akrofasiyal**	**Yaygın**	**Fokal**
5-10	1 (%5)	-	-	1 (%5)	-
11-20	-	4 (%20)	1 (%5)	1 (%5)	2 (%10)
21-30	5 (%25)	4 (%20)	3 (%15)	4 (%20)	2 (%10)
31-40	1 (%5)	1 (%5)	-	2 (%10)	-
41-50	2 (%10)	2 (%10)	1 (%5)	3 (%15)	-
Toplam	9 (%45)	11 (%55)	5 (%25)	11 (%55)	4 (%20)



Şekil 11. Hastalarda yaş ve tutuluma göre klinik dağılım

ALLEL DAĞILIMLARI İLE İLGİLİ BULGULAR

Üç kuşaktan beri Trakya Bölgesi'nde yaşayan vitiligolu olguların HLA-A*,-B*,-DRB1* allelleri test edilmesi sonucu 47 farklı allel tespit edildi. Bu allellerin 15 tanesi HLA-A*, 21 tanesi HLA-B* ve 11 tanesi HLA-DRB1* olarak bulundu.

HLA allelleri düşük moleküler çözünürlükte çalışıldığı için jenerik isimlerine (Örneğin B*27) göre sıralandı. Olgu ve kontrol grubunun HLA-A allellerinin birey bazında sıklığı ki-kare testi ile değerlendirildi.

Allel dağılımları kendi grubunun toplam allel kümesi içinde, olgu ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldı (Birey Sayısı=n, Allel Sayısı=2n).

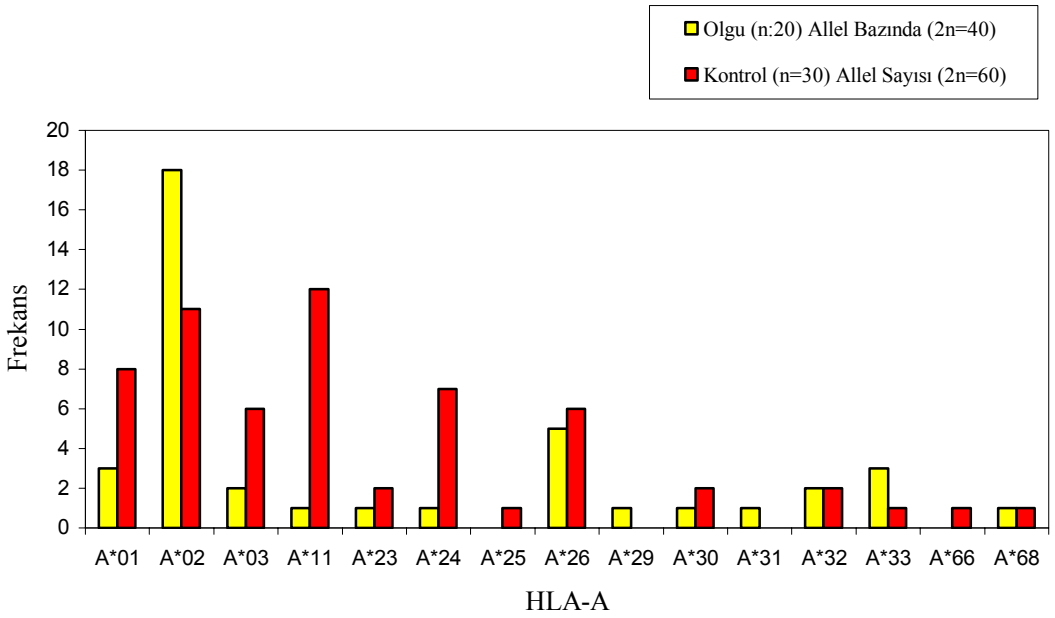
Olgu grubunda en sık görülen allel A*02 (%45), ikinci sıklıkta görülen allel ise %12.5 ile A*26'dır. Kontrol grubunda en sık görülen allel A*11 (%20), ikinci sıklıkta görülen allel ise %18.3 ile A*02'idi. Hasta çalışma grubunda A*25 ve A*66 allellerine hiç rastlanılmadı. Kontrol grubunda ise A*29 ve A*31 allellerine hiç rastlanılmadı (Tablo 11, Şekil 12).

Tablo 11. HLA-A allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı

Allel	Olgu (n=20) Allel Sayısı (2n=40)	%	Kontrol (n=30) Allel Sayısı (2n=60)	%	χ^2	p
A*01	3	7.5	8	13.3	2.272	p>0.05
A*02	18	45	11	18.3	1.689	**p<0.05**
A*03	2	5	6	10	2	p>0.05
A*11	1	2.5	12	20	9.5	**p<0.01**
A*23	1	2.5	2	3.3	0.33	p>0.05
A*24	1	2.5	7	11.7	4.5	**p<0.05**
A*25	0	0	1	1.7	†	†
A*26	5	12.5	6	10	0.09	p>0.05
A*29	1	2.5	0	0	†	†
A*30	1	2.5	2	3.3	0.33	p>0.05
A*31	1	2.5	0	0	†	†
A*32	2	5	2	3.3	0	p>0.05
A*33	3	7.5	1	1.7	1	p>0.05
A*66	0	0	1	1.7	1	p>0.05
A*68	1	2.5	1	1.7	0	p>0.05

† Gruplarda ilgili allelin gözlenen frekanslarından en az bir tanesi sıfır olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Çalışma ve kontrol grupları arasında HLA-A grubu allellerinin birey bazında gözlenmesi açısından karşılaştırıldığında, A*02 allelinin olgu grubunda bulunması, vitiligo hastalığına tutulma sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). A*11 ve A*24 allellerinin kontrol grubunda bulunması ise vitiligo hastalığına yatkınlıktan koruduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 11).



Şekil 12. HLA-A allellerinin olgu ve kontrol grubuna sıklığı

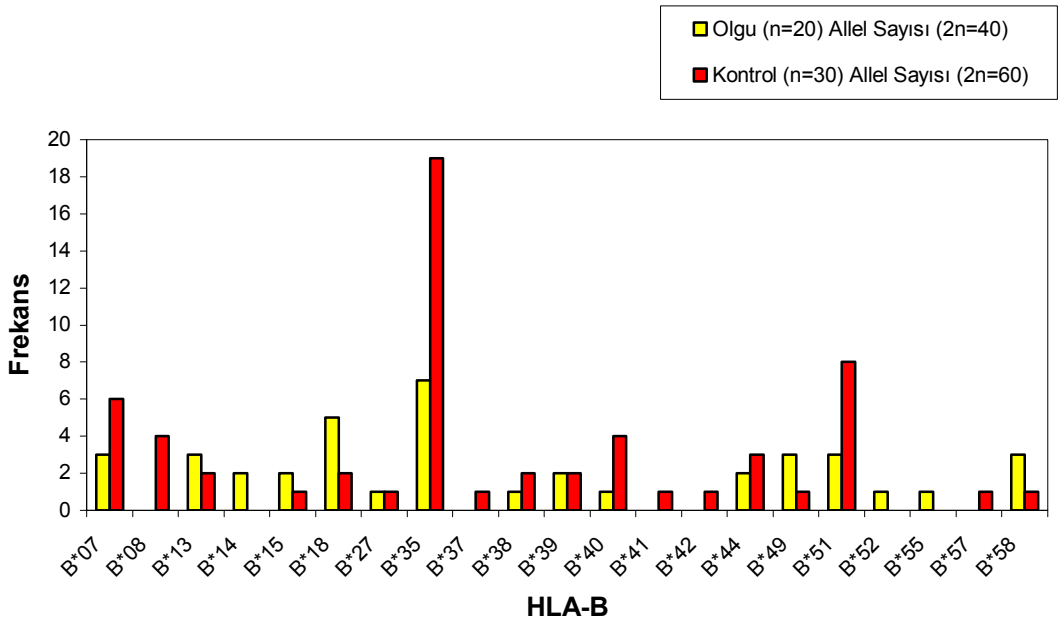
Olgu grubu içinde en sık görülen allel B*35 (%17.5), ikinci sıklıkta görülen allel ise %12.5 ile B*18'idi. Kontrol grubunda da en sık görülen allel B*35 (%31.7), ikinci sıklıkta görülen allel ise %13.3 ile B*51'idi. Çalışma grubunda B*08, B*37, B*41, B*42 ve B*57 allellerine ve kontrol grubunda ise B*14, B*52 ve B*55 allellerine hiç rastlanmamıştır (Tablo 12, Şekil 13).

Olgu ve kontrol grupları arasında HLA-B allellerinin sıklığı açısından karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 12 ve Şekil 13).

Tablo 12. HLA-B allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı

Allel	Olgu (n=20) Allel Sayısı (2n=40)	%	Kontrol (n=30) Allel Sayısı (2n=60)	%	χ^2	p
B*07	3	7.5	6	10	1	p>0.05
B*08	0	0	4	6.7	†	†
B*13	3	7.5	2	3.3	0.2	p>0.05
B*14	2	5	0	0	†	†
B*15	2	5	1	1.7	0.33	p>0.05
B*18	5	12.5	2	3.3	1.29	p>0.05
B*27	1	2.5	1	1.7	0	p>0.05
B*35	7	17.5	19	31.7	5.54	p>0.05
B*37	0	0	1	1.7	†	†
B*38	1	2.5	2	3.3	0.33	p>0.05
B*39	2	5	2	3.3	0	p>0.05
B*40	1	2.5	4	6.7	1.8	p>0.05
B*41	0	0	1	1.7	†	†
B*42	0	0	1	1.7	†	†
B*44	2	5	3	5	0.2	p>0.05
B*49	3	7.5	1	1.7	1	p>0.05
B*51	3	7.5	8	13.3	2.27	p>0.05
B*52	1	2.5	0	0	†	†
B*55	1	2.5	0	0	†	†
B*57	0	0	1	1.7	†	†
B*58	3	7.5	1	1.7	1	p>0.05

† Gruplarda ilgili allelin gözlenen frekanslarından en az bir tanesi sıfır olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.



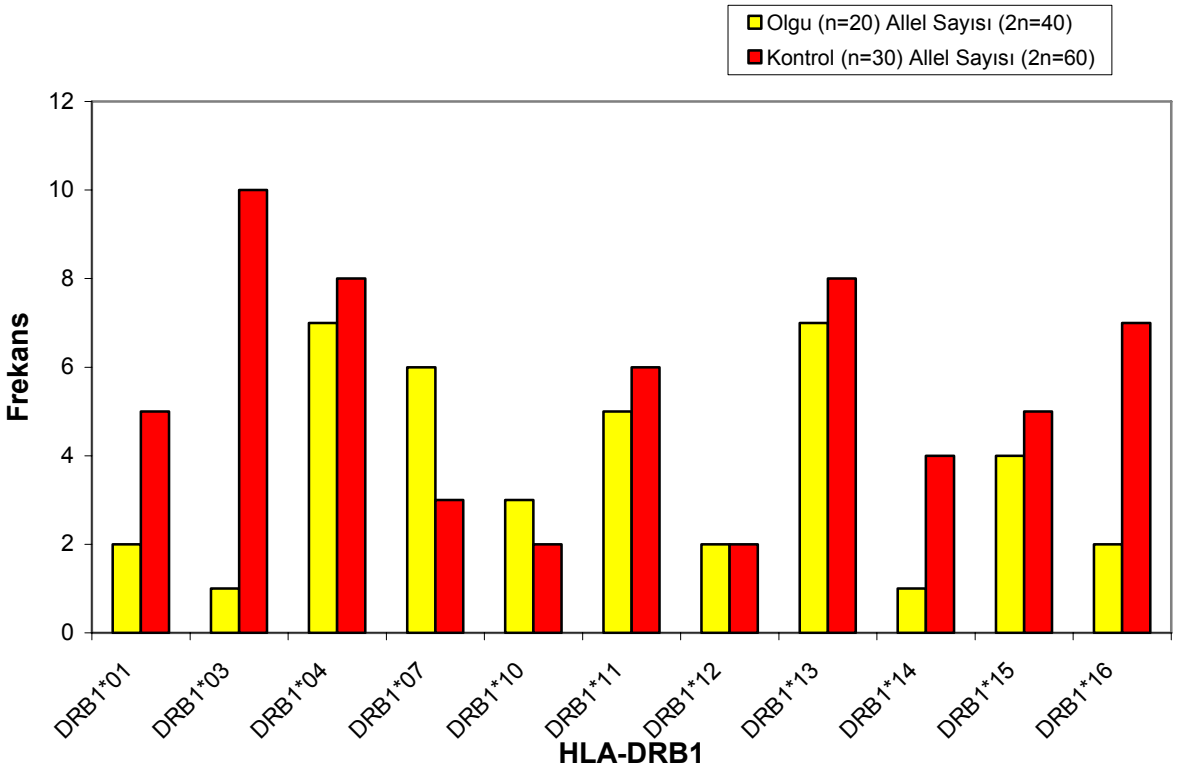
Şekil 13. HLA-B allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı

Olgu grubunda en sık görülen alleller %17.5 ile DRB1*04 ve DRB1*13, daha az sıklıkta görülen %12.5 ile DRB1*11'idi. Kontrol grubunda ise en sık görülen allel %16.7 ile DRB1*03, ikinci sıklıkta görülen alleller ise %13.3 ile DRB1*04 ve DRB1*13'olarak saptanmıştır (Tablo 13, Şekil 14).

Çalışma ve kontrol grupları arasında HLA-DRB1 allelleri bazında gözlenmesi açısından karşılaştırıldığında DRB1*03 allelinin olgu grubunda bulunmaması vitiligo hastalığına yatkınlıktan koruduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 13. HLA-DRB1 allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı

Allel	Olgu (n=20) Allel Sayısı (2n=40)	%	Kontrol (n=30) Allel Sayısı (2n=60)	%	χ^2	p
DRB1*01	2	5	5	8.3	1.29	p>0.05
DRB1*03	1	2.5	10	16.7	7.36	**p<0.05**
DRB1*04	7	17.5	8	13.3	0.067	p>0.05
DRB1*07	6	15	3	5	1	p>0.05
DRB1*10	3	7.5	2	3.3	0.2	p>0.05
DRB1*11	5	12.5	6	10	0.09	p>0.05
DRB1*12	2	5	2	3.3	0	p>0.05
DRB1*13	7	17.5	8	13.3	0.067	p>0.05
DRB1*14	1	2.5	4	6.7	1.8	p>0.05
DRB1*15	4	10	5	8.3	0.11	p>0.05
DRB1*16	2	5	7	11.7	2.78	p>0.05



Şekil 14. HLA-DRB1 allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı

Tablo 14. Olgu grubunda gözlenen HLA-A,-B,-DRB1 allelleri

Hasta No	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1
01	A*02, A*26	B*18, B*55	DRB1*13, DRB1*16
02	A*02, A*23	B*39, B*49	DRB1*15, DRB1*15
03	A*02, A*24	B*38, B*44	DRB1*11, DRB1*13
04	A*02, A*02	B*13, B*18	DRB1*07, DRB1*11
05	A*03, A*29	B*07, B*58	DRB1*04, DRB1*10
06	A*02, A*33	B*14, B*39	DRB1*04, DRB1*13
07	A*02, A*02	B*51, B*51	DRB1*12, DRB1*13
08	A*01, A*03	B*35, B*49	DRB1*11, DRB1*13
09	A*02, A*02	B*07, B*13	DRB1*07, DRB1*15
10	A*01, A*33	B*14, B*40	DRB1*01, DRB1*14
11	A*26, A*26	B*58, B*58	DRB1*03, DRB1*07
12	A*02, A*26	B*07, B*51	DRB1*07, DRB1*16
13	A*02, A*33	B*27, B*35	DRB1*01, DRB1*04
14	A*02, A*11	B*15, B*52	DRB1*04, DRB1*15
15	A*01, A*02	B*35, B*49	DRB1*10, DRB1*13
16	A*26, A*31	B*18, B*35	DRB1*04, DRB1*10
17	A*02, A*32	B*15, B*35	DRB1*04, DRB1*12
18	A*02, A*30	B*13, B*35	DRB1*04, DRB1*07
19	A*02, A*02	B*18, B*18	DRB1*11, DRB1*11
20	A*32, A*68	B*35, B*44	DRB1*07, DRB1*13

Olgu ve Kontrol grubunda rastlanan allellere ait HLA allelleri bilgileri toplu halde Tablo 14 ve Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. Kontrol grubunda gözlenen HLA-A,-B,-DRB1 allelleri

Hasta No	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1
01	A*02, A*03	B*51, B*13	DRB1*11, DRB1*07
02	A*26, A*26	B*38, B*40	DRB1*13, DRB1*16
03	A*02, A*02	B*18, B*39	DRB1*12, DRB1*16
04	A*11, A*24	B*35, B*40	DRB1*13, DRB1*14
05	A*03, A*26	B*07, B*35	DRB1*13, DRB1*15
06	A*01, A*26	B*51, B*08	DRB1*03, DRB1*03
07	A*24, A*26	B*13, B*39	DRB1*07, DRB1*16
08	A*11, A*03	B*15, B*35	DRB1*04, DRB1*04
09	A*02, A*03	B*07, B*35	DRB1*03, DRB1*13
10	A*11, A*24	B*51, B*57	DRB1*01, DRB1*07
11	A*01, A*30	B*35, B*40	DRB1*11, DRB1*10
12	A*32, A*32	B*51, B*35	DRB1*01, DRB1*16
13	A*11, A*25	B*35, B*35	DRB1*01, DRB1*11
14	A*11, A*02	B*35, B*51	DRB1*04, DRB1*12
15	A*02, A*26	B*44, B*38	DRB1*03, DRB1*13
16	A*11, A*23	B*35, B*35	DRB1*13, DRB1*16
17	A*01, A*24	B*35, B*37	DRB1*04, DRB1*14
18	A*01, A*02	B*08, B*35	DRB1*03, DRB1*10
19	A*02, A*11	B*51, B*49	DRB1*03, DRB1*16
20	A*01, A*11	B*08, B*35	DRB1*01, DRB1*03
21	A*01, A*23	B*07, B*42	DRB1*03, DRB1*16
22	A*01, A*11	B*40, B*35	DRB1*04, DRB1*14
23	A*24, A*11	B*35, B*27	DRB1*04, DRB1*13
24	A*30, A*11	B*51, B*35	DRB1*04, DRB1*11
25	A*01, A*03	B*07, B*08	DRB1*03, DRB1*15
26	A*03, A*11	B*07, B*35	DRB1*01, DRB1*15
27	A*24, A*66	B*41, B*18	DRB1*15, DRB1*13
28	A*02, A*68	B*07, B*44	DRB1*15, DRB1*11
29	A*24, A*33	B*58, B*35	DRB1*03, DRB1*04
30	A*02, A*02	B*51, B*44	DRB1*11, DRB1*14

TARTIŞMA

Doğumdan itibaren yaşamın her devresinde rastlanılabilen vitiligonun, 20 yaşın altında başlama sıklığı %50 dolaylarında olduğu belirtilmektedir (2,6,16,17). Na ve ark. (7) yaptıkları çalışmada 114 kişiden oluşan olgu grubunun ortalama yaşını 34.8±17.6 olarak bildirmişlerdir. Gürkan'ın (16) yaptığı bir diğer çalışmada ise 60 kişiden oluşan olgu grubunun yaşlarının 5-77 arasında olduğunu ve ortalama yaşını 33.5±15.5 olduğunu bildirmiştir. Firooz ve ark. (42) yaptığı çalışmada 80 kişiden oluşan olgu grubunun yaşlarının 12-57 arasında olduğunu ve ortalama yaşını 30±11 olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise olgularımızın yaşları 14-60 arasında değişmekte olup ortalama 37.85±13.705 olarak literatürle uyum göstermektedir.

Na ve ark. (7) hastalığın başlangıç yaşını ortalama 25.8±17.4 olarak bildirmişlerdir. Firooz ve ark. (42) hastalığın başlangıç yaşını 4-53 arasında ve ortalama 21±11.6 olduğunu bildirmişlerdir. Gürkan (17) hastalığın başlangıç yaşını 25.78±14.63 olarak bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da vitiligo başlangıç yaşı 7-49 yaş arasında değişmekte ve en sık 21-30 yaşları arasında görülerek ortalama 27.5±11.995 olarak literatürle uyum göstermiştir.

Literatürde hastalık süresinin 1 ay ile 35 yıl arasında değiştiğini ortalama 7.1 yıl olduğunu bildirmişlerdir (42). Bizim çalışmamızda ise hastalık süresi 2-31 yıl arasında değişmekte ve ortalama 10.35 yıl olarak bulunmuştur. Çalışmamızda olgu grubunun yaş grubunun %75'ini >21 olduğundan literatürle uyum sağlamamaktadır.

Tayan'ın (18) yaptığı çalışmada olgu grubunun ailelerinde vitiligo görülme sıklığı %18.1 olarak bildirilmiştir. Firooz ve ark. (42) olgu grubunun %20'sinde vitiligo öyküsünün pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Onunu ve ark. (25) %18 olgunun vitiligo öyküsünün bulunduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise olgu grubunun %35'i I. veya II derece akrabalarında vitiligo öyküsü olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebi olgularımızın sayısının az olmasından ve populasyon spesifik bir çalışma olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Firooz ve ark. (42) lokalize formun %71.3, generalize formun %28.7 olduğunu, Onunu ve ark. (25) olgu grubunun, %77'si lokalize form, %10.5'i generalize form gösterdiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise %80 generalize (%25 akrofasiyal, %55 yaygın), %20 lokalize form belirlenmiştir. Bunun sebebi olgularımızın sayısının az olmasından ve populasyon spesifik bir çalışma olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Uyar ve ark.'nın (43) yaptığı 142 sağlıklı bireylerden oluşan çalışma Türk populasyonundaki HLA allellerinin dağılımına yönelik olup Türk toplumunda en sık HLA-A*0201 alleli, B*35 alleli varlığını bildirmişlerdir. Uçar ve arkadaşlarının (44) Karadeniz'deki Türk populasyonunun HLA dağılımını saptamaya yönelik yaptıkları çalışmasında 234 sağlıklı bireyde HLA-A*02, B*35, DRB1*11 allellerinin en sık gözlendiğini bildirmişlerdir. Saruhan-Direskeneli ve ark. (45) yaptığı çalışmada 250 sağlıklı bireyde Türk populasyonun HLA-DRB1 allelinin HLA-DRB1*1101 olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda HLA-A*11, HLA-B*35 ve HLA-DRB1*03 allelleri kontrol grubunda en sık görülen alleller olarak belirlenmiştir. Literatürlerle uyum sağlamakta fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Genel bilgilerde belirttiğimiz, farklı populasyonlarda yapılan çeşitli serolojik ve moleküler çalışmalarda A03, A*2501, A30, A31, Bw06, Bw60, B*13, B21, B27, B46, Cw04, Cw06, Cw07, Dw07, Dw12, DR01, DR03, DR04, DR06, DR07, DR53, DRB1*0701, DQw03, DQB1*0201, DQB1*0303, DRB4*0101, DPB1*1601 (3-13), allelleri ile vitiligo arasında pozitif bir ilişkinin varlığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise bu alleller ile her hangi bir anlamlı ilişki bulunmamıştır. Fakat Slovak populasyonunda yapılan çalışmada A02 ve Dw07 (3,6,11,13) ve Kuzey Alman populasyonunda yapılan çalışmada A02, Bw60 ve Dw12 (3,6,11,12) allelleri ile vitiligo arasında pozitif bir ilişkinin varlığı belirtilmiştir ve bizim çalışmamız da vitiligo ile HLA ilişkisi A*02 alleli pozitif olarak istatistiksel anlamlı bulunmuş olup literatürle uyum sağlamaktadır ($p<0.05$).

Kuveyt populasyonunda yapılan bir diğer çalışmada ise A19 ve DR52 ile ve İtalyan populasyonunda yapılan çalışmada DR01 ve DR03 ile vitiligo arasında negatif ilişki olduğu belirtilmiştir (3-11). Bizim çalışmamızda da vitiligo ile HLA ilişkisi A*11, A*24 ve DRB1*03 negatif ilişkisi olduğu, bu allellerin bulunması durumunda vitiligo hastalığına yatkınlıktan koruduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Viljder ve ark. (46) HLA-DR04 ve DR53 ile genaralize form olan Vitiligo Vulgaris ile pozitif ilişkisi, HLA-DR03'ün negatif ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamız literatürle uyum göstermektedir. Bunun sebebi çalışma grubumuzda generalize formumuzun ağırlıklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatüre göre tiroid hastalığı ile vitiligo hastalığı birlikteliğinde MHC Sınıf II moleküllerinden HLA-DRB1*04 ve DRB1*08 allellerini istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir (47). Bizim çalışmamız literatürle uyum göstermemektedir. Bunun sebebi vitiligo ile birlikte otoimmün hastalığı olan bireylerin olgu grubuna dahil edilmemesi olduğu düşünülmektedir.

Türk populasyonunda Taştan ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada DRB1*03, DRB1*04 ve DRB1*07 allelleri vitiligo ile pozitif ilişkilendirilmiştir (3,11). Bizim çalışmamızda ise A*02 alleli ile vitiligo pozitif, A*11, A*24 ve DRB1*03 allelleri ile negatif ilişki bulunmuştur. Bu farklı sonuçların sebebi, bizim çalışmamızın populasyon spesifik bir çalışma olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Literatüre göre MHC Sınıf I moleküllerinden A*0201'in melanosit antijenlerine özgü olan $CD^{+}8$ sitotoksik T-lenfositleri (CTLs) ile vitiligo hastalığı arasında doğrudan ilişki gösterdiği belirtilmiştir (40,41). Diğer bir literatürde ise sitotoksik T-lenfosit antigen-4 (CTLA4) ile vitiligo arasında ilişki araştırılmış ve vitiligo ile birlikte başka bir otoimmün hastalığı olan olgularda anlamlı ilişki varlığı bildirilmiştir (48). Bizim çalışmamızda vitiligoya ikincil (Otoimmün hastalıklar dahil) bir hastalığı olan bireyler olgu grubuna dahil edilmediği halde olgu grubunda HLA-A*02 istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Konu ile benzer çalışma otoimmün hastalığı olmayan, CTLA4 ve HLA polimorfizmlerini kapsayacak şekilde farklı populasyonlarda da tekrar edilmesi vitiligo-CTLA4 ve HLA ilişkisinin anlaşılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

SONUÇLAR

Bir deri pigmentasyon bozukluğu olan vitiligonun patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte vitiligonun orijininde genetik ve immünolojik faktörlerin rol oynadığı ileri sürülmektedir. Vitiligo ile MHC gen polimorfizmleri arasındaki ilişki hakkında bilgi edinilmesini hedeflediğimiz çalışmamızda, olgu grubu ile kontrol grubu HLA-A, -B ve -DRB1 allel frekansları yönünden karşılaştırıldı. HLA-A, -B ve -DRB1 allelleri PCR-SSP yöntemi ile belirlendi.

Çalışmamızda vitiligoya ikincil (otoimmün hastalıklar dahil) bir hastalığı olan bireyler olgu grubuna dahil edilmediği halde olgu grubunda CTLA4 geni ile ilişkisi bildirilen HLA-A*02 alleli istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Konu ile benzer çalışma otoimmün hastalığı olmayan, CTLA4 ve HLA polimorfizmlerini kapsayacak şekilde farklı populasyonlarda da tekrar edilmesi vitiligo-CTLA4 geni ve HLA ilişkisinin anlaşılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma 3 kuşaktan beri Trakya Bölgesi'nde yaşayan vitiligolu olgular ile HLA-A,-B,-DRB1 gen bölgeleri arasındaki ilişki araştırılmış olup A*02 ile pozitif olarak istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuş olup ($p<0.05$) A*02 allelinin vitiligo hastalığına tutuluma sıklığını arttırdığını göstermektedir. Aynı zamanda A*11, A*24 ve DR*03 allelleri ile negatif olarak istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuş olup ($p<0.05$) bu allellerin vitiligo hastalığına yatkınlıktan koruduğu düşünülmektedir. Bu çalışma örneklem hacmi arttırılarak yapılırsa daha kesin sonuçlar vereceği ve böylelikle vitiligo hastalığının erken

tanısı, prognozunun belirlenmesi, kalıtımdaki yerinin saptanması, populasyonlara göre vitiligo-HLA ilişkisinin değişiklik gösterip göstermemesi, vitiligo tedavisinin yönlendirilmesi, farmakogenetik bilimine katkıda bulunulması ve vitiligolu olgulara genetik danışmanlığın verilebilmesi açısından önemli olacağı düşünülmektedir.

VİTİLİGOLU OLGULARDA MHC GEN POLİMORFİZMLERİ

ÖZET

Vitiligo, edinsel ya da kalıtsal olabilen, sık görülen, ilerleyici ve her yaş grubunu etkileyebilen bir deri pigmentasyon bozukluğudur. Değişik büyüklükte ve lokalizasyonda, depigmente, keskin sınırlı ve genellikle simetrik maküllerle seyretmektedir.

Otoimmün hastalıklarla HLA antijenleri arasında var olan ilişki bilinmektedir. Vitiligo ile HLA antijenleri arasında da benzer tarzda bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda vitiligo ile HLA antijenleri arasındaki ilişki hakkında bilgi edinilmesini hedeflenmektedir.

Çalışmamızda 3 kuşaktır Trakya Bölgesi'nde yaşayan 20 olgu ve 30 sağlıklı bireyin PCR-SSP yöntemine göre HLA-A,-B,-DRB1 allelleri belirlendi ve allel frekanslarının istatistiksel analizi Istatistica Axa 7.1 versiyon paket programı (Lisans No: Axa 507C775506FAN3 SN.) kullanılarak yapıldı.

HLA allellerinin frekansları karşılaştırıldı vitiligolu olgularda HLA-A*02 alleli istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.005$). HLA-A*02 alleli Trakya Bölgesi'ndeki populasyon spesifik çalışmamızda, vitiligolu olguların anlamlı kabul edilebilecek genetik

markırı olabileceği düşünülmektedir. HLA-A*11, A*24 ve DRB1*03 allelleri kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.005$). Bu allellerin bir pigmentasyon bozukluğu olan vitiligo ile negatif ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda vitiligoya ikincil (otoimmün hastalıklar dahil) bir hastalığı olan bireyler olgu grubuna dahil edilmediği halde olgu grubunda CTLA4 geni ile ilişkisi bildirilen HLA-A*02 alleli istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Konu ile benzer çalışma otoimmün hastalığı olmayan, CTLA4 ve HLA polimorfizmlerini kapsayacak şekilde farklı populasyonlarda da tekrar edilmesi vitiligo-CTLA4 geni ve HLA ilişkisinin anlaşılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Çalışma örneklem hacmi arttırılarak yapılırsa daha kesin sonuçlar vereceği ve böylelikle vitiligo hastalığının erken tanısı, prognozunun belirlenmesi, kalıtımdaki yerinin saptanması, populasyonlara göre vitiligo-HLA ilişkisinin değişiklik gösterip göstermemesi, vitiligo tedavisinin yönlendirilmesi, farmakogenetik bilimine katkıda bulunulması ve vitiligolu olgulara genetik danışmanlığın verilebilmesi açısından önemli olacağı düşünülmektedir

Anahtar Kelimeler: Vitiligo, HLA Antijenleri, Otoimmünite, Polimeraz zincirleme reaksiyonu

FREQUENCE OF MHC GENES POLYMORPHISMS WITH VITILIGO DISEASE

SUMMARY

Vitiligo is as a frequent, progressive skin pigmentation defect that can be congenital or acquired and can affect all age groups. It is clinically characterized by dispigmented, keen bordered and usually symmetric macules which can occur at any size, any localization and any age.

The association between HLA antigens and autoimmune diseases is known. It is suggested that there is also same kind of association between HLA and vitiligo. The aim of this study is to determine the relationship between them.

In this study, according to the PCR-SSP method, HLA-A,-B,-DRB1 alleles were examined in 20 affected and 30 healthy individuals who have been living in Thrace region for three generations. Statistical analysis of allele frequencies were evaluated by using Istatistica Axa 7.1 version software. (Licence Number: 5070775506FAN3SN)

HLA allele frequencies were compared and HLA-A*02 allele was found statistically significant in vitiligo patients. ($p<0,005$). HLA-A*02 could be accepted as a genetic marker for vitiligo cases in this population-specific study in Thrace region. HLA-A*11, A*24 and

DRB1*03 allele frequencies were found statistically significant in control group ($p<0,005$). It is suggested that there is a negative association between these alleles and vitiligo, which is a depigmentation disorder.

Although the patients with additional illness including otoimmune disorders were eliminated our study group, HLA-A*02 allele, which is associated with CTLA4 gene were found statistically significant. CTLA4 and HLA polymorphism studies with non-otoimmune patients groups could help to understand relationship between CTLA4 gene and HLA.

Further studies with larger groups could provide more certain results. This is contribute to early detection, determination of prognosis, guidance to treatment, association between HLA and understanding genetic heritage of Vitiligo. It is also important in terms of contribution to Pharmacogenetic research and genetic consultancy for Vitiligo patients.

Keywords: Vitiligo, HLA Antigens, Autoimmunity, Polymerase chain reaction

KAYNAKLAR

1. Ongenae K, Geel NV and Naeyaert JM. Evidence for an autoimmune pathogenesis of vitiligo. Pigment Cell Res 2003; 16:90-100.
2. Baransü O. Pigmentasyon bozuklukları. Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransü O (Editörler). Dermatoloji'de İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1994; 555-560.
3. Zhang XJ, Chen JJ, Liu JB. The genetic concept of vitiligo. J Dermatol Sci 2005; 39:137-146.
4. Zhang XJ, Liu JB, Gui JP, Li M, Xiong QG, Wu HB et al. Characteristics of genetic epidemilogy and genetic models for vitiligo. J Am Acad Dermatol 2004; 51(3):383-390.
5. Moretti S. Vitiligo. Orphanet Encyclopedia October 2003. http://orpha.net/data/patho/GB/uk-vitiligo.pdf
6. Kemp EH, Waterman EA and Weetman AP. Immunological pathomechanisms in vitiligo. Exp. Rev. Mol. Med July 2001. http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk/01003362h.htm
7. Na GY, Lee KH, Kim MK, Lee SJ, Kim DW, Kim JC. Polymorphism in the melanocortin-1 receptor (MC1R) and agouti signaling protein (ASIP) genes in Korean vitiligo patients. Pigment Cell Res 2003; 16(4):383-387.

8. Sturm RA, Teasdale RD, Box NF. Human pigmentation genes: identification, structure and consequances of polymorphic variation. Gene 2001; 277(1-2):49-62.

9. Parsad D, Wakamatsu K, Kanwar AJ, Kumar B and Ito S. Eumelanin and phaeomelanin contents of depigmented and repigmented skin in vitiligo patients. Br. J. Dermatol 2003; 149(1):624-626.

10. Laberge G, Mailloux CM, Gowan K, Holland P, Bennett DC, Fain PR et al. Early diease onset and increased risk of other autoimmune diseases in familial generalized vitiligo. Pigment Cell Res 2005; 18:300-305.

11. Taştan HB, Akar A, Orkunoğlu FE, Arca E, İnal A. Association of HLA class I antigens and HLA class II alleles with vitiligo in a Turkish population. Pigment Cell Res 2004; 17(2):181-184.

12. Zamani M, Spaepen M, Sghar SS, Huang C, Westerhof W, Nieuweboer- Krobotova L, et al. Linkage and association of HLA class II genes with vitiligo in a Dutch population. Br J Dermatol 2001; 145(1):90-94.

13. Zhang XJ, Liu HS, Liang YH, Sun LD, Wang JY, Yang S, et al. Association of HLA class I alleles with vitiligo in Chinese Hans. J Dermatol Sci 2004; 35:165-168.

14. Buc M, Sova HF, Cechova E, Hegyi E, Sova KK, 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.

15. Yang S, Wang JY, Gao M, Liu HS, Sun LD, He PP et al. Association of HLA-DQA1 and DQB1 genes with vitiligo in Chinese Hans. Int J Dermatol 2005; 44:10022-1027.

16. Karıncaoğlu Y, Doğan G. Vitiligo. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2001; 21:200-2009.

17. Gürkan E. Vitiligoda melanokortin-1 reseptör geni polimorfizmleri sıklığı (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak; 2005.

18. Tayan R. 83 vitiligolu olgunun klinik özellikleri, HLA doku grubu antijenleri ve erken tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi (tez). İstanbul: İÜ Tıp Fak; 1989.

19. Kim SM, Chung HS, Hann SK. The genetics of vitiligo in Korean patients. Int J Dermatol 1998; 37(12):908-910.

20. Demirsoy A. Hücre döngüsü, doku anatomisi ve fizyolojisi. Yaşamın Temel Kuralları 15. baskı. Ankara: Meteksan AŞ; 2000: p.202-215.

21. Başaran A. Kan ve doku. Tıbbi biyoloji ders kitabı. 6. baskı. Eskişehir; Güneş&Nobel Tıp Kitabevi; 2002: p.291-299.

22. Hann SK, Park YK, Chun WH. Clinical features of vitiligo. Clin Dermatol 1997;15(6):891-897.

23. Sturm RA, Box NF, Ramsay M. Human pigmentation genetics: the difference is only slin deep. BioEssays 1998; 20:712-721.

24. Gauthier Y, Andre MC ve Taieb A. A critical appraisal of vitiligo etiologic theories. Is melanocyte loss a melanocytorrhagy? Pigment Cell Res 2003; 16:322-332.

25. Onunu AN and Kubeyinje EP. Vitiligo in the Nigerian African: a study of 351 patients in Benin city, Nigeria. Int J Dermatol 2003; 42:800-802.

26. Hann SK, Chang JH, Lee HS and Kim SM. The classification of segmental vitiligo on the face. Yonsei Med J 2000; 41(2):209-212.

27. Tekin S. Paranoid şizofreni olgularında HLA Sınıf I (A ve B) ve Sınıf II (DR) allellerinin sıklığı (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak; 2004.

28. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology 6th ed. New York; Mosby; 2001:91-189.

29. Çarin M. MHC ve kanser ilişkisi. IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi: 2005 Kasım 24-27; Manisa, Türkiye. Ankara: 2005,10-11.

30. Tabakçıoğlu K. Trakya bölgesinde yaşayan bipolar duygudurum bozukluğu olan hastalarda HLA Sınıf I (A,B) ve Sınıf II (DR) polimorfizmleri sıklığı (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak; 2005.

31. Lewin B. Genes VIII. 1st ed. Upper Saddle River: Pearson Printice Hall; 2004:779-781.

32. Dalva K. Her yerde karşımda; nedir bu HLA tiplendirimi. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi. IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu. 2004, 42-52.

33. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel III CF. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. 6. baskı. İstanbul: Güneş Kitabevi, 2005:277-288.

34. Gruen JR and Weissman SM. Evolving views of the major histocompatibility complex. Blood 1997; 90(11):4252-4265.

35. Beksaç M. HLA ve doku tiplendirmesi, THD Kan ve Kemik İliği Transplantasyonu Kurs Kitabı 2004; 42-49.

36. Singer R. Psoriasiste HLA antijenlerinin dağılımı ve klinik özellikler ile ilişkisi (tez). İstanbul: İÜ Tıp Fak; 1995.

37. Bahram S. From MAC to MIC: MHC class I genes come full circle. Scientific Communication 2005; 2:46-48.

38. IMGT/HLA (Immunogenetics/Human leukocyte antigens) sequence database. EBI Support: 2005. http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html

39. Hurley CK and Ellis JM. DNA methods for HLA typing a workbook for beginners. 1993;4:39-63.

40. Garbelli S, Mantovani S, Palermo B and Giachino C. Melanocyte-specific, cytotoxic t cell responses in vitiligo: the effective variant of melanoma immunity? Pigment Cell Res 2005; 18:234-242.

41. Sun MY, Bowness P. MHC class I multimers. Arthritis Res 2001; 3:265-269.

42. Firooz A, Bouzari N, Fallah N, Ghazisaidi B, Firoozabadi MR, Dowlati Y. What patients with vitiligo believe about their condition. Int J Dermatol 2004; 43:811-814.

43. Uyar FA, Dorak MT, Saruhan-Direskeneli G. Human leukocyte antigen-A, -B and –C alleles and human leukocyte antigen haplotypes in Turkey: relationsip to other populations. Tissue Antigens 2004; 64:180-187.

44. Uçar F, Ovalı E, Pakdemir A, Alver A, Gok I, Kartı SS et al. HLA alleles and haplotypes in the East Black Sea Turkish population. Trans Proceed 2004; 36:2610-2614.

45. Saruhan-Direskeneli G, Uyar FA, Bakar S, Eraksoy M. Molecular analysis of HLA-DRB1, -DQA1 and -DQB1 polymorphism in Turkey. Tissue Antigens 2000; 55:171-174.

46. Viljder HCD, Westerhof W, Schreuder GMT, Lange PD and Claas FHJ. Pigment Cell Res 2004; 17:270-274.

47. Orozco-Topete R, Cordova-Lopez J, Yamamoto-Furusho HK, Garcia-Benitez V, 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; 1016:182-183.

48. Blomhoff A, Kemp EH, Gawkrodger DJ, Weetman AP, Husebye ES, Akselsen HE. CTLA4 polymorphisms are associated with vitiligo, in patients with concomitant autoimmune diseases. Pigment Cell Res 2004; 18:55-58.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER **SAYFA**

Şekil 1. Feomelanin ve ömelaninin oluşumu 7
Şekil 2. Trikrom vitiligo 10
Şekil 3. Generalize vitiligoda depigmentasyon 11
Şekil 4. Segmental vitiligo 13
Şekil 5. Piebaldizm 15
Şekil 6. Protein molekülünün parçalanması ve immün sistem 19
Şekil 7. İnsan MHC geni 21
Şekil 8. 2005 yılında yapılan güncellemeye göre HLA allelleri 23
Şekil 9. MHC Sınıf I ve Sınıf II molekülleri 26
Şekil 10. Agaroz jelde amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü 38
Şekil 11. Hastalarda yaş ve tutuluma göre klinik dağılım 41
Şekil 12. HLA-A allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı 43
Şekil 13. HLA-B allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı 45
Şekil 14. HLA-DRB1 allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı 46

TABLOLAR **SAYFA**

Tablo 1. HLA allelleri tanımlanırken kullanılan terminoloji 24
Tablo 2. HLA bölgesindeki genlerin adları 25
Tablo 3. Hastalıklar ve ilişkili HLA bölgeleri 31
Tablo 4. Fitzpatrick deri fototipleri 35
Tablo 5. PCR protokolü 37
Tablo 6. Amplifikasyon ürünlerini değerlendirme tablosu 38
Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarının sosyo-demografik bilgileri 39
Tablo 8. Ailede vitiligo öyküsü olması ve olmaması 40
Tablo 9. Derifototiplerinin vitiligo grubunda dağılımı 40
Tablo 10. Hastalarda yaş ve tutuluma göre klinik dağılımı 40
Tablo 11. HLA-A allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı 42
Tablo 12. HLA-B allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı 44
Tablo 13. HLA-DRB1 allellerinin olgu ve kontrol grubuna göre sıklığı 46
Tablo 14. Olgu grubunda gözlenen HLA-A,-B,-DRB1 allelleri 47
Tablo 15. Kontrol grubunda gözlenen HLA-A,-B,-DRB1 allelleri 48

ÖZGEÇMİŞ

1981 Silivri/İstanbul doğumluyum. İlkokulu 1988 – 1992 yıllarında Silivri Piri Mehmet Paşa İlkokulu'nda, ortaokulu 1992 – 1995 yıllarında Silivri Gazi İlköğretim okulunda tamamlamış olup, 1995 –1999 yıllarında Yabancı Dil Ağırlıklı Silivri Lisesi Fen – Matematik Bölümünden mezun oldum. 1999 Edirne Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Lisans öğrenimime başlayıp 2003 yılında mezun oldum. 12.02.2004 tarihinde Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım ve rutin laboratuvar çalışmalarında bizzat bulunarak halen devam etmekteyim. 07.2001– 09.2001 tarihleri arasında İstanbul Bayer Türk İlaç Fab. Mikrobiyoloji Laboratuvarında staj yaptım. 21-24 Nisan 2004 tarihinde VI. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresine (Antalya), 14-18 Haziran 2004 yılında TÜBİTAK Gen Mühendisliği ve Araştırma Enstitüsü "Moleküler Biyoloji Yöntemleri" Lisansüstü Uygulamalı Eğitim Kursuna (Gebze), 16-19 Nisan 2005 tarihinde 1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresine (İstanbul), 24-27 Kasım 2005 tarihinde IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresine (Manisa) katılmış bulunmaktayım.

Biyolog Yıldız SABUNCUOĞLU

EK I

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı "**Vitiligolu Olgularda MHC Gen Polimorfizmleri Sıklığı**"dır.

Bu araştırmanın amacı, normal bireylerde ve vitiligolu olgularda MHC gen polimorfizmleri sıklığının belirlenmesi ve dağılımının karşılaştırılmasıdır. Araştırmaya katılmaya karar verdiğiniz takdirde size rutin dermatolojik ve sistemik muayene yapılacak, kolunuzdan bir kez 5ml kan alınacak tır. Bu araştırmada yer almanız öngörülen süre 30 dakika olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı olgu 20, kontrol 30 olmak üzere toplam 50 kişidir.

Bu araştırma ile ilgili olarak size hiçbir sorumluluk yüklenmemektedir.

Bu araştırmada kan alınırken iğnenin batmasına bağlı hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir olasılıkla kan alınırken kanamanın uzaması, cilt altına kanama ya da bir enfeksiyon gelişmesi riski olabilir. Sizin için beklenen bireysel bir yarar söz konusu değildir. Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda, bu durumun tedavisiyle ilgili araştırma grubu herhangi bir sorumluluk yüklenmemektedir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 284 235 76 41- 1449 no.lu telefondan Bio. Yıldız Sabuncuoğlu'na başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır, ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma projesi Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından karşılanacaktır.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırıcı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında sonradan ortaya çıkabilecek, araştırmaya katılmanıza engel bir durumla karşılaştıklarında sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilecektir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,
Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

EK II
HASTA TAKİP FORMU

Hastane Bilgileri

Laboratuvar No:
Örnek Alım Tarihi:

Kimlik Özellikleri

Adı Soyadı:
Doğum tarihi/yeri:
Cinsiyeti:
Medeni Hali:
Boyu/kilosu:
Kan Grubu:
Mesleği:
Eğitim Durumu:
Kaç Kuşaktır Aynı Bölgede Bulunuyor:
1. Kuşak (Hastanın Kendisi):
2. Kuşak (Hastanın Anne-Babası):
3. Kuşak (Hastanın Büyükanne-Büyükbabası):
Adres, telefon numarası:

Hastanın Özgeçmişi

Geçirilmiş Hastalıklar:
Geçirilmiş Ameliyatlar:
Hastalığın Başlangıç Yaşı (Süresi):
Hastalığın Lokalizasyonu/Yaygınlığı (Şekil üzerinde):
Genetik/Otoimmün/Kronik Hastalığı:
Fitzpatrick Deri Tipi:
Sürdürdüğü bir tedavi var mı?:
Tedavi Hikayesi (Tedavi aldığı dönemler, Tedavinin türü, süresi?) :

Hastanın Soygeçmişi:

Annesinin, babası sağlık durumu ve yaşı:
Kardeş sayısı (Cinsiyetleri), sağlık durumları, yaşı:
Anne, baba, kardeşlerden genetik (kalıtsal) bir hastalığı olan var mı?:
Ailede Vitiligo Öyküsü:
Çocuk Sayısı (Cinsiyet, Yaşı, Sağlık Durumu):

EK III

T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı : Karar Tarihi :

13- Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 10.02.2005 tarihinde **"Vitiligolu Olgularda MHC Gen Polimorfizimleri sıklığı"**adlı **TÜTFEK-2005/018** protokol no.lu Yüksek Lisans öğrencisi Yıldız SABUNCUOĞLU'nun tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Toplantıya Yrd.Doç.Dr.Şemsi ALTANER izinli olması nedeniyle katılmadı, diğer üyelerin katılımı ile çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonucunda çalışmanın Fakültemiz Tıbbi Biyoloj Anabilim Dalında yapılacağı ve sorumlusunun Yrd.Doç.Dr.Gökay BOZKURT olduğu; Araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler ile gönüllü bilgilendirme metni dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Ahmet ULUGÖL
BAŞKAN
(Farmakolog)

Prof.Dr.Ahmet TEZEL **Klinisyen Üye** **İç Hastalıkları Uzmanı**	**Yrd.Doç.Dr.Ümit N. BAŞARAN** **Klinisyen Üye** **Çocuk Cerrahisi Uzmanı**	**Yrd. Doç. Dr. Cengiz TUĞLU** **Klinisyen Üye** **Psikiyatri Uzmanı**
Yrd. Doç. Dr. Şemsi ALTANER **Üye** **Patalog** **İzinli**	**Yrd.Doç.Dr.Sevgi ESKİOCAK** **Biyokimya Uzmanı**	**Ecz.İmran OĞUZ** **Üye** **Eczacı**

Posta Adresi :
Trakya Üversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel (0-284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0-284)2357652