

# Vitiligoda Eser Element ve Antioksidan Düzeyleri<sup>1</sup>

## TRACE ELEMENT AND ANTIOXIDANT LEVELS IN VITILIGO

Halis Bülent TAŞTAN\*, İbrahim Emre EROL\*\*, Ahmet SAYAL\*\*\*, Ahmet Hakan ERBİL\*\*

\* Doç.Dr., GATA Dermatoloji AD,

\*\* Uz.Dr., GATA Dermatoloji AD,

\*\*\* Doç.Dr.Ecz., GATA Farmasotik Toksikoloji AD, ANKARA

### Özet

**Amaç:** Hastalık patogenezindeki rollerini değerlendirmek amacıyla vitiligolu ve kontrol grubundaki olgularda antioksidan enzimler, lipid peroksidasyon ürünleri ve eser elementlerin düzeyleri araştırıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Yirmi sekiz olgu ile yaş ve cinsiyet olarak uyumlu 19 sağlıklı kontrolde antioksidan enzimlerin (bakır çinko-süperoksit dismutaz [CuZn-SOD], glutatyon peroksidaz [GSH-Px]) ve lipid peroksidasyon ürünlerinden tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) doku ve eritrosit düzeyleri ile eser elementlerin (selenyum, çinko) eritrosit düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Her iki grubun eritrosit CuZn-SOD, GSH-Px, TBARS, selenyum ve çinko düzeyleri ile doku CuZn-SOD ve TBARS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Olguların lezyonlu ve lezyonsuz dokularında ölçülen CuZn-SOD, GSH-Px ve TBARS düzeylerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). GSH-Px'in lezyonlu dokudaki, lezyonsuz dokudaki ve kontrol grubundaki ortalama değerleri sırasıyla  $952.3\pm 425.2$  U/g,  $823.7 \pm 426.2$  U/g ve  $1104.2\pm 198.6$  U/g olarak saptandı. Lezyonlu doku ile kontrol arasındaki fark ( $p=0.02$ ) ( $Z= -2.254$ ) ve lezyonsuz doku ile kontrol arasındaki fark ( $p=0.007$ ) ( $Z= -2.721$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

**Sonuç:** Vitiligo patogenezinde olguların dokularında saptanan düşük GSH-Px düzeylerinin rolü olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Vitiligo, Selenyum, Çinko, Süperoksit dismutaz, Glutatyon peroksidaz, Tiyobarbitürik asit reaktif madde

T Klin Dermatoloji 2003, 13:141-149

### Summary

**Purpose:** Levels of antioxidant enzymes, lipid peroxidation products and trace elements were investigated in patients with vitiligo and controls in order to assess their roles in the pathogenesis of the disease.

**Materials and Methods:** Tissue and erythrocyte levels of antioxidant enzymes (copper zinc-superoxide dismutase [CuZn-SOD], glutathione peroxidase [GSH-Px]) and lipid peroxidation products (thiobarbituric acid reactive substances [TBARS]), and erythrocyte levels of trace elements (selenium, zinc) were measured in 28 patients and 19 healthy age-sex matched controls.

**Results:** Statistically, there was no significant difference between erythrocyte levels of CuZn-SOD, GSH-Px, TBARS, selenium, zinc, and tissue levels of CuZn-SOD and TBARS in these two groups ( $p>0.05$ ). No significant differences were found statistically in the comparison of the levels of CuZn-SOD, GSH-Px, TBARS measured in the lesional and nonlesional tissues of the patients ( $p>0.05$ ). The average values of GSH-Px in lesional tissue, nonlesional tissue and controls were  $952.3 \pm 425.2$  U/g,  $823.7 \pm 426.2$  U/g, and  $1104.2 \pm 198.6$  U/g, respectively. The differences between lesional tissue and controls ( $p=0.02$ ) ( $Z= -2.254$ ), and nonlesional tissue and controls ( $p=0.007$ ) ( $Z= -2.721$ ) were found to be statistically significant.

**Conclusion:** Low levels of GSH-Px measured in the tissues of patients might play a role in the pathogenesis of vitiligo.

**Key Words:** Vitiligo, Selenium, Zinc, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Thiobarbituric acid reactive substance

T Klin J Dermatol 2003, 13:141-149

### Vitiligo, eser element ve antioksidanlar

Vitiligo yaygın görülen bir hastalık olup, tüm dünyada her yaş ve ırktan insanı etkileyebilmektedir. Deride keskin sınırlı depigmente maküllerle karakterize olan hastalık, yaşam süresini kısaltma-

masına ve kişileri fiziksel olarak engellememesine karşın, meydana getirdiği kozmetik bozukluk nedeniyle özellikle koyu renk tenli kişilerde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Her iki cinsi de eşit olarak etkilemekte ve insidansı %1-2 arasında de-

ğışmektedir (1,2). Yüzyıllardan beri bilinen bir hastalık olmasına rağmen, etyopatogenezi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Etiyolojisinde genetik, emosyonel ve fiziksel faktörlerin rol oynadığını gösteren önemli bilgilere karşın, hastalığı başlatan patolojik mekanizma halen tam olarak bilinmemektedir. Histopatolojik olarak, vitiligo lezyonlarında melanosit kaybının gözlenmesi araştırmacıları bunun nedenlerini bulmaya yöneltmiştir. Bugüne kadar vitiligo patogenezi açıklamaya yönelik nöral, otoimmün ve otositotoksik olmak üzere üç farklı hipotez ileri sürülmüştür (2,3). Ototisitotoksik hipotezin temelinde olan oksidatif stresin, hücre ölümüne yol açmak suretiyle bir çok patolojik olayda rol oynadığı bilinmektedir. İnsan hücreleri, reaktif oksijen türevlerinin yarattığı oksidatif strese karşı kendilerini enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemlerle korurlar. Enzimatik sistemler, SOD, GSH-Px ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimleri içerirler. Bakır, çinko ve selenyum ise bu enzimlerin yapısında yer alan ve insan vücudunda eser miktarlarda bulunan esansiyel elementlerdir (4). Tedavisinde başta PUVA (psoralen+UVA) olmak üzere birçok yöntem uygulanmakla beraber, çoğu tam remisyona sağlamaktan uzaktır. Ayrıca uygulanan tedavi yöntemlerinin uzun zaman alması ve yan etkilerinin fazla olması kişilerin tedaviye olan uyumlarını azaltmaktadır. Hastalığın tedavisinde radikal bir yöntemin geliştirilebilmesi ancak patofizyolojisinin tam olarak açıklanmasıyla olabilecektir (1,2,5).

Ototisitotoksik hipotezden yola çıkarak vitiligolu olgular ile sağlıklı kontrollerin doku ve eritrositlerinde antioksidan enzimler (SOD, GSH-Px), lipid peroksidasyon ürünlerinden TBARS'ın ve eritrositlerde eser elementlerin (Se, Zn) düzeylerini inceleyerek aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark olup olmadığını araştırdık.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmamıza 1999 ile 2001 tarihleri arasında polikliniğimize başvuran, son iki aydır topikal veya sistemik herhangi bir tedavi almamış, klinik ve histopatolojik olarak vitiligo tanısı konan 28 olgu alındı. Çalışmaya tamamen sağlıklı, cinsiyet ve yaşları açısından vitiligolu olgularla uyumlu

gönüllü 19 kişi de kontrol grubu olarak dahil edildi. Vitiligolu olgular hastalıkları ve araştırma, kontrol olguları ise sadece araştırma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onayları alındı. Vitiligolu olgulardan ve kontrol grubundan doku ve kan örnekleri alınarak, GSH-Px, CuZn-SOD ve TBARS'ın doku ve eritrosit düzeyleri ile eser elementlerden selenyum ve çinkonun eritrosit düzeyleri saptandı.

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler Sigma Chemical Co. (St.Louis, MO, USA) ve Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından sağlandı. GSH-Px, SOD ve TBARS ölçümleri UV/Vis spektrofotometre cihazı ile (Shimadzu, Japan), selenyum ve çinko ölçümleri çift ışınlı, bilgisayar kontrollü atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Varian, 30/40 Model, USA) ile yapıldı.

### Örneklerin temini ve hazırlanması

Doku örnekleri, vitiligolu olgularda lezyonlu ve lezyonsuz bölgeler, kontrol grubunda ise deltoidal bölgeden 4 mm'lik punch biyopsi ile alındı. Serum fizyolojik içerisinde yıkanan örnekler ölçümlere kadar -80 °C'de saklandı. Doku homojenasyonu hazırlanması esnasında deri örnekleri buz üzerine yerleştirilmiş bir cam tüp içerisindeki %1.5 soğuk KCl solüsyonu ile homojenize edildi. Daha sonra örnekler santrifüje edilerek elde edilen süpernatant ölçümlerde kullanıldı.

Vitiligolu olgular ve kontrollerden, antekübital venden EDTA'lı tüplere 10 mililitre kan örneği alındı. Alınan örnekler derhal 4 °C'de 4000 devir/dk'da on dakika santrifüje edildi. Plazma uzaklaştırıldıktan sonra, eritrositler hacminin iki katı kadar izotonik NaCl ile üç kez yıkandı. Daha sonra eritrositler soğuk distile su ile (1:4) Vorteks cihazında çalkalanarak lize edildi ve 4 °C'de onbeş dakika tutuldu. Ardından 2000 devir/dk'da on dakika santrifüje edilerek eritrosit kabuklarının ayrılması sağlandı. Bu şekilde elde edilen eritrosit lizatı ölçümlere kadar -70 °C'de saklandı.

### CuZn-SOD aktivitesi tayini

Doku homojenasyonu ve eritrosit lizat örnekleri, pH 7.00'lik 10 mM fosfat tamponu ile uygun oranlarda dilüe edildi. Sonra 25 µL'si ile 850 µL reaktif

siyon solüsyonu (pH 10.2'lik 0.94 mmol/L EDTA ve 50 mmol/L CAPS içeren tampon solüsyonu içerisinde 0.05 mmol/L ksantin sodyum ve 0.025 mmol/L 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorid) karıştırıldı. Daha sonra bu karışıma 125 µL ksantin oksidaz (80 U/L) eklendi ve absorbans artışı 505 nm'de üç dakika süreyle ölçüldü. Standart değerleri saptamak için numune yerine, 25 µL çeşitli konsantrasyonlarda standart SOD solüsyonları kullanıldı. CuZn-SOD aktivitesi deride U/g, eritrositlerde U/ml olarak belirtildi.

### ***GSH-Px aktivitesi tayini***

Reaksiyon ortamı; 50 mmol/L tris tamponu pH 7.6 içinde, 1 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA, 2 mmol/L GSH, 0.2 mmol/L nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), 4 mmol/L sodyum azid ve 1000 U glutatyon redüktaz olacak şekilde hazırlandı. Doku homojenatı ve eritrosit lizat örneklerinin 20 µL'si ile 980 µL reaksiyon ortamı karıştırılarak oda ısısında beş dakika inkübe edildi. Daha sonra 8.8 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek reaksiyon başlatıldı ve NADPH absorbansındaki azalma 340 nm'de üç dakika süreyle kaydedildi. GSH-Px aktivitesi deride U/g, eritrositlerde U/ml olarak belirtildi.

### ***TBARS tayini***

Doku homojenatı ve eritrosit lizat örnekleri, 4 ml distile su, 0.5 ml glasiyal asetik asit ve 0.5 ml %0.33'lük aköz tiyobarbitürik asit solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra kaynayan su banyosu üzerinde 60 dakika süreyle ısıtıldı. Numuneler soğuduktan sonra, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyon veren maddelerin oluşturmuş olduğu kompleks n-butanol fazından geçirildikten sonra, organik fazdaki kompleksin oluşturduğu renk 532 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Standart kalibrasyon eğrisi, tetrametoksipropan solüsyonu kullanılarak elde edildi. TBARS konsantrasyonu deride nmol/g, eritrositlerde nmol/ml olarak belirtildi.

### ***Selenyum düzeyi tayini***

Eritrosit selenyum tayini elektrotermal atomik absorpsiyon tekniği ile yapıldı. Eritrosit lizatının 0.5 ml'si üzerine 2 ml dilüsyon çözeltisi (%0.5 hacim/hacim Triton X-100, %0.125 hacim/hacim Antifoam B ve %0.25 ağırlık/hacim L-askorbik

asit) eklendi. Vorteks cihazında 30 saniye çalkalandı. Sonra elektrotermal atomik absorpsiyon tekniği ile ve otomatik örnekleyici yardımıyla absorbans değerleri okundu ve selenyum düzeyleri ng/ml olarak saptandı.

### ***Çinko düzeyi tayini***

Eritrosit çinko tayini alevli atomik absorpsiyon spektrofotometri tekniği ile yapıldı. Bir ml eritrosit lizatı üzerine 1 ml %0.5'lik nitrik asit çözeltisi ilave edildi. 30 saniye vortekslelendikten sonra alevli atomik absorpsiyon tekniği ve otomatik örnekleyici yardımıyla absorbans değerleri okundu ve çinko düzeyleri µg/ml olarak saptandı.

### ***İstatistiksel analiz***

Sonuçların istatistiksel analizi, SPSS (Microsoft Corp., Chicago, IL) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Olgu ve kontrollere ait parametrelerin değerlendirilmesinde "Mann-Whitney U" testi kullanıldı ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

### ***Bulgular***

Tüm olguların 22'si erkek (%78.5) ve 6'sı kadın (%21.5) olup, yaşları 20 ile 66 (28.5 ± 12.7) arasında değişmekteydi. Çalışmaya alınan olguların genel özellikleri Tablo 1'de gösterilmektedir. Kontrollerin ise 14'ü erkek (%73.7) ve 5'i kadın (%26.3) olup, yaşları 20 ile 42 (25.8 ± 7.1) arasında değişmekteydi.

Olgu ve kontrol grubundaki yaş ve cins farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05).

Tüm olgular ile kontrollerden alınan örneklerden elde edilen sonuçlar Tablo 2 ve Tablo 3'de gösterilmiştir.

Olguların ve kontrollerin eritrositlerinde ölçülen CuZn-SOD, GSH-Px, TBARS, selenyum ve çinko düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Olguların lezyonlu ve lezyonsuz dokularında ölçülen CuZn-SOD, GSH-Px ve TBARS düzeylerinin karşılaştırılmasında, her iki doku arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Olguların ve kontrollerin dokularında ölçülen CuZn-SOD ve

**Tablo 1.** Olguların genel özellikleri

	AO ± SS	n	%
Çalışmaya alınan olgu sayısı		28	100
Cinsiyet dağılımı			
Erkek		22	78.5
Kadın		6	21.5
Yaş (yıl)	28.5 ± 7.35		
Klinik tip			
Jeneralize vitiligo		19	67.8
Lokal vitiligo		4	14.2
Akral vitiligo		2	7.2
Üniversal vitiligo		2	7.2
Akrofasiyal vitiligo		1	3.6
Segmental vitiligo		0	0
Hastalık süresi (ay)	89.6 ± 67.3		
AO : Aritmetik ortalama	SS : Standart sapma		

TBARS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $p>0.05$ ), GSH-Px düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlam-

lı bulundu. GSH-Px'in lezyonlu dokudaki ortalama değeri  $952.3 \pm 425.2$  U/g, lezyonsuz dokudaki ortalama değeri  $823.7 \pm 426.2$  U/g ve kontrol grubundaki ortalama değeri  $1104.2 \pm 198.6$  U/g olarak saptandı. Lezyonlu doku ile kontrol arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.02$ ) ( $Z= -2.254$ ). Lezyonsuz doku ile kontrol arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.007$ ) ( $Z= -2.721$ ). Şekil 1 ve Şekil 2'de olgu ve kontrollerden elde edilen tüm sonuçların ortalama değerlerinin karşılaştırılması grafiksel olarak sunulmuştur.

### Tartışma

Vitiligo, epidermal melanositlerin kaybı ile seyreden bir hastalıktır. Bugüne kadar vitiligo etyopatogenezini açıklamaya yönelik tüm çalışmalar, melanosit kaybının nedenini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Vitiligo patogenezini açıklamak amacıyla ortaya atılan hipotezlerden otositotoksik hipotez hücrel oksidatif stresteki

**Tablo 2.** Vitiligolu olguların genel özellikleri ile analiz sonuçları

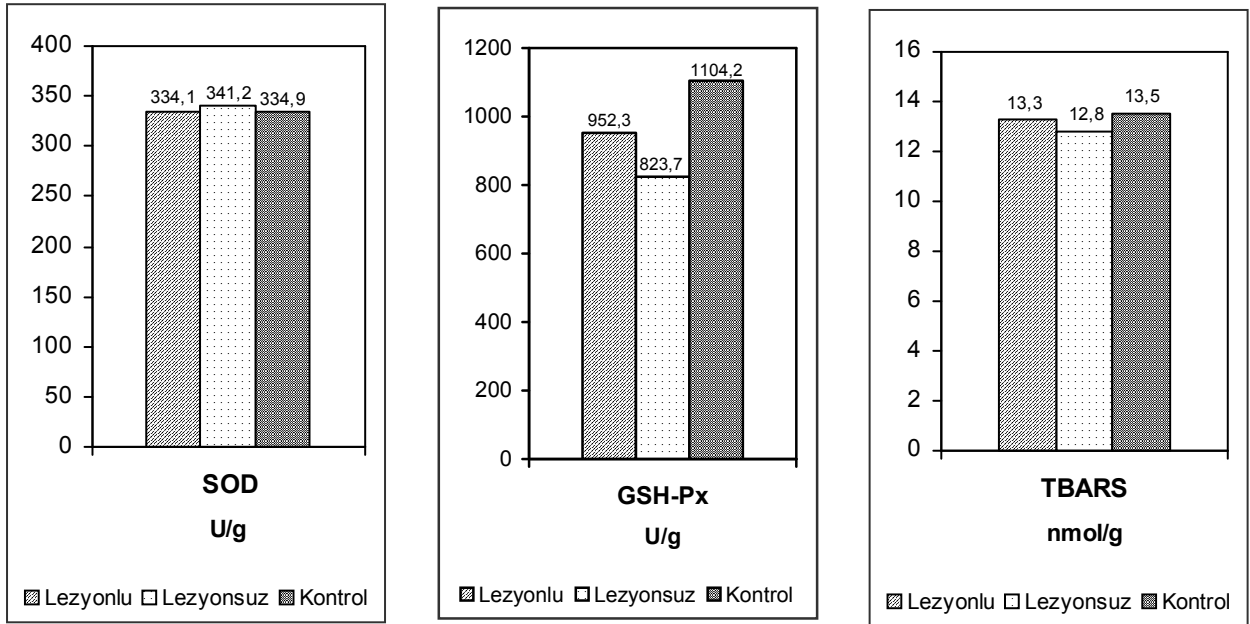
Cins	Yaş (yıl)	Süre (ay)	Tipi	CuZn-SOD			GSH-Px			TBARS			Se	Zn
				L U/g	LD U/g	E U/ml	L U/g	E U/ml	L nmol/g	LD nmol/g	E nmol/ml	E ng/ml	E µg/ml	
E	21	120	Ü	311	342	257	478	428	16,6	11	15	4,5	155,1	9
E	37	12	J	320	326	428	605	621	7,9	12	16	2,5	167,7	6,28
E	29	1	F	295	310	295	582	785	14,3	7	9	2,7	151,2	10,90
E	23	24	F	450	426	282	598	513	13,9	12	14	3	213,9	7,48
E	39	180	J	325	365	324	754	385	13,3	9	8	2,7	216,7	11,15
K	46	1	A	318	264	194	496	721	16,9	13	13	2,3	242,0	11,85
E	21	18	J	100	101	428	826	1006	11,5	10	14	4,2	107,8	7,98
K	51	12	J	199	350	449	1844	634	12	14	13	6,2	160,6	11,90
E	22	60	J	423	311	373	1239	1616	14,7	18	11	3,1	152,9	9,08
E	20	24	J	466	509	390	885	917	15	19	16	2,5	200,2	11,45
E	25	24	J	512	293	516	1644	810	16,9	12	13	4	112,7	10,45
E	20	120	A	202	255	269	1078	1271	15,7	9	11	2,4	235,9	12,68
E	20	36	J	424	370	309	1149	1888	10,2	16	18	5,3	110	12,38
K	66	60	F	342	328	428	656	565	17,9	10	14	2,8	255,2	12,28
E	22	108	J	335	321	245	645	456	15	12	12	2,4	236,5	9,45
K	29	216	J	471	485	373	785	657	13,3	12	13	3	139,1	9,58
K	42	72	F	380	384	470	456	429	14,7	13	11	2,8	272,2	12,9
E	20	132	J	121	134	373	971	376	13,7	11	13	2,1	194,7	11,58
E	21	48	J	369	278	257	1031	340	14,2	20	16	3,1	187	12,7
E	21	120	J	278	539	356	520	315	14,9	14	16	1,5	116,0	12,18
E	24	192	J	443	304	324	607	1296	13,8	24	9	3,5	166,6	9,83
E	20	90	J	304	406	449	810	1442	12,9	12	8	3,1	189,7	10,70
E	20	168	J	202	288	470	1479	1388	13,2	4	8	3,6	191,9	12,73
E	20	168	J	445	643	356	1869	603	15,9	13	23	5,5	189,7	13,68
E	20	180	J	424	404	390	1062	874	13,1	18	15	4,9	216,7	9,85
E	23	168	J	131	148	470	1769	522	13,3	10	6	4,6	154,5	11,95
K	56	36	AF	640	383	428	857	922	15,5	28	12	3,2	294,2	8,93
E	20	120	Ü	126	288	282	970	1285	15,3	10	12	4,3	232,1	11,13

L: Lezyonlu doku    LD: Lezyonsuz doku    E: Eritrosit    J: Jeneralize    F: Fokal    Ü: Üniversal    A: Akral    AF: Akrofasiyal

**Tablo 3.** Kontrol grubunun genel özellikleri ve analiz sonuçları

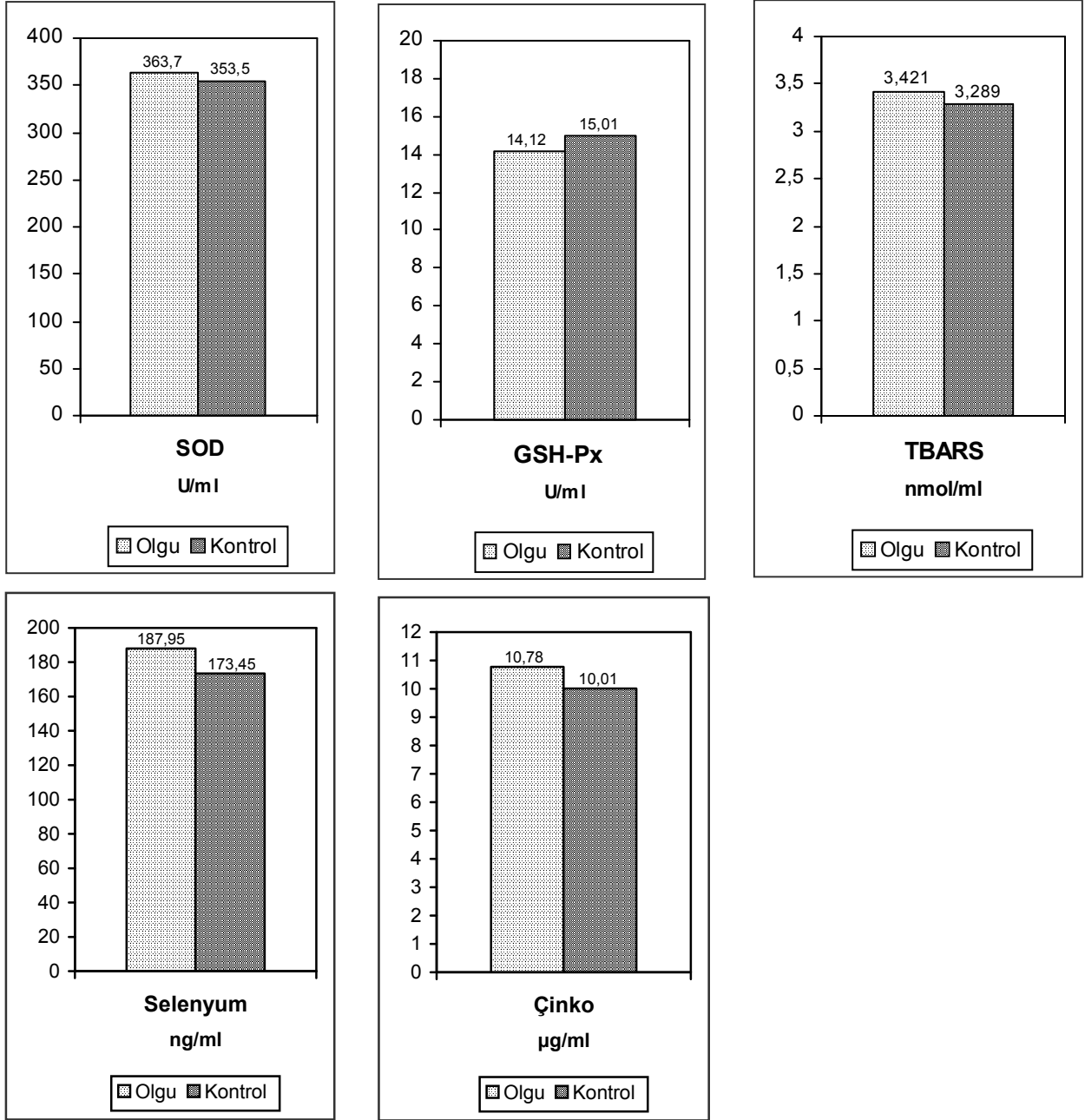
Cins	Yaş (yıl)	CuZn-SOD		GSH-Px		TBARS		Se	Zn
		Doku U/g	E U/ml	Doku U/g	E U/ml	Doku nmol/g	E nmol/ml	E ng/ml	E µg/ml
E	31	126	223	917	18,1	20	4,3	140,8	10,55
E	23	481	470	1313	11,6	21	2,5	108,9	11,68
E	22	406	516	1259	7,7	13	3,3	179,8	5,65
E	42	384	470	1115	12,3	18	6,3	160,0	9,10
E	20	364	339	591	11,3	16	2,8	113,3	8,75
K	22	356	369	1072	10,3	13	2,4	160,0	9,03
E	22	145	409	1081	13,1	15	2,4	139,1	11,03
K	22	288	373	962	8,8	19	2,5	162,2	11,65
E	23	284	540	1037	17,2	5	2,8	220,5	10,23
E	42	311	228	1416	15,2	13	2,8	213,4	9,48
E	21	297	269	1208	19,6	14	2,4	138,6	9,90
E	22	364	134	865	17,3	9	2,3	259,6	12,58
E	29	392	257	967	19,3	10	4,5	189,7	9,93
E	22	401	356	1150	20,8	12	5,2	233,7	10,63
K	32	255	309	1175	22,6	12	3,6	156,7	9,95
K	21	292	373	994	10	13	2,5	171,6	7,43
E	20	424	296	1324	15,7	11	2,7	184,2	10,65
E	21	376	470	1186	18	14	4,8	211,7	10,88
K	35	418	316	1348	16,4	9	2,4	151,9	11,20

E: Eritrosit

**Şekil 1.** Olguların lezyonlu ve lezyonsuz dokuları ile kontrol dokularında saptanan ortalama değerlerin karşılaştırılması.

artışın, reaktif oksijen türevlerinin artmasına veya antioksidan düzeylerinin yetersiz kalmasına bağlı olarak gelişebileceğini ileri sürmektedir. Reaktif oksijen türevleri, oksidatif metabolizmanın ara

ürünleri olmakla birlikte, iskemi/reperfüzyon, inflamasyon, iyonize ve ultraviyole radyasyona (UVR) maruziyet gibi patolojik durumlarda ya da artmış miktardaki katekolaminler ile



Şekil 2. Olguların ve kontrollerin eritrositlerinde saptanan ortalama değerlerin karşılaştırılması.

tetrahidrobiopterinler, tiyoller, hidrokinonlar, flavinler gibi küçük moleküllerin oksidasyonu sonucunda aşırı miktarda birikebilirler (4,6,7).

Jimbow ve arkadaşları, melanin toksik ara ürünlerinin oluşturduğu oksidatif strese karşı artmış bir genetik duyarlılığın melanositlerin erken ölümüne yol açabileceği teorisinden yola çıkarak bu-

nun tirozinaz bağımlı protein-1'in anormal sentezi ve bu proteinin kalneksin ile ilişkisi sonucu oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir (8).

Medrano ve arkadaşları, vitiligolu kişilerin lezyonsuz derileri ile sağlıklı kişilerin derilerinden aldıkları shave biyopsi örneklerini in vitro şartlardaki çeşitli kültür ortamlarında tutarak

melanositlerin gelişmelerini gözlemlemiştir. Vitiligolu melanositlerin, katalazın eklenmediği kültür ortamında 2-3 hafta içinde öldüklerini, katalazın eklendiği kültür ortamında ise en az dört ay yaşayıp, pigment üretebildiklerini saptamışlardır. Çalışmacılar ayrıca, kültüre edilen vitiligolu melanositleri elektron mikroskopunda incelediklerinde, melanozomların otofagozomları andırır şekilde bölümlere ayrıldığını ve endoplazmik retikulumun aşırı şekilde genişlediğini gözlemlemiştir. Sonuç olarak, melanositlerin uzun süreli in vitro gelişmelerinin, ortamdaki büyüme faktörlerinin uygun karışımına ve antioksidanların varlığına bağlı olduğunu öne sürmüşler, ayrıca vitiligo melanositlerinin yapısal hücrel bir defekt taşıdıklarını belirtmişlerdir (9).

Yohn ve arkadaşları, beyaz ve siyah ırka ait sağlıklı vericilerden elde ettikleri fibroblast, keratinosit ve melanositleri in vitro kültürlerde çoğaltarak antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, bu hücrelerdeki peroksidaz, katalaz (CAT), GSH-Px ve SOD enzim aktivitelerini ölçmüşler ve fibroblastların keratinositlerden, keratinositlerinde melanositlerden daha yüksek enzim aktivitelerine sahip olduklarını saptamışlardır. Her iki ırka ait aynı hücre tipleri arasındaki enzim aktivitelerinde ise bir fark saptayamamışlardır. Bu sonuç, özellikle beyaz ırka ait melanositlerin, UVR'nin oluşturacağı reaktif oksijen türevlerinden diğer hücrelere oranla daha fazla zarar göreceğini göstermiştir (4).

Picardo ve arkadaşları, melanosit hasarının jeneralize oksidatif strese bağlı olup olmadığını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmalarında, aktif vitiligolu olguların kanlarında antioksidan enzim ve lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeylerini araştırmışlardır. Aktif vitiligolu 62 olgu ile sağlıklı 60 kontrolün eritrosit SOD, GSH-Px ve GSH düzeyleri ile plazma TBARS ve vitamin E düzeylerini karşılaştırmışlar ve hiçbirinde anlamlı bir fark saptamamışlardır (10). Biz de çalışmamızda, olgu ve kontrollerin eritrosit SOD, GSH-Px ve TBARS düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptayamadık ( $p>0.05$ ).

Maresca ve arkadaşları, 10 vitiligolu olgu ile 20 kontrolün eritrositleri ile hücre kültürlerinden

elde ettikleri melanositlerinde SOD ve CAT aktivitelerini karşılaştırmışlar ve vitiligo melanositlerinin normal melanositlere oranla düşük katalaz aktivitesine sahip olduğunu saptamışlardır. Melanosit SOD ile eritrosit SOD ve CAT değerleri arasında ise anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir (11).

Passi ve arkadaşları, aktif vitiligolu 15 olgu ile 15 sağlıklı kontrolün epidermislerinde çeşitli enzimatik (SOD, CAT, GSH-Px) ve enzimatik olmayan (vitamin E, ubiquinol, GSH) antioksidanlar ile polidoymamış yağ asitlerinin (PDYA) düzeylerini karşılaştırmışlar ve vitamin E, ubiquinol, GSH'nin epidermal düzeyleri ile CAT aktivitesinin aktif vitiligolu olgularda anlamlı derecede azaldığını, SOD ve GSH-Px aktivitelerinin ise kontrol değerlerine eşit olduğunu saptamışlardır. Yine vitiligolu epidermiste PDYA düzeylerinin de azaldığını gözlemlemiştir. Ubiquinol ve vitamin E temel lipofilik antioksidanlar olup, PDYA'nın oksidatif yıkımlarının inhibisyonundan sorumludurlar. CAT ve GSH-Px ise  $H_2O_2$ 'nin uzaklaştırılmasından sorumlu olan antioksidanlardır. Araştırmacılar bu bilgilere dayanarak elde ettikleri sonuçları değerlendirmişler ve ubiquinol ile vitamin E miktarlarındaki düşüklüğün, azalmış PDYA düzeyleri ile uyumlu olduğunu, CAT aktivitesindeki azalmanın ise beklendiği gibi artmış GSH-Px aktivitesi ile kompanse edilemediğini saptamışlardır. Bunun sebebinin de azalmış GSH düzeylerine bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Sonuç olarak aktif vitiligolu olguların epidermislerindeki bozulmuş intrasellüler redoks dengesi ile azalmış antioksidan seviyelerinin, epidermal hücre hasarı ile sonuçlanan anormal bir oksidatif stresi yansıttığına karar vermişlerdir (6). Bizim çalışmamızda ise, olgu ve kontrollerin doku SOD aktiviteleri arasında anlamlı bir fark saptanmazken ( $p>0.05$ ), olguların doku GSH-Px aktivitelerinin kontrollerden anlamlı derecede düşük olduğu saptandı ( $p=0.02$  ve  $p=0.007$ ).

Beazley ve arkadaşları, 61 vitiligolu olgu ile geniş bir kontrol grubunun serum selenyum seviyelerini karşılaştırmış ve 34 vitiligolu olguda (%56) anlamlı derecede yüksek serum selenyum seviyeleri saptamışlardır. GSH-Px enziminin en az bir izoformu aktivitesi için selenyuma ihtiyaç duyduğundan, olguların kan GSH-Px aktiviteleri de de-

ğerlendirilmiştir. Yüksek selenyum seviyelerine sahip 36 vitiligolu olgu ile 14 kontrolün kan GSH-Px aktiviteleri değerlendirilmiş ve enzim aktivitesinde genel olarak anlamlı bir azalma tespit edilememiştir, ancak araştırmacılar yaş grupları ile bağlantılı daha detaylı bir analiz yaptıklarında, 46 yaşın altındaki olgularda enzim aktivitelerinin anlamlı derecede düşük olduğunu gözlemlemiştir. Beazley ve arkadaşları bu çalışmalarında, vitiligoda selenyum bağımlı GSH-Px aktivitesinin, enzimin selenyum bağımsız izoformu tarafından yedeklenmediği ve dolayısıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yeterli olarak elimine edilemediği sonucuna varmışlar ve ayrıca önceki bazı araştırmacıların (6) aksine vitiligoda selenyum tedavisinin gerekli olmadığını vurgulamışlardır (12). Biz de çalışmamızda olguların eritrosit selenyum seviyelerini yüksek, GSH-Px aktivitelerini düşük olarak bulduk, ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05).

Molokhia ve arkadaşları, vitiligolu olgular ile sağlıklı kontrollerin doku ve serumlarında nötron aktivasyon yöntemiyle analiz ettikleri çinko ve bakır düzeylerini karşılaştırmışlar ve vitiligolu olguların lezyonsuz dokularında yüksek bakır seviyeleri ile serumlarında düşük çinko seviyeleri saptamışlar ancak bu sonuçlarla vitiligo patogenezi arasında net bir bağlantı kuramamışlardır (13). Bizim çalışmamızda ise, olgu ve kontrollerin eritrosit çinko seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı (p>0.05).

Schallreuter ve arkadaşları bugüne kadar vitiligo patogenezi hakkında açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, önceki çalışmalardan elde edilen verilere dayanarak yayınladıkları yakın tarihli derlemelerinde, epidermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikiminin patogeneze asıl rolü oynadığını öne sürmüşlerdir. Epidermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikiminin kaynağı olarak; (I) azalmış katalaz aktivitesi, (II) azalmış glutatyon peroksidaz aktivitesi, (III) bozulmuş katekolamin sentezi ve artmış MAO aktivitesi, (IV) defektif 6BH<sub>4</sub> siklusu gösterilmiştir. Schallreuter ve arkadaşları 1995 yılında 33 vitiligolu olgu üzerinde yaptıkları çalışmada, UVB ile aktive edilmiş topikal psödokatalaz tedavisi ile olguların %95'inde ilerlemenin durduğunu ve daha sonra 700'den fazla olgu üzerindeki çalışmada,

olguların %60-65'inde tam repigmentasyon sağlandığını bildirmişlerdir. Bu tedavi yöntemi stabil hastalıkta da etkili olmuş ve beş yıllık gözlemlerde hastalık aktivitesi saptanmamıştır. Araştırmacılar bu tedavi sonrası yaptıkları incelemelerde psödokatalazın, epidermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i başarıyla uzaklaştırdığını ve 4a-OH-tetrahidrobiopterin dehidrataz enzim seviyeleri ile 7BH<sub>4</sub> düzeylerini normal sınırlara çektiğini saptamışlardır (14-16).

Dell'Anna ve arkadaşları eritrosit ve/veya periferik kandaki mononükleer hücrelerde SOD, katalaz, indirgenmiş glutatyon ve vitamin E düzeylerini aktif veya stabil vitiligolu olgular ile sağlıklı kontrollerde karşılaştırmışlar ve eritrositlerdeki parametrelerde bir değişiklik yok iken periferik kan mononükleer hücrelerinde SOD aktivitesinin her iki grup olguda (aktif-stabil) arttığını, halbuki katalaz aktivitesi, indirgenmiş glutatyon ve vitamin E düzeylerinin ise sadece aktif olan olgularda azaldığını gözlemişlerdir. Ayrıca aktif vitiligolu olgularda mitokondrial transmembran potansiyelindeki değişikliği ve apoptotik hücre yüzdesindeki artışı da saptamışlardır. Bu sonuçlara dayanarak reaktif oksijen türevleri, sitokinlerin üretimi, katekolamin salınımı ve Ca<sup>2+</sup> metabolizmasındaki değişikliklerin mitokondriyi hedef organ seçerek melanosit dejenerasyonunu başlatabileceklerini ileri sürmüşlerdir (17).

Nishimura ve arkadaşları kıl folliküllerinde bulunan niş'in, melanosit kök hücresinden farklılaşacak olan melanositler üzerinde dominant bir rol oynadığını ve bu bulgunun ileride etyopatogenezi aydınlatmada yol gösterici olabileceğini bildirmişlerdir (18).

Bütün bu araştırmalar, vitiligo patogenezinde çoğu zaman birbirlerinden tam olarak ayrılamayan birçok mekanizmanın rol oynayabileceğini göstermektedir. Ancak hemen tüm araştırmalar oksidatif stresin ve antioksidan sistemlerin patogeneze önemli fonksiyonları olabileceğini göstermiştir.

Çalışmamızda, SOD aktivitesi ile lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeylerini normal olarak saptamamıza rağmen, doku GSH-Px düzeyindeki düşüklük bizlere antioksidan sisteminde bir dengesizlik olduğunu düşündürmüştür. Antioksidan enzim aktivitelerindeki bu dengesizliğin, reak-



tif oksijen türevlerinin birikmesine yol açmak suretiyle melanosit hasarına neden olabileceği kanısındayız. Olguların lezyonsuz dokularında da GSH-Px aktivitesinin düşük olarak saptanması, hastalığın sadece lezyonlu bölgeler ile sınırlı olmadığı ve progresif bir karakter taşıdığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz bu bulguları önceki çalışmaların bulguları ile birlikte değerlendirdiğimizde vitiligo patogenezinde epidermal oksidatif stresin ve antioksidan sistemindeki dengelessizliğin de rol oynayabileceği, ayrıca artmış oksidatif stresin ve azalmış antioksidan enzim aktivitelerinin sebeplerini saptamaya yönelik (hastalık aktivitesini gözönüne alan ve periferik mononükleer hücre ölçümlerini içeren) yapılacak çalışmaların hastalığın patogenezinin daha iyi aydınlatılacağı düşüncesindeyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Kovacs SO. Vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1998;385:647-66.
2. Mosher DB, Fitzpatrick TB, Ortonne JP, Hori Y. Hypomelanoses and hypermelanoses. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB, eds. *Dermatology in general medicine*, 5<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw Hill Company, 1999:945-70.
3. Taieb A. Intrinsic and extrinsic pathomechanisms in vitiligo. *Pigment Cell Res* 2000;13(Suppl 8):41-7.
4. Yohn JJ, Norris DA, Yrastorza DG, Buno IJ, Leff JA, Hake SS, et al. Disparate antioxidant enzyme activities in cultured human cutaneous fibroblasts, keratinocytes, and melanocytes. *J Invest Dermatol* 1991; 97:405-9.
5. Odom RB, James WD, Berger TG. Disturbances of pigmentation. In: Odom RB, James WD, Berger TG, eds. *Andrews' diseases of the skin*, 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000:1057-72.
6. Passi S, Grandinetti M, Maggio F, Stancato A, De Luca C. Epidermal oxidative stress in vitiligo. *Pigment Cell Res* 1998;11:81-5.
7. Srivastava SK, Ansari NH, Liu S, Izban A, Das B, Szabo G, Bhatnagar A. The effect of oxidants on biomembranes and cellular metabolism. *Mol Cell Biochem* 1989;91:149-57.
8. Jimbow K, Chen H, Park JS, Thomas PD. Increased sensitivity of melanocytes to oxidative stress and abnormal expression of tyrosinase-related protein in vitiligo. *Br J Dermatol* 2001;144:55-65.
9. Medrano EE, Nordlund JJ. Successful culture of adult human melanocytes obtained from normal and vitiligo donors. *J Invest Dermatol* 1990;95:441-5.
10. Picardo M, Passi S, Morrone A, Grandinetti M, Di Carlo A, Ippolito F. Antioxidant status in the blood of patients with active vitiligo. *Pigment Cell Res* 1994;7:110-5.
11. Maresca V, Roccella M, Roccella F, Camera E, Del Porto G, Passi S, et al. Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1997;109:310-3.
12. Beazley WD, Gaze D, Panske A, Panzig E, Schallreuter KU. Serum selenium levels and blood glutathione peroxidase activities in vitiligo. *Br J Dermatol* 1999;141:301-3.
13. Molokhia MM, Portnoy B. Neutron activation analysis of trace elements in skin. *Br J Dermatol* 1973;88:347-53.
14. Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, Beazley WD, Gaze DC, Tobin DJ, et al. In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4:91-6.
15. Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, Beazley WD, Peters EMJ, Marles LK, et al. Epidermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation alters tetrahydrobiopterin (6BH<sub>4</sub>) recycling in vitiligo: identification of a general mechanism in regulation of all 6BH<sub>4</sub>-dependent processes? *J Invest Dermatol* 2001;116:167-74.
16. Schallreuter KU, Wood JM, Ziegler I, Lemke KR, Pittelkow MR, Lindsey NJ, et al. Defective tetrahydrobiopterin and catecholamine biosynthesis in the depigmentation disorder vitiligo. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1226:181-92.
17. Dell'Ana ML, Maresca V, Briganti S, Camera E, Falchi M, Picardo M. Mitochondrial impairment in peripheral blood mononuclear cells during the active phase of vitiligo. *J Invest Dermatol* 2001;117:908-13.
18. Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, Yoshida H, Osawa M, Moriyama M, et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature* 2002;416:854-60.

**Geliş Tarihi:** 26.06.2002

**Yazışma Adresi:** Dr.Halis Bülent TAŞTAN  
GATA Dermatoloji AD  
06018, Etlik, ANKARA  
btastan@gata.edu.tr

¶IV. Çukurova Dermatoloji Günleri Kongresinde sözlü bildiri olarak sunuldu (Adana 30-31 Mayıs, 2002).