



## VİTİLİGODA İNTERLÖKİN 18 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ ANALYSIS OF INTERLEUKIN 18 GENE POLYMORPHISMS IN VITILIGO

Güneş Çakmak Genç<sup>1\*</sup>, Sevim Karakaş Çelik<sup>1</sup>, Nilgün Solak<sup>2</sup>, Tuba Edgünlü<sup>3</sup>, Ümmühanı Özel Türkcü<sup>4</sup>, Ahmet Dursun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

<sup>2</sup>Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

<sup>3</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

<sup>4</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Vitiligo, fonksiyonel melanositlerin kaybı ile karakterize yaygın bir pigment bozukluğudur. İmmünopatogenezi tam olarak aydınlatılmamasına da cilt mikroçevresindeki inflamatuvar değişikliklerin ve özellikle sitokin ekspresyonunun artmasının, melanosit disfonksiyonu ve ölümünün temel nedeni olduğu düşünülmektedir. Vitiligonun IFN- $\gamma$  inhibisyonu kullanılarak tedavisi ile pozitif sonuçlar elde edilmiştir. İnterlökün 18 (IL-18), T hücrelerinde IFN- $\gamma$  üretimini indükleyen ve Th1 yanıtında rolü olan önemli bir sitokindir. *IL18* promotörü, çok sayıda polimorfizm içeren oldukça polimorfik bir bölgedir. Ancak bu polimorfizmlerden birçoğunun IL-18 üretimi ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir, sadece promotördeki -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmlerinin promotörün aktivitesini etkilediği ve buna bağlı olarak da IL-18 üretimini etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca bu polimorfizmlerin çeşitli otoimmün ve inflamatuvar bozukluklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla, vitiligo ve *IL18* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran hiçbir çalışma yoktur. Bu çalışmada, bu varyantların vitiligoya yakınlıkla ilişkili olup olmadığının belirlenmesi için vitiligo hastalarında ve kontrol grubunda yukarıda bahsedilen rs187238 ve rs1946518 promotör polimorfizmlerinin sıklığı araştırıldı.

**Yöntem:** Vitiligo tanılı 89 hasta ve 87 sağlıklı katılımcının, *IL18* promotör polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile incelendi.

**Bulgular:** Vitiligo hastaları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *IL18* rs187238 ve rs1946518 polimorfizmleri genotip ve alel frekanslarında anlamlı bir farklılık bulunamadı. *IL18* rs187238'in CC genotipi frekansının, vitiligo hastalarında kontrol grubuna göre daha az olduğu görülmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.213$ ). *IL18* genindeki iki SNP'nin haplotip analizinde de gruplar arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşılamadı ( $p=0.715$ ).

**Sonuç:** Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular *IL18* gen polimorfizmlerinin (-137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518)) vitiligo riski ve aktivitesi ile herhangi bir ilişkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak, örneklem sayımızın nispeten küçük olmasından dolayı bulgularımızın ileri çalışmalarda etnik açıdan çeşitlilik içeren büyük örneklem gruplarıyla tekrarlanarak doğrulanması daha anlamlı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Vitiligo, İnterlökün 18, Gen Polimorfizm, rs187238, rs1946518

### ABSTRACT

**Objective:** Vitiligo is a common pigmentary disorder caused by the destruction of functional melanocytes. Its immunopathogenesis is not completely understood, but inflammatory alterations in the skin microenvironment, and particularly increased expression of the cytokines, are thought to be essential regulators of melanocyte dysfunction and death. Treatment of vitiligo using IFN- $\gamma$  inhibition has given positive responses. Interleukin-18 (IL-18) is a cytokine that plays an important role in the Th1 response, by its ability to induce IFN- $\gamma$  production in T cells and natural killer cells. The *IL18* promoter is highly polymorphic containing several polymorphisms which have been described in the promoter region of *IL18*. Most of them were not reported to be associated with IL-18 production, only the -137 G/C (rs187238) and -607 C/A (rs1946518) SNPs in the promoter affect its promoter activity and IL-18 production was demonstrated. In addition, these SNPs have been reported to be associated with several autoimmune and inflammatory disorders. To our knowledge, no study has investigated the association between vitiligo and *IL18* gene polymorphisms. We investigated the frequencies of the two above-mentioned *IL18* promoter alterations in vitiligo patients and control subjects to determine whether these variants might represent susceptibility factors for vitiligo.

**Method:** *IL18* promoter polymorphisms of 89 patients with vitiligo and 87 healthy participants were analyzed by PCR-RFLP method.

**Results:** There were no significant differences in the genotype and allele frequency of *IL18* rs187238, and rs1946518 SNPs when compared to vitiligo patients with healthy subjects. The frequency of the CC genotype of *IL18* rs187238 tended to decrease in vitiligo patients compared to healthy subjects but was not statistically significant ( $p=0.213$ ). In haplotype analysis of two SNPs in the *IL18* gene also did not reach statistical significance ( $p=0.715$ ).

**Conclusion:** In conclusion, our results suggest that *IL18* gene polymorphisms were not played a key role in the pathogenesis of vitiligo. In addition, because of the relatively small number of subjects, our findings are preliminary and need to be validated in further studies with larger sample sizes.

**Key Words:** Vitiligo, Interleukin-18, Gene Polymorphisms, rs187238, rs1946518

### Makale Bilgisi/Article Info

**Yükleme tarihi/Submitted:** 27.09.2022, **Revizyon isteği/Revision requested:** 03.11.2022, **Son düzenleme tarihi/Last revision received:** 04.11.2022,

**Kabul/Accepted:** 15.11.2022

**\*Sorumlu yazar/Corresponding author:** Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

<sup>1</sup>Email: gunes.cak@hotmail.com, <sup>2</sup>Email: sevimkarakas@hotmail.com, <sup>3</sup>Email: nilgunstekin@gmail.com, <sup>4</sup>Email: tedgunlu@gmail.com, <sup>5</sup>Email: ozelu\_ozelu@yahoo.com, <sup>6</sup>Email: ahmet7569@gmail.com

## GİRİŞ

Vitiligo, epidermal melanosit yıkımı sonucu cilt ve saçta depigmente alanlar ile karakterize sık görülen bir cilt hastalığıdır. Genetik yatkınlık, otoimmünite, nöral hipotez ve oksidatif stress etyopatogenezinde en sık suçlanan faktörler arasında olmasına rağmen, hastalığın kesin nedeni bilinmemektedir [1].

Vitiligo hastalarının %30'unda eşlik eden bir otoimmün bozukluğun bulunması nedeni ile otoimmünite, hastalığın gelişiminde güçlü bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır [2].

Farklı popülasyonlarda vitiligo kalıtım oranının %16 ile %46 arasında değiştiği gösterilmiştir. Son zamanlarda bir çok farklı genin vitiligoya yatkınlıkla ilişkisinin araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır. Aday genlerin yaklaşık %90'ının bağışıklık düzenleyici proteinleri kodladığı ve sadece %10'unun melanosit proteinlerini kodladığı tespit edilmiştir [3,4]. Ayrıca, birçok çalışmada, vitiligo hastalarında interlökin 6 (IL-6), IL-8, tümör nekroz faktörü  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve IL-2R gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve reseptörlerin seviyelerinin arttığı bildirilmiştir [5]. Sitokinler, bağışıklığın önemli aracılarıdır ve sitokin ağındaki dengesizlik veya eksiklik immün yanıtta farklılıklara neden olarak otoimmün hastalığa yol açabilir [6].

İnterferon (IFN)  $\gamma$ -indükleyici faktör olarak da bilinen IL-18, esas olarak makrofajlar ve monositler tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir [7]. IL-18, IFN- $\gamma$  üreten aktif T hücrelerinin ve NK hücrelerinin proliferasyonunu indükler. Harris ve arkadaşları da vitiligo fare modeli kullanarak yaptıkları çalışmada IFN- $\gamma$ 'nın vitiligo lezyonlarının yayılmasında merkezi bir rol oynadığını göstermiştir [8]. Mutant Smyth türü tavuklar da otoimmün vitiligo için üzerinde iyi çalışılmış başka bir hayvan modeli olup 2012 yılında Shi ve ark tarafından bu model üzerinde yapılan çalışmada da IFN- $\gamma$ , patogenezde rol oynayan sitokin profilinin bir parçası olarak tanımlanmıştır [9]. Ayrıca, başka bir çalışmada da sitotoksik T hücrelerinden üretilen IFN- $\gamma$ 'nın melanositlerde apoptoza neden olabileceği gösterilmiştir [10]. *IL18* geni, kromozom 11q22.2-q22.3 üzerinde yer alır ve 20.8 kb uzunluğunda olup altı ekzon ve beş intron içerir. *IL18*'in promotör bölgesinde çok sayıda polimorfizm tanımlanmış olmakla birlikte sadece -607A/C (rs1946518) ve -137G/C tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP), dokularda IL-18 aktivitesi ve ekspresyonu üzerindeki etkisi gösterilmiştir [11, 12]. -607 pozisyonundaki C/T değişimi, siklik AMP'ye cevap veren element bağlama protein (CREB) bağlanma bölgesini bozar ve -137 pozisyonunda guaninden sitozine değişiklik ise H4TF-1'i (insan histonu H4 genine özgü transkripsiyon) etkiler. faktör-1) bağlanma yeri. -607 ve -137 pozisyonlarında A ve C alelleri bulunduğu promotör aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmada -607C/-137G haplotipinin önemli ölçüde daha yüksek IL-18 protein ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca başka bir çalışmada da *IL18* - 137 G > C (rs187238) polimorfizminin GATA3 bağlanma bölgesinde yer aldığı ve IgE seviyesinin artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [13-16]. -137 GG genotipli monositlerin, kalsiyum iyonofor A23187 artı forbol miristat asetat (PMA) veya lipopolisakarit (LPS)'ye yanıt olarak -137 GC monositlerinden daha yüksek IL-18 seviyeleri ürettiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra bu güne kadar, bu polimorfizmlerin tip 1 diyabet, romatoid artrit, alerjik bozukluklar, koroner arter hastalığı ve çeşitli kanserler dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir [17-23]. Thompson ve ark. ise *IL18* genindeki SNP'lerinin IL-18 ekspresyon seviyesini etkileyerek inflamatuvar hastalık riskini arttırdığını bildirmiştir [24]. *IL18*'in fonksiyonel önemi yanısıra bu gendeki -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmlerinin protein seviyesindeki etkisi göz önünde bulundurulduğunda bu polimorfizmlerin bağışıklık sisteminin işleyişini etkileyerek vitiligo patogenezinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Bundan dolayı bu çalışmada, *IL18* gen promotör polimorfizmlerinin vitiligodaki rolünü araştırılmayı amaçladık.

## YÖNTEM

Çalışmaya Bülent Ecevit Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Deri ve Zührevi Hastalıklar polikliniğinde vitiligo tanısı alan 89 hasta ve 87 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 166 kişi alındı. Kontrol grubu herhangi bir otoimmün ve inflamatuvar hastalığı olmayan ayrıca ailesinde vitiligo hastalığı öyküsü olmayan yaş ve cinsiyet açısından benzer kişilerden oluşturuldu. Hastalar, hastalığın aktivitesine göre: aktif vitiligo (yayılan lezyon ve/veya önceki altı ay boyunca ortaya çıkan yeni lezyonlar) ve stabil vitiligo (önceki altı ay veya daha uzun süreden boyunca lezyonların sayısında veya boyutunda artış yok) olarak sınıflandırıldı. Hastalarımızın 54'ü (%63.6) aktif, 31'i (%36.4) stabil alt tipten oluşmaktadır (Tablo 1).

Genomik DNA, Macherey-Nagel DNA izolasyon Kiti (Cat No: 740.951.250) kullanılarak 200 ml periferik kandan izole edilmiştir. *IL18* genindeki -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemleriyle belirlendi. Tüm amplifikasyonlar "the MWG primus thermal cyler-Primus 96 PCR system" cihazı ile yapılmıştır.

PCR işlemi, 10X PCR tamponu, 3.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.25 mM dNTP, 1.5 U Taq polimeraz (Promega, Madison, WI), 20-100 ng DNA ve her primerden 0.3  $\mu$ M (-607 C/A polimorfizmi için: F; 5'-GCC CTC TTA CCT GAA TTT TGG TAG CCC TC ve R; 5'-AGA TTT ACT TTT CAG TGG AAC AGG AGT CC 3' ve -137 G/C polimorfizmi için F; 5' ATG CTT CTA ATG GAC TAA GGA R; 5'-GTA ATA TCA CTA TTT TCA TGA ATT) içerecek şekilde distile su ile 25  $\mu$ L hacminde gerçekleştirildi.

-607 CA polimorfizmi için amplifikasyon koşulları, 95 °C'de 5 dakikalık bir ilk denatürasyon; daha sonra 94 °C'de 30 s, 60 °C'de 30 s ve 72 °C'de 30 s olacak şekilde 35 siklus amplifikasyon döngüsünü takiben 72 °C'de 7 dakikalık bir uzama adımı olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR sonrası elde edilen 171 baz çiftlik (bp) PCR ürünleri, 65°C'de Tru91 restriksiyon enzimi kullanılarak kesilmiş olup -607A aleli, 101 ve 70 bp'lik iki parçaya ayrılırken -607C aleli kesilmeden kalmıştır (Şekil 1).

-137 GC polimorfizmi için amplifikasyon koşulları, 95 °C'de 5 dakikalık bir ilk denatürasyon; daha sonra 95 °C'de 45 s, 50 °C'de 45 s ve 72 °C'de 1 dk olacak şekilde 35 siklus amplifikasyon döngüsünü takiben 72 °C'de 7 dakikalık bir uzama adımı olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen 131 bp'lik PCR ürünleri, 37 °C'de 5 U EcoRI restriksiyon enzimi ile kesilmiş olup C aleli EcoRI enzimi tarafından tanınmadığı için kesilmedi, G aleli için ise 107 ve 24 bp'lik iki fragment elde edildi (Şekil 2).

Tüm restriksiyon ürünleri, %3 agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve etidyum bromür ile boyanarak Syngene, Genegenius Bio Imaging System görüntüleme sistemi kullanılarak değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 11.5 paket programında ki-kare ve binary lojistik regresyon analizi testleri kullanılarak değerlendirilip p $\leq$ 0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir. G-Power yazılımı kullanılarak güç analizi yapılmıştır.

### Etik Onay

Çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2013-02 karar numarasıyla onaylanmış olup Helsinki Bildirgesi'ndeki kılavuzlara uygun olarak yapılmıştır. Çalışmaya dahil olan tüm katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

### BULGULAR

Çalışmaya 89 vitiligo hastası ile kontrol grubu olarak 87 sağlıklı birey dahil edildi. Hasta ve kontrol grupları için %5 Tip I hata ( $\alpha=0.05$ ) ve yaklaşık %80 güç değeri için örneklem büyüklüğü 66 olarak hesaplandı. Çalışma grubunun sosyo-demografik özelliklerine

bakıldığında; hastaların yaş ortalaması 58.15±9.5, kontrol grubununki ise 60.98±13.5 olarak bulundu (p=0.142). -137 G/C polimorfizmi için CC genotipi frekansının hasta grubunda kontrol grubuna oranla biraz daha yüksek olduğu belirlenmiş olmakla birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir (OR: 0.213, %95 CI, 0.658-7.699; Tablo 1). Ayrıca C ve G alel frekansları açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 1, p=0.61). -607 C/A polimorfizmi için de *IL18* CA genotipinin hastalarda daha az sıklıkta görülmesine rağmen vitiligoya yakınlıkla ilişkisi olmadığı görüldü (OR: 1.688, %95 GA, 0.844-3.374; Tablo 1). Ayrıca C ve A alellerinin sıklığında da hasta ve kontroller arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı (Tablo 1, p=0.86). *IL18* genindeki iki SNP'nin birlikteliğinin değerlendirildiği haplotip analizi yapıldığında da gruplar arasında istatistiksel bir anlamlılığa ulaşılamadı (Tablo 2, p=0.715). Vitiligo stabilitesi açısından da hasta grubu stabil grup ve unstabil grup olmak üzere ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldı (Tablo 3) ancak genotip ve alel frekansları açısından gruplar arasında herhangi bir ilişki bulunamadı.

**Tablo 1.** Vitiligo hastalarında ve kontrol grubunda *IL18* -137 G/C ve -607 C/A gen polimorfizmleri genotip ve alel frekans dağılımları

|                      | Genotip     | Kontrol                  | Vitiligo                  | p        | OR (95 % CI)        |
|----------------------|-------------|--------------------------|---------------------------|----------|---------------------|
|                      |             | n=89 (%)                 | n=87 (%)                  |          |                     |
| <i>IL18</i> -137 G/C | GG          | 61 (68.5)                | 61 (70.1)                 | 0.213    | Referans            |
|                      | GC          | 24 (27.0)                | 17 (19.5)                 |          | 0.708 (0.346-1.449) |
|                      | CC          | 4 (4.5)                  | 9 (10.3)                  |          | 2.250 (0.658-7.699) |
|                      | <b>Alel</b> | <b>Kontrol n=178 (%)</b> | <b>Vitiligo n=174 (%)</b> | <b>p</b> | <b>OR (95 % CI)</b> |
|                      | G           | 146 (82.0)               | 139 (79.9)                | 0.610    | Referans            |
| C                    | 32 (18.0)   | 35 (20.1)                | 1.149 (0.674-1.957)       |          |                     |
| <i>IL18</i> -607 C/A | CC          | 49 (55.1)                | 45 (51.7)                 | 0.077    | Referans            |
|                      | CA          | 20 (22.5)                | 31 (35.6)                 |          | 1.688 (0.844-3.374) |
|                      | AA          | 20 (22.5)                | 11 (12.6)                 |          | 0.599 (0.259-1.387) |
|                      | <b>Alel</b> | <b>Kontrol n=178 (%)</b> | <b>Vitiligo n=174 (%)</b> | <b>p</b> | <b>OR (95 % CI)</b> |
|                      | C           | 118 (66.3)               | 121 (69.5)                | 0.514    | Referans            |
| A                    | 60 (33.7)   | 53 (30.5)                | 0.861 (0.550-1.348)       |          |                     |

**Tablo 2.** Vitiligo hastalarında ve kontrol grubunda *IL18* -137 G/C/-607 C/A gen polimorfizmleri haplotip dağılımları

| Haplotip                      | Kontrol    | Vitiligo   | p            |
|-------------------------------|------------|------------|--------------|
| <i>IL18</i> -137 G/C/-607 C/A | n=178 (%)  | n=174 (%)  |              |
| GC                            | 112 (62.9) | 112 (64.4) | <b>0.715</b> |
| GA                            | 34 (19.1)  | 27 (15.5)  |              |
| CC                            | 6 (3.4)    | 9 (5.2)    |              |
| CA                            | 26 (14.6)  | 26 (14.9)  |              |

**Tablo 3.** Stabil/unstabil vitiligo hastalarında ve kontrol grubunda *IL18* -137 G/C ve -607 C/A gen polimorfizmleri genotip ve alel frekans dağılımları

|                      | Genotip     | Kontrol   | Unstabil vitiligo | Stabil vitiligo | p         |       |
|----------------------|-------------|-----------|-------------------|-----------------|-----------|-------|
|                      |             | n=89 (%)  | n=66 (%)          | n=18 (%)        |           |       |
| <i>IL18</i> -137 G/C | GG          | 61 (68.5) | 47 (71.2)         | 13 (72.2)       | 0.300     |       |
|                      | GC          | 24 (27.0) | 11 (16.7)         | 4 (22.2)        |           |       |
|                      | CC          | 4 (4.5)   | 8 (12.1)          | 1 (5.6)         |           |       |
|                      | <b>Alel</b> | <b>G</b>  | 61 (68.5)         | 13 (72.2)       | 47 (71.2) | 0.860 |
|                      | <b>C</b>    | 28 (31.5) | 5 (27.8)          | 19 (28.8)       |           |       |
| <i>IL18</i> -607 C/A | CC          | 49 (55.1) | 37 (56.1)         | 7 (38.9)        | 0.129     |       |
|                      | CA          | 20 (22.5) | 22 (33.3)         | 8 (44.4)        |           |       |
|                      | AA          | 20 (22.5) | 7 (10.6)          | 3 (16.7)        |           |       |
|                      | <b>Alel</b> | <b>C</b>  | 49 (55.1)         | 7 (38.9)        | 37 (56.1) | 0.901 |
|                      | <b>A</b>    | 40 (44.9) | 11 (61.1)         | 29 (43.9)       |           |       |

## TARTIŞMA

Vitiligonun immünoopatogenezi oldukça karmaşık olup henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bir çok çalışmada, vitiligo ile ilişkili olabilecek çeşitli aday genler ve lokuslar bildirilmekle birlikte vitiligoya neden olan bir gen tespit edilememiştir. Çalışmaların bir çoğunda epidermal ve dermal mikro-ortamlarda inflamatuvar değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Sitokin ve kemokin dengesindeki değişiklikler ve oksidatif stress artışı vitiligo gelişiminde en önemli immünoopatolojik olaylar olarak görülmektedir [25-27]. Bu nedenle, sitokinleri kodlayan genler ve bu genlerdeki varyasyonlara odaklanan genetik çalışmalar, vitiligo riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Örneğin, TNFα'nın vitiligo lezyonlarının gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği dokularda *TNFA* ekspresyon artışının tespiti ile gösterildikten sonra tarafından da *TNFA* geninin promotör bölgesindeki çeşitli polimorfizmlerin (-238, -857, -863, -1031 ve -308 G/A polimorfizmi) vitiligo ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir [28].

Benzer şekilde insan ve fare çalışmalarında, vitiligoda sistemik, doku ve hücresele IL-17 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, vitiligolu hastalarda lezyonlu ve perilezyonel ciltte IL-17+ hücreleri saptanmış ve IL17 düzeyi ile erken başlangıç yaşı, hastalık süresi, etkilenen vücut yüzey alanı ve hastalığın ilerlemesi arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur [29-31]. Bu çalışmaları IL-17 düzeyini etkileyebilecek genetik varyasyonların araştırıldığı çalışmalar takip etmiştir. Yapılan çalışmalarda farklı varyasyonlar ve farklı etnik populasyonlarda çalışılmış olup Zapata-Salazar ve ark. *IL17F* genindeki SNP rs763780 polimorfizminin, Meksika popülasyonunda vitiligo gelişimi için bir risk faktörü olduğunu ileri sürerken, Jadeja SD ve ark ise Gujarat'ta *IL17A* rs2275913 ve rs8193036 polimorfizmleri ile vitiligo yakınlığı arasında anlamlı bir ilişki olmadığını belirlemiştir [32, 33]. Benzer şekilde Muhammed ve ark. da *IL17A* rs2275913'ün Mısır popülasyonunda vitiligoya yakınlıkla anlamlı bir ilişkisi olmadığını bildirmiştir [34].

Vitiligo hastalarında Th1 sitokinlerinin aşırı ekspresyonu ve Th2 sitokinlerinin görece olarak düşük ekspresyonu dikkat çekmektedir. Ayrıca Th1 polarizasyon derecesi ile de lokal depigmentasyon oranının paralellik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak vitiligoda Th1 polarizasyonuna neden olan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. IL-18 ise Th1 ve Th2 bağışıklık tepkileri arasındaki dengeyi kontrol etmede oldukça önemli bir fonksiyonu olan bir sitokindir [35-37]. *IL18* gen ekspresyonu, IL-18, IFN-γ, TNF-α ve diğer mediatörlerin güçlü bir sentezini indüklediğinden, Th1 tepkisini

indükleyerek bu hastalıkta önemli bir rol oynayabilir [38]. Yang ve ark. tarafından da IFN- $\gamma$  düzeyindeki artışın melanosit ölümünü indükleyerek vitiligo patogenezinde doğrudan bir rol oynadığının bildirilmesinin ardından, Zhou ve ark tarafından da IFN- $\gamma$  indükleyici faktör olarak da bilinen IL-18'in melanogenez ve melanosit ölümündeki önemi gösterilmiştir [10, 39]. Ayrıca daha sonraki yıllarda ekspresyon seviyesi interlökin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) ve interlökin 18 (IL-18) tarafından düzenlenen NLRP1'in vitiligo ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar yapılmış ve *NPRP1* varyantlarının hem plazma IL-18 konsantrasyonu ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu hem de vitiligoya yakınlıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir [40]. Ancak bizim yaptığımız çalışmada *IL18* -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmlerinin vitiligo ile yakınlıkla ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir.

### Çalışmanın Limitasyonları

Yaptığımız bu çalışmada olgu sayısının azlığı ve etnik çeşitlilik içermemesi kısıtlama oluşturmakla birlikte; bildiğimiz kadarıyla literatürde vitiligo ile *IL18* gen polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır ve bu çalışma vitiligo ile *IL18* polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.

### SONUÇ

Sonuç olarak; bu çalışmada, *IL18* -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmlerinin vitiligo riski ve aktivitesi ile herhangi bir ilişkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ancak bulgularımızın ileri çalışmalarda etnik açıdan çeşitlilik içeren büyük örneklem gruplarıyla tekrarlanarak doğrulanması daha anlamlı olacaktır.

**Etik onay:** 2013/02 Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

**Çıkar çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal destek:** Yok.

**Teşekkür:** Yok.

**Yazar Katkısı:** **Fikir:** TE,NST,SKÇ; **Tasarım:** SKÇ,AD,ÜÖT; **Veri Toplama:** SKÇ,GÇG,NST,ÜÖT; **Verilerin istatistiksel analizi:** SKÇ,TE; **Literatür taraması:** GÇG,AD,ÜÖT; **Makale yazımı:** GÇG,SKÇ; **Eleştirel inceleme:** GÇG,AD,NST,TE.

### KAYNAKLAR

- Ezzedine K, Eleftheriadou V, Whitton M, van Geel N. Vitiligo. *Lancet*. 2015;386(9988):74-84.
- Alkhateeb A, Fain PR, Thody A, Bennett DC, Spritz RA. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res*. 2003;16(3):208-214.
- Spritz RA. The genetics of generalized vitiligo: autoimmune pathways and an inverse relationship with malignant melanoma. *Genome Med*. 2010;2(10):78.
- Spritz RA. Modern vitiligo genetics sheds new light on an ancient disease. *J Dermatol*. 2013;40(5):310-318.
- Sandoval-Cruz M, García-Carrasco M, Sánchez-Porras R, et al. Immunopathogenesis of vitiligo. *Autoimmun Rev*. 2011;10(12):762-765.
- Harrison P, Poinon JJ, Chapman K, Roddam A, Wordsworth BP. Interleukin-1 promoter region polymorphism role in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of IL-1B-511A/G variant reveals association with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(12):1768-1770.
- Biet F, Loch C, Kremer L. Immunoregulatory functions of interleukin 18 and its role in defense against bacterial pathogens. *J Mol Med (Berl)*. 2002;80(3):147-162.
- Harris JE, Harris TH, Weninger W, Wherry EJ, Hunter CA, Turka LA. A mouse model of vitiligo with focused epidermal depigmentation requires IFN- $\gamma$  for autoreactive CD8<sup>+</sup> T-cell accumulation in the skin. *J Invest Dermatol*. 2012;132(7):1869-1876.
- Shi F, Erf GF. IFN- $\gamma$ , IL-21, and IL-10 co-expression in evolving autoimmune vitiligo lesions of Smyth line chickens. *J Invest Dermatol*. 2012;132(3 Pt 1):642-649.
- Yang L, Wei Y, Sun Y, et al. Interferon-gamma inhibits melanogenesis and induces apoptosis in melanocytes: a pivotal role of CD8<sup>+</sup> Cytotoxic T lymphocytes in vitiligo. *Acta Derm Venereol*. 2015;95(6):664-670.

- Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol*. 2001;112(1-2):146-152.
- Kalina U, Ballas K, Koyama N, et al. Genomic organization and regulation of the human interleukin-18 gene. *Scand J Immunol*. 2000;52(6):525-530.
- Kruse S, Kuehr J, Moseler M, et al. Polymorphisms in the IL 18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(1):117-122.
- Kuo CT, Leiden JM. Transcriptional regulation of T lymphocyte development and function. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:149-87.
- Imboden MA, Nieters AJ, Bircher M, et al. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts. (ECRHS-Basel and SAPALDIA). *Clin Mol Allergy*. 2006;4(1):1-9.
- Arimitsu J, Hirano T, Higa S, et al. IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;342(4):1413-1416.
- Kretowski A, Mironczuk K, Karpinska A, et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(11):3347-3349.
- Gurram VC, Polipalli SK, Karra VK, et al. Genetic polymorphism of interleukin-18 gene promoter region in rheumatoid arthritis patients from southern India. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(6):SC01-SC04.
- Izakovicova Holla L, Hrdlicková B, Schüller M, et al. Haplotype analysis of the interleukin-18 gene in Czech patients with allergic disorders. *Hum Immunol*. 2010;71(6):592-597.
- RK, K MS, G KK, et al. Evaluation of Hs-CRP levels and interleukin 18 (-137G/C) promoter polymorphism in risk prediction of coronary artery disease in first degree relatives [published correction appears in PLoS One. 2015;10(5):e0127609.
- Taheri M, Hashemi M, Eskandari-Nasab E, et al. Association of -607 C/A polymorphism of IL-18 gene (rs1946518) with breast cancer risk in Zahedan, Southeast Iran. *Prague Med Rep*. 2012;113(3):217-222.
- Liu JM, Liu JN, Wei MT, et al. Effect of IL-18 gene promoter polymorphisms on prostate cancer occurrence and prognosis in Han Chinese population. *Genet Mol Res*. 2013;12(1):820-829.
- Farjadfar A, Mojtahedi Z, Ghayumi MA, Erfani N, Haghsheenas MR, Ghaderi A. Interleukin-18 promoter polymorphism is associated with lung cancer: a case-control study. *Acta Oncol*. 2009;48(7):971-976.
- Thompson SR, Humphries SE. Interleukin-18 genetics and inflammatory disease susceptibility. *Genes Immun*. 2007;8:91-99.
- Matz H, Tur E. Vitiligo. *Curr Probl Dermatol*. 2007;35:78-102.
- Korsunskaya IM, Suvorova KN, Dvoryankova EV. Modern aspects of vitiligo pathogenesis. *Dokl Biol Sci*. 2003;388:38-40.
- Halder RM, Chappell JL. Vitiligo update. *Semin Cutan Med Surg Jun* 2009;28(2):86-92.
- Laddha NC, Dwivedi M, Begum R. Increased Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  and its promoter polymorphisms correlate with disease progression and higher susceptibility towards vitiligo. *PLoS One*. 2012;7(12):e52298.
- Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, et al. Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2012;25(2):219-230.
- Singh RK, Lee KM, Vujkovic-Cvijin I, et al. The role of IL-17 in vitiligo: a review. *Autoimmun Rev*. 2016;15(4):397-404.
- Karagün E, Baysak S. Levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-17, IL-37 cytokines in patients with active vitiligo. *Aging Male*. 2020;23(5):1487-1492.
- Zapata-Salazar NA, Kubelis-Lopez DE, Salinas-Santander MA, et al. Association of rs4711998 of IL-17A, rs2275913 of IL-17A and rs763780 IL-17F gene polymorphisms with non-segmental vitiligo in a Mexican population. *Arch Dermatol Res*. 2022;12.
- Jadeja SD, Vaishnav J, Bharti AH, Begum R. Elevated x-box binding protein1 splicing and interleukin-17A expression are associated with active generalized vitiligo in gujarat population. *Front Immunol*. 2022;12:801724.
- Mohammed FN, Sayed Amr K, Abdel Raheem HM, et al. Study of interleukin-17 gene polymorphism and susceptibility to vitiligo in a sample of the Egyptian population. *Journal of the Egyptian Women's Dermatologic Society*. 2017;14(1):45-48.
- Granum B, Løvik M. The effect of particles on allergic immune responses. *Toxicol Sci*. 2002;65(1):7-17.
- Nakanishi K, Tsutsui H, Yoshimoto T. Importance of IL-18-induced super Th1 cells for the development of allergic inflammation. *Allergol Int*. 2010;59(2):137-141.
- Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:423-474.

38. Gangemi S, Merendino RA, Guarneri F, et al. Serum levels of interleukin-18 and s-ICAM-1 in patients affected by psoriasis: preliminary considerations. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2003;17(1):42-46.
39. Zhou J, Ling J, Wang Y, Shang J, Ping F. Cross-talk between interferon-gamma and interleukin-18 in melanogenesis. *J Photochem Photobiol B.* 2016;163:133-143.
40. Westhoff LJ, Hughes SJ, Gill E, Walker T, Poole BD. IL-18 overproduction associated with NLRP1 single nucleotide polymorphisms linked to risk for vitiligo. *International Journal of Clinical & Experimental Dermatology.* 2021;6(2):1-4.