

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

VİTİLİGO HASTALARINDA β KAROTEN VE
 β KAROTEN - VİTAMİN E KOMBİNASYONUNUN
SERUM NİTRİK OKSİT DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR.İŞİL DÜVER

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

103602

ANKARA -2001

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ YÖNTEM.....	33
BULGULAR.....	39
TARTIŞMA.....	47
SONUÇLAR.....	52
ÖZET.....	53
SUMMARY.....	54
KAYNAKLAR.....	55

GİRİŞ

Vitiligo, epidermiste melanosit yıkımı sonucu ortaya çıkan, depigmente maküler lezyonlarla karakterize bir deri hastalığıdır. Irk, etnik grup veya cinsiyet gözetmeksizin tüm dünyada görülebilen bir hastalıktır. Melanosit kaybının mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Etyopatogeneizde, serbest radikallerin ve antioksidan savunma mekanizmalardaki bozukluğun yanısıra birçok hipotez öne sürülmüştür. Bunların hiçbirisi tek başına açıklayıcı değildir.

Son yıllarda immünolojik ve inflamatuvar hastalıklarda rolü olduğu bildirilen Nitrik Oksit (NO), önemli fizyolojik ve patolojik rollere sahiptir. Biyolojik sistemlerde, NO'nın normal seviyeleri reaktif oksijen türleri aracılığıyla gelişen oksidatif stresi azaltıcı etki gösterirken, yüksek miktarları oksidatif stres oluşturabilir ve otoimmüniteyi tetikleyebilir.

Otoimmün ve oksidatif stres etkilerinin de sorumlu tutulduğu vitiligoda, NO'nın ne şekilde rol aldığı bilinmemektedir. Vitiligo hastalarının serum NO seviyelerine yönelik daha önce yapılmış bir çalışma da bulunmamaktadır.

Biz çalışmamızda vitiligoda NO'nın rolünü araştırmak, β karoten ve β karoten- E vitamini kombinasyonu içeren antioksidan tedavilerin NO düzeyleri üzerine etkisini tespit etmek amacıyla, tedavi öncesi ve sonrasında hasta serumlarında NO'nın stabil metaboliti olan nitrit değerlerine baktık.

GENEL BİLGİLER

VİTİLİGO

Vitiligo herhangi bir yaşta ortaya çıkabilen, değişik büyüklükte ve sayıda, iyi sınırlı, süt beyazı renkte yamalar şeklinde görülen, melanosit yıkımıyla karakterize bir deri hastalığıdır (11,37,56,66,87).

Tarihçe

Antik çağlardan beri bilinmekte olan vitiligo hakkındaki en eski belgelere, Ebers Papiruslarında rastlanmıştır. Bu belgelerde lepradan farklı bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Tarih boyunca shwetakustha, suitra, kilas, baras gibi isimler almıştır. Vitiligo teriminin orijini hakkında değişik görüşler vardır. Latince leke ya da hata anlamına gelen vitium veya milattan sonra 2. Yüzyılda Roman Fizikçi Celsus'un kullandığı dana anlamına gelen vitelius kelimelerinden türediğine inanılmaktadır. Vitiligodaki depigmente alanlar benekli danalardaki beyaz yamalara benzetilmiştir (57,66,83).

Epidemiyoloji

Vitiligo tüm dünyada değişik oranlarda görülebilen bir hastalıktır (11). İnsidansı %0.14 - 8.8 arasında değişmekle beraber, ortalama %1-2 oranında görülür (37,43,66,83). Tüm ırklar etkilenir. Kadın ve erkek eşit oranda tutulur. Fakat kadınlar için daha fazla kozmetik önem taşıdığından, polikliniklere başvuru oranı kadınlarda daha fazladır. Fazla güneş gören yerlerde daha sık ve koyu tenlilerde daha belirgindir (56,66). Çocukluk ve genç erişkin döneminde ortaya çıkar (37). Tüm vitiligo vakalarının %50'si 20 yaşın altında başlar. Tüm serilerde hastalığın ortaya çıkışı 10-30 yaş arasında belirgin artış gösterir. Literatürde

konjenital olgular bildirilmekle birlikte, başlangıç yaşı 97 olan bir olgu da bulunmaktadır (56). Hastaların %25-30 unda ailede vitiligo hikayesi mevcuttur (37,55,57,66).

Kalıtım şekli kesin belli olmamakla birlikte büyük çalışmalar otozomal resesif veya dominant geçmediğini göstermiştir. Birbirinden bağımsız multipl otozomal lokusların olması multifaktöriyel genetik geçişi düşündürür. Monozigot ikizlerde görülebilir ve bunlarda hastalığın başlangıç yaşı, lezyon lokalizasyonları aynı olabilir (31,37,45,56,57,59,66).

Klinik

Tipik bir vitiligo makülünün şekli oval veya yuvarlak, kenarları keskin sınırlıdır. Süt beyazı veya tebeşir beyazı renginde görülür. Depigmente alanlar farklı boyutlarda ve konfigürasyonda olabilir. Birleşerek tüm vücudu kaplayabilir. Lezyonlar depigmente makül olmak dışında başka epidermal değişiklikler içermez (11,66). Güneş yanığı gelişirse eritemli ve ağrılı bir hal alabilir. Vitiliginöz alanlar üzerindeki kıllar da genellikle beyazlaşır, hatta bazen deri normalken bile sadece kıllar beyazlaşabilir (37,67).

Vitiligoda maküler lezyonlar farklı karakterlerde olabilir. Trikom vitiligo, erken fazlarda ve koyu tenli insanlarda görülen, normal deri ile depigmente makül arasında hipopigmente bir geçiş zonu bulunmasıdır (37,43,67). İyileşmeye başlayan vitiligo lezyonlarının kenarlarında veya perifoliküler alanda hiperpigmentasyon görülmesi durumunda ise kuadrikrom vitiligodan söz edilir. Perifoliküler veya rastgele oluşan, 1-2 mm çaplı hiperpigmentasyonlara konfeti maküller ismi verilir. Eritematöz kenar içeren inflamatuvar vitiligo da bildirilmiştir (11,43,66).

Hastalık sıklıkla güneşe maruz kalan alanlar, vücut orifizleri etrafı, kemik çıkıntılar üzeri, intertriginöz alanlar ve el sırtından başlar (56,66). Köbner fenomeni nedeniyle cerrahi operasyon, radyoterapi, şiddetli güneş yanığı, psöriyazis ve kontakt dermatit sonrasında

oluşabilir. Kontakt dermatit sonrasında repigmentasyon başlayan hastalar da bildirilmiştir (74). Deneysel köbner fenomeni %61 olarak tespit edilmiştir (89). Ayrıca emosyonel stres, ateşli hastalık, gebelik gibi durumlar da hastalığın ortaya çıkmasına yardımcı olabilir (56). Klofazimin ve Klorakin sonrası gelişen vitiligo vakaları da vardır (85). Vitiligo tutulan alanların yaygınlığına ve lezyonların dağılımına göre sınıflandırılır. Vitiligo tipleri tablo-I'de gösterilmiştir.

Tablo – I : Vitiligonun sınıflandırılması (37)

Lokalize vitiligo
Fokal: Bir veya daha fazla yama, segmental değil
Segmental: Bir veya daha fazla yama, dermatomal yerleşim
Jeneralize vitiligo
Akrofasyal: Yüz ve elleri tutan multipl lezyonlar
Yaygın: Düzensiz fakat yaygın dağılımlı yamalar
Universal vitiligo
Birkaç normal deri alanı dışında vücudun depigmentasyonu
Karma vitiligo
Diğer şekillerin iki veya daha fazlasının kombinasyonu

Lokalize vitiligonun fokal formunda, glans penis gibi izole bir alanda bir veya birkaç adet makül bulunur (67). Çocukluk çağı vitiligosunun %20'si bu tiptedir. Segmental form erişkin vitiligolarının yaklaşık %5'ini oluşturur ve en az görülen formdur (46,66). Burada asimetrik olarak bir dermatomal alan tutulur. Hastalık bu alanda lineer olarak ilerler,

değişmeden hayat boyunca sabit kalır. En sık trigeminal alan etkilenir . Erkeklerde daha sık görülür . Lezyonlu bölgelerde terleme bozukluğu da saptanır. Diğer tiplerden farklı olarak erken başlangıç gösterir ve medikal tedaviye dirençlidir (43,48,66,67). Epidermal greftleme için en uygun formdur. Ayrıca tiroid hastalıkları ve vitiligo ile ilişkili hastalıklara az rastlanır. Ailesel değildir ve köbnerize olmaz (66). Bu hastalarda artmış immün yanıt da bildirilmiştir (43,48). Jeneralize vitiligo en sık görülen formdur. Lezyonlar rastgele dağılımlı, yaygın ve simetriktr. En sık yüz, göğüs üst kısmı, el sırtları, lumbosakral alan , aksilla ve inguinal bölgeler tutulur. Periorifisial ve diz dirsek gibi travma bölgelerinin tutulumuna da eğilim vardır. Akrofasiyel formda parmakların distali ve yüzdeki orifisler tutulur. Periungual tutulumun dudak, penis, meme başı gibi mukozal alanlarla birlikte olmasına lip lip vitiligo denir. Universal vitiligo, normal pigmentli birkaç makül dışında, tüm vücudun tutulmasıdır. Sıklıkla multipl endokrin sendromlarla ilişkilidir (43,66,67).

Çocukluk çağı vitiligoları daha çok segmental klinik tiptedir. Otoimmün ve/veya endokrin hastalıklar açısından güçlü aile hikayesi vardır. Organ spesifik antikorların insidansı yüksektir (46).

Vitiligoda göz, kulak ve leptomeninkslerdeki melanositler de tutulabilir. Hastalarda çok sayıda göz problemleri olabilir. Retinal pigment epitelinde ve koroidde %39 oranında depigmente alanlar tespit edilmiştir. Hastalarda % 5 oranında iritis vardır. Koryoretinit ile fokal skarlaşma karakteristik bulgudur. Tutulum foveanın distalinde olduğundan görme etkilenmez (28,43,55,66,83).

Vitiligo ayrıca, kronik üveit, poliosis, alopesi, disakuzi ve meningeal iritasyon bulgularıyla seyreden Vogt-Kayanagi-Harada Sendromu'nun da bir bulgusudur (43). Leptomeninkslerdeki melanositlerin yıkımına sekonder olarak aseptik menenjit görülebilir

(57). İç kulak melanositleri de vitiligoda etkilenebilir. Kliniğe yansımayan işitme bozuklukları hastaların %16'sında tespit edilmiştir. Vitiligonun sık olduğu bir adada, ailevi birkaç olguda işitme kaybı tanımlanmıştır. Sonuç olarak vitiligo bazen tüm vücut melanositlerini etkileyen sistemik bir hastalık olarak karşımıza çıkabilir (90).

Mesleki vitiligo, plastik ve kauçuk endüstrisinde çalışan işçilerde fenolik bileşikler, tiyoller, katekol deriveleri, merkaptaminler ve hidrokinonun monobenzil eteri gibi maddelerle temas sonucu gelişir. Bu tip vitiligonun ayrımı erişkin insanlarda gelişmesi, önceki vitiligo hikayesinin olmaması, el parmakları gibi temas bölgelerinde gelişmesi ve sıklıkla guttat maküller şeklinde olması ile yapılır. Hastanelerde kullanılan fenolik antiseptik deterjanlar, elektrokardiografi elektrotları ve kondomların kontak yerlerinde de oluşabildiği bildirilmiştir (67).

Vitiligoya eşlik eden hastalıklar

1.Deri hastalıkları

Halo nevus, alopesi areata, lökotişiya ve saçların erken beyazlaması vitiligoya sıklıkla eşlik eden durumlardır (37,66,67). Liken skleroatrofikus, morfea, liken planus, atopik dermatit, lupus eritematozusa da artmış oranda rastlanır (37). Psöriasis, lepramatöz lepra, pemfigus vulgaris ve dermatitis herpetiformis ile nadir birliktelikler bildirilmiştir (5,56,73). Malign melanomalı hastalarda da vitiligo görülebilir ve genellikle iyi prognostik işarettir (37,57). Karşıt olarak, metastatik melanomalı bir hastada ortaya çıkan vitiligo da bildirilmiştir (23).

2.Sistemik hastalıklar

Tiroid hastalıkları: Vitiligoda en sık görülen sistemik hastalık grubudur ve hastaların %30'unda görülür. Hipertiroidizm, hashimato tiroiditi, myastenia gravis bunlar arasında

sayılabilir. Tiroid kanseri ile ilişkisi yoktur. TSH seviyesi ölçümü tek başına kullanışlı bir testtir. Tiroid otoantikorları düzeyleri de bakılmalıdır (37,66).

Diabetes mellitus (DM): Vitiligolu hastalarda DM insidansı %1-%7.1 arasında değişir. Hem tip1 hem de tip 2 DM' da artış bildirilmiştir. Geç başlangıçlı vitiligoda mutlaka diabet araştırılmalıdır (55,56).

Pernisiyöz anemi: Vitiligolu hastalarda pernisiyöz aneminin normal insanlardan 30 kat fazla olduğu bildirilmiştir (56).

Addison hastalığı: Addison hastalığı olanların %15'inde vitiligo vardır.

Bunların dışında hipoparatiroidizm, crohn hastalığı, primer biliyer siroz, sjögren sendromu, mukokutanöz kandidiazis de artmış olarak gözlenmiştir . Ayrıca vitiligo, selektif immünglobulin A eksikliğini de içeren poliglandüler otoimmün sendromun bir parçası da olabilir (37,83).

Histopatoloji

Tam gelişmiş vitiligo lezyonlarında, standart histolojik tekniklerin yanında gümüş nitrat boyaları, monoklonal antikorlar, poliklonal antikorlar veya elektron mikroskopisiyle dahi melanositler görülmez. Amelanotik maküllerde tirozinaz aktivitesini gösteren DOPA reaksiyonu negatiftir. Yayılan lezyonun periferindeki daha hipopigmente alanlarda ise DOPA pozitif melanosit sayısında azalma izlenir. Yamaların dış kenarındaki melanositler, melanin granülleri ile dolu uzun dendritik uzantılara sahiptir (57,66,87).

Erken inflamatuvar evrede, üst dermiste lenfosit ve histiyosit infiltrasyonu görülür. Depigmente alanın kenarında nadiren süperfisyel, perivasküler ve bazen de likenoid mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenir. Çevredeki normal görünümlü deride,

dermoepidermal bileşkede vaküler değişiklikler gösteren alanların yanında hafif mononükleer hücre infiltrasyonu bulunur (87).

Elektron mikroskopik incelemelerde, lezyonun aktif kenarında hem melanositler hem de keratinositlerde dejeneratif değişikliklere rastlanır. Melanositler nekrotik görünüm kazanır. Keratinositler ve melanositler arasında interselüler boşluklar bulunur. Ekstraselüler granüler madde birikimi de gözlenir. Langerhans hücreleri ise bazal tabakada artmış , suprabazal tabakada azalmıştır (26).

İmmünohistokimyasal boyamalar vitiligolu ve komşu deride T hücre infiltratının baskın olarak bulunduğunu göstermiştir (1,4).

Etyopatogenezi

Vitiligonun etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, çok çeşitli teoriler vardır ve bunların bir veya birkaç tanesi aynı anda etkili olabilir. Başlıca genetik, nöral, otoimmün, ototoksik teoriler dışında serbest radikallerin ve defans mekanizmalarının rolünü de içeren, vitiligo patogenezinde etkili olduğu öne sürülen yeni hipotezler de bulunmaktadır (57,69).

Genetik: Genetik çalışmalara göre %25-30 oranında ailesel geçiş vardır. Poligenik, multifaktöryel bir kalıtım söz konusudur (31,45,59). Vitiligolu deneklerden alınan melanositlerin uzun süreli kültüre edilmesiyle genişlemiş, sirküler görünümlü granüllü endoplasmik retikulum içerdikleri gözlenmiştir. Bu değişiklikler genetik yapısal ve fonksiyonel bir bozukluğu düşündürür (19). Farklı etnik gruplarda farklı HLA subtipleri tespit edilmiştir. Bunlar arasında HLA A30, CW6, CW7, DR6, DQW3 ve DR4 bulunmaktadır. Pediatrik form ve erişkin forma özgü farklı HLA tipleri de bildirilmiştir (31,43,66).

Nöral Hipotez: Sinir uçlarından salınan nöromediatörler ile melanositlerin etkileşimi nöral hipotezin temelidir. Klinik olarak segmental tutulumun olması, lezyonlu alanda terleme ve lokal ısı artışı, kanama zamanının uzaması, hastalığın emosyonel stres sonrasında başlayabilmesi bu hipotezi destekleyici bulgulardır (43). Ayrıca viral ensefalit, multipl skleroz, nörofibromatozis gibi sinir sistemini ilgilendiren bazı hastalıklara da vitiligonun eşlik ettiği görülür (66). Lepramatöz leprada artmış vitiligo prevalansı, melanogenezin sinirsel kontrolünün kaybı sonucu olabilir (18).

Yapısal incelemeler, vitiligolu deride dermal sinir sonlanmaları ve melanositler arasında direk temas olduğunu veya yapısal değişikliklerin bulunduğunu göstermiştir (41,66,69). Bir çalışmada gözdeki sinir liflerinin birtakım nöropeptidler ile melanositleri uyararak üveal pigment sentezini düzenlediği tespit edilmiştir (88).

Hem melanositler hem de sinir hücreleri nöral yarık orijinlidir. Tirozin ise hem epinefrinin hem de melaninin prekürsörüdür. Aktif vitiligolu hastaların kanında ve idrarında katekolaminler artmış olarak bulunmuştur (30,57,65). Otonom sinir uçlarından anormal katekolamin salınımı epidermisin serbest radikal defansını değiştirerek, melanosit hasarına sebep oluyor olabilir (43,66). Vitiligolu hastalarda asetilkolin esterase aktivitesi azalmıştır. Asetilkolin depigmentasyona neden olur ve marjinal melanositlerde inhibitör etkiye sahiptir (69).

Aktif vitiligolu hastalarda β -endorfin ve met-enkefalinin plazma seviyeleri artmıştır. Bu bulgular stresin vitiligonun ortaya çıkışını kolaylaştırıcı etkisini destekler (69).

İmmün Hipotez: Vitiligonun halo nevus ve birçok otoimmün hastalıkla birlikte görülmesi, erken lezyonlarda dermiste lenfositlerin bulunması, birçok hastada dolanan antikörlerin tespit edilmesi ve T lenfositler üzerinden etki eden PUVA' nın tedavi edici etkisi

immün hipotezi destekleyen bulgulardır. Hastalarda ve hastaların ailelerinde otoimmün hastalık insidansı % 10-15 oranında artmıştır (66).

Hastalarda hem humoral hem de hücrel immünitede değişiklikler olur (77). Organ spesifik antikorlardan antitiroid, gastrik antiparietal hücre, antinükleer antikorlar yüksek bulunmuştur (43). Bu antikora sahip hastalarda otoimmün hastalık riski artmıştır (16). Hasta serumlarında antimelanositik antikorlar da tespit edilmiştir ve bu antikorların seviyeleri, hastalık aktivitesi ve depigmentasyon yaygınlığı ile paraleldir (49,69). Antimelanositik antikorlar molekül ağırlığı 35, 40-45, 75, 90 ve 150 kilodalton olan pigment hücre yüzey antijenlerine yönelmişlerdir ve immünglobulin G₁,G₂,G₃ alt gruplarındadırlar (9,32,98). İmmünglobulin A tipindeki antikorların pigmentasyon başlayan hastalarda IgG'nin yerini alarak, pigment hücrelerini sitotoksik hasardan koruduğu düşünülür (69).

Antikeratinosit antikorlar muhtemelen hücrel hasara sekonder olarak gelişir. Antitirozinaz antikorları da hasta serumlarında tespit edilmiş ve tirozinazın esas otoantijen olduğu düşünülmüş fakat yeni bir yayında, bu bulgular desteklenmemiştir (57,66,99). Hasta serumlarında dolanan immünkompleksler de gösterilmiştir (43).

Kontakt sensitizasyonda azalma, T lenfosit subgruplarında, langerhans hücrelerinde ve doğal öldürücü hücrelerde değişiklikler hücrel immün sistemde bir bozukluk olduğunu düşündürür (92). Aktif hastalığı olanlarda yardımcı T hücre / baskılayıcı T hücre oranı artmış olarak bulunmuştur (66). Bir T lenfosit fonksiyon belirleyicisi olan lökosit migrasyon inhibisyon faktör seviyeleri artmış olarak tespit edilmiştir (92).

Vitiligo apoptozisi düzenleyen moleküllerin regülasyon bozukluğuna bağlı olarak da gelişebilir. Sitotoksik T hücreleri ve makrofaj mediatör nitrik oksitin in vitro olarak melanosit

apoptozunu indüklemeye yeteneği olduğu bildirilmiştir. Vitiligoda in vivo melanosit apoptozu otoreaktif T hücreler veya makrofajlar tarafından indükleniyor olabilir (93).

Ototoksik Teori: Melanin oluşumu esansiyel bir aminoasit olan fenilalanininden oluşan tirozinin, tirozinaz ile dopaya, dopanın da dopakinona dönüşümü ile gerçekleşir. Bu sentez sırasında oluşan tirozin analogları ve aynı zamanda dopa, dopakrom, 5,6-dihidroksiindol gibi ara ürünler melanositlere toksik etki eder. Normal melanositler bu ara ürünleri kendi koruma mekanizmalarıyla uzaklaştırır. Vitiligolu hastalarda koruyucu mekanizmaların bozuk olduğu ileri sürülmektedir (11,66,67). Melatonin reseptör aktivasyonu melanogenez düzenlenmesinin bozulmasına ve melanosit yıkımına neden oluyor olabilir (66,69). Yapısal olarak tirozine benzeyen yüksek konsantrasyondaki fenolik bileşiklere maruz kalan bazı işçilerde, vitiligodan ayrılamayan lökoderma gelişmesi de bu hipotezi destekler niteliktedir (17).

Serbest Oksijen Radikallerinin Rolü ve Defans Mekanizmalarının Bozulması:

Melanin pigmentinin ana görevi, hücre nükleusunu zararlı ultraviyole ışınlarından korumaktır. Hem kan yoluyla gelen hem de havayla temas edilerek karşılaşılan oksijen, ultraviyole (UV) etkisiyle aktive olur. Bu durum çiftleşmemiş elektron içeren serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açar. Antioksidan sistem bu radikalleri kontrol altına alabilmek ve bunların sebep olduğu zararlı etkileri yok edebilmek için katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimleri kullanır. Serbest radikallerin bir kısmı ise melanin tarafından inaktifleştirilir. Melanin stabil bir serbest radikal gibi davranır, oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarına hazırdır. Reaktif oksijen moleküllerini yakalayıcı olarak görev yapar (66,100). Antioksidan enzimler optimal oksijenizasyon seviyelerinde etkili olabildiklerinden, oksijenizasyonun bozulduğu durumlarda melanin molekülünün yükü artar (55). Oksidatif stres

hem antioksidanların azalması hem de reaktif oksijen türevlerinin artması sonucu gelişebilir (71).

Normal derideki antioksidan kapasite epidermiste dermisten daha yüksek bulunmuştur. Epidermin dış ortama açık olması ve ilk bariyer olmasından dolayı bu durum şaşırtıcı değildir (86). Schallreuter ve arkadaşları, vitiligolu hastalarda epidermal katalaz seviyesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir (17,81). Böylece hidroksil radikali melanini etkilemekte ve lipid peroksidasyon reaksiyonları yoluyla, membran hasarına neden olmaktadır. Azalmış katalaz seviyesinin yanında E vitamini artışı, reaktif oksijen radikallerinin zararlı etkilerini azaltmak için koruyucu bir mekanizma olarak yorumlanmışlardır (61).

Fenilalanin hidroksilaz reaksiyonundaki bozulmuş tetrahidrobiopterin (BH_4) döngüsü de etyopatogeneizde sorumlu tutulabilir (61,66). Vitiligoda 4a-hidroksi tetrahidrobiopterin dehidrataz aktivitesi azalmış veya yoktur. Bu da fenilalanin hidroksilazın güçlü inhibitörü olan $7BH_4$ 'in birikimine neden olur ve $7BH_4$ depigmentasyonu başlatabilir (82). Bu metabolizma bozukluğu ile melanositlerde hidrojen peroksit birikimi meydana gelir ve fenilalanin hidroksilasyonunda kofaktör olan $6BH_4$ hızla 6 biopterine okside olur. 6 biopterin ise melanotoksik bir maddedir (15). BH_4 sentezi sitokinlerle artırılır ve indüklenabilir nitrik oksit sentazın (iNOS) enzimatik aktivitesi için kofaktördür. Normal insan melanositleri lipopolisakkarit sitokinlerle uyarıldığında iNOS eksprese ederler. Vitiligoda fazla miktarda nitrik oksit üretimi melanositlerin yıkımından sorumlu tutulabilir (78). Yine keratinositlerde artmış $6BH_4$ sentezi, Monoamin oksidaz aktivitesini indükleyen katekolamin sentez yolunu stimüle eder (61). Artmış katekolamin salınımı, direk ve dolaylı olarak depigmentasyonda rol oynar. Vitiligolu deride yüksek β adrenoreseptör ekspresyonu, katekolaminlerinde patofizyolojide yer aldığını gösterir (57,69).

Norris ve ark. epidermal melanositlerin hidrojen peroksit tarafından, keratinositlerden ve fibroblastlardan daha kolay hasara uğratıldıklarını bildirmişlerdir (89,100). Yohn ve ark. da bu görüşü destekler nitelikte, insan melanositlerinin, keratinositler ve fibroblastlardan daha düşük seviyede peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktivitesi sergilediklerini göstermişlerdir. Melanositlerin metabolik enerjilerinin antioksidan enzim üretiminden çok, melanin sentezine harcadığı görüşünü savunmuşlardır. Yani melanositlerin radikal yakalama kabiliyeti antioksidan üretim miktarından daha önemlidir (100).

Yeni çalışmalar keratinositlerde de birtakım değişiklikler olduğunu göstermiştir. Bu değişikliklere bağlı olarak melanosit hasarı gelişiyor olabilir. Membrana bağlı thiorredoksin redüktaz (TR) enzimi deri yüzeyinde serbest radikalleri azaltır. Bu enzim, serbest radikaller hücre içine girmeden, hücre dışında bu işi yapar. TR'nin yüzey aktivitesi kalsiyumun hücre dışı konsantrasyonu ile ayarlanır. Kültüre vitiligo keratinositlerinde bozulmuş kalsiyum geri alımı sonucu hücre dışı kalsiyum artar, bu da TR'nin inhibisyonuna, epidermal hücreleri hasarlayan serbest radikallerin birikimine neden olur. Bu da keratinosit hasarı ve melanosit kaybıyla sonuçlanır (66,69,89).

Son yıllarda etyopatogeneizde etkili olduğu öne sürülen diğer hipotezler ise şunlardır (19,36,43,69,89):

1.Vitiligo melanositlerinin endoplasmik retikulumunun fonksiyon ve yapısında bir defekt bulunması .

2.Melanosit büyüme faktörü eksikliği

3.Melatonin reseptör aktivasyonu: Melatonin tirozinaz aktivitesini etkilemeden melanin sentezini önleyen bir maddedir. Melatonin reseptör aktivasyonuyla melanogenez bozukluğu başlar. Tirozinazın görev aldığı basamaklarda ara ürün ve serbest radikal oluşumu

devam ederek melanositler ve keratinositleri hasara uğratar. Keratinositlerden salınan büyüme faktörünün azalmasıyla da melanosit hasarı artar.

4.Viral mekanizmalar: Vitiligolu hastaların derilerinde CMV DNA gösterilmiştir.

Hayvan modellerinde HSV ilişkisi tanımlanmıştır.

5.Melanositleri uyarıcı ve inhibe edici faktörlerin rolü.

6.Vitiligonun simetrik deri lenfomasının iyi huylu bir varyantı oluşu.

Etyopatogeneizde öne sürülen çok sayıda hipoteze rağmen, bunların hiçbiri tek başına açıklayıcı değildir.

Tanı ve Ayırıcı Tanı

Klinik olarak tipik yerleşimli, ilerleyici, süt beyazı maküller nedeniyle tanı kolaydır.

Klinik olarak ayırıcı tanı yapılamadığında, çok gerekli durumlarda histopatolojik, elektron mikroskopik veya DOPA reaksiyonu tekniklerine başvurulabilir (37).

Açık tenli hastalarda, el içi ayak tabanı lezyonları olanlarda wood ışığı muayenesine gerek duyulabilir. Vitiligo tanısı konduğunda tiroid fonksiyon testleri ve otoantikörleri, kan şekeri düzeyi bakılmalı ve eşlik edebilecek diğer hastalıklar açısından gerekli tetkikler yapılmalıdır (57,66).Ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken hastalıklar Tablo II de gösterilmiştir.

Tablo – II : Ayırıcı Tanı

Kimyasal Lökoderma
Nevus Depigmentosus
Piebaldizm
Pitriazis Alba
Tinea Versikolor
Postinflamatuvar hipopigmentasyon
Tuberoz Skleroz
Lepra
Liken Sklerozis et Atrofikus
Mikozis Fungoides
Waardenburg Sendromu
İdiopatik Guttat Hipomelanozis

Klinik Seyir ve Prognoz

Hastalığın seyrini önceden kestirmek zordur. Sıklıkla yavaş yavaş ilerleme gösteren vitiligo makülleri, periodik olarak yeni lezyonların ortaya çıkışı ve araya giren remisyon periodları şeklinde bir gidiş vardır. Yaz aylarında spontan pigmentasyon görülebilir. Segmental vitiligo ise tuttuğu dermatomal alanda sabit kalır. Akrofasyal ve mukozal tutulum, lökotrişya bulunması, geç başlangıç yaşı kötü prognozu düşündürür (37,56,66).

Tedavi

Vitiligonun tedavisinde birçok seçenek olmasına rağmen, tedavilere cevap yavaştır ve iyileşme oranları düşüktür. Spontan repigmentasyon %15-25 oranında görülür (55,67).

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. Emosyonel durumun hastalığı etkilediği düşünüldüğünde tedavi öncesi psikiyatrik bir değerlendirme gerekir.

Destekleyici Tedaviler

Açık tenli hastalarda güneşten koruyucuların kullanımı, sağlıklı derinin yanmasını önleyerek, normal deri ile depigmente alan arasındaki renk farkını en aza indireceğinden, mutlaka önerilmelidir (43). Ayrıca depigmente alanın UV radyasyonundan korunması bozulduğundan ve güneş yanığının köbnerizasyona neden olmasından dolayı, tüm hastaların güneşten koruyucu kullanmaları şarttır. SPF-30'un üzerinde ve çinko oksit ve/veya titanyum dioksit içeren opak güneşten koruyucular tercih edilmelidir (66,67). Kozmetiklerle kamuflaj bir tedavi seçeneği olmamasına rağmen, dış görünüş sosyal açıdan önem taşıdığından, yüz ve el sırtı gibi bölgelerde kullanılabilir(57).

Medikal Tedaviler

Kortikosteroidler (KS): Topikal, intralezyonel, intramüsküler ve oral şekilde kullanılabilirler. Topikal KS'ler % 10'un altında lezyonu olan hastalarda kullanılır. Küçük çocuklarda düşük ve orta potentli, büyük çocuklar ve erişkinlerde yüksek potentli KS'ler

kullanılır. Hastalar steroide bağı yan etkiler açısından izlenmelidir. İki ay içinde cevap gelişmezse tedavi kesilmelidir (43,66) Tretinoinle kombine kullanımda atrofik yan etkiler önlenmiştir (39). Intralezyonel triamsinolon acetonide de bir tedavi seçeneğidir. Hızlı ilerleyen , yaygın vitiligolu hastalarda ise kısa süreli sistemik KS kullanılabilir (51). Bir çalışmada, ilerleyici seyir gösteren lezyonları olan hastalarda yüksek doz metil prednizolon etkili bulunurken, lezyonları stabil olan hastalarda fayda gözlenmemiştir (84).

UV B Fototerapi: Dar band UV B (311nm) tedavisi, suberitemal dozlarda uzun süre verilebilir. Topikal UV A tedavisinden daha etkilidir . Çeşitli sitokin ve mediatörlerin salınımı ile melanositlerin proliferasyonunu sağlar (47).

Topikal Fotokemoterapi: Vücut yüzeyinin %20'sinden azı tutulduğu durumlarda kullanılır. Psoralenlerin sistemik yan etkilerinden korunulması ve 2 yaşından büyük çocuklarda da kullanılabilmesi büyük avantajdır. %0.1'lik methoxalen (8 methoxipsoralen) hastane kullanımı, %0.001'lik konsantrasyon ise evde kullanım için uygundur. Lokal fotosensitivite riski yüksektir (37,43).

Oral PUVA Tedavisi: Yaygın, diğer tedavilere dirençli hastalığı olan ve 10 yaşından büyük hastalarda uygulanabilen en etkili tedavi şeklidir. Hastaların %50-70'inde repigmentasyon sağlanabilir. UV A ışınları aracılığı ile psoralenler melanosit aktivasyonuna ve melanin yapımı artışına neden olur. Keratinositlere melanozom transferi artar, siklik adenosin monofosfat (cAMP) uyarılması ile tirozinaz aktivitesi artar. PUVA'ya bağı repigmentasyonun kaynağı kıl foliküllerindeki melanositlerdir. Aktif melanositler epidermiste, inaktif melanositler kılların dış kök kılıfında yerleşmiş ve depolanmış olarak bulunurlar. Patolojik olaylardan etkilenmeyen inaktif melanositler, PUVA tedavisi ile aktive olurlar ve migrasyon gerçekleşir (38,41,66). Bir in vitro çalışmaya göre PUVA tedavisi

melanositlerin mikroçevrelerini veya melanosit integrin reseptör profilini değiştirerek, melanosit migrasyonuna olanak verir (63,64). Graillet ve ark., UV A ve UV B nin etkisiyle keratinositlerden NO sekresyonunun arttığını ve bu yolla pigmentasyonun gerçekleştiğini savunmuşlardır (78). Yüz ve boyun gibi bölgeler ve kıl içeren alanların tedaviye cevabı en iyidir. Tedavinin 3-6'ıncı ayında (ortalama 50 seans) hala yanıt yok ise tedavi kesilmelidir. Avuç içi ve ayak tabanı gibi kılsız bölgeler, ağız ve göz çevresi lezyonları dirençlidir. Ayrıca segmental tutulum olması, kronik hastalığın bulunması ve açık ten rengi tedaviye direnci artırır. Katarakt, anormal karaciğer fonksiyon testleri, fotosensitivite durumlarında oral fotokemoterapi uygulanmaz (43,67).

Oral PUVA tedavisinde, 0.3-0.4 mg/kg 8-metoksipsoralen alımından 90 dakika sonra veya 0.6 mg/kg trimetilpsoralen (TMP) alımından 2 saat sonra UV A alımı gerekmektedir. UV A dozu 1-2 J/cm² olacak şekilde başlanır ve her tedavide 1 J artırılır. Haftada 2 günlük uygulama ile total 100-300 seansa çıkılabilir. 5 metoksipsoralen de etkili ve daha az fototoksiktir. Psoralen alımından sonra 18-24 saat %100 UV A'dan koruyucu gözlüklerin kullanımı gerekmektedir. Ayrıca PUVA tedavisi ile birlikte retinoidler, minoksidil ve α - tokoferol de kullanılabilir. Antioksidan etkili tokoferolün kullanımı eritemi azaltır, repigmentasyonu hızlandırır (37,51,66).

PUVA-Sol Tedavisi (Psoralen güneş tedavisi): TMP alımı sonrası güneşe çıkma prensibine dayanır. Haftada 3 gün uygulanır. Oral PUVA tedavisinde alınan önlemler aynen uygulanmalıdır (37).

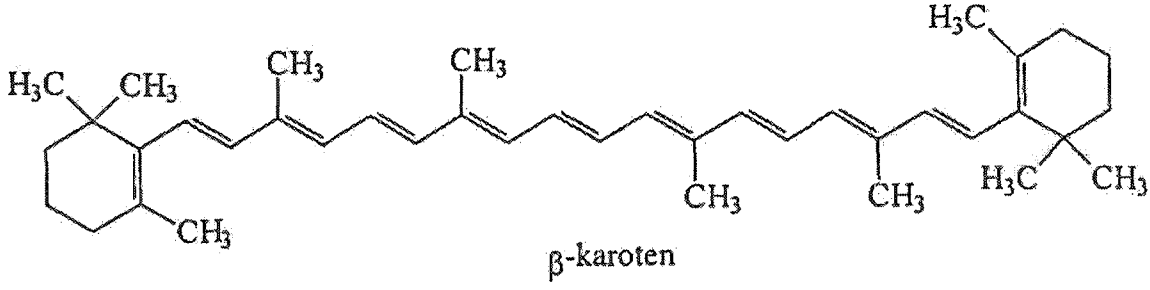
Banyo- PUVA Tedavisi: Hasta 0.5 mg/l konsantrasyonda 8MOP içeren bir küvetin içinde 20 dakika tutulur ve ardından UV A'ya maruz bırakılır. Bu yöntem ile psoralenlerin sebep olduğu bulantı, kusma gibi yan etkilerden korunulmuş olur (47).

KUVA (Khellin ve UVA) Tedavisi: Khellin anjina pectoris ve astımda kullanılan bir furanokromondur. UVA ile kombine kullanımı ile PUVA kadar başarılı sonuçlar alınmıştır. Fototoksik eritem yapmaz (51).

PAUVA (Phenylalanine-UVA) Tedavisi: α - Fenilalanin, tirozinaz varlığında melanin sentezinin substratıdır. Repigmentasyonu artırmasının yanında hastalar güneş ışınlarını daha iyi tolere eder (22).

β Karoten: A vitamini prekürsörü olan β karoten besinsel bir antioksidandır. Lipid solubldür ve membran lipidlerini peroksidatif hasara karşı korur. Singlet oksijen, peroksil radikali (OH°), süperoksit anyonu (O_2^-), vücutta nitrik oksitin oksidasyonu ile oluşan nitrojen dioksit gibi reaktif oksijen türevlerini (ROT) ve serbest radikalleri temizleyerek çalışır (52). Melanin molekülünün yükünü hafifletir, membran stabilizasyonu gibi etkileri vardır (11). Zincir kırıcı antioksidan olarak da görev alır. α tokoferolün zincir kırıcı antioksidan etkisini tamamladığı düşünülmektedir (12).

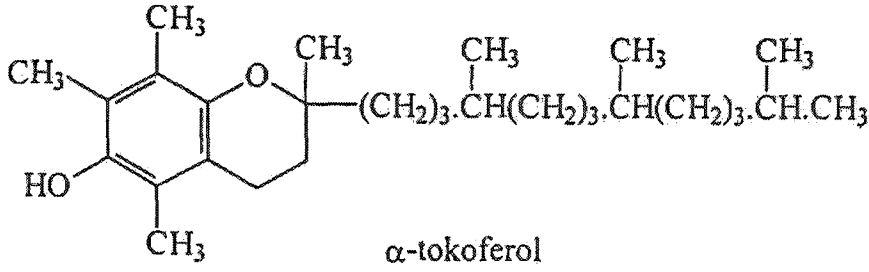
Ayrıca UV radyasyonu sonrasında deride hasar oluşumunu ve kızarıklığı önler. β karoten epiderminin korneum tabakasında birikerek derinin turuncu sarı renk almasını böylece kozmetik olarak kamufleji sağlar. Oral 25-30 mg'lık kapsülleri günde 3-6 kez alınabilir (37). Provitamin A karotenoidler, A vitaminine organizmanın ihtiyacı kadar çevrilirler. Bu yüzden yüksek doz karotenoid alımı A vitamini hipervitaminozuna ait semptomlara neden olmaz. Antioksidan özelliği provitamin A özelliğinden bağımsızdır. Karsinojenik, mutajenik veya teratojenik etkiye sahip değildir (12,29,37). β Karotenin kimyasal yapısı şekil 1 de görülmektedir.



Şekil 1 : β Karotenin kimyasal yapısı

E Vitamini : Picardo ve ark. E vitamini ve diğer antioksidan vitaminlerin antioksidan havuza katkıda bulunarak aktif vitiligolu hastalarda yararlı olabileceğini savunmuşlardır (72). Maresca ve ark. da serbest radikal aracılı melanosit hasarının, bir grup antioksidanla önlenebileceğini bildirmişlerdir (61). E vitamini eksikliği olan sıçanlarda kalp dokusundaki mitokondrilerde süperoksit dismutaz aktivitesinin azalması, serbest oksijen radikallerinin artması ve bunun sonucu olarak mitokondrial fonksiyonlarda azalma gösterilmiştir (34). Juhlin ve ark. psoriasis, atopik dermatit ve diğer bazı hastalıklarda azalmış glutatyon peroksidaz seviyeleri tespit etmişlerdir. Tokoferol ve selenyum desteğiyle enzim seviyeleri yükselmiştir. Diğer bir çalışmada ise in vitro olarak C ve E vitamini ile birlikte β karotenin NO'ya karşı sinerjistik hücre koruması yaptıkları bulunmuştur (20). Bazı çalışmalar ise oksidatif hasara karşı E vitaminin etkisini kanıtlamakta başarısız olmuştur. Hatta endojen fotosensitivite artışına neden olabileceği ve prooksidan etki gösterebileceği bildirilmiştir (97).

1922 yılında keşfedilen E vitamini tokoferol yapısındadır ve esansiyeldir. α, β, γ ve δ tokoferol E vitamini aktivitesi gösterir. Bunlar arasında biyolojik ve antioksidan aktivitesi en fazla olan α tokoferoldür. Şekil 2 de α Tokoferolün kimyasal yapısı görülmektedir.



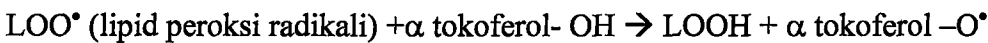
Şekil 2 : α -Tokoferolün kimyasal yapısı (34)

Bitkisel yağlar, yer fıstığı, badem, keten tohumu, yumurta sarısı ve yağlı sütte bulunur.

E vitamininin oral alımı çok güvenlidir. Tedavi edici doz aralığı 300- 1600 U/gün'dür.

Antikoagülan tedavi alan hastalarda K vitamini ile etkileşimi dışında herhangi bir kontraendikasyon yoktur. Diare, halsizlik, intestinal kramp, tromboflebit ve akne nadiren görülebilir. İmmün sistemi stimüle ederek enfeksiyon insidansını düşürücü, kanser başlamasını önleyici etkisi olduğu bildirilmiştir (70,97).

Hücre membranlarındaki polidoymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan, lipid peroksidasyonunu önleyen ilk savunma mekanizmasıdır. Bu etki kimyasal yapısındaki fenolik grubun serbest radikallerle reaksiyona girmesi ile olur. $O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$, singlet oksijen, lipid peroksi radikallerini temizler. Zincir kırıcı bir antioksidandır. Lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırır. Bu reaksiyon aşağıda görülmektedir.

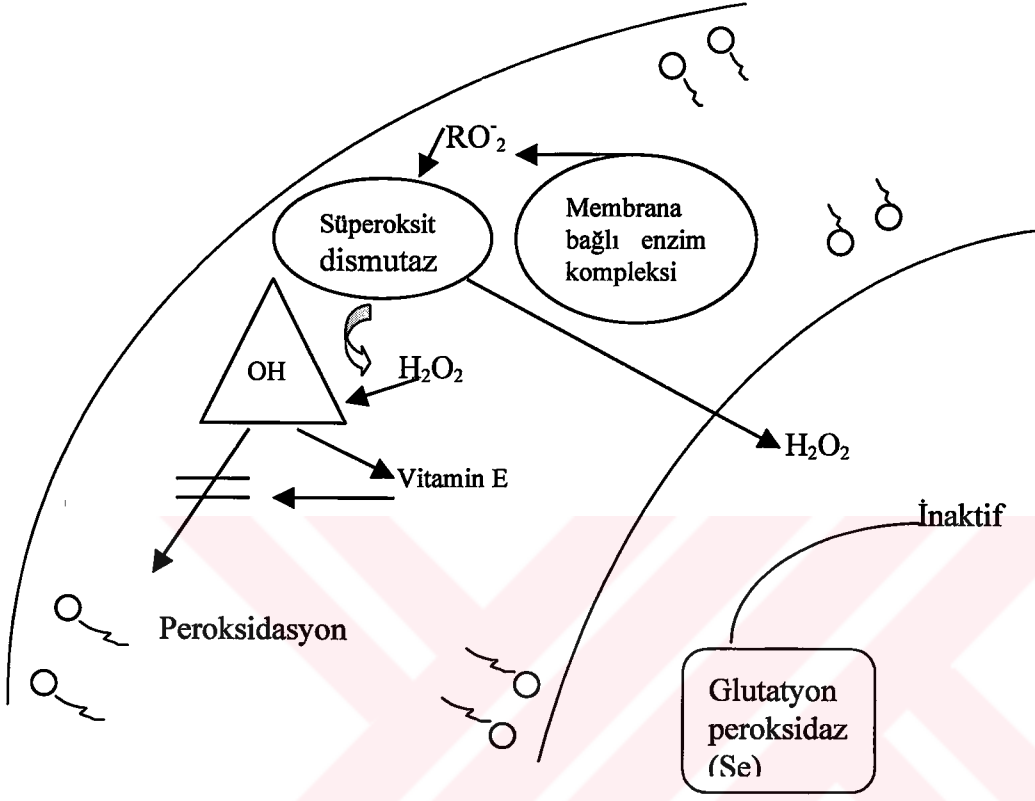


(etkisiz tokoferol radikali)

Her okside olmuş tokoferol molekülü α tokoferol-OH haline indirgenmelidir.

Askorbat ve glutatyon peroksidaz bunu gerleştirir ve askorbat radikali oluşur. Her iki radikal de stabildir. Oksijenle zayıf reaksiyon verir ve güçlü oksidasyon redüksiyon yapmazlar

(70,97). Şekil 3'te hücre membranında oluşan oksijen ara ürünleri ve E vitamininin koruyucu mekanizmalardaki rolü şematize edilmiştir.



Şekil-3: Hücre membranında E vitamininin koruyucu mekanizmadaki rolü (34).

Alternatif Medikal Tedaviler:

1.Psödokatalaz ve kalsiyumun UV B ile kombine kullanımı: Shallreuter ve arkadaşları topikal pseudokatalaz ve kalsiyum uygulamasından sonra kısa süreli UV B maruziyetiyle, yüz ve el sırtı lezyonlarının tedavisinde yüksek oranda başarı elde etmişlerdir. Katalaz aktivitesinin azalması, etkili BH_4 döngüsü ve artmış monoaminoksidaz-A (MAO-A) aktivitesine bağlı olarak H_2O_2 üretimi olur, kalsiyum dengesi bozulur. Etkisiz olan katalazın yerine pseudokatalazın kalsiyum ile birlikte konulup UV B verilmesi repigmentasyonu sağlar (51,80).

2.İnsan plasental ekstrezi olan Melagenine'nin topikal olarak kullanımı sonrasında infrared ışını veya güneş ışınına maruziyet (51).

3.Isoprinosine ve Levamizol gibi immünmodulatorların sistemik kullanımı (43).

4. Folik Asit, B12 vitamini, Askorbik Asit gibi multivitamin tedavileri (43).

5.Dermatomal bazı olgularda MAO inhibitörlerinin kullanımı (11).

6. Lokalize vitiligolu hastalarda Xenon Chloride Lazer kullanımı (10).

7.Diğer: Prostaglandin inhibitörleri, topikal ve sistemik dopa, klofazimin, dapson, seks steroid tiroid hormon mikstürü, siklofosfamid, klorambusil, penisilamin, siklosporin, inosipleks, pentoksifilin, mekloreタミン, katran tedavisi.

Depigmentasyon Tedavisi: %50'nin üzerinde tutulumu olan, 40 yaşından büyük, PUVA ve diğer tedavilere cevap vermeyen, kalıcı depigmentasyona razı olan hastalara uygulanabilir. Melanositleri yıkan Hidrokinonun monobenzil eteri kullanılır. Kontak dermatit, kaşıntı, deri kuruluğu, konjonktival melanozis, korneada pigment birikimi, saçlarda grileşme gibi yan etkiler görülebilir (43). Tedavi sonrasında yüksek faktörlü güneşten koruyucular

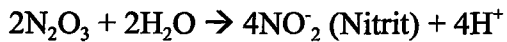
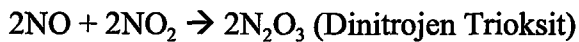
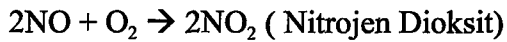
kullanılmalıdır. Süt beyazı renkten memnun olmayan hastalarda β karoten kullanarak, deri renginin sararması sağlanabilir (66).

Cerrahi Tedaviler: Durağan vitiligolu hastalarda uygundur. Amaç normal deriden vitiligolu deriye greft koymak veya melanositlerin transplantasyonudur. Sınırlı, ilerleyici olmayan, başka tedavilere dirençli hastalara uygulanır. Cerrahi tedavi sonrası repigmentasyonun devamı için PUVA uygulaması da gereklidir (42,53,60,62,65).

NİTRİK OKSİT (NO)

1914 yılında Sir Hanry Dale hayvan deneylerinde in vivo olarak asetilkolinin vazodilatasyona ve arteriyel kan akımında artışa neden olduğunu bulmuştur. Furchgott ve Zawadski ise 1980 yılında asetilkolinin bu etkisine, endotel kaynaklı gevşetici faktör adını verdikleri, endotelden salınan bir maddenin aracılık ettiğini keşfetmişlerdir. 1987 yılında ise Palmer ve arkadaşları endotel kaynaklı gevşetici faktörün aslında NO adlı bir gaz olduğunu bulmuşlardır (7,35,44).

NO bir azot atomu ile bir oksijen atomunun elektron ile birleşmesinden oluşur. Eşleşmemiş elektron içerdiğinden reaktif bir üründür (4). Renksiz bir gaz olan NO suda ve yağda çözünebilir. Hücre membranlarından kolayca geçebilir. Yarı ömrü saniyelerle ifade edilir (3). Moleküler oksijen varlığında hızla ve spontan olarak otooksidasyona uğrar ve çeşitli nitrojen oksit formlarını oluşturur (75). Bu reaksiyonlar aşağıda görülmektedir.



NO'nın spontan otooksidasyonundan oluşan ürün nitrit olmasına rağmen, yüksek NO'e maruz hastaların plazma ve idrarlarında NO_3^- (nitrat) seviyeleri de yüksektir (75). Bunun kanda nitritin hemoglobin ile reaksiyona girip nitrate dönüşmesi ve idrarla atılması şeklinde olduğu düşünülmektedir (49).

Oksijenlenen solüsyonlarda nitritin nitrate dönüşümü yavaştır ve nitrat oluşumu düşüktür . Bu nedenle genellikle nitrit ölçümü yaparak NO üretimi hakkında bilgi edinilebilmektedir (91)

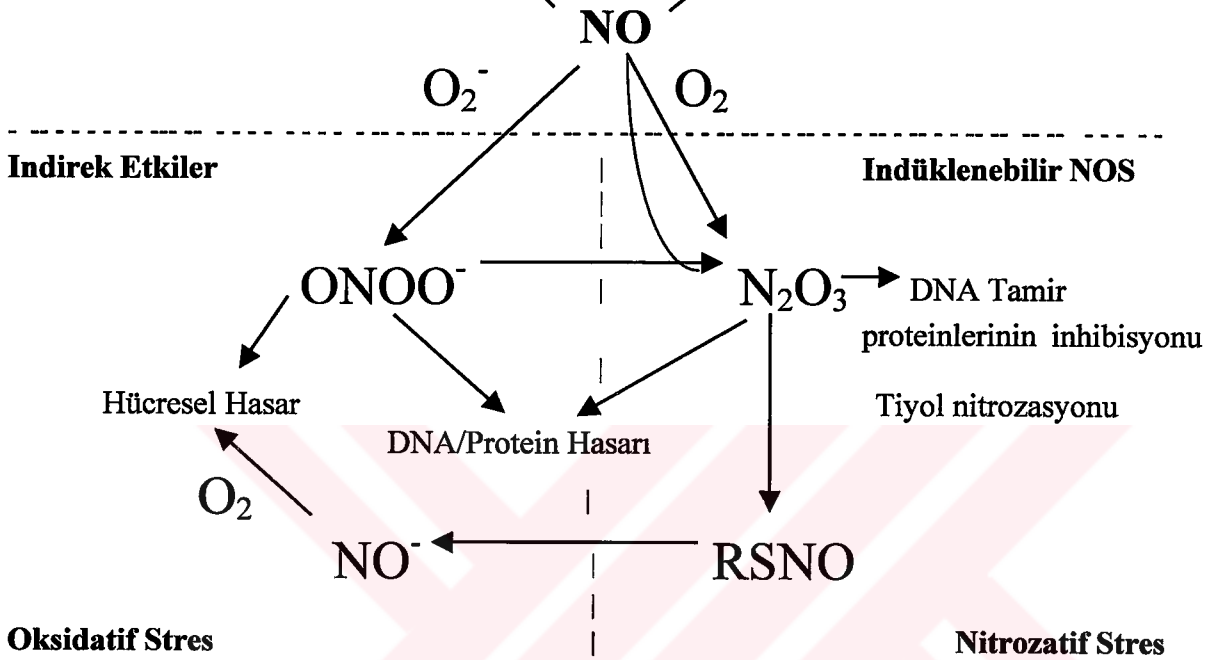
NO biyolojik olarak birçok reaksiyona girer. Kimyasal reaksiyon çeşitliliği nedeniyle bu reaksiyonların hangilerinin daha fazla önem taşıdığını anlamak zordur. Bu yüzden kimyasal reaksiyonları direk ve indirek etkiler olarak ayırmak yerinde olur.

NO nitrozatif ve oksidatif stres reaksiyonlarında yer alır. Bu iki stres arasında bir denge vardır. Bu dengenin bozulmasıyla, sinyal iletimi görevinden, hücre ölümüne doğru bir kayış olur. Direk ve indirek etkiler Şekil 4'te gösterilmiştir (96).

Direk Etkiler**Yapısal NOS**

Reaktif oksijen türleri ile oluşan oksidatif stresi azaltma

Demir içeren proteinlerle reaksiyon



Şekil 4: NO'nın direk ve indirek etkileri (96)

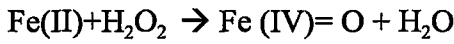
1.Direk Etki: Direk reaksiyonlar hızlıdır, düşük konsantrasyonda NO gerektirir ve çoğunlukla fizyolojik etkilerden sorumludur.

A:Nitrik oksit ve metal bileşikleri arasındaki reaksiyonlar:

Ençok görülen reaksiyon NO ile hem içeren proteinler arasında olur. Bunlardan en önemli protein ise eriyebilir guanilat siklazdır. Bu etkileşim enzim aktivasyonuna ve guanozin trifosfatın (GTP) siklik guanozin monofosfata (cGMP) dönüşüme neden olur. Böylece vasküler tonus, trombosit fonksiyonları, nörotransmisyon ve diğer hücrel fonksiyonlar gelişir. Guanilat siklaz aktivasyonunun tersine, NO sitokrom p450'yi inhibe eder. Ayrıca NO, testosteron sentezini kontrol ederek hormon metabolizmasını düzenler (96).

B:Nitrik oksitin metal-oksijen ve metal-okso bileşikleri ile etkileşimi:

NO'in oksihemoglobinle birleşmesi ile methemoglobin ve nitrat oluşur. Bu reaksiyon ile in vivo NO miktarı kontrol altına alınır. NO ayrıca metal perokso ürünleri ile de reaksiyona girer. Hidrojen peroksit etkisi ile oluşan reaktif metal bileşikleri hücresel hasar ve lipid peroksidasyonuna neden olur. Oluşan metal bileşiği NO ile reaksiyona girerek eski haline döner. Bu reaksiyon aşağıda görülmektedir.



Burada NO 'in antioksidan özelliği ortaya çıkar ve dokuları peroksit aracılı hasardan korumuş olur (8,96).

C: Nitrik oksitin radikal türleri ile reaksiyonu:

Lipid peroksidasyonu sırasında birçok lipid-oksi ve lipid-peroksi ürünleri oluşur. NO reaktif oksijen türlerini uzaklaştırarak hücreyi lipid peroksidasyonundan korur. Çeşitli lipid oksidasyon basamaklarına aracılık eden lipoksijenaz da NO tarafından inhibe edilir (96).

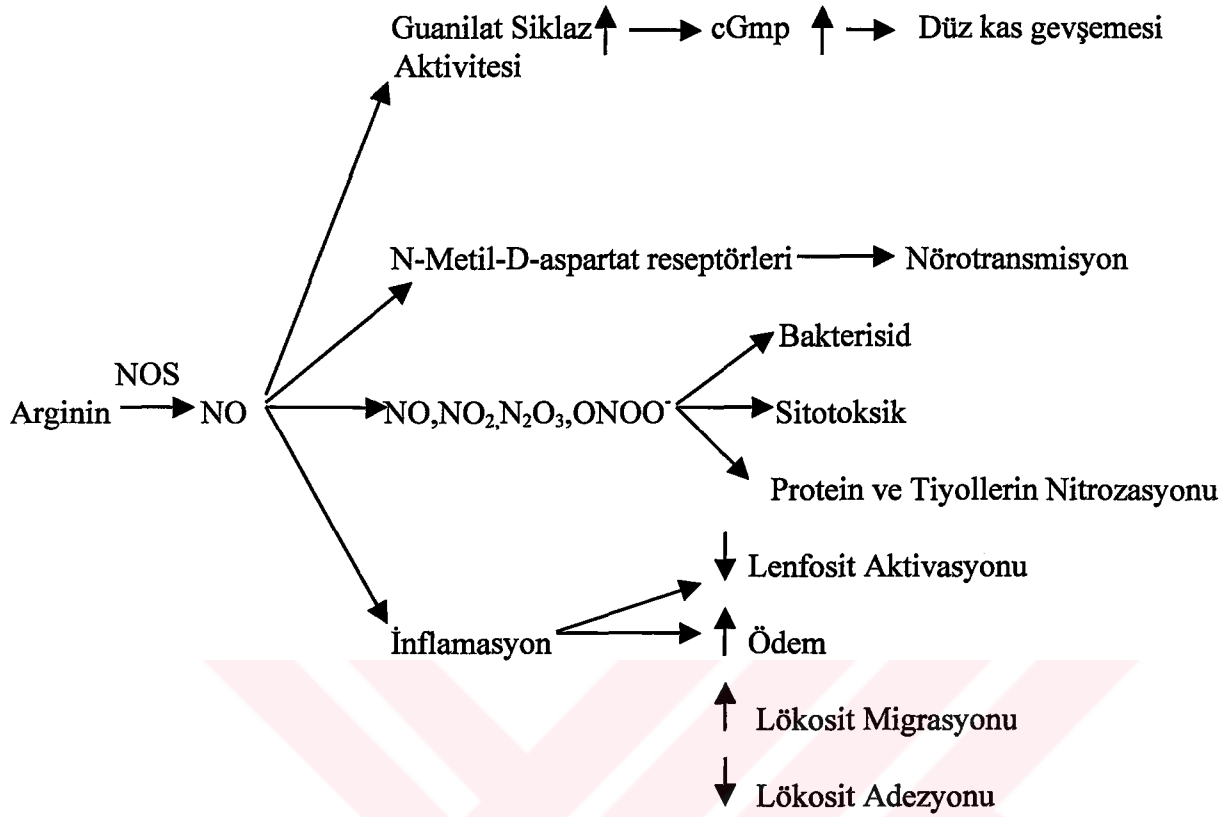
2:İndirek Etki: Patofizyolojik durumlarla ilişkilidir. NO'in O_2^- , O_2 ile reaksiyonu sonucu oluşan reaktif nitrojen oksit türlerinin yüksek miktarları aracılığıyla olur. NO/ O_2 reaksiyonu in vivo olarak NO'i yakalayarak direk etkilerini önler. Bir diğer ürün N_2O_3 nükleofillerin nitrozilasyona uğrattırırken, ONOO^- , NO^- ve NO_2 ise oksidatif olaylarda rol alır.

Proteinlerdeki tiyol grupları ile reaksiyona giren NO, enzim ve reseptör fonksiyonlarını değiştirir (8).

NO sentezi: NO, yapısal ve indüklenebilir nitrik oksit sentazlar ve birçok kofaktörler aracılığıyla, yarı esansiyel bir aminoasit olan L-argininin, terminal guanido atomlarının N-oksidasyonu sonucu vücutta pek çok yerde oluşmaktadır (44,75,91).

Değişik dokularda NOS'ın çeşitli izoformları mevcuttur. Yapısal NOS hücrede yapısal olarak sentezlenir ve kalsiyum kalmodulinle aktive edilir. Başlıca endotelial hücrelerde (eNOS) ve nöronlarda (nNOS) bulunur. Derideki kaynağı endotelin yanında keratinositler, melanositler, fibroblastlardır. Uyarılmayla düşük miktarlarda ve geçici olarak NO salınımına neden olur. Yapısal NOS'lar başlıca kan basıncının düzenlenmesi, lokal kan akımı , eritem ve nörotransmisyonundan sorumludur (21,75).

İndüklenebilir NOS (iNOS) vasküler endotel dışında , makrofajlar, lenfositler, damar düz kas hücreleri , endomiyokard, hepatositler, pulmoner epitel hücreleri gibi çeşitli dokularda bulunur. Derideki kaynağı keratinositler, endotel hücreleri , Langerhans hücreleri ve fibroblastlardır. iNOS, lipopolisakkarid veya interferon γ , TNF α , interleukin 1 β gibi sitokinler tarafından indüklenmektedir. Kalsiyum kalmodulinden bağımsızdır. Çok yüksek ve toksik miktarda , hücrenin ömrü boyunca NO sentezini katalizlemektedir. NO oluşumu yapısal NOS'ın oluşturduğundan 1000 kat fazladır. İmmünregülasyon, konakçı immün defansı ve diferansiasyondan sorumludur. NOS izoformlarından çoğu aktivite gösterebilmek için NADPH, BH₄, FAD ve FMN gibi kofaktörlere ihtiyaç duyarlar(21,75,79). NO oluşumu ve bazı fonksiyonları Şekil 5'te görünmektedir.



Şekil-5: Nitrik Oksit Oluşumu ve Bazı Fonksiyonları (75).

NO'nin fizyolojik ve patofizyolojik etkileri

NO birçok sistemde biyolojik role sahiptir. Kardiyovasküler sistemde NO'nin iyi bilinen önemli fizyolojik etkileri mevcuttur. Endotel kaynaklı yapısal NOS sayesinde az miktarda salınan NO ile küçük arter ve arteriollerde bazal vasküler düz kas gevşemesi sağlanır. Sistemik kan basıncının sağlanmasının yanında , beyin, kalp, akciğer, gastrointestinal sistem, deri ve penil korpus kavernozuma lokal kan akımını da kontrol eder. Endotel kaynaklı NO, prostasiklin ile birlikte trombosit adezyon ve agregasyonunu da önler. Endoteldeki foksiyonel bir bozukluk NO sentezini bozarak hipertansiyona neden olur.

Reynaud fenomeninde NO yapımının azaldığı gösterilmiştir. Endotoksik şokta ise çok miktarda NO salınımı vardır ve NO inhibitörleri kullanılarak önlenabilir (7,21,75).

NO solunum sistemde de fizyolojik bir haberci görevi yapar. Doğumda artan NO aktivitesi pulmoner damarlardaki direnç azalmasına katkıda bulunur. Pulmoner hipertansiyonda ise inhalasyon yoluyla verilen NO, pulmoner damar direncini düşürür (2,7,44).

NO sinir sisteminde hem merkezi hem de periferik nöronal aktiviteyi düzenleyerek görev yapar. Hafıza oluşumunda da etkili olduğu düşünülmektedir. Düşük seviyeleri nörotransmitter ve nöronal aktiviteyi koruyucu etki gösterirken, uzun süreli ve yüksek miktarları nörotoksiktir. Serebral iskemi sonrasında doku yıkımı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, AIDS'e bağlı demansta NO'nin rolü vardır. Diabetik mikroangiopati ve polinöropatide de bozulmuş endotelial NO üretimi vardır (7,21,44).

Gastrointestinal sistemdeki sfinkterler de gevşetici tonus için NO'ye ihtiyaç duyar. Myenterik pleksustan salınan NO, adaptif gastrik dilatasyon ve peristaltizm ile ilişkilidir. Mide mukozasında vazodilatasyon ile bütünlüğü sağlar (8,44). Pilor stenozunda NO eksikliği söz konusudur. İndüklenmiş NO oluşumunun, tip 1 Diabetes mellitustaki pankreas β hücre yıkımına neden olduğu bulunmuştur (7).

NO'nin akut ve kronik inflamatuvar reaksiyonları düzenlediği düşünülmektedir. Yapısal NOS'ın ürettiği az miktardaki NO lenfosit aktivasyonunu ve lökosit adezyonunu azaltarak antiinflamatuvar etki eder. iNOS'ın ürettiği yüksek miktardaki NO, lökosit migrasyonunu artırarak proinflamatuvar etki gösterir (75).

NO'nin immünite ve otoimmünitede de rol aldığı düşünülmektedir. Th hücreler ve bunların sitokinleri NO üretimini düzenler. Th₁'den salgılanan IFN- γ ; iNOS enzimini

indüklerken, Th_2 sitokinleri IL-4 ve IL-10 iNOS'ı baskılar. Oluşan NO ise negatif feed back etkiyle IFN- γ ve IL-2 salınımını baskılayarak Th_1 hücre proliferasyonunu inhibe eder (13). Th_1/Th_2 dengesizliğinin söz konusu olduğu bazı hastalıklarda NO üretimini düzenleyici ilaçların kullanılması, tedavide gelişmelere neden olabilir (24). Aktive makrofajlar, nötrofiller ve lenfositlerden üretilen NO, bakteriyel ve tümöral hücrelerin fagositozunu artırır (21,44). Bakteriler dışında virüsler, parazitler, protozoolar, mantarlar ve mikobakterium tüberkülozis, mikobakterium lepra, leşmanya, plazmodyum falsiparum gibi intraselüler patojenlere karşı özgül olmayan immünitede de etkilidir (21). Yüksek miktarlardaki NO patojen mikroorganizmalara toksik olmasının yanında, normal hücreleri de tahrip edebilir. Çünkü, çoğu inflamatuvar ve otoimmün lezyonda makrofajlar ve granülositlerin aktivasyonunda artış vardır. Bu da yüksek miktarda NO salınımına neden olabilir (54). Transplant hastalarında NO artışının takibi rejeksiyonun erken farkedilmesini sağlar. Bu hastalarda immünsüpresif tedavi ile NO'nın düşürüldüğü gösterilmiştir (58).

NO'nın Derideki Etkileri:

Normal deride yapısal NOS sayesinde üretilen NO, dermal kan damarlarında vazodilatasyona neden olarak kan akışını düzenler (91). Uyarılmış NOS'ın oluşturduğu NO ise deride immünolojik bariyer olarak görev yapar (21). Normal deri florasında ter nitrati bakteriler tarafından nitrite indirgenir. Bu da asidik ortamda NO'e dönüşür. Ellerde bu oluşum en fazladır. NOS antagonistlerinin kullanılması deri kan akımını azalttığı halde, NOS'tan bağımsız olan deri yüzeyindeki nitrit oluşumunu etkilememiştir (94,95).

Psoriatik deride normal deriye göre çok fazla NO üretilir. Artmış IL-1 β ve TNF- α seviyeleri iNOS'ı stimüle ederek fazla miktarda NO salgılatır. Psoriasisli hastaların

serumlarında artmış NO seviyeleri tespit edilmiştir. Psoriasisli hastalarda enfeksiyonlara az rastlanması NO'ye bağlı olabilir (94).

Allerjik egzematoz kontakt dermatit (AEKD) ve atopik egzemada dermiste iNOS ekspresyonu gözlenmiştir (79).

Vitiligoda NO'nın rolü bilinmemektedir. NO ve melanosit etkileşimi konusunda çok az çalışma mevcuttur. Yapısal NOS ekspresyonunun, in vitro olarak normal ve transforme melanositlerin hücre dışı matriks bileşenlerine adezyonunu düzenlediği gösterilmiştir. İnflamasyon sonucu üretilen yüksek miktarlardaki NO'nın, bu adezyonu engelleyebileceği ve in vivo olarak da melanosit kaybına neden olabileceği öne sürülmüştür (50). Graillet ve ark. UV A ve UV B etkisiyle keratinositlerdeki yapısal NOS'ın aktive olarak NO sentezlediğini ve PUVA'da elde edilen pigmentasyonun bu yolla indüklendiğini savunmuşlardır (78).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇ:

Olgu Seçimi:

Çalışma kapsamına Eylül 1999 ile Mart 2000 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı polikliniğinde vitiligo tanısı alan yaygın lezyonları olan 40 hasta alındı ve randomize olarak iki grup oluşturuldu. Çalışmanın devamında 8 hasta ilacı temin edememe veya zamanında kontrole gelememe gibi nedenlerle çalışma dışı bırakıldı. Hastaların 14'ü kadın, 18'i erkekti. Yaşları 14 ile 64 arasında değişiyordu. Hastalarda sistemik veya inflamatuvar bir hastalık olmamasına dikkat edildi. Son altı ay içinde herhangi bir tedavi alanlar çalışma dışı bırakıldı. Tablo III'te grup1, tablo IV'te grup 2 deki hastaların isim, yaş ve cinsiyetleri gösterilmiştir.

Kontrol grubu, yaşları 21 ile 70 arasında değişen, 9'u erkek, 6'sı kadın olmak üzere toplam 15 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu. Tablo V'de kontrol grubunun isim, yaş ve cinsiyet dağılımları gösterilmiştir.

Tablo-III: Birinci gruptaki hastaların isim, yaş ve cinsiyet dağılımları.

	Adı-Soyadı	Yaşı	Cinsiyeti
1	S.A.	35	K
2	A.Ç.	20	E
3	Ö.O.	22	K
4	B.A.	37	E
5	S.B.	19	K
6	S.Ç.	20	E
7	S.D.	18	E
8	A.A.	52	K
9	S.Ş.	64	E
10	H.Ö.	34	K
11	N.H.	25	K
12	N.Ö.	35	E
13	M.G.	40	E
14	H.S.	19	E
15	N.G.	30	K

Tablo-IV:İkinci gruptaki hastaların isim, yaş ve cinsiyet dağılımları.

	Adı-Soyadı	Yaşı	Cinsiyeti
1	A.T.	14	E
2	H.K.	18	E
3	Y.G	18	K
4	H.A.	27	K
5	C.Ş.	35	E
6	N.T.	45	K
7	D.E.	47	E
8	İ.T.	40	E
9	A.B.	32	E
10	M.S.	19	E
11	Ö.K.	30	E
12	İ.Ş.	46	E
13	Z.N.	16	K
14	F.F.	39	K
15	P.Ş.	28	K
16	S.K.	53	K
17	K.C.	22	E

Tablo-V:Kontrol grubunun isim, yaş ve cinsiyet dağılımları.

	Adı-Soyadı	Yaşı	Cinsiyeti
1	Y.K.	35	E
2	C.D.	26	K
3	H.A.	26	E
4	G.T.	30	E
5	S.E.	35	K
6	H.E.	27	E
7	A.A.	21	K
8	Ç.Ö.	24	E
9	F.K.	40	K
10	S.A.	36	K
11	M.N.	70	E
12	B.Ö.	26	K
13	Ö.Ö.	41	E
14	M.B.	26	E
15	F.Ö.	44	E

YÖNTEM

Tedavi öncesinde nitrit ölçümü için kan örnekleri alındı. Ayrıca enfeksiyon, otoimmün tiroidit ve olası karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğunu dışlamak için, rutin biyokimyasal değerlendirmeler, tam kan tetkikleri ve tiroid fonksiyon testleriyle tiroid otoantikorları düzeyleri bakıldı.

15 kişiden oluşan birinci gruba, β karoten 120mg/gün (Carovit 20mg'lık kapsüllerden günde üç kez ikişer kapsül olacak şekilde), 17 kişiden oluşan ikinci gruba β karoten 120mg/gün + α tokoferol 400mg/gün (Evicap 400mg'lık kapsüllerden günde bir kez olacak şekilde) başlandı. Tedavi başlangıcından bir ay sonra serumda nitrit tayini için tekrar kan alındı. Ayrıca rutin biyokimyasal ve tam kan tetkikleri tekrarlandı.

Nitrit Düzeyi Ölçümü İçin Kan Örneklerinin Hazırlanması:

Çalışmaya alınan 15 sağlıklı gönüllüden ve tedavi öncesi ve sonrasında 32 hastadan alınan 5ml'lik kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine konuldu. 5 dakika süreyle dakikada 3000 devir olacak şekilde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen serumlar konik tüplere alınarak nitrit tayini yapılmaya kadar -20°C 'de derin dondurucuda saklandı.

Serum Örneklerinde Nitrit Düzeyi Ölçümü:

Kullanılan maddeler ve hazırlanmaları:

- Sodyum nitrit (Merck, USA)
- Fosforik asit %2.5 (Merck, USA)
- Sülfonilamid (Merck, USA)
- N-1-naftiletilediamin dihidroklorür (NED) (Merck, USA)

Sodyum nitrit deney sırasında distile su içinde çözülmüştür. Fosforik asitin % 85'lik çözeltisinden distile su ile % 2.5'lik çözeltisi hazırlanmış ve +4° C'de saklanmıştır. Sülfonilamid ve NED, ölçüm sırasında %2.5'lik fosforik asit içinde çözülerek hazırlanmıştır.

Kullanılan Malzemeler:

•Kültür plağı (mikroplate) spektroskopik okuyucusu (Diagnostic Pasteur, LP400, Germany).

Diazotizasyon yöntemi ile spektrofotometrik olarak nitrit ölçümü (91):

Serum örneklerindeki nitrit konsantrasyonu, nitrit iyonlarına duyarlı olan Griess reaksiyonu temeline dayanan diazotizasyon yöntemi ile indirekt olarak ölçülmüştür. Standart olarak kullanılacak sodyum nitritin, distile suda çözeltileri (0.25-10 μ M) hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden veya serumdan alınan 10 μ L örnek sülfonilamid 50 μ L ve NED 50 μ L ile düz tabanlı 96 kuyucuklu kültür plağında karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 10 dakika bekleyen örneklerin verdikleri absorbensler, kültür plağı okuyucuda 620 nanometre referans filtreye karşı 550 nanometrede okunmuştur. Sodyum nitrit miktarlarına karşı elde edilen absorbenslerden yararlanılarak, doğrusal regresyon yöntemi ile, sodyum nitritin kalibrasyon doğru denklemi belirlenmiştir. Bu denklemlerden yararlanarak, serum örneklerinden okunan absorbens değerlerinden nitrit miktarları bulunmuştur.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın istatistiksel analizi Statistical Pocket for Sciences 9 (SPSS 9) programı ile yapılmıştır. Sonuçların karşılaştırılmasında “Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek testi” ve “Mann-Whitney U Testi” kullanılmıştır. P<0.05 olarak bulunan değerler için karşılaştırılan gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edilmiştir.

BULGULAR

Hasta grubundaki olguların yaşları 14 ile 64 (ortalama: $31,2 \pm 12,6$) arasında değişiyordu. Kontrol grubundaki olguların yaşları ise 21 ile 70 (ortalama $33,80 \pm 12,17$) arasındaydı. Hasta grubundaki olguların 18'i erkek, 14'ü kadın iken, kontrol grubundaki olguların 9'u erkek, 6'sı kadındı. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$).

Tedavi sonrasında, tam kan ve biyokimya değerlerinde patolojik bir değişiklik olmadı.

Birinci hasta grubunun (β karoten alan hastalar) tedavi öncesi nitrit değerleri ortalaması $0,65 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$ ve ortancası $0,48 \mu\text{mol/L}$, kontrol grubundaki olguların nitrit değerleri ortalaması $0,73 \pm 0,53 \mu\text{mol/L}$ ve ortancası $0,50 \mu\text{mol/L}$ olarak bulundu. İki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$, Man whitney U testi) (Şekil-6).

İkinci hasta grubunun (β karoten +E vitamini alan hastalar) tedavi öncesi nitrit değerleri ortalaması $0,73 \pm 0,43 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0,51 \mu\text{mol/L}$, kontrol grubundaki olguların nitrit değerleri ortalaması $0,73 \pm 0,53 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0,50 \mu\text{mol/L}$ idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$, Man whitney U testi) (Şekil-7).

Birinci gruptaki hastaların tedavi öncesi serum örneklerinden elde edilen nitrit değerleri ortalaması $0,65 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0,48 \mu\text{mol/L}$, tedavi sonrası nitrit değerleri ortalaması $0,86 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0,70 \mu\text{mol/L}$ olarak saptandı. Tedavi sonrası değerler, tedavi öncesi değere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ($p = 0,0015$, $p < 0,05$ Wilcoxon) (Şekil-8).

İkinci gruptaki hastaların tedavi öncesi serum örneklerinden elde edilen nitrit değerleri ortalaması $0,73 \pm 0,43 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0,51 \mu\text{mol/L}$, tedavi sonrası nitrit değerleri ortalaması

$0.80 \pm 0.50 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0.64 \mu\text{mol/L}$ olarak bulundu. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası nitrit değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$, Wilcoxon) (Şekil-9).

Grup I'deki hastaların tedavi sonrası nitrit değerleri ortalaması $0.86 \pm 0.55 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0.70 \mu\text{mol/L}$, kontrol grubundaki olguların nitrit değerleri ortalaması $0.73 \pm 0.53 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0.50 \mu\text{mol/L}$ bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$, Mann Whitney U) (Şekil-10)

Grup II 'deki hastaların tedavi sonrası nitrit değerleri ortalaması $0.80 \pm 0.50 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0.64 \mu\text{mol/L}$, kontrol grubundaki olguların nitrit değerleri ortalaması $0.73 \pm 0.53 \mu\text{mol/L}$, ortancası $0.50 \mu\text{mol/L}$ olarak bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0.05$, Mann Whitney U) (Şekil-11).

Hasta gruplarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde kan örneklerinden elde edilen serum nitrit değerleri tablo VI ve VII' de, kontrol grubunun kan örneklerinden elde edilen serum nitrit değerleri tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo-VI: Grup I'deki hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum nitrit değerleri. ($\mu\text{mol/L}$)

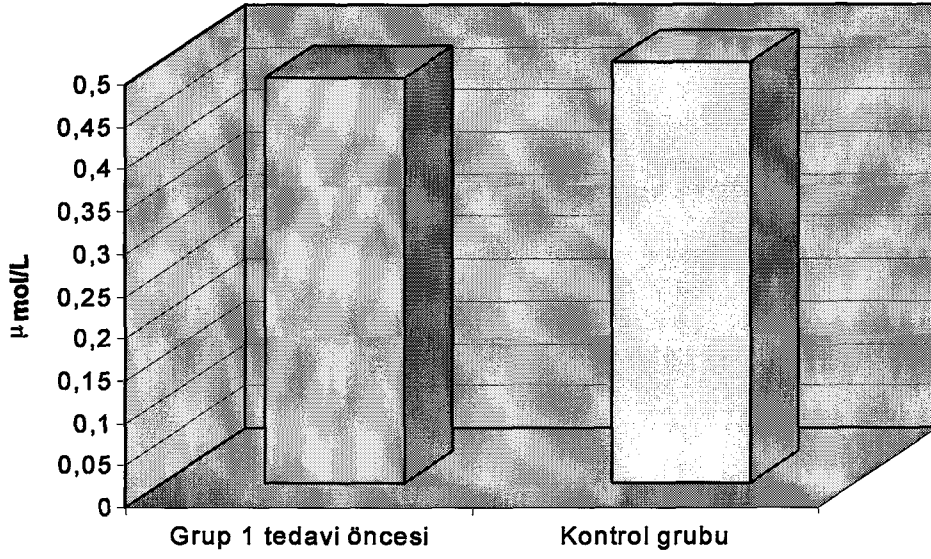
	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
1	0,40	0,47
2	0,52	0,70
3	0,28	0,58
4	1,69	1,46
5	0,27	0,44
6	0,31	0,64
7	0,48	0,76
8	0,38	0,70
9	0,54	0,87
10	0,99	0,53
11	0,37	0,64
12	2,16	2,63
13	0,49	0,81
14	0,50	0,99
15	0,33	0,64
Ortalama	0,65	0,86
Ortanca	0,48	0,70
Standart Sapma	0,55	0,55

Tablo – VII: Grup II’ deki hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum nitrit değerleri ($\mu\text{mol/L}$).

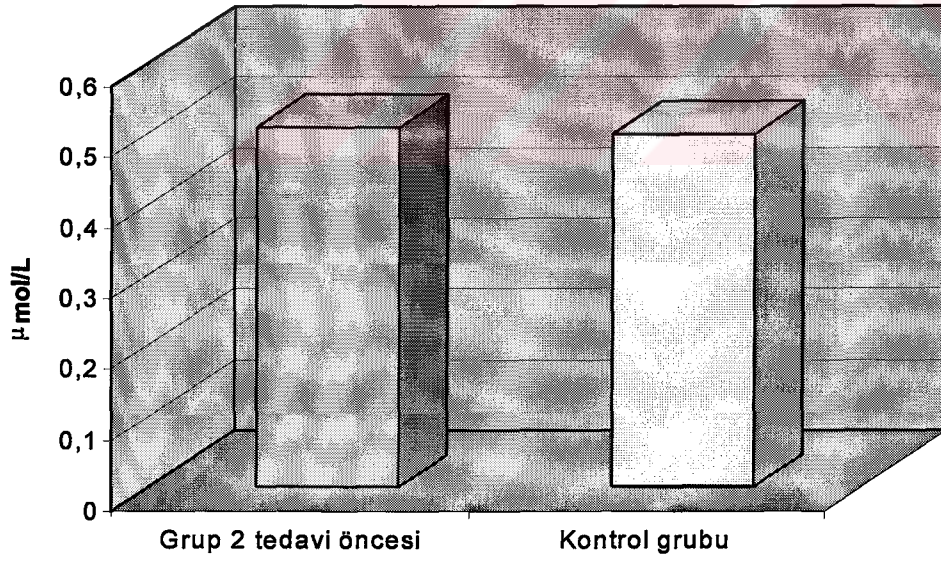
	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
1	0,51	1,35
2	0,93	1,98
3	0,50	0,38
4	1,05	0,81
5	2,10	1,98
6	0,50	0,50
7	0,40	0,81
8	0,57	0,64
9	0,47	0,70
10	0,50	0,39
11	0,54	0,70
12	0,46	0,35
13	0,47	0,53
14	0,46	0,54
15	1,16	0,81
16	0,81	0,54
17	0,93	0,64
Ortalama	0,73	0,80
Ortanca	0,51	0,64
Standart Sapma	0,43	0,50

Tablo – VIII: Kontrol grubundaki olguların serum nitrit değerleri ($\mu\text{mol/L}$).

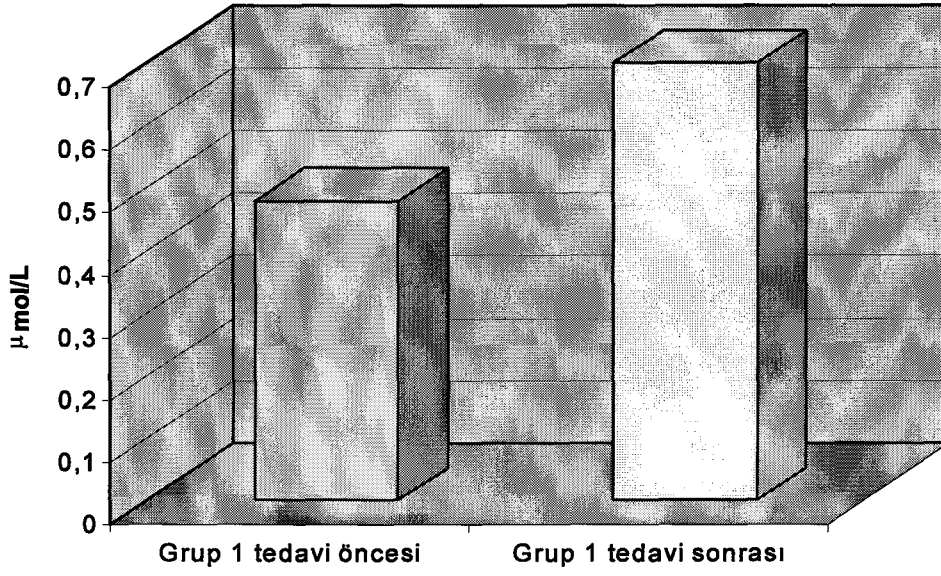
	Nitrit
1	0,51
2	2,28
3	1,52
4	0,36
5	0,43
6	0,81
7	0,34
8	0,53
9	0,46
10	0,50
11	0,81
12	0,47
13	0,42
14	0,99
15	0,50
Ortalama	0,73
Ortanca	0,50
Standart Sapma	0,53



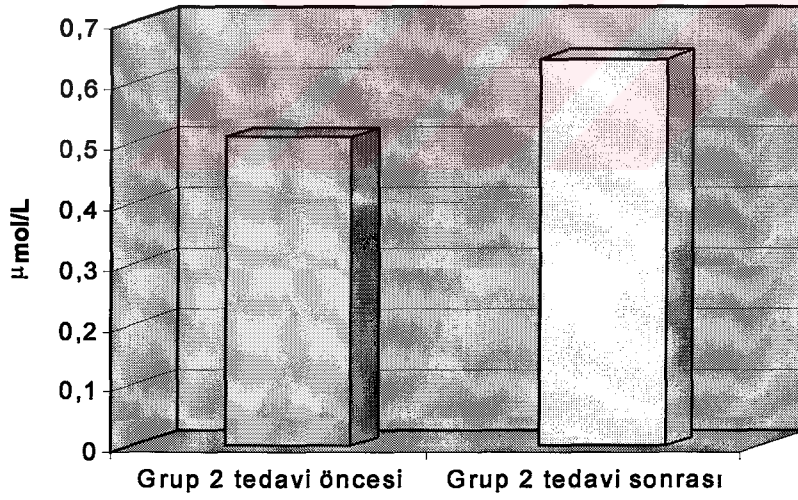
Şekil-5: Birinci hasta grubunun tedavi öncesi nitrit düzeyleri ile kontrol grubunun nitrit düzeyleri ($P>0.05$).



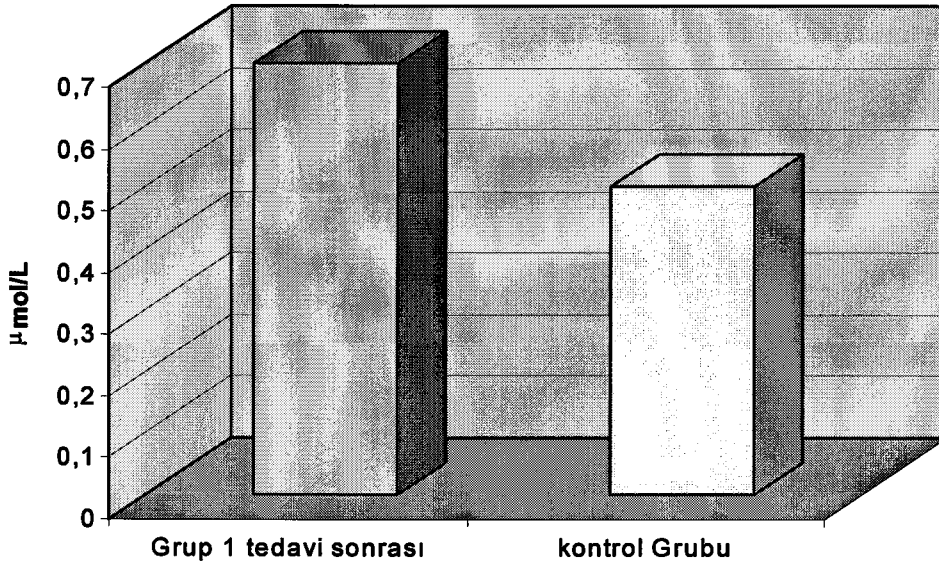
Şekil-6: İkinci hasta grubunun tedavi öncesi nitrit düzeyleri ile kontrol grubunun nitrit düzeyleri ($P>0.05$).



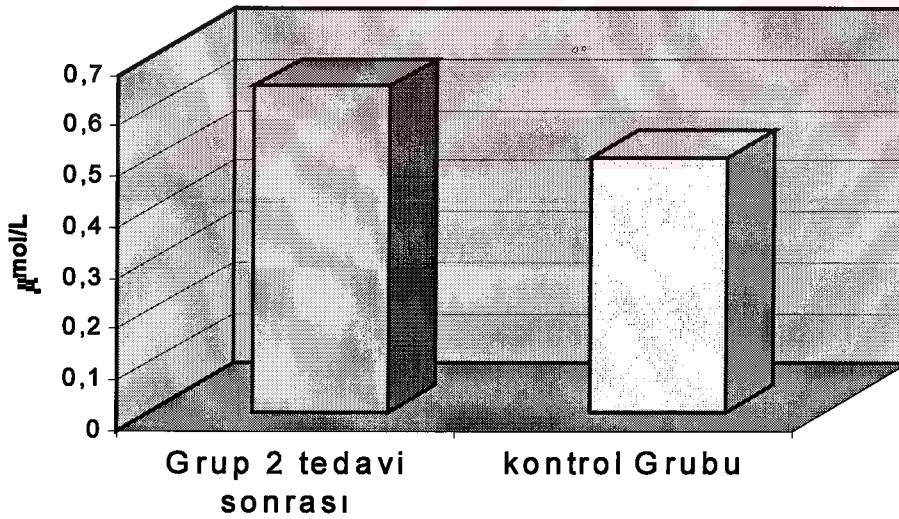
Şekil-7: Birinci hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası nitrit düzeyleri ($p < 0.05$).



Şekil-8: İkinci hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası nitrit düzeyleri ($P > 0.05$)



Şekil-9: Birinci hasta grubunun tedavi sonrası nitrit düzeyleri ile kontrol grubunun nitrit düzeyleri ($P>0.05$).



Şekil-10: İkinci hasta grubunun tedavi sonrası nitrit düzeyleri ile kontrol grubunun nitrit düzeyleri ($P>0.05$).

TARTIŞMA

Vitiligo deride melanosit kaybına bağlı olarak gelişen, bir veya daha fazla depigmente yamalar ile karakterize sık görülen bir deri hastalığıdır (11,37,43,56). Tam gelişmiş lezyonlarda histopatolojik olarak melanositler gözlenmez (57,87).

Melanosit kaybına neden olabilecek birçok teori öne sürülmesine rağmen bunlardan hiçbiri tek başına etyopatogenezi açıklayamaz. Serbest radikallerin rolü ve antioksidan savunma mekanizmalarındaki bozukluklar hakkındaki çalışmalar ise hala devam etmektedir.

Fizyolojik olaylarda önemli rollere sahip olmasının yanında, hem serbest radikal hem de serbest radikalleri yakalayıcı etkisi olan NO'nın, deride de rolü olduğu son yıllarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar inflamatuvar özellik taşıyan psoriasis, allerjik egzamatöz kontak dermatit ve atopik dermatitte serum nitrik oksit düzeylerindeki artışı göstermiştir (79). NO'nın bazı fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda iyi bilinen önemli etkilerine rağmen, melanogenezdeki rolü hakkında çok az çalışma mevcuttur (76). Oksidatif stres ile ilişkisi olduğu öne sürülen vitiligoda NO'nın serum seviyeleri ve antioksidan tedavinin NO üzerine in vivo etkisi hakkında daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Deri, hücre membranlarında demirin bulunması, zengin doymamış yağ asidi içeriği, ultraviyole ve oksijen ile sık teması nedeniyle, serbest radikallerin kolayca yıkım oluşturabileceği bir organ özelliğindedir. Ayrıca epidermis savunma mekanizması olarak çok çeşitli antioksidanlar içerir. Bunlardan enzimatik olanlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, tiyoredoksin redüktaz, enzimatik olmayanlar ise E vitamini, C vitamini, karotenoidler, selenyum, bakır ve çinkodur. Gerek antioksidanlarda azalma, gerekse radikal oluşumunda artma oksidatif stres oluşumunu başlatır (68).

Glutasyon peroksidaz antioksidan sistemin en önemli enzimidir. Bu enzimdeki azalma H_2O_2 detoksifikasyonunda azalmaya neden olur. Sonuç olarak singlet oksijen, hidroksil radikali, süperoksit anyonu gibi oksidatif stres yaratacak ürünler ortaya çıkar. H_2O_2 'nin kendisi de hücre membranında önemli derecede hasar yaratma yeteneğindedir (72).

Passi ve ark. yaptıkları bir çalışmada aktif vitiligolu hastalarda epidermal antioksidanlardan ubiquinol, E vitamini, redükte glutasyon ve katalaz aktivitesinde azalma, oksidize glutasyon aktivitesinde artma tespit etmişler ve epidermal oksidatif stresin etyolojide yer aldığını savunmuşlardır. Ubiquinol, E vitamini, selenyum ve metiyonin takviyesinin dolanan ve epidermal antioksidan havuza katkıda bulunarak tedavi edici etkilerinin olabileceğini bildirmişlerdir (71). Yapılan diğer bir çalışmada, glutasyon peroksidaz seviyeleri düşük olan bazı hastalarda, diete selenyum ve tokoferol süksinat eklenmesiyle enzim seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (97). Schallreuter ve ark. da vitiligoda düşük katalaz seviyeleri tespit etmişlerdir (81). Başka bir çalışmada, vitiligoda peroksidatif ajanlara karşı duyarlılığın arttığı tespit edilmiştir (87).

Ivanova ve ark. yaptıkları bir in vitro çalışma sonucu, incelenen kültüre melanositlerin hepsinde yapısal NOS ekspresyonu tespit etmişler ve yapısal NOS tarafından üretilen fizyolojik miktarlardaki NO'nın normal ve transforme melanositlerin otokrin modülasyonunda rolü olduğunu düşünmüşlerdir. NO donörleriyle elde ettikleri yüksek NO konsantrasyonlarında ise melanositlerin hücre dışı matriks bileşenlerine adezyonunun azaldığını tespit etmişlerdir. Enfeksiyon ve enflamasyon gibi durumlarda ise in vivo olarak NO üretiminin çok fazla artmasının, aynı mekanizma ile vitiligoda melanosit kaybını başlatabileceğini öne sürmüşlerdir (50). Rocha ve ark. da in vitro olarak sitokinlerle stimüle edilen kültüre normal melanositlerin iNOS eksprese ettiğini göstermişlerdir. Sitokinler,

melanosit sentezini inhibe eden BH_4 sentezini indükler. BH_4 de iNOS'un enzimatik aktivitesi için kofaktördür. Bu görüşten yola çıkarak NO'nin fizyolojik miktarlarının melanogenezde olumlu etki yapmasına rağmen, iNOS tarafından üretilen aşırı miktardaki NO'nin melanosit yıkımına neden olabileceğini savunmuşlardır (76).

Graillet ve ark. insan keratinositlerinin UV A ve B'nin etkisiyle NO sekrete ettiğini, bunu keratinositlerdeki yapısal NOS'ı aktive ederek yaptığını bulmuşlardır. PUVA ile elde edilen pigmentasyonu yapısal NOS tarafından üretilen NO'e bağlamışlardır. Melanosit ve keratinosit kokültürleri kullanarak NO'nin melanogenik etkisini göstermişlerdir. Ayrıca NO donörlerinin insan melanositlerinde tirozinaz aktivitesi ve melanin sentezini artırdığını bulmuşlardır. Bu etkinin melanogenezde rol oynayan tirozinaz ve tirozin related protein-1 artışıyla korele olduğunu göstermişlerdir (78).

Kolb ve ark. yüksek miktarlardaki NO'nin patojen mikroorganizmalara toksik olmasının yanında sağlıklı dokuya da zarar vererek otoimmünitede patojenik bir faktör olabileceğini savunmuşlardır (54).

Van den Wijngaard ve ark. otoreaktif T hücreler ve makrofaj mediatör NO'nin in vitro olarak melanosit apoptozunu indüklediğini savunmuşlardır (93).

Böhm ve ark. E ve C vitamini ile birlikte β karotenin in vitro olarak NO türlerine karşı sinerjistik hücre koruması yaptığını bildirmişlerdir (20).

Biz çalışmamızda, vitiligolu olguların tedavi öncesi nitrit değerleri kontrol grubunun nitrit değerleri ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık. Bu durum vitiligoda NO seviyesinin sağlıklı kişilere göre yüksek veya düşük olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda β karoten tedavisi verilen vitiligo hastalarında, serum NO seviyelerini yansıtan nitrit miktarını tedavi öncesi değerlere göre anlamlı olarak yükselmiş bulduk. Tedavi sonrası değerler, kontrol grubunun nitrit değerleriyle karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark gözlemedik. Sonuç olarak β karoten tedavisi ile NO yükselmişti fakat bu artış fizyolojik sınırlar içerisindeydi. Yapısal NOS tarafından üretilen normal düzeylerdeki NO' in melanogenezi düzenlediği ve hücreleri oksidatif hasardan koruduğu göz önüne alındığında, β karotenin yapısal NOS aktivasyonuna neden olarak NO' i artırdığı ve bu yolla pigmentasyonu indükleyebileceği düşünülmüştür. Daha önce de bahsedildiği gibi lipid peroksidasyonu hücre ölümü meydana getiren önemli bir reaksiyondur ve bu peroksidasyon sırasında çeşitli lipid okside ve lipid peroksi bileşikleri oluşur. NO' in lipid peroksi bileşikleri ile reaksiyonu, reaktif oksijen türlerini uzaklaştırarak ve lipid peroksidasyonunu sonlandırarak hücreleri korur. Çeşitli lipid oksidasyon basamaklarını oluşturan lipoksijenaz da NO tarafından inhibe edilir (96).

β karoten singlet oksijen, peroksil radikali, süperoksit anyonu ve NO' in oksidasyonu ile oluşan nitrojen dioksit gibi reaktif oksijen türevlerini temizleyerek çalıştığından hem nitrojen dioksiti etkisiz hale getiriyor hem de NO' in antioksidan özelliğinin devamını sağlıyor olabilir (52). Bizim çalışmamız da NO' in melanogenezi düzenleyici etkisini destekler niteliktedir. İNOS tarafından sentezlenen yüksek miktarlardaki NO patolojik olaylarda, yapısal NOS tarafından sentezlenen normal düzeylerdeki NO fizyolojik olaylarda yer alır fikri burada da geçerliliğini korur.

β karotenin E vitamininin zincir kırıcı antioksidan etkisini tamamladığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda E vitamini ile birlikte β karoten alan hasta grubunda nitrit seviyesinde anlamlı bir artış saptanmamıştır. Bu bulgular, E vitaminin NO üzerine ters etki ederek, β

karotenin yaptığı artışa katkıda bulunmadığını düşündürmüştür. Bazı hastalıklarda tek başına kullanılan antioksidan tedavilerin kombine edildiğinde aynı etkileri göstermeyebileceği açıktır. Ayrıca E vitaminin antioksidan özelliğinin olmasının yanında, yapılan bazı çalışmalar bunu göstermekte başarısız olmuştur. Hatta bazı durumlarda prooksidan özellik gösterebileceği öne sürülmüştür (97). Antioksidan vitaminler konusundaki bu çelişkili veriler, çeşitli hastalıklardaki kullanımlarını kısıtlamıştır.

Bizim çalışmamız NO'nin vitiligo hasta serumlarında bakıldığı ilk çalışma olması nedeniyle, verilerimizi karşılaştırma imkanı bulamadık. Bu bulgularımız antioksidan vitaminlerin vitiligo tedavisinde yeri olabileceğini düşündürmekle birlikte, tedavi için kullanılan antioksidanların dozu ve kombinasyonlarının dikkatli seçilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Daha kesin yorumlar yapmak için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

SONUÇLAR

1. Hastaların tedavi öncesi serum nitrit düzeyleri ile kontrol grubunun serum nitrit düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmaması, vitiligoda NO düzeylerinin artmadığını düşündürür.
2. β karoten tedavisi alan hastaların tedavi sonrası nitrit değerlerinin, tedavi öncesi döneme göre anlamlı olarak yüksek bulunması, β karotenin vitiligolu hastalarda yapısal NOS aracılığıyla NO düzeyini artırarak melanogenezi indükleyebileceğini düşündürmüştür.
3. Tedavi sonrası değerlerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmaması, NO artışının fizyolojik düzeylerde olduğunu göstermiştir. Böylece fizyolojik düzeylerde NO artışının, melanogenezi indükleyici ve hücreleri oksidatif hasardan koruyucu etkisi sağlanmış olur.
4. β karoten- E vitamini kombinasyon tedavisi alan hastaların tedavi öncesi ve sonrası nitrit değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. E vitamini β karoten ile kombine kullanıldığında NO düzeyleri üzerine ters etki ederek, β karotenin tek başına yaptığı NO artışına katkıda bulunmamıştır.
5. Antioksidan sistemlerde bazı bozuklukların tespit edildiği vitiligoda, çeşitli antioksidan vitaminlerin kullanılması tedavide etkili olabilir.
6. Antioksidan vitaminlerin kendi aralarında ve radikaller ile olan etkileşimleri tam olarak aydınlatılamadığı için, antioksidan tedavi seçiminde ilaç kombinasyonlarının ve dozlarının iyi değerlendirilmesi gerekir.

ÖZET

Vitiligo, melanositlerin kaybı ile giden, depigmente maküler lezyonlar ile karakterize bir deri hastalığıdır. Melanosit kaybının mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, NO'nin bazı deri hastalıklarının etyopatogenezinde rol alabileceğini göstermiştir. NO'nin fizyolojik konsantrasyonları serbest radikal aracılı oksidatif hasarı önlerken, iNOS tarafından oluşturulan yüksek miktarları oksidatif stres oluşturunca etkiye sahiptir. Vitiligo hastalarının serum NO düzeylerine yönelik daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Biz bu çalışmamızda vitiligo hastalarında NO düzeyinin durumunu, β karoten ve β karoten- E vitamini kombinasyon tedavilerinin serum NO düzeyine olan etkisini araştırdık. Bu amaçla iki gruptan oluşan toplam 32 hasta ile çalıştık. Bir gruba β karoten, diğer gruba β karoten- E vitamini kombinasyonu verdik. Tedavi öncesi ve sonrasında serum NO düzeylerini yansıtan nitrit değerlerini inceledik. Sonuçları 15 sağlıklı gönüllünün serum nitrit düzeyleriyle karşılaştırdık.

Her iki grubun tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerleri kontrollerle karşılaştırıldığında fark saptanmadı. β karoten tedavisi alan grubun tedavi sonrası nitrit düzeyleri, tedavi öncesi nitrit düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek bulundu. β karoten- E vitamini kombinasyon tedavisi alan grubun tedavi öncesi ve sonrası nitrit değerleri arasında fark saptanmadı.

Hastaların serum nitrit değerleri ile kontrol grubunun nitrit değerleri arasında fark olmaması, vitiligoda NO artışı olmadığını düşündürmüştür. β karoten tedavisi ile artan NO'nin melanogenezi uyarak olumlu yönde etkilediği sanılmaktadır. Dikkatli seçilen antioksidan vitamin dozları ve kombinasyonları vitiligo tedavisinde etkili olabilir.

SUMMARY

Vitiligo is a skin disease characterized by patches of depigmented skin due to loss of melanocytes. Melanocytes disappear from involved skin by a mechanism that has not yet been identified. Recently published studies show that NO has a role to play in the etiopathogenesis of some skin diseases. In addition to the prevention of oxidative damage caused by free radicals in its physiological concentrations, high quantities of NO synthesised by iNOS may cause oxidative stress. As far as we know, there is no published study regarding the serum levels of NO in vitiligo patients. In the present study, we aimed at studying serum NO levels and the effect of β carotene and β carotene- vitamin E combination therapy on the levels of NO in vitiligo patients. A total of 32 patients were divided into two groups randomly. The first group received oral β carotene therapy and the second group of patients received a combination of β carotene and vitamin E. Then the nitrite values which reflects NO serum levels were evaluated. The results were compared with serum nitrite levels in 15 healthy volunteers.

When pre and post-treatment values obtained from both groups of patients were compared with the values of healthy volunteers, no significant difference was noticed. In patients on β carotene therapy alone, post-treatment levels were significantly high compared with the pretreatment levels. No important difference in serum nitrite levels was found in patients with β carotene-vitamin E combination therapy, before and after treatment.

The nitrite levels in vitiligo patients were not different from its levels in healthy volunteers, this makes us to think that NO level is not increased or decreased in vitiligo patients. The increased NO levels with β carotene therapy probably is responsible for the enhanced melanogenesis process in vitiligo. Carefully selected antioxidant vitamins and their combinations could have a possible use in treating vitiligo lesions.

KAYNAKLAR

1. Abdel-Naser MD, Krüger-Krasagakes S, Krasagakıs K, Gollnıck H, Orfanos CE: Further evidence for involvement of both cell mediated and humoral immunity in generalized vitiligo. *Pigment Cell Res.* 7: 1-8, 1994.
2. Abman SH, Chatfield BA, Hall SL, McMurtry FI: Role of endothelium-derived relaxing factor during transition of pulmonary circulation at birth. *Am J Physiol.* 259: 1921-1928, 1990.
3. Al Badri A.M.T , Foulis AK, Todd PM, Garioch JJ, Gudgeon JE, Stewart DG, Gracie JA, Goudgeon JE, Stewart DG, Gracie JA, Goudie RB : Abnormal expression of MHC Class II and ICAM – 1 by melanocytes in vitiligo. *J Pathol.* 169 : 203 – 206, 1993.
4. Al Badri AMT, Todd P, Garioch JJ, Gudgeon JE, Steward DG, Goude RB: An Immünohistological study of cutaneous lymphocytes in vitiligo. *J Pathol* 170:149-155, 1993.
5. Amato L, Gallerani I, Fuligni A, Mei S, Fabbri P: Dermatitis Herpetiformis and Vitiligo: Report of a case and review of the literature. *J Dermatol* 27: 462-466, 2000.
6. Arroyo PL, Hatch-Pigott V, Mower HF, Cooney RV: Mutagenicity of nitric oxide and its inhibition by antioxidants. *Mutation Research* 281:193-202, 1992.
7. Anggard E: Nitric Oxide: Mediatör, murderer and medicine. *Lancet* 343:1196-1206:1994.
8. Arıtış Y, Bedirli A: Nitrik oksitin gastrointestinal sistemdeki rolü. *T Klin Tıp Bilimleri* 18:145-148, 1998.
9. Aranson PJ, Hashimoto K : Association of IgA antimelanoma antibodies in the sera of vitiligo patients with active disease. *J Invest Dermatol.* 88 : 475, 1987.

10. Baltas E, Nagy P, Bonis B, Novak Z, Ignacz F, Szabo G, Bor Z, Dobozy A, Kemeny L: Repigmentation of localized vitiligo with the xenon chloride laser. Arch Dermatol 137: 833-834, 2001.
11. Baransü O: Pigmentasyon Bozuklukları: Dermatoloji. İkinci baskı. Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransü O (ed). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1994, s:557-559.
12. Bast A, Plas H, Haene GRMM: β karoten as antioxidant. Eur J Clin Nutr. 50 suppl 3: 54-56, 1996.
13. Bauer H, Jung T, Tsikas D, Stichtenoth DO, Frölich JC, Neumann C: Nitric oxide inhibits the secretion of T-helper 1 and T-helper 2 associated cytokines in activated human T cells. Immunology 90:205-211, 1997.
14. Beazley WD, Gaze D, Panske A, Ponzeg E, Schallreuter KU: Serum selenium levels and blood glutathione peroxidase activities in vitiligo. Br J Dermatol. 141 : 301 – 303, 1999.
15. Behrens-Williams SC, Peters EM, Schallreuter KU: In vivo delayed-type hypersensitivity in 109 patients with vitiligo. Int J Dermatol 39: 593-598, 2000.
16. Betterle C, Caretta A, Dezio A, Pedini B, Veller – Fornasa C, Cecchetto A, Accordi F , Pesenico A: Incidence and significance of organ – specific autoimmune disorders in patients with vitiligo. Dermatologica 171 : 419 – 423, 1985.
17. Bleehen SS: Disorders of Skin Colour: Textbook of Dermatology. Sixty Edition. Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG(ed). Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM (ed). Blackwell Science Ltd, UK, 1998, pp:1802-1805.
18. Boisseau – Garsaud P, Saint – Cyr I, Quist D : High prevalence of vitiligo in lepromatous leprosy. Int J Dermatol. 39 : 837 – 839, 2000.

19. Borssy RE, Liu YY, Medrano EE, Nordlund JJ : Structural aberration of the rough endoplasmic reticulum and melanosome compartmentalization in long – term cultures of melanocytes from vitiligo patients. *J Invest Dermatol.* 97 : 395 – 404, 1991.
20. Böhm F, Edge R, Mcgarvey DJ, Truscott TG: β -Carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO_x . *FEBS Lett* 436: 387-389, 1998.
21. Gerharz-Bruch D, Ruzicka T, Bachofen-Kolb V: Nitric oxide in human skin: Current status and future prospects. *J Invest Dermatol.* 110: 1-7, 1998.
22. Camacho F, Mazueros J: Treatment of vitiligo with oral and topical phenylalanine: 6 years of experience. *Arch Dermatol.* 135: 216-217, 1999.
23. Cannavo SP, Ussia AF, Moretti G, Albanese A : Vitiligo associated with metastatic malign melanoma. *Int J Dermatol.* 35 : 738 – 740, 1996.
24. Chang RH, Lin Feng MH, Liu WH, Lai MZ: Nitric oxide increased interleukin-4 in T lymphocytes. *Immunology* 90: 364-369, 1997.
25. Charleux JL: β Carotene, Vitamin C, and Vitamin E: The protective micronutrients. *Nutrition Reviews* 54:109-114, 1996.
26. Claudy AL, Rouchouse B: Langerhans Cell and Vitiligo: Quantitative Study of T6 and HLA-DR antigen-expressing cells. *Acta Derm Venereol.* 64: 334, 1984.
27. Cormane RH, Siddiqui AH, Westerhof W, Schutgens RBH: Phenylalanine and UV A light for the treatment of vitiligo. *Arch Dermatol.* 277: 126-130, 1985.
28. Cowan CL, Halder RM, Grimes PE, Chakrabati SG, Kenney JA : Ocular disturbances in vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 15 : 17 – 24, 1986.
29. Crabtree DV, Adler AJ: Is β - carotene an antioxidant. *Medical Hypotheses* 48:183-187, 1997.

30. Cucchi ML, Frattini P, Santagastino G, Orecchia G: Higher plasma catecholamine and metabolite levels in the early phase of nonsegmental vitiligo. *Pigment Cell Res.* 13: 28-32, 2000.
31. Finco O, Cuccia M, Martinetti M, Ruberto G, Orecchia G, Rabbiosi G : Age of onset in vitiligo : Relationship with HLA supratypes. *Clinical Genetics* 39 : 48 – 54, 1991.
32. Cui J, Arita Y, Bystryk JC : Cytolytic antibodies to melanocytes in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 100 : 812 – 815, 1993.
33. Cui J, Shen L, Wang G: Role of hair follicles in the repigmentation of vitiligo. *J Invest Dermatol.* 97: 410-416, 1991.
34. Elly MJ: The Pharmacology of vitamin E : Progress in Medicine Chemistry. Ellis GP, West GB (ed). Elsevier Science Publishers, 1998, pp 249 – 289.
35. Erbaş D: Nitric oxide in health. *Gazi Medical Journal* 9:1-36,1998.
36. Erf GF, Bersi TK, Wang X, Sreekumar GP, Smyth R: Herpesvirus connection in the expression of autoimmune vitiligo in smyth line chickens. *Pigment Cell Res.* 14: 40-46, 2001.
37. Falco OB, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC: Disorders of melanin pigmentation: *Dermatology*. Second edition. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 2000, pp: 1033-1037.
38. Fitzpatrick TB: Mechanisms of phototherapy of vitiligo. *Arch Dermatol.* 133: 1591-1592, 1997.
39. Franco RC : Combination of clobetasol and tretinoin in vitiligo. *Int J Dermatol.* 39: 639, 2000.

40. Fuchs J: Potentials and limitations of the natural antioxidants RRR-Alpha-Tokoferol, L-Ascorbic acid and β -Karoten in cutaneous photoprotection. *Free Rad Biol Med.* 25:848-873,1998.
41. Galadarı E, Mehregan AH, Hashimoto K: Ultrastructural study of vitiligo. *Int J Dermatol.* 32: 269-271,1993.
42. Geel NV, Ongenae K, Naeyaert JM: Surgical techniques for vitiligo: A Review. *Dermatology* 202: 162-166, 2001.
43. Grimes PE: Diseases of hypopigmentation: Principles and Practice of Dermatology: Second edition. Sams Jr WM, Lynch PJ (ed). Churchill&Livingstone Inc, New York 1999, pp: 843-859.
44. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T: Nitrik oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilimleri.* 17:115-119,1997.
45. Hafez M, Sharaf L, Abd El – Nabi SM : The Genetics of vitiligo. *Acta Derm Venereol.* 63 : 249 – 251, 1983.
46. Halder RM, Grimes PE, Cowan CA, Enterline JA, Chakrabati SG, Kenney JA: Childhood Vitiligo. *J Am Acad Dermatol.*16: 948-954, 1987.
47. Halder RM, Young CM: New and emerging therapies for vitiligo. *Clin Dermatol.* 18: 75-89, 2000.
48. Hann SK, Lee HJ : Segmental vitiligo : Clinical findings in 208 patients. *J Am Acad Dermatol.* 35: 671 – 674, 1996.
49. Harning R, Cui J, Bustryn JC : Relation between the incidence and level of pigment cell antibodies and disease activity in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 97 : 1078 – 1080, 1991.

50. Ivanova K, Le Poole IC, Gerzer R, Westerhof W, Das PK: Effects of nitric oxide on the adhesion of human melanocytes to extracellular matrix components. *J Pathol.* 183:469-476, 1997.
51. Jimbow K: Vitiligo. Therapeutic advances. *Clin Dermatol* 16: 399-407, 1998.
52. Khopde SM, Priyadarsini KI, Mukherjee T, Kulkarni PB, Satav JG, Bhattacharya RK: Does β Carotene protect membrane lipids from nitrogen dioxide. *Free Rad Biol Med.* 25: 66-71, 1998.
53. Kim HY, Kang KY: Epidermal grafts for treatment of stable and progressive vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 40 : 412-417, 1999.
54. Kolb H, Kolb-Bachofen V: Nitric oxide: a pathogenetic factor in autoimmunity. *Immunology Today* 13: 157-159, 1992.
55. Kong S, Sober AJ: Disturbances of melanin pigmentation: *Dermatology*. Third edition. Moschella SL, Hurley HJ(ed) WB Saunders Company, Philadelphia, 1992, pp:1443-1457.
56. Koranne RV, Sachdeva KG: Vitiligo. *Int J Dermatol.* 27:676-681, 1988.
57. Kovacs SO: Vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 38: 647-666, 1998.
58. Langrehr JM, Hoffman RA, Lancaster JR, Simmons RL: Nitric oxide : A new endogen immuno- modulator. *Transplantation* 55 : 1205 – 1212, 1993.
59. Majumder PP, Nordlund JJ, Nath SK : Pattern of familial aggregation of vitiligo. *Arch Dermatol.* 129 : 994 – 998, 1998.
60. Malakar S, Dhar S: Repigmentation of vitiligo patches by transplantation of hair follicles. *Int J Dermatol.* 38: 237-238, 1999.

61. Moresca V, Rocella M, Camero E, Porto GD, Passi S, Grammatico P, Picardo M : Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenic faktor of melonocyte damage in vitiligo. J Invest Dermatol. 109 : 310 – 313, 1997.
62. Monk B: Topical fluorouracil in vitiligo. Arch Dermatol. 121: 25-26, 1985.
63. Morelli JG, Kincannon J, Yhon JJ, Zekman T, Weston WL, Norris DA: Leukotriene C₄ and TGF-alpha are stimulators of human melanocyte migration in vitro. J Invest Dermatol. 98: 290-295, 1992.
64. Morelli JG, Yhon JJ, Zekman T, Norris DA: Melanocyte movement in vitro. Role of matrix proteins and integrin receptors. J Invest Dermatol. 101: 605-608, 1993.
65. Morrone A, Picardo M, De Luca C, Terminalı O, Pası S, Ippolito F: Catecholamines and Vitiligo. Pigment Cell Res. 5:65-69, 1992.
66. Mosher DB, Fitzpatrick TB, Ortonne JP, Hori Y : Hypomelanoses and Hypermelanoses : Dermatology in General Medicine. Fifth Edition. Fitzpatrick TB, Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI (ed), Mc Graw Hill, New York 1999, PP : 949 – 960.
67. Odom RB, James WD, Berger TG : Disturbances of Pigmentation. Ninth edition. Odom RB, James WD, Berger TG (ed) WB Saunders Company, USA 2000, PP : 1065 - 1068.
68. Onsun N: Reaktif oksijen türevlerinin dermatolojik hastalıklardaki rolleri ve antioksidanların tedavide kullanımı: Dermatolojide gelişmeler-3. Oğuz O, Serdaroğlu S (ed) Deri ve Zührevi Hastalıklar Derneği İstanbul 1998, S: 159-172.
69. Ortonne JP, Bose SK : Vitiligo: Where do we stand? Pigment Cell Res. 6 : 61 – 72, 1993.
70. Packer L: Protective role of vitamin E in biological systems. Am J Clin Nutr. 53:1050-1055, 1991.

71. Passi S, Grandinetti M, Maggio F, Stancato A, Luca CD: Epidermal oxidative stress in vitiligo. *Pigment Cell Res.* 11 : 81 – 85, 1998.
72. Picardo M, Passi SU, Morrone A, Grandinetti M, Carlo AD, Ippolito F: Antioxidant status in the blood of patients with active vitiligo. *Pigment Cell Res.* 7 : 110 – 115, 1994.
73. Powel FC, Dicken CH: Psoriasis and Vitiligo. *Acta Derm Venereol.* 63:246-248, 1983.
74. Riordan AT, Nahass GT : Occupational vitiligo following allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 34 : 371 – 372, 1996.
75. Robbins RA, Grisham MB : Nitric oxide. *Int J Biochem Cell Biol.* 29 : 857 – 860, 1997.
76. Rocha IM, Guillo LA: Lipopolysaccharide and cytokines induce nitric oxide synthase and produce nitric oxide in cultured normal human melanocytes. *Arch Dermatol Res.* 293: 245-248, 2001.
77. Rocha IM, Oliveira LJN, Castro LCM, Pereira LI, Chaul A, Guerra JG, Silvestre MC, Batista KM, Pereira FA, Gomide MAC, Guillo LA : Recognition of melanoma cell antigens with antibodies present in sera from patients with vitiligo. *Int J Dermatol.* 39 : 840 – 843, 2000.
78. Romero- Graillet C, Aberdam E, Clement M, Ortonne JP, Ballotti R: Nitric oxide produced by ultraviolet- irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis. *J Clin Invest.* 99: 635-642, 1997.
79. Rowe A, Farrell AM, Bunker CB: Constitutive endothelial and inducible nitric oxide synthase in inflammatory dermatoses. *Br J Dermatol.* 136:18-23,1997.
80. Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, Beazley WD, Gaze DC, Tobin DL, Marshall HS, Panske A, Panzig E, Hibberts NA: In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H₂O₂)

accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-Activated pseudocatalase. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1: 91-96, 1999.

81. Schallreuter KU, Wood JM, Berger J : Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol.* 97 : 1081 – 1085, 1991.

82. Schallreuter KU, Wood JM, Pittelkow MR, Gütlic M, Lemke KR, Rödl W, Swanson NN, Hitzemann K, Ziegler I: Regulation of melanin biosynthesis in the human epidermis by tetrahydrobiopterin. *Science* 263: 1444-1446, 1994.

83. Schwartz RA, Janniger CK: Vitiligo. *Pediatric Dermatol.* 60: 239-244, 1997.

84. Seiter S, Uğurel S, Tilgen W, Reinhold U: Use of high -dose methylprednisolone pulse therapy in patients with progressive and stable vitiligo. *Int J Dermatol.* 39: 624-627, 2000.

85. Selvaag E : Chloroquine – induced vitiligo. *Acta Derm Venereol.* 76 : 166 – 167, 1996.

86. Shindo Y, Witt E, Hon D, Epstein W, Pocker L. Enzymic and non – enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *J Invest Dermatol.* 102 : 122 – 124, 1994.

87. Spielvogel RL, Kantor GR : *Pigmentary Disorders of the Skin : Histopathology of the Skin.* Eighth Edition. Elder D, Elenitsas R, Jaworsky C, Johnson B (ed), JB Lippincott, New York 1997, pp : 620 –621.

88. Stone RA, McGlinn AM: Calcitonin gene-related peptide immunoreactive nerves in human and rhesus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 29:305-310, 1988.

89. Taieb A: Intrinsic and extrinsic pathomechanisms in vitiligo. *Pigment Cell Res.* 13: 41-47, 2000.

90. Tosti A, Bardazzi F, Tosti G, Manti L : Audiologic abnormalities in cases of vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 17 : 230 – 233, 1987.

91. Tunçtan B, Abacıoğlu N : Measurement of nitric oxide in biological samples: Diazotization method. *FABAD J Pharma Sci.* 23:161-170, 1998.
92. Uz – zaman T, Begüm S, Waheed A : In vitro assessment of ‘T’ Lymphocyte functioning in vitiligo. *Acta Derm Venereol.* 72 : 266 – 267, 1992.
93. Van den Wijngaard RM JGJ, Aten J, Scheepmaker A, Lepoole IC, Tigger AJ, Westerhof W, Das PK : Expression and modulation of apoptosis regulatory molecules in human melanocytes : Significance in vitiligo. *Br J Dermatol.* 143 : 573 – 581, 2000.
94. Weller R : Nitric oxide – a newly discovered chemical transmitter in human skin. *Br J Dermatol.* 137 : 665 – 672, 1997.
95. Weller R, Pattullo S, Smith L, Golden M, Orrmerad A, Benjamin N : Nitric oxide is generated on the skin surface by reduction of sweat nitrate. *J Invest Dermatol.* 107 : 327 – 331, 1996.
96. Wink DA, Miranda KM, Espey MG, Mitchell JB, Grisham MB, Fukuto J, Feelisch M: The chemical biology of nitric oxide: Nitric Oxide. First edition. Mayer B (ed), Springer-Verlag, New York 2000, pp:7-24.
97. Wolf R, Wolf D, Ruocco V: Vitamin E: The radical protector. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 10:103-117, 1998.
98. Xia P, Geoghegan WD, Jordon RE : Vitiligo autoantibody studies of subclass distribution and complement activation. *J Invest Dermatol.* 96 : 627, 1991.
99. Xie Z, Chen D, Jiao D, Bystryn JC: Vitiligo antibodies are not directed to tyrosinase. *Arch Dermatol.* 135: 417-422, 1999.

100. Yohn JJ, Morris DA, Yrastorza DG, Buno IJ, leff JA, Hake SS, Repine JE : Disparate antioxidant enzyme activities in cultured human cutaneous fibroblasts , keratinocytes, and melanocytes. J Invest Dermatol. 97 : 405 – 409, 1991.
101. Yu HS, Chang KL, Yu CL, Li HF, Wu MT, Wu CS : Alterations in IL – 6, IL – 8, GM – CSF, TNF – α and IFN – γ release by peripheral mononuclear cells in patients with active vitiligo. J Invest Dermatol. 108 : 527 – 529, 1997.

