



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής

ΜΔΕ Κοσμητολογία- Δερματοφαρμακολογία



Δήμητρα
Ιερωνυμάκη

ΑΘΗΝΑ 2019

Μελέτη συσχέτισης πολυμορφισμών του γονιδίου VDR με την εμφάνιση λεύκης σε καυκάσιους ασθενείς

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- **Νικόλαος Δρακούλης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Κλινικής Φαρμακολογίας, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ (επιβλέπων)
- **Ηλέκτρα Νικολαΐδου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Δερματολογίας-Αφροδισιολογίας, Α' Πανεπιστημιακής Κλινικής Αφροδισίων και Δερματικών Νόσων, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ
- **Μιχαήλ Ράλλης**, Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Κοσμητολογίας, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία υλοποιήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης «Κοσμητολογία-Δερματοφαρμακολογία» κατά τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2018-2019· ενός έτους απαιτητικού και πολλές φορές εξουθενωτικού, αλλά και ενός έτους που με βοήθησε να εξελιχθώ τόσο ως επιστήμονας, όσο και ως άνθρωπος. Με την ολοκλήρωση λοιπόν αυτής της εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους συνέβαλλαν, άμεσα και έμμεσα, στο έργο αυτό.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή Νικόλαο Δρακούλη, επιβλέποντα καθηγητή και επιστημονικό υπεύθυνο της εργασίας, όπως και όλη την ερευνητική ομάδα Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής για την καθοδήγηση και τη βοήθειά τους, αλλά και για τα εφόδια που μου έδωσαν για να αντιμετωπίσω τον κόσμο και έξω από τα σύνορα του Πανεπιστημίου.

Η ολοκλήρωση αυτής της εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την άψογη συνεργασία και βοήθεια της αναπληρώτριας καθηγήτριας Ηλέκτρας Νικολαΐδου, η οποία ήταν πάντα πρόθυμη να με ακούσει και να μοιραστεί τις γνώσεις της και τις απόψεις της πάνω στο ερευνητικό έργο. Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την ειδικευόμενη ιατρό Δερματολογίας-Αφροδισιολογίας Στέλλα Μαστραφτσή για το χρόνο που αφιέρωσε και για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε.

Επιπλέον, ευχαριστώ τον επίκουρο καθηγητή Μιχαήλ Ράλλη για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετέχω σε αυτό το μεταπτυχιακό και για την προσπάθεια που καταβάλλει να μας παρέχει όσες περισσότερες γνώσεις και εμπειρίες είναι δυνατό.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου που με στήριξε και με ανέχτηκε, ακόμα και τις μέρες που ήταν δύσκολο. Ένα ακόμα ευχαριστώ σε αυτούς που νιώθω σαν οικογένεια, που ήταν μαζί μου, ακόμα κι αν δεν ήταν κοντά μου. Τέλος, ευχαριστώ τα κορίτσια μου που ζήσαμε μαζί αυτό το ταξίδι, και που εδώ τελειώνει...

*Σε αυτούς που είναι εδώ...
Και σε αυτούς που πήγαν μακριά...*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η λεύκη είναι μια χρόνια συστηματική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση αχρωματικών ή υποχρωμικών κηλίδων στο δέρμα και τους βλεννογόνους. Είναι η πιο συχνή διαταραχή αποχρωματισμού και τα ποσοστά εμφάνισης της υπολογίζονται από 0.06% έως 2.3% παγκοσμίως. Μία από τις κυριότερες συνέπειες της νόσου είναι ο αντίκτυπος στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Η λεύκη προκύπτει από την απώλεια μελανοκυττάρων, αν και η αιτιοπαθογένεσή της δεν είναι απολύτως κατανοητή. Έχει συσχετισθεί με την έλλειψη βιταμίνης D στον ορό των ασθενών. Η βιταμίνη D είναι μια στεροειδής ορμόνη που έχει ανοσορρυθμιστική δράση και δράση επί των μελανοκυττάρων. Δρα μέσω του υποδοχέα της (VDR), ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων. Οι γενετικοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο του VDR μπορεί να αλλάξουν τη έκφραση του γονιδίου, άρα και την ποσότητα της παραγόμενης πρωτεΐνης, ή τη δομή, άρα και τη δράση της πρωτεΐνης.

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η συσχέτιση των μεταξύ των πολυμορφισμών rs2228570 (FokI), rs1544410 (BsmI) και rs731236 (TaqI) του γονιδίου *VDR* και της πιθανότητας εμφάνισης λεύκης σε δείγμα ασθενών Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας Καταγωγής. Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν 87 ασθενείς με λεύκη από το τμήμα λεύκης του Νοσοκομείου «Ανδρέας Συγγρός» και 509 μάρτυρες Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας καταγωγής. Το DNA απομονώθηκε από τα λευκά αιμοσφαίρια του ολικού αίματος, με τη χρήση ενός kit απομόνωσης DNA. Οι πολυμορφισμοί αναλύθηκαν με τη χρήση της τεχνικής real-time PCR και καμπυλών τήξης.

Για τον πολυμορφισμό rs2228570 (FokI) 13 ασθενείς (14.94%) και 51 μάρτυρες (10.02%) έφεραν το γονότυπο T/T, 39 ασθενείς (44.83%) και 222 μάρτυρες (43.61%) έφεραν το γονότυπο T/C, 35 ασθενείς (40.23%) και 236 μάρτυρες (46.37%) έφεραν το γονότυπο C/C. Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίστηκε σε ποσοστό 37.36% στους ασθενείς και 31.83% στους μάρτυρες και το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 62.64% στους ασθενείς και σε ποσοστό 68.17% στους μάρτυρες. Για τον πολυμορφισμό rs1544410 (BsmI) 28 ασθενείς (32.18%) και 186 μάρτυρες (36.54%) έφεραν το γονότυπο G/G, 43 ασθενείς (49.43%) και 243 μάρτυρες (47.74%) έφεραν το γονότυπο G/A και 28 ασθενείς (32.18%) και 80 μάρτυρες (15.72%) έφεραν το γονότυπο A/A. Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίστηκε σε ποσοστό 56.89% στους ασθενείς και 60.41% στους μάρτυρες και το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 43.10% στους ασθενείς και σε ποσοστό 39.59% στους μάρτυρες. Για τον πολυμορφισμό rs731236 (TaqI) 34 ασθενείς (39.08%) και 197 μάρτυρες (38.70%) έφεραν το γονότυπο T/T, 41 ασθενείς (47.13%) και 239 μάρτυρες (46.95%) έφεραν το γονότυπο T/C, 12 ασθενείς (13.79%) και 73

μάρτυρες (14.34%) έφεραν το γονότυπο C/C. Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίστηκε σε ποσοστό 62.64% στους ασθενείς και 62.18% στους μάρτυρες και το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 37.36% στους ασθενείς και σε ποσοστό 37.82% στους μάρτυρες.

Οι πολυμορφισμοί του *VDR* που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία δεν εμφάνισαν κάποια συσχέτιση με τη λεύκη. Βρέθηκε όμως συσχέτιση ανάμεσα στο αλληλόμορφο G του πολυμορφισμού rs1544410 (BsmI) και την εμφάνιση λεύκης πρώιμης έναρξης (early-onset vitiligo), όπως και ανάμεσα στο γονότυπο G/G και τη λεύκη πρώιμης έναρξης. Το αλληλόμορφο G και ο γονότυπος G/G του πολυμορφισμού rs1544410 (BsmI), και ο γονότυπος T/T του πολυμορφισμού rs731236 (TaqI) βρέθηκε ότι σχετίζονται με μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης λεύκης όψιμης έναρξης (late-onset vitiligo).

ABSTRACT

Vitiligo is a chronic systemic disorder characterized by the appearance of achromatic or hypochromic patches on the skin and mucous membranes. It is the most common discoloration disorder with incidence rates from 0.06% to 2.3% worldwide. One of the main consequences of the disease is its impact on the quality of life of the patients. Vitiligo results from loss of melanocytes, although the pathogenesis of the disease is not entirely clear. The disease has been associated with lack of the serum vitamin D. Vitamin D is a hormone that shows immunomodulatory and melanocytic actions. It works through binding to vitamin D receptor (VDR), which belongs to the nuclear receptor family. Genetic polymorphisms of the VDR gene may alter the expression of the gene, hence the amount of protein produced, or the structure of the protein and, as a result, its activity.

This study aims to investigate the association between rs2228570 (FokI), rs1544410 (BsmI) and rs731236 (TaqI) polymorphisms of the VDR gene and the appearance of vitiligo in a sample of Southeastern European Caucasian patients. The study included 87 Southeastern European Caucasian vitiligo patients from the vitiligo department of "Andreas Syngros" Hospital and 509 Southeastern European Caucasian controls. Genomic DNA was extracted from peripheral blood white blood cells, using a DNA isolation kit. The polymorphisms were analyzed using real-time PCR and melting curve analysis.

For the rs2228570 (FokI) polymorphism, 13 patients (14.94%) and 51 controls (10.02%) carried the T/T genotype, 39 patients (44.83%) and 222 controls (43.61%) carried the T/c genotype, and 35 patients (40.23%) and 236 controls (46.37%) carried the C/C genotype. The wild type T allele occurred in 37.36% of the patients and in 31.83% of the control group and the mutant C allele in 62.64% of the patients and in 68.17% of the control group. For the rs1544410 (BsmI) polymorphism, 28 patients (32.18%) and 186 controls (36.54%) carried the G/G genotype, 43 patients (49.43%) and 243 controls (47.74%) carried the G/A genotype, and 28 patients (32.18%) and 80 controls (15.72%) carried the A/A genotype. The wild type G allele occurred in 56.89% of the patients and in 60.41% of the control group and the mutant A allele in 43.10% of the patients and 39.59% of the control group. For the rs731236 (TaqI) polymorphism, 34 patients (39.08%) and 197 controls (38.70%) carried the T/T genotype, 41 patients (47.13%) and 239 controls (46.95%) carried the T/C genotype, and 12 patients (13.79%) and 73 controls (14.34%) carried the C/C genotype. The wild type T allele occurred in 62.64% of the patients and in 62.18% of the control group and the mutant C allele in 37.36% of the patients and in 37.82% of the control group.

There was no correlation between vitiligo and any of the VDR polymorphisms in this study. However, there was a correlation between the G allele of rs1544410 (BsmI) polymorphism and the early-onset vitiligo, as well as between the G/G genotype of rs1544410 (BsmI) polymorphism genotype and early-onset vitiligo. The G allele and the G/G genotype of rs1544410 (BsmI) polymorphism, and the T/T genotype of the rs731236 (TaqI) polymorphism were found to be associated with lower chance of late-onset vitiligo.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α: ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	2
1.1. ΔΕΡΜΑ & ΜΕΛΑΝΟΚΥΤΤΑΡΑ	2
1.2. ΠΥΡΗΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ (NUCLEAR RECEPTORS, NR)	5
1.3. ΜΟΝΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ (SNPs)	7
2. ΛΕΥΚΗ.....	8
2.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	8
2.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ.....	9
2.2.1. Μη τμηματική λεύκη (non-segmental)	9
2.2.2. Τμηματική λεύκη (segmental).....	10
2.3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....	11
2.3.1. Αυτοάνοση υπόθεση	11
2.3.2. Βιοχημική υπόθεση (Υπόθεση του οξειδωτικού στρες)	13
2.3.3. Υπόθεση ατελούς προσκόλλησης (Μελανοκυττορραγική υπόθεση)	14
2.3.4. Νευροχημική υπόθεση	15
2.3.5. Ενδογενής υπόθεση.....	15
2.4. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ.....	15
2.5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	16
2.5.1. Διαφορική διάγνωση λεύκης.....	16
2.6. ΕΠΙΒΑΡΥΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	17
2.6.1. Γενετικό υπόβαθρο.....	17
2.6.2. Περιβαλλοντικοί παράγοντες	18
2.7. ΣΥΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ	19
2.8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	21
2.8.1. Θεραπεία πρώτης γραμμής	22

2.8.2.	Θεραπεία δεύτερης γραμμής	23
2.8.3.	Θεραπεία τρίτης γραμμής.....	24
2.8.4.	Εναλλακτικές συστηματικές θεραπείες.....	25
3.	BITAMINΗ D	26
3.1.	BITAMINΗ D ₃ (ΚΑΛΣΙΤΡΙΟΛΗ).....	26
3.1.1.	Πρόσληψη και μεταβολισμός βιταμίνης D.....	26
3.1.2.	Αποθήκευση και ρύθμιση παραγωγής βιταμίνης D	29
3.1.3.	Έλλειψη βιταμίνης D	29
3.1.4.	Λειτουργίες βιταμίνης D.....	31
3.1.5.	Δράση στο δέρμα.....	32
3.1.6.	Βιταμίνη D και λεύκη.....	33
4.	ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D (VDR).....	35
4.1.	Εντόπιση.....	35
4.2.	Δομή.....	35
4.3.	Μηχανισμός δράσης	37
4.3.1.	Λειτουργία εξαρτώμενη από το πρόσδεμα.....	37
4.3.2.	Λειτουργία ανεξάρτητη από το πρόσδεμα.....	38
4.4.	Γονίδιο VDR	39
4.4.1.	Ρύθμιση του VDR από περιβαλλοντικούς παράγοντες.....	39
4.4.2.	Ρύθμιση του VDR από γενετικούς παράγοντες.....	40
4.4.3.	Ρύθμιση του VDR από επιγενετικούς παράγοντες	40
4.5.	Πολυμορφισμοί του VDR	41
4.5.1.	TaqI (rs731236).....	43
4.5.2.	BsmI (rs1544410).....	43
4.5.3.	FokI (rs2228570)	44
4.5.4.	Ασθένειες που σχετίζονται με τους πολυμορφισμούς του VDR.....	44

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β: ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	45
1. ΣΚΟΠΟΣ.....	46
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	47
2.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	47
2.1.1. Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία ασθενών.....	48
2.1.2. Δημογραφικά στοιχεία μαρτύρων.....	55
2.2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	56
2.2.1. Λήψη αίματος.....	56
2.2.2. Απομόνωση DNA.....	56
2.2.3. Φωτομέτρηση διαλυμάτων DNA.....	61
2.2.4. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης Πραγματικού Χρόνου (real-time PCR).....	62
2.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	72
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	73
3.1. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ.....	73
3.1.1. Κατανομή συχνοτήτων του FokI (rs2228570).....	73
3.1.2. Κατανομή συχνοτήτων του BsmI (rs1544410).....	74
3.1.3. Κατανομή συχνοτήτων του TaqI (rs731236).....	76
3.1.4. Κατανομή συχνοτήτων και συσχετισμός των απλοτύπων.....	77
3.2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΕΝΑΡΞΗΣ ΤΗΣ ΛΕΥΚΗΣ.....	79
3.2.1. Κατανομή συχνοτήτων του FokI (rs2228570).....	79
3.2.2. Κατανομή συχνοτήτων του BsmI (rs1544410).....	80
3.2.3. Κατανομή συχνοτήτων του TaqI (rs731236).....	82
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	85
4.1. Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία.....	87
4.2. Πολυμορφισμός FokI (rs2228570) του γονιδίου <i>VDR</i>	87

4.3.	Πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) του γονιδίου <i>VDR</i>	88
4.4.	Πολυμορφισμός TaqI (rs731236) του γονιδίου <i>VDR</i>	90
4.5.	Απλότυποι του γονιδίου <i>VDR</i>	92
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	93
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	94
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	103

ΕΙΚΟΝΕΣ

Εικόνα 1: Βιοσύνθεση μελανίνης	3
Εικόνα 2: Επιδερμική μονάδα μελανίνης	4
Εικόνα 3: Δομή και μηχανισμός δράσης πυρηνικών υποδοχέων.....	6
Εικόνα 4: Μη τμηματική λεύκη.....	10
Εικόνα 5: Βιοσύνθεση των βιταμινών D ₂ και D ₃	26
Εικόνα 6: Βιοσύνθεση και μεταβολισμός της βιταμίνης D.....	28
Εικόνα 7: Δομική οργάνωση του ετεροδιμερούς VDR-RXRα που συνδέεται με το στοιχείο απόκρισης DR3.....	36
Εικόνα 8: Πολυμορφική δομή του γονιδίου <i>VDR</i>	42
Εικόνα 9: Α) Πιπέτα ακριβείας PIPETMAN Neo 100-1000 μL Β) Στόμιο πιπέτας με φίλτρο 100-1000μL Γ) Σωληνάριο τύπου Eppendorf 1,5 mL Δ) Σωληνάριο Vacutainer K2EDTA	56
Εικόνα 10: Α) Vibrofix VF1 Electronic Β) Centrifuge 5424 Γ) Dri-block heater DB-3.....	59
Εικόνα 11: BioPhotometer.....	62
Εικόνα 12: Στάδια PCR	64
Εικόνα 13: Δομή SimpleProbe	66
Εικόνα 14: Καμπύλη τήξης (melting curve)	67
Εικόνα 15: Διαγράμματα καμπύλων τήξεως.....	68
Εικόνα 16: LightCycler® 480	69
Εικόνα 17: Α) PCR-plate Β) Adhesive sealing film	70
Εικόνα 18: Περιορισμένη ανάλυση απλοτύπων (restricted haplotype analysis) και πρότυπα LD (LD patterns).....	77

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1: Διαφορική διάγνωση για τη λεύκη	17
Πίνακας 2: Διαταραχές και σύνδρομα που πιθανώς σχετίζονται με τη λεύκη	20
Πίνακας 3: Σύγκριση ανεπιθύμητων ενεργειών και μηχανισμών δράσης των διαφορετικών μορφών φωτοθεραπείας	24
Πίνακας 4: Κατάσταση βιταμίνης D σύμφωνα με τη συγκέντρωση της 25(OH)D στον ορό	31
Πίνακας 5: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών	54
Πίνακας 6: Όγκος αντιδραστηρίων και DNA για την ανάλυση 1 δείγματος	71
Πίνακας 7: Πρόγραμμα PCR στο LigthCycler 480	71
Πίνακας 8: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες	73
Πίνακας 9: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης	74
Πίνακας 10: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες	75
Πίνακας 11: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης	75
Πίνακας 12: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες	76
Πίνακας 13: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης	77
Πίνακας 14: Κατανομή απλοτύπων για τους πολυμορφισμούς TaqI/ BsmI/ FokI σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης	78
Πίνακας 15: Κατανομή απλοτύπων για τους πολυμορφισμούς TaqI/ BsmI σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης	78
Πίνακας 16: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 20 έτη	79
Πίνακας 17: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 30 έτη	80
Πίνακας 18: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 20 έτη	81

Πίνακας 19: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 30 έτη	82
Πίνακας 20: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 20 έτη	83
Πίνακας 21: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 30 έτη	84
Πίνακας 22: Μελέτες συσχέτισης των πολυμορφισμών του <i>VDR</i> και της εμφάνισης λεύκης	86
Πίνακας 23: Επιβεβαιωμένοι και πιθανοί τόποι ευαισθησίας για τη λεύκη που αναγνωρίζονται από μελέτες genome-wide association ή linkage	103
Πίνακας 24: SNPs που σχετίζονται με τα επίπεδα της βιταμίνης D	108
Πίνακας 25: Ασθένειες που σχετίζονται με τους πολυμορφισμούς του <i>VDR</i>	109

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

Διάγραμμα 1: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση το φύλο.....	48
Διάγραμμα 2: Ηλικιακή κατανομή ασθενών με λεύκη	48
Διάγραμμα 3: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση το ΔΜΣ.....	49
Διάγραμμα 4: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση τον κλινικό τύπο της νόσου	49
Διάγραμμα 5: Κατανομή των ασθενών με βάση την ηλικία εμφάνισης της νόσου.....	50
Διάγραμμα 6: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση την ενεργότητα της ασθένειας.....	51
Διάγραμμα 7: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση το κληρονομικό ιστορικό	51
Διάγραμμα 8: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση τα συνοδά νοσήματα	52
Διάγραμμα 9: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση την προηγηθείσα θεραπευτική αντιμετώπιση ..	53
Διάγραμμα 10: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση την παρούσα θεραπεία	53
Διάγραμμα 11: Κατανομή μαρτύρων με βάση το φύλο.....	55
Διάγραμμα 12: Ηλικιακή κατανομή μαρτύρων	55
Διάγραμμα 13: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) ασθενών με λεύκη..	73
Διάγραμμα 14: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) μαρτύρων	73
Διάγραμμα 15: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) ασθενών με λεύκη	75
Διάγραμμα 16: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) μαρτύρων.....	75
Διάγραμμα 17: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) ασθενών με λεύκη....	76
Διάγραμμα 18: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) μαρτύρων	76

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

1,24,25(OH)3D	1,24,25-τριυδροξυβιταμίνη D
1,25(OH)2D	1,25-διυδροξυβιταμίνη D/ καλσιτριόλη
25(OH)D	25-υδροξυβιταμίνη D/ καλσιδιόλη
3' UTR	3' αμετάφραστη περιοχή
4-MP	4-μεθοξυφαινόλη
5' UTR	5' αμετάφραστη περιοχή
7-DHC	7-δεϋδροχοληστερόλη
ACTH	αδρενοκορτικοτροπική ορμόνη
AF	περιοχή ενεργοποίησης
APC	αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα
BB-UVB	υπεριώδης ακτινοβολία B ευρέος φάσματος
BFGF	βασικός παράγοντας ανάπτυξης ινοβλαστών
BMD	οστική πυκνότητα
BMI	δείκτης μάζας σώματος
CAT	καταλάση
CGI	νησίδα CpG
CI	διάστημα εμπιστοσύνης
CLA	αντιγόνου δερματικών λεμφοκυττάρων
COX	κυκλοξυγενάση
CpGs	δινουκλεοτίδια φωσφορικής κυτοσίνης-γουανίνης
DAMPs	σχετιζόμενα με βλάβη μοριακά πρότυπα
DBD	περιοχή δέσμευσης του DNA
DBP	πρωτεΐνη δέσμευσης βιταμίνης D
DC	δενδριτικά κύτταρα
DHS	διυδροξυακετόνη
DNA	δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
dNTPs	τριφωσφορικά δεοξυνουκλεοτίδια
DRIP	πρωτεΐνη αλληλεπίδρασης VDR
ET	ενδοθηλίνη
FRET	μεταφορά ενέργειας συντονισμού φθορισμού
GPx	υπεροξειδάση της γλουταθειόνης
H2O2	υπεροξείδιο του υδρογόνου
HLA	αντιγόνο ανθρώπινου λευκοκυττάρου
HRE	ορμονικά στοιχεία απόκρισης
IBD	φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
IC	έντυπο συγκατάθεσης
IFN	ιντερφερόνη
IL	ιντερλευκίνη
LD	ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium)
LDB	περιοχή δέσμευσης του προσδέματος
lncRNA	μακρύ μη κωδικοποιητικό RNA
MAD	μηλονική διαλδεϋδη
MBEH	μονοβενζυλαιθέρας της υδροκινόνης
MHC	μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας

miRNA	micro RNA
MITF	μεταγραφικός παράγοντας που σχετίζεται με τη μικροφθαλμία
MITF-M	μεταγραφικός παράγοντας που σχετίζεται με τη μικροφθαλμία M ισομορφή (μελανοκυτταροειδικός)
MMP	μεταλλοπρωτεΐνάση μήτρας
MREs	στοιχεία αναγνώρισης miRNA
mRNA	αγγελιοφόρο RNA
NB-UVB	υπεριώδης ακτινοβολία Β στενού φάσματος
ncRNA	μη κωδικοποιητικό RNA
NK	φυσικά κύτταρα φονιάδες
NO	μονοξείδιο του αζώτου
NR	πυρηνικοί υποδοχείς
NRG1	neuregulin 1
NSV	μη τμηματική λεύκη
nVDREs	αρνητικά στοιχεία ανταπόκρισης στη βιταμίνη D
OR	σχετικοί λόγοι πιθανοτήτων (Odds Ratio)
PCR	αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PGE2	προσταγλανδίνη E
PPRs	υποδοχείς αναγνώρισης παθογόνων
PTH	παραθυρεοειδής ορμόνη
PUVA	ψωραλένιο και υπεριώδης ακτινοβολία Α
RA	ρευματοειδής αρθρίτιδα
RFLPs	πολυμορφισμοί μήκους θραύσματος περιορισμού
RNA	ριβονουκλεϊκό οξύ
ROS	δραστικές μορφές οξυγόνου
RXR	υποδοχέα ρετινοειδούς Χ
SCF	παράγοντας των βλαστοκυττάρων
SLE	συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
SNP	μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός
SOD	υπεροξειδική δισμουτάση
SRC	συνενεργοποιητής του υποδοχέα στεροειδών
SV	τμηματική λεύκη
Tm	θερμοκρασία τήξης
TNF	παράγοντας νέκρωσης όγκων
Treg	ρυθμιστικά Τ κύτταρα
TRP	πρωτεΐνη που σχετίζεται με την τυροσίνη
TYR	τυροσινάση
UV	υπεριώδης ακτινοβολία
VDR	υποδοχέας της βιταμίνης D
VDRE	στοιχείο απόκρισης στη βιταμίνη D
VETF	Vitiligo European Task Force
α-MSH	ορμόνη διέγερσης των μελανοκυττάρων/ μελανοκορτίνη
ΔΜΣ	δείκτης μάζας σώματος
ΣΕΛ	συστηματικός ερυθηματώδης λύκος

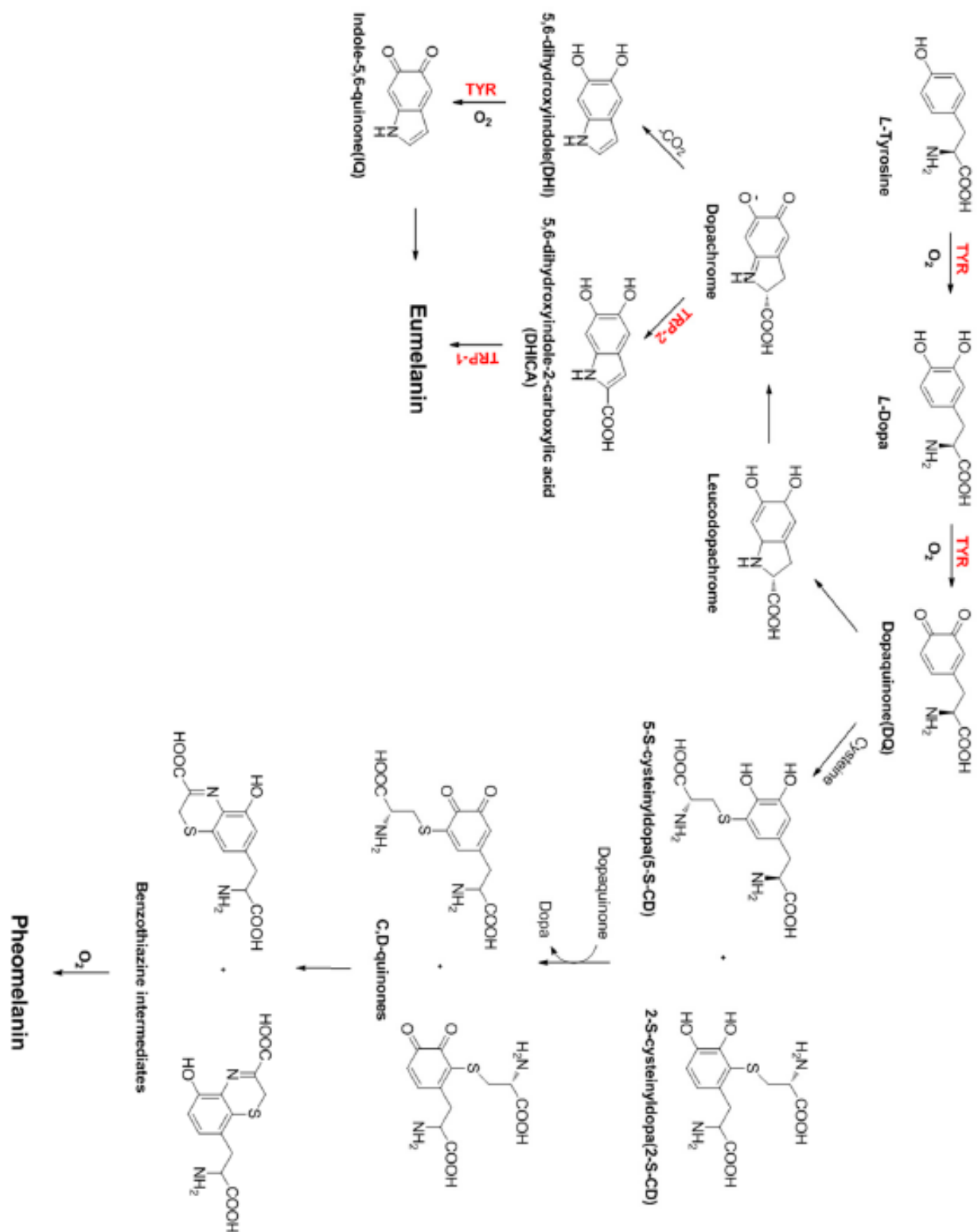
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α: ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

1.1. ΔΕΡΜΑ & ΜΕΛΑΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

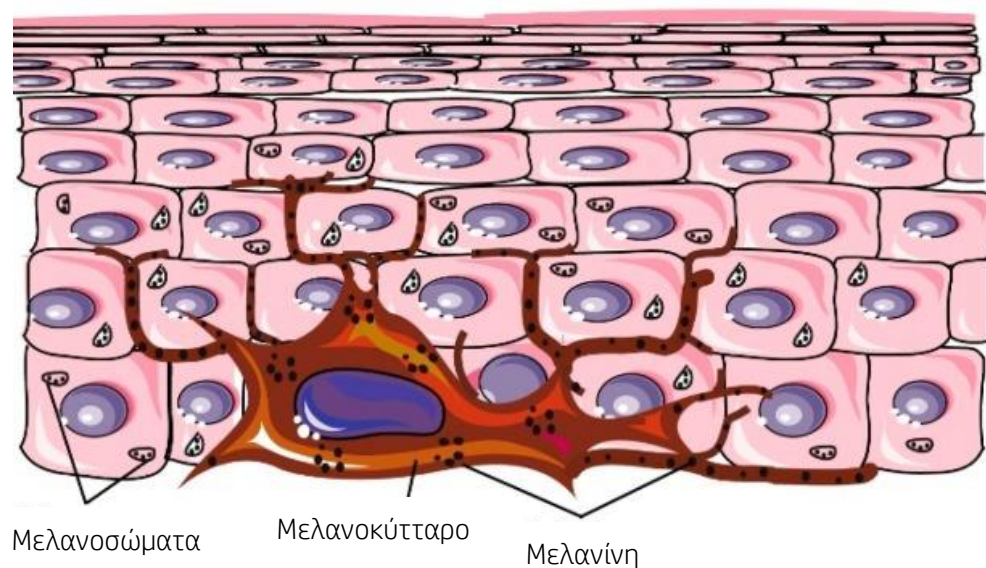
Το δέρμα αποτελείται από τρία στρώματα: την επιδερμίδα, το χόριο και τον υποδόριο ιστό. Η επιδερμίδα διαιρείται σε τέσσερα στρώματα ανάλογα με τη μορφολογία και τη θέση των κερατινοκυττάρων: τη βασική στοιβάδα (stratum germinativum), την ακανθωτή στοιβάδα (stratum spinosum), την κοκκώδη στοιβάδα (stratum granulosum), και την κεράτινη στοιβάδα (stratum corneum). [1] Τα μελανοκύτταρα είναι κύτταρα δενδριτικού σχήματος που βρίσκονται στη βασική στοιβάδα της επιδερμίδας σε αναλογία ένα προς πέντε με τα κερατινοκύτταρα. Προέρχονται από κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας. Οι πρόδρομοι των μελανοκυττάρων, γνωστοί ως μελανοβλάστες, μεταναστεύουν, πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται καθ' οδόν προς τη βασική στοιβάδα και τους θύλακες των τριχών. [2]–[4]

Τα μελανοκύτταρα παράγουν τη χρωστική ουσία της επιδερμίδας, τη μελανίνη, η οποία απορροφά την υπεριώδη ακτινοβολία (UV) και προστατεύει τα κύτταρα του δέρματος. [2]–[5] Υπάρχουν δύο τύποι μελανίνης: η ευμελανίνη και η φαιομελανίνη. Ένα πολυενζυμικό σύμπλεγμα είναι υπεύθυνο για τον συντονισμό της μελανογένεσης. Τα ένζυμα που συμμετέχουν σε αυτό το σύμπλεγμα είναι η τυροσινάση, η TYRP1 (gp75) και η TYRP2. Η L-τυροσίνη είναι η πρώτη ύλη της βιοσύνθεσης της μελανίνης και μεταβολίζεται στη ντοπακινόνη από την τυροσινάση. [4] (Εικόνα 1) Η μελανογένεση λαμβάνει χώρα σε ειδικά οργάνδια, τα μελανοσώματα, και μπορεί να ενεργοποιηθεί από μια ποικιλία παρακρινικών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένης της ορμόνης διέγερσης των μελανοκυττάρων (α -MSH), γνωστής ως μελανοκορτίνη, του παράγοντα των βλαστοκυττάρων (SCF), της ενδοθηλίνης-1 (ET-1), του μονοξειδίου του αζώτου (NO), της αδρενοκορτικοτροπικής ορμόνης (ACTH), των προσταγλανδινών, του δινοκλεοτιδίου θυμιδίνης και της ισταμίνης. Αυτοί οι παράγοντες διεγείρουν την μελανογένεση ενεργοποιώντας την έκφραση και την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών που σχετίζονται με χρωστικές όπως ο μεταγραφικός παράγοντας που σχετίζεται με τη μικροφθαλμία (microphthalmia-associated transcription factor, MITF), η τυροσινάση (TYR), η πρωτεΐνη-1 που σχετίζεται με την τυροσίνη (tyrosine-related protein-1, TRP-1) και η πρωτεΐνη-2 που σχετίζεται με την τυροσίνη (TRP-2). [6]



Εικόνα 1: Βιοσύνθεση μελανίνης: Η μελανογένεση καταλύεται από την τυροσινάση (TYR), την πρωτεΐνη 1 σχετιζόμενη με την τυροσινάση (TRP-1) και την πρωτεΐνη 2 σχετιζόμενη με την τυροσινάση (TRP-2). [6]

Τα επιδερμικά μελανοκύτταρα και κερατινοκύτταρα σχηματίζουν δομικές και λειτουργικές μονάδες, γνωστές ως επιδερμικές μονάδες μελανίνης, στις οποίες κάθε μελανοκύτταρο μεταφέρει τα ώριμα μελανοσώματα του μέσω δενδριτών σε περίπου 36 κερατινοκύτταρα. (Εικόνα 2) Τα μελανοκύτταρα αλληλεπιδρούν και επηρεάζονται από τα κερατινοκύτταρα και τους δερματικούς ινοβλάστες, μέσω επαφών κυττάρου-κυττάρου. Οι διαλυτοί μεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα κερατινοκύτταρα και τα μελανοκύτταρα, εξισορροπούν την δερματική ομοιοστάση με παρακρινή ή/και αυτοκρινή τρόπο. Οι εκκρινόμενοι παράγοντες όπως ο παράγοντας βλαστικών κυττάρων (stem cell factor, SCF) και η neuregulin 1 (NRG1) ρυθμίζουν τις ιδιότητες των μελανοκυττάρων. Οι αυτοεκκρινόμενοι παράγοντες όπως οι ιντερλευκίνη-1 (IL-1), η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-άλφα (TNF-α) αναστέλλουν τη μελανογένεση, ενώ παράγοντες όπως τα εικοσανοειδή και η ορμόνη διέγερσης μελανοκυττάρων α (α-melanocyte-stimulating hormone, α-MSH) ενισχύουν τη σύνθεση μελανίνης. [2]–[4], [7], [8]



Εικόνα 2: Επιδερμική μονάδα μελανίνης [4]

1.2. ΠΥΡΗΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ (NUCLEAR RECEPTORS, NR)

Οι πυρηνικοί υποδοχείς (επίσης γνωστοί ως ορμονικοί πυρηνικοί υποδοχείς) είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών, οι οποίοι δρουν ως παράγοντες μεταγραφής. Η μεταγραφική τους δραστηριότητα ενεργοποιείται από τη σύνδεση λιπόφιλων μορίων (ορμονών). [12], [13]

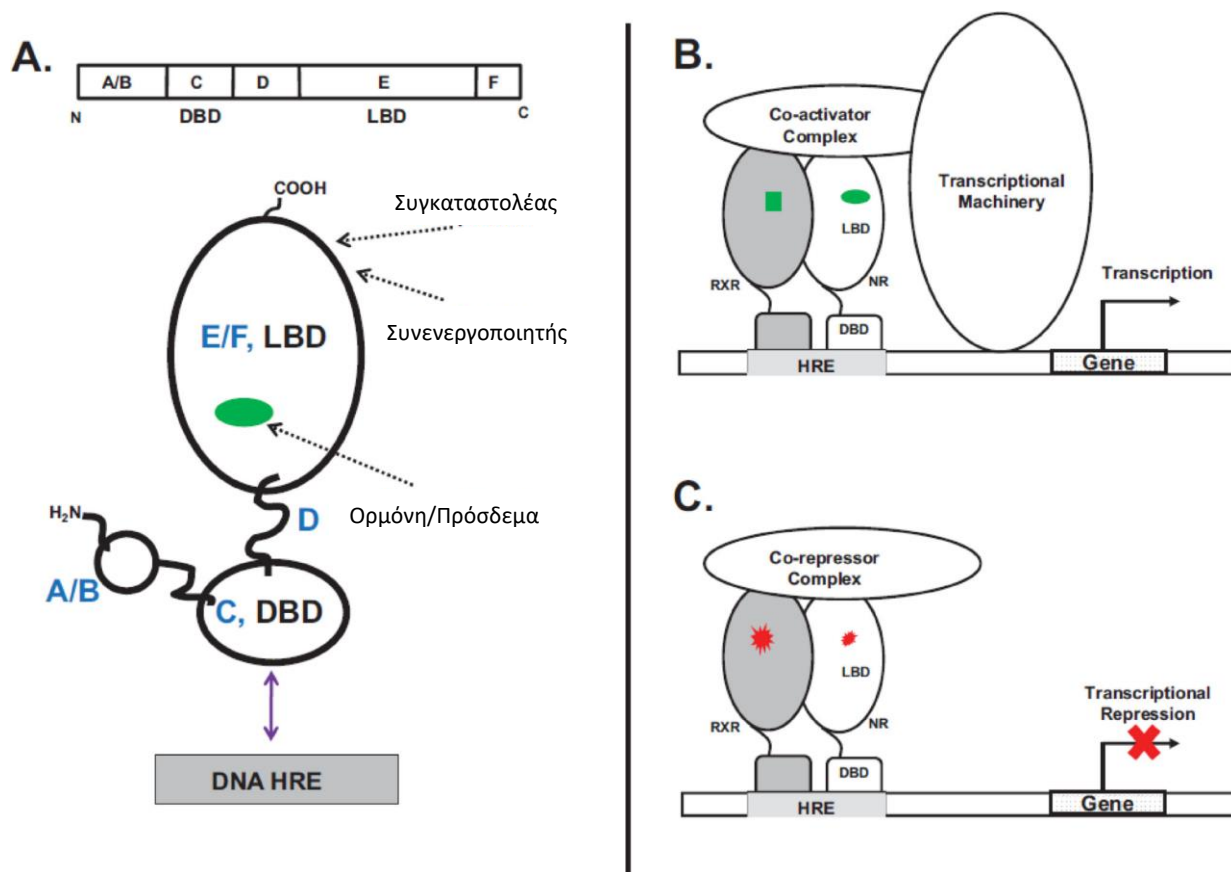
Οι πυρηνικοί υποδοχείς έχουν κοινά δομικά χαρακτηριστικά. Η N-τερματική περιοχή (περιοχή A/B) έχει μία αλληλουχία μεταβλητού μήκους και αμινοξέων. Η περιοχή αυτή παρέχει μια θέση δέσμευσης για τους συρρυθμιστές¹ της μεταγραφής. Η περιοχή δέσμευσης του DNA (DNA-binding domain, DBD) (περιοχή C) είναι μία πολύ συντηρημένη περιοχή, η οποία δεσμεύει συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA (στοιχεία απόκρισης). Μία σύντομη συνδετική αλληλουχία (περιοχή D) συνδέει την DBD με την C-τερματική περιοχή δέσμευσης του προσδέματος (ligand-binding domain, LBD) (περιοχή E & F). Κατά την πρόσδεση των αγωνιστών-προσδεμάτων η LBD υφίσταται μεταβολές διαμόρφωσης και προσλαμβάνει μόρια συνενεργοποιητές. Οι αντίστροφοι αγωνιστές διαταράσσουν την ενεργή διαμόρφωση της και η προκύπτουσα διαμόρφωση της LBD λειτουργεί ως θέση σύνδεσης για συγκαταστολείς. [12], [14] (Εικόνα 3)

Σύμφωνα με το κλασικό μοντέλο σηματοδότησης των υποδοχέων στεροειδών, τα στεροειδή εισέρχονται στα κύτταρα μέσω της πλασματικής μεμβράνης και δεσμεύονται στους υποδοχείς τους που εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα ή στον πυρήνα². Στη συνέχεια, υποδοχείς μετατοπίζονται στον πυρήνα (στην περίπτωση των υποδοχέων που εντοπίζονται στον κυτταρόπλασμα) συνδέονται με ειδικές αλληλουχίες DNA που ονομάζονται ορμονικά στοιχεία απόκρισης (hormone response elements, HRE). Αυτό το σύμπλοκο DNA/πυρηνικού υποδοχέα προσλαμβάνει και δεσμεύει μεταγραφικούς συνενεργοποιητές. Η πρόσληψη των συνενεργοποιητών συνοδεύεται από ακετυλίωση των ιστονών, πρόσληψη του συμπλόκου RNA πολυμεράσης II και μεταγραφή των γονιδίων. Αυτό οδηγεί σε αλλαγές στην έκφραση του mRNA, οι οποίες συνήθως μεταβάλλουν την έκφραση πρωτεϊνών και τελικά επηρεάζουν την κυτταρική βιολογία. [12]–[14] Αυτοί οι υποδοχείς λειτουργούν ως μονομερή, ομοδιμερή και ως ετεροδιμερή, συνηθέστερα με τον υποδοχέα ρετινοειδούς X (retinoid X receptor, RXR). Η μεταγραφική δραστηριότητα των πυρηνικών υποδοχέων μπορεί να διατηρηθεί σε καταστολή από

¹ Οι συρρυθμιστές είναι πρωτεΐνες που δημιουργούν σύμπλοκα με άλλες μεταγραφικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες για να μεταβάλλουν τη γονιδιακή έκφραση. [14]

² Αν και οι περισσότεροι υποδοχείς στεροειδών βρίσκονται στον πυρήνα των κυττάρων, έχει αναφερθεί ότι ένα μικρό υποσύνολο στεροειδών υποδοχέων εντοπίζεται στην πλασματική μεμβράνη. [14]

ανταγωνιστές και αντίστροφους αγωνιστές οι οποίοι προάγουν την πρόσληψη μεταγραφικών συγκαταστολέων. [12], [13] (Εικόνα 3)



Εικόνα 3: Δομή και μηχανισμός δράσης πυρηνικών υποδοχέων: Α. Ο πυρηνικός υποδοχέας αποτελείται από τη Ν-τερματική Α/Β περιοχή, την περιοχή δέσμευσης του DNA (C, DBD), τη συνδετική περιοχή D και C-τερματική περιοχή δέσμευσης του προσδέματος (EF, LBD). Β. Οι αγωνιστές (πράσινο) αλληλεπιδρούν με τον υποδοχέα (ετεροδιμερές του πυρηνικού υποδοχέα (NR): υποδοχέας ρετινοειδούς X (RXR)). Η δέσμευση του προσδέματος συνοδεύεται από την πρόσληψη των συνενεργοποιητών και του βασικού μεταγραφικού μηχανισμού. Γ. Απουσία αγωνιστών ή όταν συνδέονται με ανταγωνιστές (κόκκινο) ο πυρηνικός υποδοχέας διατηρείται σε ανενεργή μεταγραφική κατάσταση από τους συγκαταστολείς. [12]

1.3. ΜΟΝΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ (SNPs)

Πολυμορφισμός ονομάζεται μια παραλλαγή στην αλληλουχία του DNA που εμφανίζεται σε τουλάχιστον 1% του πληθυσμού. Αυτή οι παραλλαγή μπορεί να εμφανιστεί σε μη κωδικοποιητικά μέρη του γονιδίου όπως τα ιντρόνια, και να μην προκαλέσει αλλαγή κάποιου αμινοξέος στην πρωτεΐνη, ή στα ρυθμιστικά μέρη του γονιδίου, και να επηρεάσει την έκφρασή του και τα επίπεδα της πρωτεΐνης που παράγεται. Για παράδειγμα, αλλαγές στον 5'-υποκινητή του γονιδίου του υποδοχέα της βιταμίνης D (*VDR*) μπορεί να επηρεάσουν τα πρότυπα και τα επίπεδα έκφρασης του mRNA, ενώ οι αλλαγές της αλληλουχίας της 3' αμετάφραστης περιοχής (UTR) μπορούν να επηρεάσουν την σταθερότητα του mRNA και την αποδοτικότητα της μετάφρασης. Ωστόσο, αλλαγές μπορούν να λάβουν χώρα και σε εξόνια, οδηγώντας στη συνέχεια σε αλλαγές στην αλληλουχία των πρωτεϊνών. Είναι δυνατό να υπάρξουν αλλαγές στις εξονικές αλληλουχίες του DNA που δεν μεταβάλλουν τη δομή της πρωτεΐνης, που ονομάζονται συνώνυμοι πολυμορφισμοί. [9], [10]

Οι νουκλεοτιδικές παραλλαγές περιλαμβάνουν την υποκατάσταση, την εισαγωγή, το διπλασιασμό και τη σύντηξη νουκλεοτιδίων. Στην υποκατάσταση, ένα νουκλεοτίδιο αντικαθίσταται με οποιοδήποτε από τα άλλα τρία νουκλεοτιδία. Αυτό συνήθως αναφέρεται ως μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) ή μονονουκλεοτιδική μετάλλαξη. Οι SNPs μπορεί να σχετίζονται με την πιθανότητα εμφάνισης και την παθογένεση ασθενειών, και την αποτελεσματικότητα συγκεκριμένων φαρμάκων. [9], [11] Οι αλλαγές αυτές δημιουργούν ή καταργούν θέσεις στις οποίες δρουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες, οι οποίες είναι ένζυμα που κόβουν το DNA. Η πέψη με ένα τέτοιο ένζυμο παράγει θραύσματα DNA διαφορετικού μήκους τα οποία μπορούν να ανιχνευθούν με ηλεκτροφόρηση. Οι πολυμορφισμοί που ανιχνεύονται με αυτή τη διαδικασία ονομάζονται πολυμορφισμοί μήκους θραύσματος περιορισμού (Restriction Fragment Length Polymorphisms, RFLPs). [10]

2. ΛΕΥΚΗ

Η λεύκη είναι μια χρόνια συστηματική διαταραχή που έχει απρόβλεπτη κλινική πορεία και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση αχρωματικών ή υποχρωμικών κηλίδων στο δέρμα και τους βλεννογόνους. [15] Αν και η ακριβής αιτία δεν είναι ακόμα γνωστή, η ασθένεια προκύπτει από την απώλεια μελανοκυττάρων. [16] Σύμφωνα με διάφορες μελέτες, η λεύκη πρέπει να θεωρείται ασθένεια ολόκληρου του δέρματος και όχι ασθένεια αποκλειστικά των μελανοκυττάρων. [7]

Μία από τις κυριότερες συνέπειες της νόσου είναι ο ψυχολογικός αντίκτυπός της, αφού έχει συνδεθεί με αυξημένη εμφάνιση κατάθλιψης. [15] Σε ορισμένες χώρες συγχέεται και με μεταδιδόμενες δερματικές ασθένειες όπως η λέπρα. Όλα αυτά οδηγούν σε επιδείνωση της ποιότητας ζωής των ασθενών με λεύκη. Η ποιότητα ζωής εξαρτάται επίσης από το φωτότυπο του δέρματος, τα κλινικά και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του ασθενή, το φύλο και την ηλικία του. Η πλειονότητα των μελετών, έδειξαν μεγαλύτερη επιδείνωση της ποιότητας ζωής στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες, στους νέους σε σύγκριση με τους ηλικιωμένους, και στους ασθενείς με λεύκη σε εμφανής περιοχές. [17]

2.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η λεύκη είναι η πιο συχνή διαταραχή αποχρωματισμού παγκοσμίως. Τα ποσοστά εμφάνισης υπολογίζονται από 0.06% έως 2.3% στο γενικό πληθυσμό και από 0% έως 2.2% στα παιδιά. Είναι λιγότερο συχνή στους Καυκάσιους (0.38%) και στους Κινέζους (0.0093%) από ότι στους Ινδούς (0.46-1.13%). Η μεταβλητότητα των επιδημιολογικών δεδομένων οφείλεται στις διαφορές στην ταξινόμηση της ασθένειας, στην έλλειψη απλών εργαστηριακών εξετάσεων, στη διαφορετικότητα των πληθυσμών και στη μη συνεπή καταγραφή ασθενών. Εμφανίζει υψηλότερο ποσοστό καταγραφής σε χώρες στις οποίες το κοινωνικό και πολιτιστικό στίγμα είναι σημαντικό ή ο πληθυσμός έχει πιο σκούρο δέρμα. [16], [18]

Η νόσος συνήθως ξεκινάει στην πρώιμη παιδική ή νεαρή ηλικία, με ηλικία αιχμής τα 10-30 έτη, παρόλο που μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία. Περίπου το 50% των ασθενών εμφανίζουν λεύκη πριν από την ηλικία των 20 ετών και 70-80% πριν την ηλικία των 30 ετών. 15%-20% των ασθενών έχουν έναν ή περισσότερους συγγενείς πρώτου βαθμού με λεύκη. Οι ενήλικες και τα παιδιά και των δύο φύλων επηρεάζονται εξίσου. [16], [19]

2.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η λεύκη μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως τμηματική ή μη τμηματική, ανάλογα με την κατανομή της. Η Vitiligo European Task Force (VETF) ορίζει τη μη τμηματική λεύκη (non-segmental vitiligo, NSV) ως μία επίκτητη χρόνια διαταραχή χρώσης που χαρακτηρίζεται από λευκές κηλίδες, συχνά συμμετρικές, οι οποίες συνήθως αυξάνονται σε μέγεθος με το πέρασμα του χρόνου, και οφείλονται σε απώλεια της λειτουργίας των επιδερμικών μελανοκυττάρων και, σε ορισμένες περιπτώσεις, των μελανοκυττάρων του θύλακα της τρίχας. Αυτός ο ορισμός ισχύει και για την τμηματική λεύκη (segmental vitiligo, SV), με εξαίρεση ότι η SV έχει μονόπλευρη κατανομή. [8], [19] Μπορεί επίσης να χαρακτηριστεί ως προοδευτική ή σταθερή με βάση τη δραστηριότητα της νόσου³. Με βάση την έκταση των βλαβών μπορεί να θεωρηθεί περιορισμένη (εντοπισμένη ασθένεια) ή εκτεταμένη (γενικευμένη ασθένεια). [8] Με βάση την ηλικία έναρξης, η λεύκη κατηγοριοποιείται ως λεύκη πρώιμης έναρξης (early-onset), για ηλικία έναρξης πριν τα 20 έτη, και λεύκη όψιμης έναρξης (late-onset), για ηλικία έναρξης μετά τα 20 έτη, αν και υπάρχουν ερευνητές που έχουν βάλει το ηλικιακό όριο στα 30 έτη. [20]–[24]

2.2.1. Μη τμηματική λεύκη (non-segmental)

Η μη τμηματική λεύκη χαρακτηρίζεται από συμμετρικές, αμφίπλευρές λευκές κηλίδες, που εξελίσσονται απρόβλεπτα με την πάροδο του χρόνου. Είναι ο συνηθέστερος τύπος τόσο στα παιδιά όσο και στους ενήλικες. [16], [19] Ο αποχρωματισμός του δέρματος είναι συνήθως ασυμπτωματικός, αλλά μια μειοψηφία ασθενών αναφέρει ήπιο κνησμό πριν την εμφάνιση των κηλίδων. Η νόσος μπορεί να ξεκινήσει σε οποιοδήποτε σημείο του σώματος, αλλά τα δάχτυλα, τα χέρια και το πρόσωπο είναι οι πιο συχνές θέσεις έναρξης. [25]

Παραλλαγές περιλαμβάνουν: την ακροπροσωπική (acrofacial), την προσωπική (facial), των βλεννογόνων (mucosal), τη γενικευμένη (generalized), την καθολική (universal), τη μεικτή (mixed) και τη σπάνια (rare). [3], [26], [27] (Εικόνα 4) Η γενικευμένη είναι η πιο κοινή μορφή και χαρακτηρίζεται από λευκές κηλίδες σε διάφορα μέρη του σώματος, συνηθέστερα συμμετρικές. Στην ακροπροσωπική λεύκη, οι εμπλεκόμενες περιοχές συνήθως περιορίζονται

³ Η λεύκη χαρακτηρίζεται από 2 στάδια: το ενεργό στάδιο στο οποίο υπάρχει συνεχιζόμενη καταστροφή μελανοκυττάρων από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και το σταθερό στάδιο στο οποίο οι αποχρωματισμένες αλλοιώσεις του δέρματος παραμένουν σταθερές με την πάροδο του χρόνου. [40] Ως σταθερότητα έχει οριστεί «η απουσία νέων αλλοιώσεων, εξέλιξης των υφιστάμενων αλλοιώσεων και του φαινομένου Köbner κατά το τελευταίο 1 έτος». [193]

στο πρόσωπο, το κεφάλι, τα χέρια και τα πόδια. Στο μέλλον μπορεί να καταλήξει στη γενικευμένη μορφή της ασθένειας, με τη συμμετοχή και άλλων περιοχών του σώματος. Η ακροπροσωπική λεύκη είναι πιο συχνή στους ενήλικες. [25] Η καθολική λεύκη είναι μια σπάνια μορφή λεύκης. Είναι η πιο εκτεταμένη μορφή της νόσου και γενικά εμφανίζεται κατά την ενηλικίωση. Ο όρος καθολική χρησιμοποιείται όταν ο αποχρωματισμός είναι σχεδόν καθολικός (80-90% της επιφάνειας του σώματος). Η ανάμεικτη λεύκη είναι ένας υπότυπος που εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά, και συμπεριλαμβάνει την εμπλοκή τμηματικής λεύκης πριν την εμφάνιση της τυπικής γενικευμένης λεύκης. [25]



Εικόνα 4: Μη τμηματική λεύκη: Α) Ακροπροσωπική λεύκη κάτω από υπεριώδεις φως Β) Γενικευμένη λεύκη Γ) Καθολική λεύκη Δ) Γενικευμένη μορφή λεύκης με σπίλο Sutton Ε) Μικτή λεύκη [26]

2.2.2. Τμηματική λεύκη (segmental)

Αντιπροσωπεύει το 5% έως 16% των συνολικών περιπτώσεων. [16] Χαρακτηρίζεται από μονόπλευρη κατανομή ή κατανομή κατά μήκος των γαγγλίων, από μικρότερη ηλικία εμφάνισης και ταχύτερη ανάπτυξη σε σύγκριση με την μη τμηματική λεύκη. [19] [27] Σπάνια

συνδέεται με αυτοάνοσες διαταραχές, το φαινόμενο Köbner⁴ ή με στρες. [19] Ταξινομείται περαιτέρω ως μονοτμηματική (unisegmental), διτμηματική (bisegmental) ή πολυτμηματική (plurisegmental). [26], [27]

2.3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Η λεύκη είναι μια σύνθετη ασθένεια, στην οποία συμβάλλουν διάφοροι παράγοντες. Αν και είναι γνωστό ότι τα μελανοκύτταρα είναι ανθεκτικά στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, στη λεύκη τα επίπεδα απόπτωσης είναι αυξημένα. [25], [28] Ένα πλήθος υποθέσεων έχουν προταθεί για να εξηγήσουν την παθογένεση της λεύκης και τους μηχανισμούς που τελικά οδηγούν σε αυτή. Μεταξύ αυτών, η αυτοάνοση υπόθεση (αυτοάνοση καταστροφή μελανοκυττάρων) είναι σήμερα η πιο αποδεκτή από τους ειδικούς. Ο συνδυασμός όλων των υποθέσεων εξηγεί αποτελεσματικά την παθογένεση της λεύκης (συνδυαστική υπόθεση). [8], [15], [16]

2.3.1. Αυτοάνοση υπόθεση

Η συσχέτιση μεταξύ λεύκης και αυτοανοσίας έχει αποδειχθεί σε πολυάριθμες μελέτες. Οι ασθενείς με λεύκη εμφανίζουν υψηλό επιπολασμό αυτοαντισωμάτων κατά των μελανοκυττάρων, αυξημένο αριθμό διηθητικών T κυττάρων και υψηλή έκφραση κυτοκινών. Η λεύκη συνδέεται με υψηλότερη πιθανότητα εμφάνισης αυτοάνοσων διαταραχών, όπως ο ερυθρελάτης, η ψωρίαση, η αλωπεκία, και οι αυτοάνοσες ασθένειες του θυρεοειδούς, σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό, και έχει συσχετισθεί με γενετικούς τόπους κοινούς με αυτοάνοσες ασθένειες. Επιπλέον, οι ασθενείς με λεύκη ανταποκρίνονται σε κάποιο βαθμό στις ανοσοκατασταλτικές θεραπείες όπως φωτοχημειοθεραπεία με UVA (PUVA) και τα κορτικοστεροειδή. [15], [16], [19], [25], [29], [30]

Η εισροή των ανοσοκυττάρων στο δέρμα πιθανότατα είναι αποτέλεσμα της παρεκκλίνουσας ανοσοαπόκρισης στα μελανοσωματικά αυτοαντιγόνα. Ο τραυματισμός του δέρματος από την υπερϊώδη ακτινοβολία, τη μηχανική βλάβη, τη λοίμωξη, την έκθεση σε χημικές ουσίες κ.λπ., μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα μελανοκύτταρα. Τα κατεστραμμένα μελανοκύτταρα οδηγούνται στην απόπτωση και απελευθερώνουν μόρια που δρουν ως σχετιζόμενα με βλάβη

⁴ Το φαινόμενο Köbner είναι η εμφάνιση νέων δερματικών βλαβών σε περιοχές τραυματισμού του υγιούς δέρματος. Οι βλάβες που παρατηρούνται στο φαινόμενο Köbner υιοθετούν τα ίδια κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά με την αρχική δερματική νόσο του ασθενούς. [194]

μοριακά πρότυπα (damage-associated molecular patterns, DAMPs), όπως οι μελανοσωμικές πρωτεΐνες, τα οποία διεγείρουν την ενεργοποίηση τοπικών δενδριτικών κυττάρων. Τα δενδριτικά κύτταρα εγκολπώνουν τις μελανοσωμικές πρωτεΐνες, οι οποίες αποικοδομούνται στο πρωτεόσωμα και τα θραύσματα τους, που δρουν ως πεπτιδικά αντιγόνα, παρουσιάζονται από μόρια HLA τάξης II στην επιφάνεια των δενδριτικών κυττάρων. Στη συνέχεια, τα δενδριτικά κύτταρα μεταναστεύουν στους λεμφαδένες, όπου γίνεται αντιγονοπαρουσίαση στα T κύτταρα. Τα ανώριμα T λεμφοκύτταρα συνδέονται με τα αυτο-αντιγόνα και ενεργοποιούνται. Τα προκύπτοντα ενεργοποιημένα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα εισέρχονται στη κυκλοφορία και μεταναστεύουν προς το δέρμα, στοχεύοντας τα μελανοκύτταρα, υπό την χημειοτακτική επίδραση των χημειοκινών που παράγονται κυρίως από τα κερατινοκύτταρα. Αναγνωρίζουν και δεσμεύουν το συγγενές αυτοαντιγόνο που παρουσιάζεται από μόρια HLA τάξης I επί της επιφάνειας των μελανοκυττάρων. Τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα κατόπιν εκκρίνουν το γκράζυμο B και την περφορίνη, τα οποία επάγουν απόπτωση του μελανοκυττάρου στόχου. [28], [30] Ταυτόχρονα, τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) του δέρματος προκαλούν καταστροφή των μελανοκυττάρων, και τα στρατολογημένα μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν άμεσα τα κατεστραμμένα μελανοκύτταρα και έτσι παράγουν και άλλους φλεγμονώδεις μεσολαβητές. [28]

2.3.1.1. Φυσική (έμφυτη, μη ειδική) ανοσία

Τα DAMPs των μελανοκυττάρων ενεργοποιούν τα κοντινά δενδριτικά κύτταρα και επάγουν την ωρίμανση τους σε δραστικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. [16] Το ομόλογο DNA και/ή RNA από τα κατεστραμμένα κύτταρα αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς αναγνώρισης παθογόνων (pathogen recognition receptors, PRRs), οι οποίοι είναι υποδοχείς νουκλεϊκού οξέος. Οι υποδοχείς αυτοί εξειδικεύονται στην ανίχνευση παθογόνων μέσω σχετιζόμενων με παθογόνα μοριακών μοτίβων (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) και οδηγούν στη μεταγραφή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF)- α , η IL-6 ή η ιντερφερόνη τύπου I (IFN) α/β άρα και σε φλεγμονή του δέρματος. Η τοπική φλεγμονή μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει τα φυσικά κύτταρα φονιάδες (NK). [25]

2.3.1.2. Επίκτητη (ειδική) ανοσία

Η λεύκη χαρακτηρίζεται από την διείσδυση κυτταροτοξικών T κυττάρων, τα οποία έχουν πιθανώς ξεφύγει από την κλωνική εξάλειψη του θύμου. Μέσω της έκφρασης του αντιγόνου δερματικών λεμφοκυττάρων (cutaneous lymphocyte antigen, CLA) αυτά τα κύτταρα κατευθύνεται προς το δέρμα. Το διήθημα είναι μέγιστο στο περιβλαβικό δέρμα και περιλαμβάνει τα βοηθητικά T κύτταρα (CD4+), τα κυτταροτοξικά (killer) T κύτταρα (CD8+), και τα κυτταροτοξικά μακροφάγα CD68+. Τα T κύτταρα παράγουν υψηλές ποσότητες IFN- γ και TNF- α . Αυτές οι προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες αυξάνουν την κυκλοφορία των T-κυττάρων στο δέρμα. [5], [25], [28] Άλλες κυτοκίνες που παράγονται είναι οι IL-2, IL-6, IL-17, IL-21 και IL-33. [5], [25]

2.3.2. Βιοχημική υπόθεση (Υπόθεση του οξειδωτικού στρες)

Η υπόθεση του οξειδωτικού στρες υποστηρίζει ότι υπάρχει ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών συστημάτων στο δέρμα των ασθενών. Παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), και παραγώγων τους όπως η μηλονική διαλδεϋδη (malondialdehyde, MAD), και αλλαγές στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό, όπως η μεταβολή των επιπέδων των επιπέδων αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως η επιδερμική καταλάση (CAT), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), και των ένζυμων επιδιόρθωσης. [7], [8], [15], [16], [29], [31]

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να είναι αποτέλεσμα του κυτταρικού μεταβολισμού, και/ή έκθεσης σε ορισμένες περιβαλλοντικές τοξίνες, που δρουν σαν πηγές εξωτερικού στρες, όπως η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) ή η χημική βλάβη (από μονοβενζόνη ή άλλες φαινόλες). [15], [25], [31] Η ίδια η διαδικασία της μελανογένεσης συνεπάγεται σημαντική υδροξυλίωση και οξείδωση και κατά συνέπεια οδηγεί στον σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Η έλλειψη επαρκών μηχανημάτων απομάκρυνσης ελεύθερων ριζών καθιστά τα μελανοκύτταρα ευαίσθητα στη βλάβη από τις ελεύθερες ρίζες και προκαλεί οξειδωτικό στρες. [8]

Η υπόθεση του οξειδωτικού στρες συνδέεται και με άλλες υποθέσεις παθογένεσης της λεύκης. Η αύξηση του οξειδωτικού στρες μειώνει την ποσότητα της E-καντχερίνης στην κυτταρική μεμβράνη, η οποία είναι ένα εξαρτώμενο από ασβέστιο μόριο προσκόλλησης που δεσμεύει τα μελανοκύτταρα στα περιβάλλοντα κερατινοκύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο διακόπτεται η επαφή μελανοκυττάρων-κερατινοκυττάρων, τα μελανοκύτταρα

απομακρύνονται από τη βασική τους θέση και αρχίζουν να κινούνται προς τα πάνω στην επιδερμίδα. Αυτή η ανοδική κίνηση έχει ως αποτέλεσμα τον τερματισμό των σημάτων επιβίωσης που λαμβάνουν μελανοκύτταρα από τη βασική μεμβράνη και προκαλεί την έναρξη της απόπτωσης τους. Η μηχανική καταπόνηση λόγω τριβής έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση αυτών των μελανοκυττάρων από την επιδερμίδα (μελανοκυττορραγία). [8], [29] Τα μελανοκύτταρα, ως επακόλουθο του αυξημένου ενδοκυτταρικού οξειδωτικού στρες, παρουσιάζουν ανωμαλίες στις οδούς μεταγωγής σήματος που καταλήγουν σε μια κατάσταση πρόωρης κυτταρικής γήρανσης. Αυτή χαρακτηρίζεται από την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η ιντερλευκίνη (IL)-6, η μεταλλοπρωτεϊνάση μήτρας 3 (MMP3) και η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2). Τα στρεσαρισμένα μελανοκύτταρα μπορούν επίσης να απελευθερώσουν χημειοκίνες σημαντικές για την πρόσληψη ανοσοκυττάρων, όπως τα CXCL12 ή CCL5. [25]

2.3.3. Υπόθεση ατελούς προσκόλλησης (Μελανοκυττορραγική υπόθεση)

Έχει προταθεί ότι η ελαττωματική προσκόλληση εμπλέκεται στην εξαφάνιση μελανοκυττάρων. Το κλινικό σημείο που ενισχύει αυτή τη θεωρία είναι το φαινόμενο Köbner (εμφάνιση λεύκης μετά από οξύ ή χρόνια τραύμα). [15]

Μέσα στην επιδερμίδα, τα μελανοκύτταρα και τα κερατινοκύτταρα αλληλεπιδρούν άμεσα μεταξύ τους. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις ευνοούνται από την έκκριση διαφόρων παραγόντων, που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση, σε ελεύθερη μορφή ή σε κυστίδια. Η ακεραιότητα αυτής της αλληλεπίδρασης είναι απαραίτητη για την χρώση του δέρματος. Η Ε-καντχερίνη είναι ένα μόριο κυτταρικής προσκόλλησης με δραστικότητα εξαρτώμενη από ασβέστιο και είναι υπεύθυνη για την προσκόλληση μεταξύ μελανοκυττάρων και κερατινοκυττάρων. Η Ε-καντχερίνη απουσιάζει ή υπάρχει μόνο σε πολύ μικρές ποσότητες στη μεμβράνη των μελανοκυττάρων του φυσιολογικού δέρματος των ασθενών με λεύκη. Η απουσία ή τα χαμηλά επίπεδα Ε-καντχερίνης στην επιφάνεια των μελανοκυττάρων συνδέονται με την ύπαρξη μικρότερου αριθμού μελανοκυττάρων στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας και τον μεγαλύτερο αριθμό αυτών των κυττάρων στα ανώτερα στρώματα (ακανθώδης και κοκκιώδης). [29]

2.3.4. Νευροχημική υπόθεση

Η τμηματική λεύκη ακολουθεί την πορεία ενός δερμοτομίου⁵ και συνοδεύεται από υπεριδρωσία και συναισθηματική αναστάτωση. Η δυσλειτουργία της δραστηριότητας του συμπαθητικού νευρικού συστήματος επηρεάζει την παραγωγή μελανίνης και οδηγεί σε αποχρωματισμό του δέρματος. [31] Πρόσφατα ωστόσο έχει παρατηρηθεί ότι η κατανομή στην τμηματική λεύκη σπάνια περιορίζεται στο νευρικό μοτίβο. Η αυτοάνοση υπόθεση έχει αρχίσει να επικρατεί και στην τμηματική λεύκη. [8]

2.3.5. Ενδογενής υπόθεση

Τα μελανοκύτταρα στη λεύκη έχουν εγγενή ελαττώματα που οδηγούν σε μειωμένη αναγέννηση και/ή πολλαπλασιασμό, και κατά συνέπεια στο θάνατό τους. Οι ενδογενείς διαφορές των μελανοκυττάρων στη λεύκη, όπως το μη φυσιολογικό τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο, η έλλειψη αυξητικών παραγόντων των μελανοκυττάρων, όπως ο βασικός παράγοντας ανάπτυξης ινοβλαστών (bFGF), και η μείωση του αριθμού των μελανοκυττάρων που εκφράζουν τον υποδοχέα c-kit και τον MITF-M, τα κάνουν πιο ευαίσθητα στην απόπτωση, την ανοσοαπόκριση και τις βιοχημικές τοξικές αντιδράσεις. [25], [28], [31]

Τα μελανοκύτταρα απαιτούν μια συνεχή διέγερση από κερατινοκύτταρα μέσω του c-kit για τη συντήρησή τους. Η ασθενής έκφραση παραγόντων που προέρχονται από κερατινοκύτταρα, όπως ο παράγοντας των βλαστοκυττάρων (SCF), μπορεί να οδηγήσει σε παθητικό θάνατο μελανοκυττάρων. [31] Η ανεπάρκεια/απώλεια της έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα που σχετίζεται με τη μικροφθαλμία (MITF) συνδέεται στενά με την υψηλή προδιάθεση των μελανοκυττάρων για απόπτωση. [28] Οι ενδογενείς ανωμαλίες των μελανοκυττάρων συσχετίζονται επίσης με μειωμένη έκφραση μορίων προσκόλλησης στα μελανοκύτταρα, όπως η E-καντχερίνη. [25]

2.4. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

Τις περισσότερες φορές η ασθένεια παρουσιάζει κλινικά αποχρωματισμένες δερματικές περιοχές που χαρακτηρίζονται από απώλεια μελανίνης και μελανοκυττάρων, αν και μερικοί ασθενείς εμφανίζουν μία σπάνια φλεγμονώδη μορφή λεύκης. [8] Κλινικά, οι βλάβες του δέρματος

⁵ Το δέρμα διαιρείται ανατομικά σε δερμοτόμια με βάση την κατανομή των αισθητικών νευρικών ινών. [195]

εμφανίζονται ως λευκές, μη-φολιδωτές κηλίδες με σαφή όρια. [16] Μπορεί να εμφανισθεί λευκοτριχία στην πάσχουσα περιοχή. Περιστασιακά, οι βλεννογόνοι και τα εσωτερικά όργανα που περιέχουν μελανοκύτταρα μπορεί να επηρεαστούν. [32]

2.5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση της λεύκης, ανεξάρτητα από τον κλινικό υπότυπό της, είναι απλή και δεν απαιτεί επιβεβαιωτικά εργαστηριακά τεστ. Τα μελανοκύτταρα απουσιάζουν από τις βλάβες και αυτό μπορεί να εκτιμηθεί μη επεμβατικά με *in vivo* ομοεστιακή μικροσκοπία ή με βιοψία δέρματος. Η εξέταση με λυχνία (UV) Wood βοηθά στον καλύτερο εντοπισμό της εστιακής απώλειας των μελανοκυττάρων και της έντασης του υποχρωματισμού. [16]

Σε αμφιλεγόμενες περιπτώσεις και όταν ο ασθενής αρνείται τη βιοψία του δέρματος η δερματοσκόπηση χρησιμεύει ως βοηθητικό εργαλείο. Η δερματοσκόπηση μπορεί να είναι επίσης χρήσιμη για να εκτιμηθεί η εξέλιξη της νόσου (σταθερότητα, πρόοδος, επαναχρωματισμός) και η ανταπόκριση στη θεραπεία. Οι εξελισσόμενες, οι ενεργές και οι ασταθείς αλλοιώσεις εμφανίζουν περιθυλακικά δέρμα με χρωστική, ενώ οι σταθερές/ επανακάμπτους αλλοιώσεις εμφανίζουν περιθυλακικό αποχρωματισμό. [33]

2.5.1. Διαφορική διάγνωση λεύκης

Πολλές ασθένειες που σχετίζονται με μείωση της χρωστικής του δέρματος πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στη διαφορική διάγνωση της λεύκης. Αυτές συνοψίζονται στον Πίνακα 1. Η οζώδης σκλήρυνση χαρακτηρίζεται από ταυτόχρονη εμφάνιση ανωμαλιών του δέρματος, επιληπτικές κρίσεις, αναπτυξιακή καθυστέρηση και ασθένειες των πνευμόνων και των νεφρών. Η υπομελάνωση Ito χαρακτηρίζεται από υποχρώση κατά μήκος των γραμμών Blaschko (γραμμές που αντιπροσωπεύουν τα μοτίβα της φυσιολογικής ανάπτυξης του δέρματος). Η πιτυρίαση alba χαρακτηρίζεται από υπομελανωτικές, όχι αμελανωτικές, απολεπισμένες κηλίδες με μη σαφή όρια. Η ποικιλόχρους πιτυρίαση (pityriasis versicolor) προκαλείται από λοίμωξη από τη *Malassezia* spp. και χαρακτηρίζεται από ακανόνιστες υποχρωματικές κηλίδες σε άτομα με σκούρο δέρμα. Προσβάλλει κυρίως περιοχές όπως το στήθος, τα χέρια, το πρόσωπο και το λαιμό και συνδέεται μερικές φορές με φαγούρα. Ο πιεμπαλδισμός (piebaldism) (μερική λευκοπάθεια) χαρακτηρίζεται από λευκοτριχία στο εμπρόσθιο μέρος του τριχωτού της κεφαλής και κοιλιακό αποχρωματισμό. [16]

Πίνακας 1: Διαφορική διάγνωση για τη λεύκη [34]

Ασθένειες	
Ποικιλόχρους πυτηρίαση	Δερματικό T-λεμφοκυτταρικό λεμφώματος
Ιδιοπαθής σταγονοειδής υπομελάνωση	Λέπρα
Οζώδης σκλήρυνση	Πυτηρίαση alba
Πιελμπαδισμός (Μερική λευκοπάθεια)	Μέλασμα
Δισκοειδής ή συστηματικός ερυθματώδης λύκος	Naevus anemicus, naevus depigmentosus, halo naevus
Σαρκοείδωση	Λευκοδερμία μεταβλητών αιτιών: π.χ. μετατραυματικό, σχετιζόμενη με το μελάνωμα
Σκληρόδερμα	Αμελανοειδές μελάνωμα
Μετά-φλεγμονώδης υποχρώση/ αποχρωματισμός: π.χ. ατοπική δερματίτιδα, ψωρίαση	Σκληρός λειχήνας (Lichen sclerosus et atrophicus)
Μετατραυματικός αποχρωματισμός (π.χ. ουλές, εγκαύματα)	Τοπικός ή προκαλούμενος από φάρμακα αποχρωματισμός
Προοδευτική υπομελάνωση της ωχράς κηλίδας (Progressive macular hypomelanosis)	

2.6. ΕΠΙΒΑΡΥΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Το γενετικό υπόβαθρο φαίνεται να προδιαθέτει στην εμφάνιση λεύκης, η οποία όμως είναι αποτέλεσμα της επίδρασης και περιβαλλοντικών παραγόντων. [35]

2.6.1. Γενετικό υπόβαθρο

Η εμφάνιση λεύκης στα μέλη της οικογένειας των ασθενών υποδεικνύει ότι οι γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην παθογένεση της νόσου. Οι στενοί συγγενείς των ασθενών με λεύκη έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης λεύκης, καθώς και άλλων αυτοάνοσων ασθενειών. Ο κίνδυνος εμφάνισης λεύκης για συγγενείς πρώτου βαθμού είναι 7 έως 10 φορές μεγαλύτερος. Άτομα που έχουν συγγενείς με λεύκη τείνουν να εμφανίζουν την ασθένεια σε μικρότερη ηλικία και σε μεγαλύτερη έκταση. Επίσης εμφανίζουν με μεγαλύτερη συχνότητα άλλες αυτοάνοσες ασθένειες. Οι περισσότεροι ερευνητές στηρίζουν την πολυγονιδιακή, πολυπαραγοντική κληρονομικότητα. Πολύ σπάνια, η κληρονομικότητα εμφανίζει αυτοσωμικό επικρατές πρότυπο με ελλιπή διείσδυση. Ο κίνδυνος εμφάνισης λόγω γενετικής προδιάθεσης δεν είναι απόλυτος, γεγονός που υποδηλώνει σημαντική επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων. Για παράδειγμα, μόνο το 23% των μονοζυγωτικών διδύμων

εμφανίζουν τη νόσο. [16], [30], [35]–[37] Οι γενετικές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η λεύκη μπορεί να θεωρηθεί μία σύνθετη γενετική ασθένεια. [15]

Μέχρι σήμερα, έχουν εντοπιστεί 49 γενετικοί τόποι ευαισθησίας για τη λεύκη. Οι περισσότεροι εντοπίζονται μέσα ή κοντά σε γονίδια. Αυτοί οι γενετικοί τόποι είναι κοινοί με γενετικούς τόπους ευαισθησίας και άλλων αυτοάνοσων ασθενειών. [38] Περίπου το 90% αυτών κωδικοποιούν ανοσορρυθμιστικές πρωτεΐνες, ενώ περίπου το 10% κωδικοποιούν πρωτεΐνες μελανοκυττάρων, που πιθανώς δρουν ως αντιγόνα. [35]–[37] Οι μεταλλάξεις στα γονίδια που εμπλέκονται τόσο στην έμφυτη όσο και στην επίκτητη ανοσία αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης. Ωστόσο, παράγοντες κινδύνου αποτελούν και πολυμορφισμοί σε γονίδια εκτός του ανοσοποιητικού, συμπεριλαμβανομένων των ειδικών για το μελανοκύτταρο γονιδίων *TYR* (το γονίδιο που κωδικοποιεί την τυροσινάση) και του *MC1R* (του γονιδίου που κωδικοποιεί την υποδοχέα μελανοκορτίνης 1). [16]

Λίγα γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των *DDR1*, *XBP1*, *NLRP1*, *PTPN22* και *COMT*, συσχετίστηκαν σταθερά με τη λεύκη. Εκτός από αυτά, βρέθηκε μια ένδειξη συσχέτισης με τα γονίδια *ACE*, *AIRE*, *CD4*, *COX2*, *ESR1*, *EDN1*, *FAS*, *FOXD3*, *FOXP3*, *IL1-RN*, *IL-10*, *MBL2*, *MC1R*, *MYG1*, *Nrf2*, *PDGFRA*, *PRO2268*, *RPGRIP1L*, *SCF*, *SCGF*, *TXNDC5*, *UVRAG* και *VDR*. Οι συσχετίσεις μεταξύ παραλλαγών των γονιδίων HLA με τη λεύκη, διαφέρουν ανάλογα με την εθνοτική ομάδα, ωστόσο υπάρχουν εξαιρέσεις, όπως τα αλληλόμορφα *HLA-A2*, *HLA-DR4* και *HLA-DR7*. [15], [27], [36], [37] Αυτά τα γονίδια βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα και αυτό δικαιολογεί τη πολυγονιδιακή, μη-Μενδελιανή κληρονομικότητα της λεύκης. [2], [36] (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: Πίνακας 23) Περίπου οι μισοί πολυμορφισμοί φαίνεται να επηρεάζουν τις ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων, ενώ μόνο το 15% βρίσκεται μέσα στα εξόνια, πολλοί από τους οποίους οδηγούν σε παρανοηματικές αντικαταστάσεις. [30] Ο κύριος γενετικός τόπος ευαισθησίας για τη λεύκη, αλλά και για άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, είναι το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC), με τη λεύκη να σχετίζεται τόσο με το MHC τάξης I όσο και με το τάξης II. Σε αντίθεση με πολλές άλλες αυτοάνοσες ασθένειες, για τη λεύκη η συσχέτιση με το MHC εντοπίζεται κυρίως σε διαγονιδιακές μη κωδικοποιούσες περιοχές, αντί σε κωδικοποιούσες που μεταβάλλουν τη δομή της πρωτεΐνης HLA. [38]

2.6.2. Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Έχει προταθεί ότι πολλοί παράγοντες κινδύνου, όπως η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV), η επανειλημμένη μηχανική ή θερμική καταπόνηση και η έκθεση σε χημικές ουσίες

(κυρίως φαινόλες ή κατεχόλες), συμβάλλουν στην εμφάνιση λεύκης. [16] Το στρες στα μελανοκύτταρα μπορεί να προκληθεί σε γενετικά ευαίσθητα άτομα με την έκθεση σε χημικά όπως η παρα-βουτυλοφαινόλη, και η υδροκινόνη, που εμφανίζουν χημική ομοιότητα με τυροσίνη και τη φαινυλαλανίνη, τα υποστρώματα μελανογένεσης. Αυτά προκαλούν λεύκη είτε με ανταγωνιστική αναστολή, είτε μέσω των ενζυμικών τροποποιητικών ιδιοτήτων τους που καθιστούν την τυροσινάση ανοσογόνο. Ο αποχρωματισμός που εμφανίζεται μετά την έκθεση σε αυτές τις χημικές ουσίες αναφέρεται ως «χημική λευκοδερμία». Οι βαφές μαλλιών και η ιμικουϊμόδη έχουν επίσης κατηγορηθεί για την πρόκληση χημικής λευκοδερμίας. Οι βαφές μαλλιών πιθανόν να ενεργούν με ανταγωνιστική αναστολή της τυροσινάσης λόγω μιας ευρείας σειράς φαινολικών ενώσεων που περιέχουν, ενώ η ιμικουϊμόδη προκαλεί μια τοπική απόκριση ιντερφερόνης-α (IFN-α). [8] Το τραύμα, το άγχος, οι λοιμώξεις, ο καρκίνος, η νευρική δυσλειτουργία, ο εμβολιασμός, η εγκυμοσύνη, η εφηβεία, τα φάρμακα, τα ξενοβιοτικά, η διατροφή, τα πρόσθετα τροφίμων, οι ρύποι, τα συντηρητικά, τα καλλυντικά προϊόντα και η ανισορροπία ασβεστίου οδηγούν στη δημιουργία των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) στη λεύκη. [8], [31], [35]

2.7. ΣΥΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ

Η λεύκη συνδέεται με μια ποικιλία αυτοάνοσων, συστηματικών και δερματολογικών διαταραχών. (Πίνακας 2) Ορισμένες από αυτές συμβάλλουν στην επιδείνωση της νοσηρότητας των ασθενών. [2], [19] Μεταξύ των διαταραχών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα, κυριαρχούν οι παθολογικές καταστάσεις του θυρεοειδούς (νόσος του Graves και θυρεοειδίτιδα Hashimoto), η γυροειδής αλωπεκία (alopecia areata), ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1, η ψωρίαση και η ατοπική δερματίτιδα. [2], [16], [19], [30] Άλλες ασθένειες όπως η κακοήθης αναιμία, ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος (SLE) ή η νόσος του Addison είναι πιο σπάνιες, αλλά εμφανίζονται συχνότερα σε ασθενείς με λεύκη σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. [16], [19], [30] Υπάρχουν ενδείξεις ότι η λεύκη μπορεί επίσης να σχετίζεται με συστηματικές φλεγμονώδεις διαταραχές, όπως η παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο. [32] Άλλες ασθένειες περιλαμβάνουν, τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (RA), τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (IBD), το σύνδρομο Sjogren, τη δερματομυοσίτιδα και το σκληρόδερμα. [19]

Δερματικές διαταραχές που εμφανίζονται σε ασθενείς με λεύκη περιλαμβάνουν τη γυροειδή αλωπεκία, την ψωρίαση, τον ομαλό λειχήνα με υπέρχρωση (lichen planus pigmentosus), την

ατοπική δερματίτιδα, το σπίλο Sutton (σπίλος τον οποίο περιβάλλει αποχρωματισμένο δέρμα) και το κακοήθες μελάνωμα. [2], [7], [19], [39]

Τα ανθρώπινα μελανοκύτταρα βρίσκονται, εκτός από το δέρμα, το θύλακα της τρίχας, και τους βλεννογόνους, στο μάτι, στο εσωτερικό του αυτιού, και στα λιποκύτταρα. [32] Παρατηρείται μείωση των μελανοκυττάρων και στο οφθαλμικό και το ακουστικό σύστημα, με αποτέλεσμα την εμφάνιση οφθαλμικών παθήσεων, όπως η ραγοειδίτιδα, ή νευροαισθητικής απώλειας ακοής. [15]

Πίνακας 2: Διαταραχές και σύνδρομα που πιθανώς σχετίζονται με τη λεύκη [32]

Περισσότερο κοινές συννοσηρότητες	Σπάνιες συννοσηρότητες
Νόσος του Addison	Παρενοπλαστική ακροκεράτωση του Bazex
Αλωπεκία	Σύνδρομο Alezzandrini
Ατοπική δερματίτιδα	Σύνδρομο APECED (Αυτοάνοση εκτοδερματική δυσπλασία)
Ατροφική γαστρίτιδα	Βρογχικό Άσθμα
Αυτοάνοση ασθένεια του θυρεοειδούς	Αταξία-τελαγγειεκτασία
Χρόνια κνίδωση	Κώφωση
Σακχαρώδης διαβήτης	Ερπητοειδής δερματίτιδα
Halo nevi	Δυστονία με απόκριση στη DOPA
Αιμολυτική αναιμία (αυτοάνοση)	Δυσγαμμασφαιριναμία
Υποακουσία	Ηπατίτιδα C
Υποπαραθυρεοειδισμός	HIV
Ιχθύωση	Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
Λέμφωμα	Σύνδρομο Kabuki
Μελάνωμα	Σάρκωμα Kaposi
Μεταβολικό σύνδρομο	Ομαλός Λειχήνας
Σύνδρομο μιτοχονδριακής μυοπάθειας, εγκεφαλοπάθειας, γαλακτικής οξέωσης και εγκεφαλικού επεισοδίου (MELAS)	Μυασθένεια gravis
Νόσος Morfée (Σκληρόδερμα)	
Πολλαπλή σκλήρυνση	
Ονυχοδυστροφία	
Μη μελανωματικός καρκίνος του δέρματος	
Οφθαλμικές ανωμαλίες	
Κοινή πέμφιγα	
Κακοήθης αναιμία	
Πολυενδοκαρδιοπάθεια	
Ψωρίαση	
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	
Σαρκοείδωση	
Σύνδρομο Schmidt	
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	
Σύνδρομο Turner	
Τραχονυχία (Twenty-nail dystrophy)	
Σύνδρομο Vogt-Koyanagi-Harada	

2.8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπεία της λεύκης εξαρτάται από την κλινική ταξινόμηση και τα χαρακτηριστικά της νόσου και περιλαμβάνει δύο στρατηγικές. Η πρώτη στοχεύει την καταστολή της ενεργού νόσου προκειμένου να περιοριστεί η έκταση της πάσχουσας περιοχής (θεραπείες σταθεροποίησης) και η δεύτερη έχει ως στόχο τον επαναχρωματισμό της αποχρωματισμένης περιοχής. Υπάρχουν και κάποιες θεραπείες που σταθεροποιούν τη νόσο και ταυτόχρονα προκαλούν επιτυχή επαναχρωματισμό. Οι κυριότερες από αυτές περιλαμβάνουν τις φωτοθεραπευτικές μεθόδους. [8]

Οι θεραπείες σταθεροποίησης βοηθούν στην ανάσχεση της εξέλιξης της ενεργού νόσου και συνήθως συνοδεύονται από ορισμένου βαθμού επαναχρωματισμό. Η μεθοτρεξάτη, η αζαθειοπρίνη και τα συστηματικά κορτικοστεροειδή (πρεδνιζολόνη, δεξαμεθαζόνη, βηταμεθαζόνη) έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για να σταματήσουν την εξέλιξη της ενεργού λεύκης. [8]

Όσον αφορά τις θεραπείες επαναχρωματισμού, για να θεωρηθεί μία θεραπεία επιτυχημένη πρέπει να υπάρξει επαναχρωματισμός >80%, ο οποίος θα διατηρηθεί για περισσότερο από 6 μήνες. Οι μέθοδοι επαναχρωματισμού είτε αντικαθιστούν τα μελανοκύτταρα στις βλάβες του δέρματος μέσω χειρουργικών επεμβάσεων είτε ενισχύουν το δυναμικό αναγέννησης των υπαρχόντων μελανοκυττάρων. Μικρό ποσοστό ασθενών (έως 25%) μπορούν επίσης να εμφανίσουν αυθόρμητο επαναχρωματισμό. [8]

Ο στόχος της θεραπείας της λεύκης είναι να ελέγξει την αυτοάνοση βλάβη στα μελανοκύτταρα και να διεγείρει τη μετανάστευσή τους από τις δεξαμενές μελανοκυττάρων στο δέρμα. Η θεραπεία μπορεί να χωριστεί σε φαρμακολογική (κορτικοστεροειδή, αναστολείς καλσινευρίνης, καλσιποτριόλη), χειρουργική και φυσική (στενού φάσματος UVB – NB-UVB, φωτοθεραπεία με UVA και ψωραλένιο- PUVA), η οποία μπορεί μερικές φορές να συνδυαστεί. [3], [16]

Εκτός από αυτές τις μεθόδους, χρησιμοποιούνται επίσης καλλυντικά και προϊόντα μαυρίσματος που καλύπτουν τον αποχρωματισμό του δέρματος, και microtattooing/ tattooing. [34] Για προσωρινή κάλυψη χρησιμοποιούνται αυτο-μαυριστικά προϊόντα (self-tanning dyes) και κρέμες με διυδροξυακετόνη (DHS), η οποία είναι ένα σάκχαρο που αντιδρά με τα αμινοξέα της κερατίνης του δέρματος με την αντίδραση Maillard, σχηματίζοντας ένα καφέ σύμπλοκο. Η μακροχρόνια χρήση της DHS προκαλεί τοξικότητα. [2] Η κάλυψη των περιοχών με λεύκη έχει βρεθεί ότι βελτιώνει την ποιότητα ζωής των ασθενών. [17]

Προληπτικά, απαιτείται η προστασία από τον ήλιο των περιοχών με λεύκη με τη χρήση αντηλιακών, έτσι ώστε να αποφευχθούν τα ηλιακά εγκαύματα, η φωτογήρανση και η εμφάνιση του φαινομένου Köbner. Επιπλέον, τα αντηλιακά μειώνουν το μαύρισμα του φυσιολογικού δέρματος και έτσι μειώνουν την αντίθεση σε σχέση με τις πάσχουσες περιοχές. [31]

2.8.1. Θεραπεία πρώτης γραμμής

Οι θεραπείες πρώτης γραμμής αποτελούνται από τοπικές θεραπείες (κορτικοστεροειδή και αναστολείς καλσινευρίνης (pimecrolimus ή tacrolimus), ανάλογα βιταμίνης D, προσταγλανδίνη E (PGE2)). [26], [31]

2.8.1.1. Τοπικά κορτικοστεροειδή

Η θεραπεία με τοπικά κορτικοστεροειδή χρησιμοποιείται για τη θεραπεία περιορισμένων περιοχών. Στα πλεονεκτήματά τους συμπεριλαμβάνονται η εύκολη εφαρμογή, η υψηλή συμμόρφωση των ασθενών και το χαμηλό κόστος, ενώ στα μειονεκτήματα, η επανεμφάνιση λεύκης μετά τη διακοπή της θεραπείας και οι ανεπιθύμητες ενέργειες (ατροφία του δέρματος, τηλεγγειεκτασία, ραβδώσεις, δερματίτιδα εξ επαφής κλπ.) και η μειωμένη ανταπόκριση. Η συνδυασμένη θεραπεία με τη χρήση αναλόγων βιταμίνης D και κορτικοστεροειδών είναι ευεργετική στη λεύκη, καθώς φαίνεται να δρουν συνεργιστικά στην αποκατάσταση της μελανίνης και στην καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος. Στη συνδυασμένη θεραπεία, οι απαιτούμενες δόσεις των μεμονωμένων παραγόντων μειώνονται σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία και οι συνολικές ανεπιθύμητες ενέργειες είναι περιορισμένες. [18] Τα συνηθισμένα συνταγογραφούμενα τοπικά κορτικοστεροειδή περιλαμβάνουν τη διπροπιονική βηταμεθαζόνη, τη διπροπιονική κλοβεταζόλη και τη φουροϊκή μομεταζόνη. [34]

2.8.1.2. Αναστολείς καλσινευρίνης

Περίπου το 40% των ασθενών εμφανίζουν υποτροπή μόλις σταματήσουν τη θεραπεία με τα κλασσικά ανοσοκατασταλτικά, γεγονός που αναδεικνύει τον ρόλο των T-κυττάρων μνήμης του δέρματος. Η αποτελεσματική αναστολή αυτών των T-κυττάρων μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση τοπικών αναστολέων καλσινευρίνης συμπεριλαμβανομένων των τακρόλιμους και πιμεκρόλιμους. [8] Εκτός από την ανασταλτική δράση τους στα T-κύτταρα, οι τοπικοί αναστολείς καλσινευρίνης αυξάνουν τη δραστηριότητα της τυροσινάσης και προάγουν τη μελανογένεση. Το τακρόλιμους διεγείρει την έκφραση του

MITF και τη μετανάστευση των μελανοκυττάρων. Διεγείρει την ανάπτυξη των μελανοκυττάρων και μειώνει τα επίπεδα TNF- α , με αποτέλεσμα τον επαναχρωματισμό. Χρησιμοποιούνται κυρίως στη θεραπεία βλαβών του προσώπου, όπου τα κορτικοστεροειδή μπορούν να προκαλέσουν ατροφία του δέρματος. [8], [26], [34]

2.8.1.3. Ανάλογα βιταμίνης D

Τα τοπικά ανάλογα βιταμίνης D έχουν χρησιμοποιηθεί με μεταβλητά αποτελέσματα στη λεύκη και ο πιθανός μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει τις διεγερτικές ανοσορρυθμιστικές και τις μελανοκυτταρικές δραστηριότητες. [8]

2.8.2. Θεραπεία δεύτερης γραμμής

Οι θεραπείες δεύτερης γραμμής αποτελούνται από τη φωτοθεραπεία και τη συστηματική θεραπεία με στεροειδή. [26] Η φωτοθεραπεία περιλαμβάνει το φως του ήλιου, τη UVA, τη PUVA (ψωραλένιο με UVA), τη BB-UVB (broadband UVB), τη NB-UVB (narrowband UVB) και το excimer light και laser. [8], [40] Αυτές διαφέρουν στον μηχανισμό δράσης τους, τις ενδείξεις, τις ανεπιθύμητες ενέργειες, την αποτελεσματικότητα και τα δοσολογικά σχήματα. [26], [41], [42] (Πίνακας 3)

Η βιταμίνη D που παράγεται κατά τη διάρκεια της φωτοθεραπείας μπορεί να είναι υπεύθυνη για τα θετικά αποτελέσματα που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της. Αυτή η υπόθεση βασίζεται επίσης στο γεγονός ότι ορισμένες δερματικές διαταραχές ανταποκρίνονται καλά στα ανάλογα της βιταμίνης D. [41]

Πίνακας 3: Σύγκριση ανεπιθύμητων ενεργειών και μηχανισμών δράσης των διαφορετικών μορφών φωτοθεραπείας [40]

Είδος φωτοθεραπείας	Μηχανισμός δράσης	Ανεπιθύμητες ενέργειες
NB-UVB	Αναστέλλει τη λειτουργία των T-κυττάρων, διεγείρει την απόπτωση των T-κυττάρων, προάγει τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων (αυξάνοντας την έκφραση του ενδοθηλίνης-1 και του βασικού παράγοντα ανάπτυξης ινοβλαστών από τα κερατινοκύτταρα), διεγείρει τη μετανάστευση των μελανοκυττάρων (με επαγωγή της έκφρασης της φωσφορυλιωμένης κινάσης εστιακής προσκόλλησης και της δραστηριότητας του MMP-2 στα μελανοκύτταρα).	κνησμός, ερύθημα, έγκαυμα, ξηροδερμία, τραυματισμός ματιών, υπερχρωματισμός, φωτογήρανση, καρκίνος του δέρματος
Excimer Laser	Προκαλεί απόπτωση των T λεμφοκυττάρων, προάγει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων (με διέγερση της έκκρισης ενδοθηλίνης-1 από τα κερατινοκύτταρα).	ερύθημα, φουσκάλες
Excimer Light	Επάγει την απόπτωση των T λεμφοκυττάρων, προάγει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων (με διέγερση του βασικού παράγοντα ανάπτυξης των ινοβλαστών και απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-1 από τα κερατινοκύτταρα), προάγει τη διαφοροποίηση των μελανοβλαστών.	ερύθημα, φουσκάλες
Oral PUVA	Ενεργοποιεί τη διασύνδεση (crosslinking) του DNA, προάγει τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων (με διέγερση της απελευθέρωσης των αυξητικών παραγόντων των μελανοκυττάρων από τα κερατινοκύτταρα και τους ινοβλάστες), προάγει τη μετανάστευση των μελανοκυττάρων (με διέγερση της έκκρισης MMP-2 από τους μελανοβλάστες), διεγείρει τη μελανογένεση, προκαλεί καταστολή των T-κυττάρων και απόπτωση.	ερύθημα, δερματική και οφθαλμική φωτοτοξικότητα, ξηροδερμία, ναυτία, κεφαλαλγία, φωτογήρανση, καρκίνος του δέρματος
Topical PUVA	Ενεργοποιεί τη διασύνδεση (crosslinking) του DNA, προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των μελανοκυττάρων.	δερματική φωτοτοξικότητα, περιβλαβικό μαύρισμα

2.8.3. Θεραπεία τρίτης γραμμής

Οι θεραπείες τρίτης γραμμής συμπεριλαμβάνουν τις χειρουργικές μεθόδους και τις θεραπείες αποχρωματισμού. [26]

2.8.3.1. Χειρουργικές μέθοδοι

Οι χειρουργικές μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένων των μοσχευμάτων ιστών και των κυτταρικών μοσχευμάτων, εφαρμόζονται στη λεύκη που είναι ανθεκτική στη συμβατική θεραπεία. [16] Τμήμα δέρματος απομακρύνεται από το φυσιολογικό δέρμα, και στη συνέχεια είτε μεταφέρεται απευθείας (ιστικό μόσχευμα) είτε επεξεργάζεται και μεταφέρεται στη θέση δέκτη (κυτταρικό μόσχευμα). [43]

2.8.3.2. Θεραπείες αποχρωματισμού

Η θεραπεία αποχρωματισμού θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο σε εκτεταμένη (>50% επιφάνεια σώματος), ανθεκτική λεύκη ή σε πολύ εμφανή ανθεκτική λεύκη προσώπου ή χεριών. Οι μέθοδοι λεύκανσης του δέρματος περιλαμβάνουν το μονοβενζυλαιθέρα της υδροκινόνης (ΜΒΕΗ), τη 4-μεθοξυφαινόλη (4-MP, μεκινολίνη ή p-υδροξυανισόλη), τη θεραπεία με λέιζερ και την κρυοθεραπεία. [26], [44]

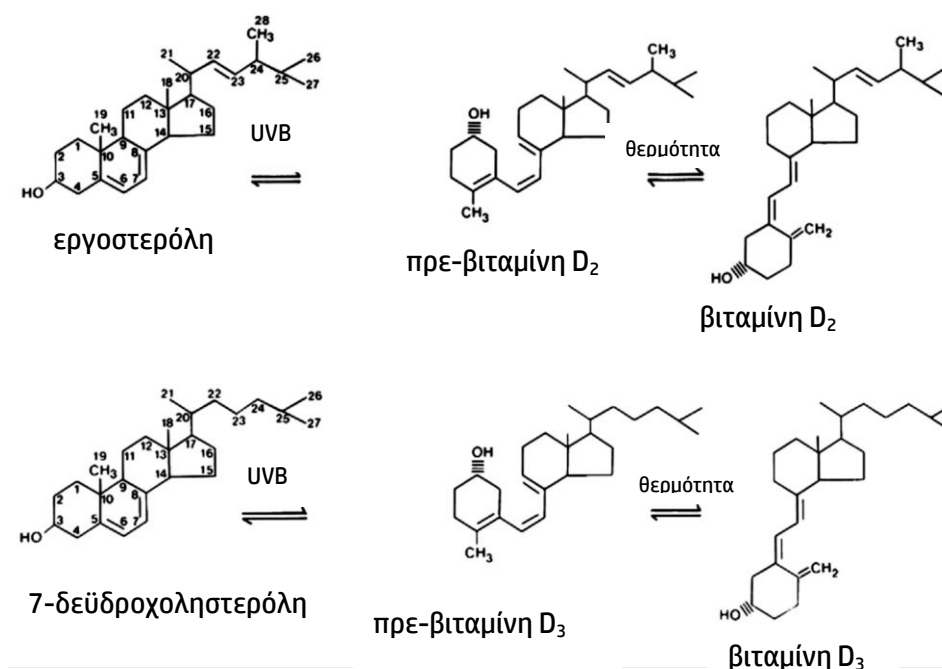
2.8.4. Εναλλακτικές συστηματικές θεραπείες

Σε αυτές τις θεραπείες συμπεριλαμβάνονται ενώσεις όπως η L-φαινυλαλανίνη, η οποία είναι ένα αμινοξύ και πρόδρομος της τυροσίνης, η κελλίνη, η βιταμίνη Β12 και το φυλικό οξύ, διάφορες αντιοξειδωτικές βιταμίνες (π.χ. βιταμίνη Ε) και ο ψευδάργυρος, και φυτικά παρασκευάσματα των *Polypodium leucotomos* και *Ginkgo biloba*. Αυτές οι θεραπείες χρησιμοποιούνται συνήθως σε συνδυασμό με συμβατικές θεραπείες. [31], [45]

3. ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

3.1. ΒΙΤΑΜΙΝΗ D₃ (ΚΑΛΣΙΤΡΙΟΛΗ)

Η βιταμίνη D είναι η συλλογική ονομασία για τη χοληκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₃), η οποία προέρχεται από τα ζώα και έχει πρόδρομο τη χοληστερόλη, και την εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₂), η οποία προέρχεται από τα φυτά και έχει πρόδρομο τη εργοστερόλη. (Εικόνα 5) Αυτές είναι πρόδρομοι του προσδέματος του υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR), της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D₃ (1α,25(OH)₂D₃) (καλσιτριόλη), η οποία είναι η δραστική μορφή της βιταμίνης D. [46], [47] Η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D₃ είναι μια στεροειδής ορμόνη που ρυθμίζει το μεταβολισμό του ασβεστίου και των οστών, ελέγχει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων και εμφανίζει ανοσορρυθμιστικές δράσεις. [48]



Εικόνα 5: Βιοσύνθεση των βιταμινών D₂ και D₃. [49]

3.1.1. Πρόσληψη και μεταβολισμός βιταμίνης D

Η βιταμίνη D συντίθεται στο δέρμα κατά την έκθεση στο φως του ήλιου ή λαμβάνεται από τη διατροφή και τα συμπληρώματα, είτε με τη μορφή βιταμίνης D₂ είτε βιταμίνης D₃. Περίπου το 10-20% των αναγκών του ανθρώπινου οργανισμού σε βιταμίνη D μπορεί να προσληφθεί με τη διατροφή και περίπου το 80%-90% πρέπει να φωτосυνθεθεί στο δέρμα μέσω της δράσης

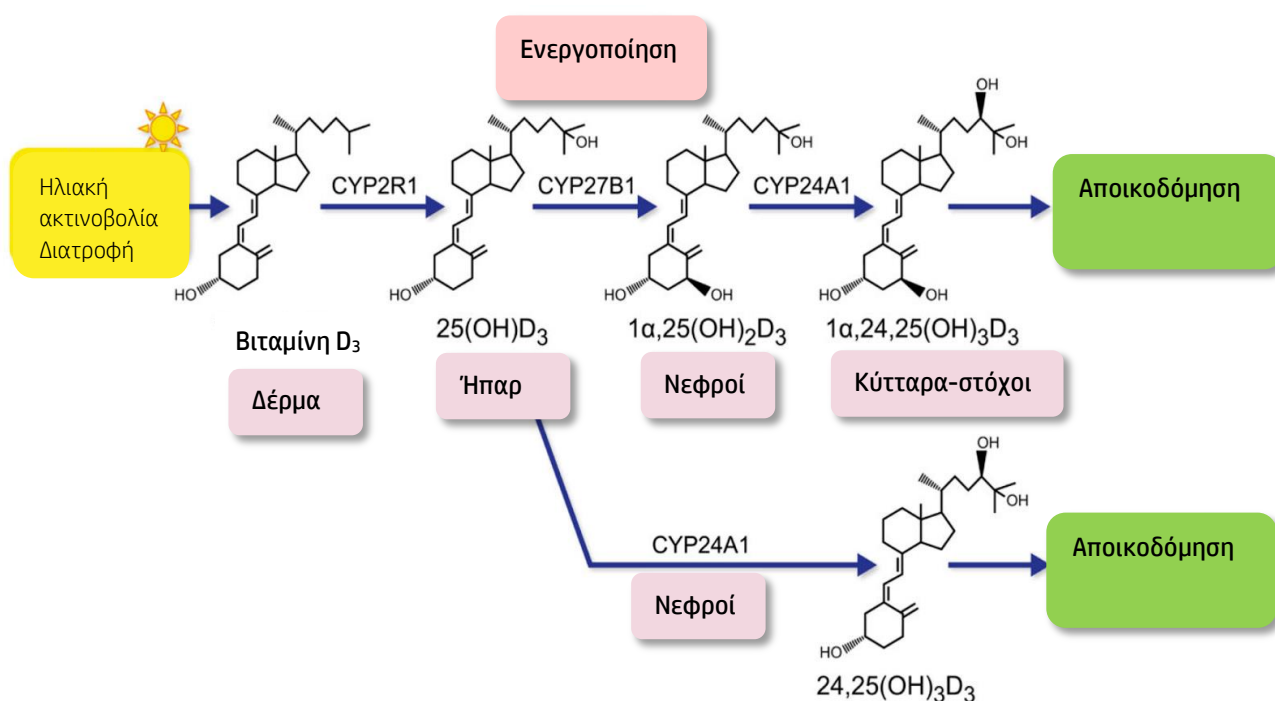
της ηλιακής ή τεχνητής υπεριώδους Β (UVB) ακτινοβολίας. Η βιταμίνη D₃ παράγεται από την 7-δεϋδροχοληστερόλη (7-DHC) (προβιταμίνη D) μέσω μιας διεργασίας δύο σταδίων στην οποία ο δακτύλιος Β θραύεται από την υπεριώδη ακτινοβολία (UVB 280-320), σχηματίζοντας την πρεβιταμίνη D₃ που υφίσταται αργό θερμικό ισομερισμό στη βιταμίνη D₃. (Εικόνα 5) Κατά την παρατεταμένη έκθεση στο ηλιακό φως, η παραγωγή πρεβιταμίνης D δεν υπερβαίνει το 15% της διαθέσιμης 7-DHC, επειδή η περαιτέρω έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία προκαλεί φωτοϊσομερισμό της προβιταμίνης D₃ σε δύο βιολογικά αδρανή προϊόντα, τη λουμιστερόλη και την ταχυστερόλη. Ο μηχανισμός αυτός αποτρέπει την τοξικότητα της βιταμίνης D μετά από παρατεταμένη έκθεση στον ήλιο. Η πρωτεΐνη δέσμησης βιταμίνης D (vitamin D binding protein, DBP) μεταφέρει τη βιταμίνη D από το δέρμα ή το έντερο στην κυκλοφορία. [28], [41], [49]–[54]

Η βιταμίνη D μεταφέρεται στο ήπαρ από πρωτεΐνη δέσμησης βιταμίνης D (DBP). Στο ήπαρ, υδροξυλιώνεται στον C-25 για να παράγει την 25-υδροξυβιταμίνη D (25(OH)D) (καλσιδιόλη). (Εικόνα 6) Το CYP2R1 θεωρείται η βασική 25-υδροξυλάση της βιταμίνης D, υπάρχουν όμως και άλλα ένζυμα έχουν δραστηριότητα 25-υδροξυλάσης, όπως το μιτοχονδριακό CYP27A1, καθώς και τα μικροσωματικά CYP2D11, CYP2D25, CYP2J2/3 και CYP3A4, και μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα της 25(OH)D εντός ενός ιστού και/ή στην κυκλοφορία. Η 25(OH)D είναι η κύρια μορφή της κυκλοφορούσας βιταμίνης D. Η συγκέντρωσή της στον ορό έχει χρησιμεύσει ως ένας από τους πιο αξιόπιστους βιοδείκτες της κατάστασης της βιταμίνης D. [47], [49], [50], [53], [54]

Μετά από την ενεργοποίησή της στο ήπαρ, η 25(OH)D μεταφέρεται και πάλι μέσω της DBP στην κυκλοφορία του αίματος. Ο υποδοχέας μεγαλίνη (megalin) και ο συνυποδοχέας κουμπιλίνη (cubilin), μεσολαβούν στην απορρόφηση του συμπλόκου DBP-25(OH)D στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο του νεφρού μέσω ενδοκυττάρωσης. Στο νεφρό, η 25(OH)D υδροξυλιώνεται στη θέση του άνθρακα 1 του δακτυλίου Α, με αποτέλεσμα το σχηματισμό της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D (1,25(OH)₂D) (καλσιτριόλη), της ορμονικά ενεργού μορφής βιταμίνης D. Η παραγωγή της δραστηκής 1,25(OH)₂D καταλύεται από το CYP27B1. [47], [50], [53], [54] (Εικόνα 6) Η 1,25(OH)₂D δρα στον νεφρό αλλά μεταφέρεται επίσης μέσω της DBP σε πολλούς άλλους ιστούς (συμπεριλαμβανομένου του δέρματος, των οστών, του εντέρου και του παραθυρεοειδούς αδένος). [52], [54] Η έκφραση του CYP27B1 δεν περιορίζεται στους

νεφρούς, αλλά συμπεριλαμβάνει κι άλλους ιστούς όπως το δέρμα. Στο δέρμα, εκτός από τη $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, παράγεται επίσης η $25(\text{OH})\text{D}_3$ μέσω έκφρασης του CYP2R1. [53]

Η αποικοδόμηση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ επιτυγχάνεται μέσω της δράσης του CYP24A1, ενός μικροσωματικού ενζύμου που εκφράζεται στο νεφρό και έχει δραστηριότητα 23-υδροξυλάσης και 24-υδροξυλάσης. Αυτή η οδός αποικοδόμησης περιλαμβάνει την υδροξυλίωση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ στον άνθρακα 24 για να παραχθεί $1,24,25$ -τριυδροξυβιταμίνη D_3 ($1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$) ή στον άνθρακα 23 για να παραχθεί $1,25$ -υδροξυβιταμίνη D_3 -26,23-λακτόνη, τα οποία οξειδώνονται περαιτέρω προς το υδατοδιαλυτό καλσιτροϊκό οξύ (calcitroic acid), που απεκκρίνεται στη χολή, και CO_2 . Η $25(\text{OH})\text{D}_3$ επίσης υδροξυλιώνεται από το CYP24A1 στο νεφρό, οδηγώντας στην έκκριση της $24,25$ -διυδροξυβιταμίνης D_3 ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) και/ή της $25(\text{OH})\text{D}_3$ -26,23 λακτόνης. (Εικόνα 6) Το CYP24A1 υπάρχει σε όλα τα κύτταρα που περιέχουν τον VDR. Έτσι, εκτός από τη ρύθμιση των συγκεντρώσεων κυκλοφορίας του $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, το CYP24A1 μπορεί επίσης να ρυθμίζει τα επίπεδα $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ μέσα στο κύτταρο, με αποτέλεσμα την κατάλληλη κυτταρική απόκριση. [47], [49], [50], [52]–[56]



Εικόνα 6: Βιοσύνθεση και μεταβολισμός της βιταμίνης D: Η ηλιακή ακτινοβολία προκαλεί φωτόλυση της 7-δεϋδροχοληστερόλης σε βιταμίνη D στο δέρμα και η ενεργοποίησή της με επακόλουθη διαδοχική υδροξυλίωση στο ήπαρ από το CYP2R1 σε $25(\text{OH})\text{D}_3$ και στο νεφρό από το CYP27B1 σε $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Το CYP24A1 είναι υπεύθυνο για την αποικοδόμηση της $25(\text{OH})\text{D}_3$ προς $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ στο νεφρό και την αποικοδόμηση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ προς $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$ σε όλους τους ιστούς στόχους της βιταμίνης D που καταλήγουν στη μετατροπή σε καλσιτροϊκό οξύ. [53]

3.1.2. Αποθήκευση και ρύθμιση παραγωγής βιταμίνης D

Η βιταμίνη D μπορεί να αποθηκευτεί στο σωματικό λίπος. Η βιταμίνη D και η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ έχουν βραχύτερους χρόνους ημιζωής (24 και 4 ώρες αντίστοιχα) από τη $25(\text{OH})\text{D}$ (3 εβδομάδες). Η συγκέντρωση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στον ορό είναι 1000 φορές χαμηλότερη από αυτή της $25(\text{OH})\text{D}$. [41]

Η παραγωγή της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ρυθμίζεται αυστηρά και διεγείρεται κυρίως από την παραθυρεοειδή ορμόνη ορού. [41] Οι παραθυρεοειδείς αδένες αντιλαμβάνονται την υποασβεστιαμία και εκκρίνουν την παραθυρεοειδή ορμόνη (PTH) η οποία διεγείρει την παραγωγή της 1 α -υδροξυλάσης (CYP24B1), άρα και την 1 α -υδροξυλίωση της $25(\text{OH})\text{D}$. Η βιταμίνη D δρα στους νεφρούς, τα οστά και το έντερο για να αυξήσει το ασβέστιο του πλάσματος σε επίπεδα που στη συνέχεια καταστέλλουν την έκκριση της PTH. [56] Η υποφωσφαταιμία επίσης διεγείρει την 1 α -υδροξυλίωση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. [56] Ο παραθυρεοειδής αδένας εκφράζει τον VDR, ο οποίος μετά τη σύνδεση με τη $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ καταστέλλει την σύνθεση της παραθορμόνης (PTH) με άμεση δράση στην μεταγραφή γονιδίων. Αυτός ο βρόγχος αρνητικής ανάδρασης, ο οποίος περιορίζει την διέγερση του CYP27B1 από την PTH, χρησιμεύει για τον περιορισμό των επιδράσεων απορρόφησης των οστών της PTH, αποτρέποντας έτσι την υπερασβεστιαμία. [51]

3.1.3. Έλλειψη βιταμίνης D

Η έλλειψη βιταμίνης D είναι κοινό πρόβλημα σε πολλά μέρη του πλανήτη. Υπολογίζεται ότι ένα δισεκατομμύριο άνθρωποι παγκοσμίως έχουν έλλειψη βιταμίνης D. Πολλοί ασθενείς με διαταραχές του δέρματος έχουν επίσης έλλειψη βιταμίνης D. [41] Το Institute of Medicine of the National Academies (United States) έχει ορίσει ως ανεπάρκεια βιταμίνης D στους ενήλικες τα επίπεδα ορού $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$, ενώ ποσότητα $\geq 50 \text{ nmol/L}$ θεωρείται φυσιολογική και $> 125 \text{ nmol/L}$ υπερβολική. [47] (Πίνακας 4)

Η βιταμίνη D επηρεάζεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η φωτοπαραγωγή μέσω UVB, η διατροφική πρόσληψη, η ύπαρξη λοίμωξης και η ατμοσφαιρική ρύπανση, όπως τα αιωρούμενα σωματίδια και ο καπνός τσιγάρων. Άλλοι παράγοντες συνδέονται με τα επίπεδα της βιταμίνης D, είναι ο φωτότυπος, το φύλο, η ηλικία ο δείκτης μάζας σώματος, η σωματική δραστηριότητα, η πρόσληψη αλκοόλ, το γεωγραφικό πλάτος, η

εποχή, ο χρόνος έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία, οι πολυμορφισμοί του υποδοχέα της βιταμίνης D και οι πολυμορφισμοί της πρωτεΐνης δέσμευσης της βιταμίνης D. [47], [52], [57]

Παράγοντες κινδύνου για την ανεπάρκεια της βιταμίνης D είναι η παχυσαρκία, η μεγαλύτερη ηλικία, το γυναικείο φύλο, η λιγότερη σωματική δραστηριότητα και ο σκούρος φωτότυπος. [58] Το χρώμα του δέρματος είναι ένας γνωστός παράγοντας κινδύνου σε ασθενείς με υποβιταμίνωση D, επειδή η μελανίνη, η οποία είναι υπεύθυνη για την χρώση του δέρματος, αποτελεί φραγμό για την υπεριώδη ακτινοβολία. [18], [47], [48] Η θερινή περίοδος, το χαμηλότερο γεωγραφικό πλάτος και τα υψηλότερα ποσά ηλιοφάνειας και έκθεσης στον ήλιο, έχουν συσχετιστεί με χαμηλότερο κίνδυνο ανεπάρκειας βιταμίνης D. Η γήρανση συσχετίζεται αρνητικά με την κατάσταση της βιταμίνης D. Ο υψηλός ΔΜΣ και τα χαμηλά επίπεδα σωματικής δραστηριότητας σχετίζονται επίσης με χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D. Η υπερβολική πρόσληψη αλκοόλ έχει συσχετιστεί με ανεπάρκεια βιταμίνης D. [57] Η εποχιακή διακύμανση της ακτινοβολίας UVB επηρεάζει επίσης τα επίπεδα της βιταμίνης D και μέσω αυτορρύθμισης μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα του VDR. Μια πλούσια σε βιταμίνη D διατροφή και τα συμπληρώματα βιταμίνης D μπορούν επίσης να επηρεάσουν τα επίπεδα βιταμίνης D του ορού. Τόσο η βιταμίνη D₃ όσο και η D₂ μπορούν να ληφθούν στη διατροφή. Η D₃ από ζωικές πηγές, η D₂ από φυτά και μύκητες. Ωστόσο, τα περισσότερα τρόφιμα εκτός από το κρέας, τα λιπαρά ψάρια και τα αυγά έχουν χαμηλή περιεκτικότητα βιταμίνης D, εκτός αν εμπλουτίζονται. Η διατροφική βιταμίνη D λαμβάνεται σε μεγάλο βαθμό μέσω εμπλουτισμένων τροφίμων και συμπληρωμάτων βιταμινών. [47]

Τα γονίδια που σχετίζονται με την κατάσταση της βιταμίνης D μπορούν να χωριστούν σε διάφορες κατηγορίες: (i) γονίδια που εμπλέκονται στην παραγωγή της 25(OH)D (inflow), (ii) γονίδια που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση της 25(OH)D προς το ενεργό πρόσδεμα (outflow), (iii) γονίδια που εμπλέκονται στα χαρακτηριστικά της πρωτεΐνης-φορέα, (iv) γονίδια που εμπλέκονται στα χαρακτηριστικά της πρωτεΐνης-υποδοχέα και των πρωτεϊνών συνενεργοποίησης (επηρεάζουν την εκτελεστική ικανότητα του συμπλόκου υποδοχέα-προσδέματος), και (v) γονίδια που εμπλέκονται σε άλλες δευτερεύουσες διαδικασίες που επηρεάζουν τις ρυθμιστικές οδούς όπως οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου και/ή της παραθυρεοειδούς ορμόνης. [54] (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: Πίνακας 24)

Η υποβιταμίνωση D έχει αναφερθεί ότι οδηγεί στην οστεοπόρωση και σε αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Ανεπάρκεια βιταμίνης D συνδέεται επίσης με πολλές ασθένειες όπως ο

καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, με διάφορες αυτοάνοσες διαταραχές όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η νόσος του Crohn, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1, και με διάφορες διαταραχές του δέρματος, συμπεριλαμβανομένης και της λεύκης. Στη λεύκη, τα χαμηλά επίπεδα 25(OH)D μπορεί να είναι αποτέλεσμα της κατανάλωσής της στην αυτοάνοση φλεγμονώδη διαδικασία ή αποφυγή έκθεσης των ασθενών στο ηλιακό φως. [58]

Πίνακας 4: Κατάσταση βιταμίνης D σύμφωνα με τη συγκέντρωση της 25(OH)D στον ορό [59]

Ορισμός	nmol/L	ng/ml
Ανεπάρκεια	< 50	< 20
Έλλειψη	50–75	20–30
Υπερβιταμίνωση	> 250	> 100
Δηλητηρίαση	> 375	> 150

3.1.4. Λειτουργίες βιταμίνης D

Η βιταμίνη D ρυθμίζει τη λειτουργία πολλών τύπων κυττάρων μέσω ενδοκρινικών, παρακρινικών και/ή αυτοκρινών οδών, μέσω οδών όπως η κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση. [52] Δρα τόσο με γενετικούς όσο και με μη-γενετικούς μηχανισμούς. Εισέρχεται στο κύτταρο και συνδέεται με τον υποδοχέα βιταμίνης D (VDR), ο οποίος μπορεί να βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου (γονιδιωματικά αποτελέσματα) ή στην πλασματική μεμβράνη (μη γονιδιωματικά αποτελέσματα). Ο VDR, ένας παράγοντας μεταγραφής που ενεργοποιείται από το πρόσδεμα και ρυθμίζει τη γονιδιακή μεταγραφή και τη λειτουργία των κυττάρων, μεσολαβεί στις περισσότερες αλλά όχι σε όλες τις δράσεις της 1,25(OH)₂D. [41] Τα μη γονιδιωματικά αποτελέσματα της 1,25(OH)₂D προκαλούνται μέσω επιδράσεων της στο ενδοκυτταρικό ασβέστιο. [52], [60]

Οι κλασσικές δράσεις της βιταμίνης D σχετίζονται με τον μεταβολισμό των ιχνοστοιχείων και την υγεία των οστών. Η 1,25(OH)₂D ρυθμίζει τα επίπεδα ασβεστίου και φωσφορικών στο αίμα ενεργώντας στο έντερο, τα οστά, τους παραθυρεοειδείς αδένες και τους νεφρούς. Παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των φυσιολογικών και κακοήθων κυττάρων (συμπεριλαμβανομένης της διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων), υποδεικνύοντας ένα πιθανό ρόλο στη χημειοπροφύλαξη από τον καρκίνο. Άλλοι, μη κλασικοί, ρόλοι της βιταμίνης D περιλαμβάνουν τη ρύθμιση της έκκρισης

ορμονών, και της έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσολογικής λειτουργίας, μέσω της οποίας συμβάλλει στην καταστολή διάφορων αυτοάνοσων ασθενειών. [41], [50], [53], [61], [62]

3.1.5. Δράση στο δέρμα

Ο VDR εκφράζεται σε πολλά κύτταρα του δέρματος, συμπεριλαμβανομένων των κερατινοκυττάρων, των ινοβλαστών, των μελανοκυττάρων, των κυττάρων Langerhans, των sebocytes (κύτταρα σμηγματογόνων αδένων), των ενδοθηλιακών κυττάρων και των περισσότερων τύπων κυττάρων που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα του δέρματος. [52]

3.1.5.1. Κερατινοκύτταρα

Η επιδερμίδα δεν αιματώνεται, γεγονός που εμποδίζει την είσοδο της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ από το αίμα στα κερατινοκύτταρα. Η επιδερμίδα περιέχει το CYP27A1, το μιτοχονδριακό ένζυμο που 25-υδροξυλιώνει τη βιταμίνη D και το CYP27B1, το ένζυμο που παράγει $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ από την $25(\text{OH})\text{D}$. Τα κερατινοκύτταρα είναι τα μόνα κύτταρα του σώματος με αυτόνομη παραγωγή $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. [41], [51], [52], [54], [55] Έχουν επίσης περιγραφεί νέες εναλλακτικές οδοί ενεργοποίησης της βιταμίνης D στο δέρμα, οι οποίες ξεκινούν από τα CYP3A4 και CYP11A1. Έχει αποδειχθεί ότι τα προϊόντα αυτών των οδών είναι παρόντα στο δέρμα και είναι βιολογικά δραστικά. [54]

Τα κερατινοκύτταρα εκφράζουν τον VDR και ανταποκρίνονται στη δραστική μορφή της βιταμίνης D, η οποία είναι ένας από τους ισχυρότερους ρυθμιστές της επιδερμικής διαφοροποίησης. Η βιταμίνη D ρυθμίζει αρκετά γονίδια στα κερατινοκύτταρα, τα οποία εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση και τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. [41], [55]

3.1.5.2. Ανοσορρυθμιστική δράση

Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ αναστέλλει την προσαρμοστική ανοσοαπόκριση και προάγει την έμφυτη ανοσοαπόκριση. [50] Οι επιδράσεις της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στα T κύτταρα περιλαμβάνουν την καταστολή της ενεργοποίησης των T κυττάρων και την επαγωγή ρυθμιστικών T

κυττάρων (Treg)⁶, καθώς και επιδράσεις στα πρότυπα έκκρισης κυτοκινών. [28] Η ανοσοκατασταλτική επίδραση της 1,25(OH)₂D συσχετίζεται με μια μείωση στις φλεγμονώδεις κυτοκίνες συμπεριλαμβανομένης της IL-2, της IL-17, της IL-9 και της ιντερφερόνης (IFN)- γ . [50], [63] Η 1,25(OH)₂D έχει επίσης αποδειχθεί ότι επηρεάζει την ωρίμανση, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των δενδριτικών κυττάρων (DC) και την αναστολή της εξαρτώμενης από τα DC ενεργοποίησης των T κυττάρων, με αποτέλεσμα μια συνολική κατάσταση ανοσοκαταστολής. [28]

3.1.6. Βιταμίνη D και λεύκη

Η βιταμίνη D και τα χημικά τροποποιημένα ανάλογά της εμπλέκονται στον έλεγχο των ενδοκυτταρικών οδών που είναι υπεύθυνες για τη σύνθεση της μελανίνης και την επιβίωση των μελανοκυττάρων και για την καταστολή της ανοσοαπόκρισης. [18]

3.1.6.1. Ανάλογα βιταμίνης D στη θεραπεία της λεύκης

Η τοπική εφαρμογή των αναλόγων βιταμίνης D μόνη ή σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της λεύκης. Η καλσιποτριόλη (1 α ,24-(OH)₂-24-κυκλοπροπυλ-D₃), επίσης γνωστή ως καλσιποτριένιο και η τακαλισιτόλη (1 α ,24-διϋδροξυβιταμίνη D₃) έχουν δοκιμασθεί για τη θεραπεία της λεύκης ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους, όπως η UV και η θεραπεία με κορτικοστεροειδή ή αναστολείς καλσινευρίνης. [18], [64] Η μονοθεραπεία με ανάλογα βιταμίνης D δεν είναι αποτελεσματική στη θεραπεία της λεύκης, ωστόσο η συγχορήγησή τους με τοπικά κορτικοστεροειδή αυξάνει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Υπάρχουν αντιφατικά αποτελέσματα σχετικά την αποτελεσματικότητα των αναλόγων της βιταμίνης D σε συνδυασμό με τη φωτοθεραπεία UVB. [41], [55]

3.1.6.2. Μοριακοί μηχανισμοί επαναχρωματισμού μέσω των αναλόγων βιταμίνης D

Τα ανάλογα της βιταμίνης D προστατεύουν την επιδερμική μονάδα μελανίνης και αποκαθιστούν την ακεραιότητα των μελανοκυττάρων με δύο κύριους μηχανισμούς: με τον έλεγχο της ενεργοποίησης, του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των μελανοκυττάρων και των μονοπατιών χρώσης του δέρματος, και με τη ρύθμιση της

⁶ Τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Treg) είναι ένα υποσύνολο των CD4⁺ T κυττάρων που είναι σημαντικά για την αναστολή της φλεγμονής. [50]

ενεργοποίησης των T κυττάρων που συσχετίζεται με την εξαφάνιση των μελανοκυττάρων στη λεύκη. [18], [48]

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η βιταμίνη D ασκεί τα αποτελέσματά της στα μελανοκύτταρα δεν έχει ακόμη πλήρως κατανοηθεί. Πιστεύεται ότι εμπλέκεται στη φυσιολογία των μελανοκυττάρων μέσω του συντονισμού των μελανογόνων κυτοκινών (πιθανότατα της ενδοθηλίνης-3 (ET-3)) και της δραστηριότητας του συστήματος SCF/c-Kit, το οποίο είναι ένας από τους σημαντικότερους ρυθμιστές της βιωσιμότητας και της ωρίμανσης των μελανοκυττάρων. [18], [41], [48] Επιπλέον, ένας προτεινόμενος μηχανισμός βασίζεται στις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες και στη ρυθμιστική της λειτουργία έναντι των ROS. [18], [48] Πειράματα έδειξαν ένα διεγερτικό αποτέλεσμα των αναλόγων βιταμίνης D επί της διαφοροποίησης των μελανοκυττάρων και της δραστηριότητας της τυροσινάσης. Από την άλλη, η βιταμίνη D έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στην ανάπτυξη μελανοκυττάρων. Έτσι ενώ το διεγερτικό αποτέλεσμα της βιταμίνης D στη δραστηριότητα της τυροσινάσης μπορεί να ενισχύσει τον επαναχρωματισμό, η κατασταλτική επίδρασή της στην ανάπτυξη των μελανοκυττάρων ελαχιστοποιεί ή καθυστερεί την αποκατάσταση της χρώσης του δέρματος. [18]

Η βιταμίνη D ασκεί επίσης ανοσορρυθμιστικά αποτελέσματα αναστέλλοντας την έκφραση των IL-6, IL-8, TNF- α και TNF- γ , και έτσι προστατεύει τα μελανοκύτταρα από την επαγόμενη από TNF- α απόπτωση. Τα ανάλογα της βιταμίνης D αποδείχθηκε ότι έχουν τροποποιητικές επιδράσεις στην ωρίμανση, τη διαφοροποίηση και την ενεργοποίηση των δενδριτικών κυττάρων σε κυτταροκαλλιέργιες, πιθανώς μέσω μιας οδού που εξαρτάται από το VDR. Επιπλέον, τα ανάλογα της βιταμίνης D έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν την αναστολή της αντιγονοπαρουσίασης. [18], [28], [48]

4. ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D (VDR)

Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ασκεί τις λειτουργίες της με την σύνδεση της στον υποδοχέα βιταμίνης D (VDR). Ο VDR είναι ένας πυρηνικός υποδοχέας τύπου 1, μέλος της υπερικογενείας των υποδοχέων στεροειδών, και λειτουργεί ως ένας παράγοντας μεταγραφής. [48], [61]

4.1. Εντόπιση

Στο ανθρώπινο σώμα, ο VDR βρίσκεται σε πάνω από 60 διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους. [46] Εντοπίζεται σε ιστούς που εμπλέκονται στη ρύθμιση της ομοιόστασης του ασβεστίου και των φωσφορικών, δηλαδή στο έντερο, τα οστά, τους νεφρούς και τους παραθυρεοειδείς αδένες. Εκφράζεται και σε άλλους τύπους κυττάρων, περιλαμβανομένων των ανοσοκυττάρων. [61], [65] Όσον αφορά το δέρμα, βρίσκεται στα κερατινοκύτταρα, τα μελανοκύτταρα, οι ινοβλάστες και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος του δέρματος. [48]

4.2. Δομή

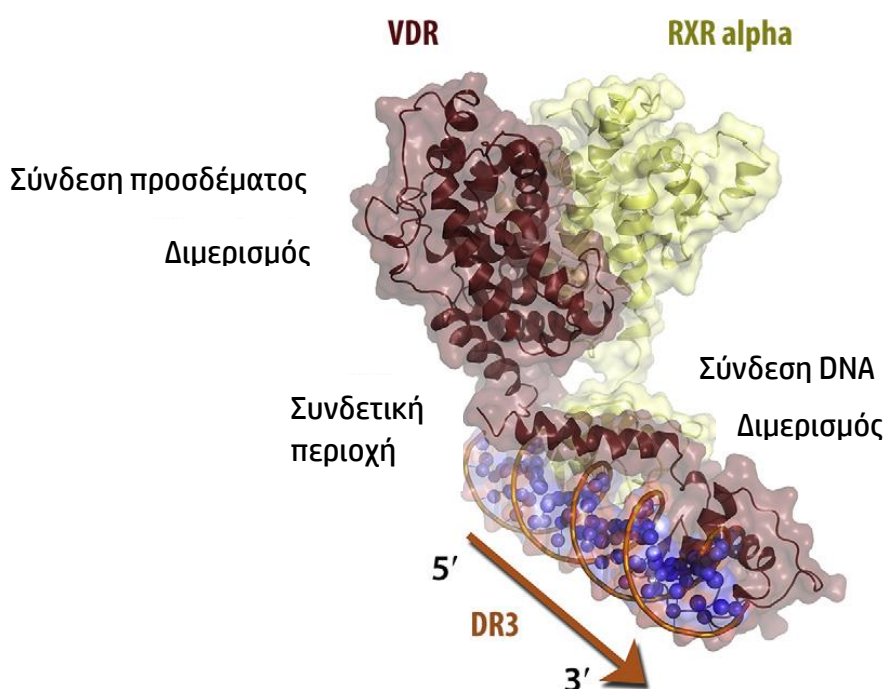
Ο VDR είναι μία πρωτεΐνη που αποτελείται από 427 αμινοξέα και εμφανίζει τα κύρια δομικά χαρακτηριστικά των πυρηνικών υποδοχέων (Nuclear Receptors, NRs), οι οποίοι αποτελούνται από μία συντηρημένη περιοχή δέσμησης DNA (DNA-binding domain, DBD) και από μία περιοχή δέσμησης του προσδέματος (ligand-binding domain, LBD) που συνδέονται από μια συνδετική περιοχή (hinge region), η οποία αυξάνει την ευκαμψία και διευκολύνει το διμερισμό. (Εικόνα 7) Η N-τερματική περιοχή περιέχει μια σύντομη περιοχή ενεργοποίησης-1 (activation function-1, AF-1), η κεντρική περιοχή περιέχει την περιοχή δέσμησης του DNA (DBD) και η C-τερματική περιοχή περιέχει την περιοχή δέσμησης του προσδέματος (LBD), την περιοχή ετεροδιμερισμού του υποδοχέα ρετινοειδούς X (RXR) και μια περιοχή ενεργοποίησης εξαρτώμενη από το πρόσδεμα (AF-2). Οι δύο βασικοί λειτουργικοί τομείς του είναι η N-τερματική περιοχή δέσμησης του DNA (DNA binding domain, DBD), η οποία είναι μικρότερη από πολλών άλλων πυρηνικών υποδοχέων, και η C-τερματική περιοχή σύνδεσης του προσδέματος (ligand binding domain, LBD). [28], [46], [50], [60], [66]

Η περιοχή δέσμησης του DNA (DNA binding domain) περιέχει δύο δακτυλίους ψευδαργύρου (zinc fingers). Ο N-τερματικός δακτύλιος είναι σημαντικός για τη δέσμευση του DNA στο στοιχείο

απόκρισης στη βιταμίνη D (vitamin D response element, VDRE) και ο άλλος δάκτυλος ψευδαργύρου είναι υπεύθυνος για τον ετεροδιμερισμό του VDR με τον υποδοχέα ρετινοειδούς X (RXR). Η περιοχή σύνδεσης του προσδέματος είναι επίσης σημαντική για τον ετεροδιμερισμό του υποδοχέα. [46], [50]

Η περιοχή σύνδεσης του προσδέματος (ligand-binding domain) αποτελείται από μια εξαρτώμενη από προσδέματα περιοχή ενεργοποίησης (AF-2), μια περιοχή για ομο- και ετεροδιμερισμό και μία περιοχή για τη σύνδεση συνενεργοποιητών καθώς και συγκαταστολέων. [66] Η εξαρτώμενη από προσδέματα περιοχή ενεργοποίησης (περιοχή AF-2), βρίσκεται στο C-τερματικό άκρο του VDR και είναι απαραίτητη για την πρόσδεση του συνενεργοποιητή του υποδοχέα στεροειδών (steroid receptor coactivator, SRC) και της πρωτεΐνης αλληλεπίδρασης VDR (VDR-interacting protein, DRIP), η οποία ρυθμίζει τη μεταγραφική δράση του VDR. [46], [66] Η δέσμευση της 1,25(OH)₂D επάγει ένα μετασχηματισμό που μεταβάλλει τη διαμόρφωση και διευκολύνει την αλληλεπίδραση με τον RXR και τα σύμπλοκα των συρρυθμιστών που απαιτούνται για τη μεταγραφή των γονιδίων στόχων. [50], [66]

Η DBD και η LBD συνδέονται μέσω μιας συνδετικής περιοχής (hinge region). Η συνδετική περιοχή μπορεί να σταθεροποιήσει ολόκληρο το σύμπλεγμα, διευκολύνοντας έτσι την κατάλληλη τοποθέτηση της LBD για την πρόσληψη συρρυθμιστών. [50]



Εικόνα 7: Δομική οργάνωση του ετεροδιμερούς VDR-RXRα που συνδέεται με το στοιχείο απόκρισης DR3. [66]

4.3. Μηχανισμός δράσης

Η βιταμίνη D μπορεί να λειτουργήσει μέσω δύο κύριων οδών, γονιδιακών και μη γονιδιακών. Η γονιδιακή οδός περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του VDR από το πρόσδεμα και το σχηματισμό συμπλόκου με τον υποδοχέα ρετινοειδούς X (RXR), που δρα ως παράγοντας μεταγραφής. Ενεργοποιεί ή καταστέλλει γονίδια-στόχους δεσμεύοντας θετικά στοιχεία ανταπόκρισης στη βιταμίνη D (vitamin D responsive elements, VDREs) ή αρνητικά στοιχεία ανταπόκρισης στη βιταμίνη D (negative vitamin D responsive elements, nVDREs) που υπάρχουν σε υποκινητές, ενισχυτές⁷ ή καταστολείς αυτών των γονιδίων. [28], [46], [47], [66] Τα γονίδια που περιέχουν VDRE μπορεί να ομαδοποιηθούν ανάλογα με τα βιολογικά συστήματα που επηρεάζονται από τον VDR σε γονίδια που σχετίζονται με: i) τα οστά, ii) τα ιχνοστοιχεία, iii) την αποτοξίνωση, iv) τον κυτταρικό κύκλο (πολλαπλασιασμός, διαφοροποίηση, μετανάστευση και θάνατος), v) το ανοσοποιητικό, και vi) το μεταβολισμό (αμινοξέων, λιπιδίων και υδατανθρακών). [51]

Η μη γονιδιακή οδός αποτελείται από τις ενδοκρινικές δράσεις της βιταμίνης D. [46] Οι μη γονιδιωματικές επιδράσεις της 1,25(OH)₂D ασκούνται από μία υποομάδα του VDR που δεν βρίσκεται στον πυρήνα, αλλά στην κυτταρική μεμβράνη (caveolae)⁸, ο οποίος δρα μέσω της παραγωγής δευτερογενών αγγελιοφόρων, όπως το cAMP, η φωσφολιπάση A2, η φωσφολιπάση C, η κινάση της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης 3 και η πρωτεϊνική κινάση C. [28], [52], [67]

4.3.1. Λειτουργία εξαρτώμενη από το πρόσδεμα

Απουσία αγωνιστή, ο VDR μπορεί να βρεθεί στο κυτταρόπλασμα ή στην κυτταρική μεμβράνη. Η δέσμευση του προσδέματος θα προκαλέσει μετακίνηση του VDR στον πυρήνα. [60] Ο συνδεδεμένος με το πρόσδεμα VDR σχηματίζει ένα ετεροδιμερές με τον υποδοχέα ρετινοειδούς X και το σύμπλοκο αυτό δρα ως παράγοντας μεταγραφής. Ενεργοποιεί ή καταστέλλει πολλά γονίδια-στόχους δεσμεύοντας θετικά (VDREs) ή αρνητικά στοιχεία απόκρισης στη βιταμίνη D (nVDREs). Αυτά αναφέρονται σε ένα συγκεκριμένο μοτίβο DNA και εντοπίζονται σε υποκινητές, ενισχυτές ή καταστολείς αυτών των γονιδίων με αποτέλεσμα είτε την ενεργοποίηση ή την καταστολή της μεταγραφής. [47], [66] Τα VDREs με υψηλή συγγένεια για το VDR αποτελούνται από μία επανάληψη της αλληλουχίας RGKTS (R=A ή G, K=G ή T,

⁷ Οι ενισχυτές είναι σύντομες αλληλουχίες του DNA που δεσμεύονται από πρωτεΐνες (μεταγραφικοί ρυθμιστές) για να διεγείρουν τη μεταγραφή. [14]

⁸ Τα caveolae αντιπροσωπεύουν τις προεκβολές της πλασματικής μεμβράνης, που είναι πλούσιες σε πρωτεΐνες και λιπίδια και που συμβάλλουν στη μεταφορά μορίων και στη μεταγωγή σήματος. [52]

S=C ή G) που διαχωρίζεται με τρία νουκλεοτίδια (DR3). Οι παραλλαγές των αλληλουχιών στα VDREs μπορούν να παρέχουν ένα φάσμα διαφορετικών συγγενειών για το ετεροδιμερές VDR-RXR. [50], [51], [53], [66]

Το ετεροδιμερές που δεσμεύεται στο DNA προσλαμβάνει διάφορους συρρυθμιστές της μεταγραφής. Απουσία προσδεμάτων ή παρουσία ανταγωνιστών, προσλαμβάνονται συγκαταστολείς, ενώ οι αγωνιστές επάγουν μια αλλαγή στη δομή του υποδοχέα που επιτρέπει την αλληλεπίδραση με τους συνενεργοποιητές. [28], [66] Η πρόσληψη των συνενεργοποιητών επάγει αρχικά την ακετυλίωση της ιστόνης, η οποία προετοιμάζει τους υποκινητές του γονιδίου-στόχου μέσω της αποσυμπύκνωσης της χρωματίνης, και τη σύνδεση με τον βασικό μεταγραφικό μηχανισμό. [66]

Η εξαρτώμενη από το πρόσδεμα καταστολή της γονιδιακής μεταγραφής από το σύμπλοκο VDR-RXR ξεκινάει με τη πρόσδεση του συνδεδεμένου με το πρόσδεμα συμπλόκου VDR-RXR σε ένα αρνητικό VDRE (nVDRE). Ακολουθεί η δέσμευση συγκαταστολέων, οι οποίοι μεταβάλλουν την αρχιτεκτονική της χρωματίνης κοντά στο γονίδιο στόχο. Αυτή η αναδιάρθρωση της χρωματίνης καταλύεται από τις αποακετυλάσες των ιστονών και τις διμεθυλάσες. Η αρνητική ρύθμιση από τον VDR φαίνεται επίσης να περιλαμβάνει επιγενετικούς μηχανισμούς. [51]

4.3.2. Λειτουργία ανεξάρτητη από το πρόσδεμα

Ενώ η σύνδεση στη θέση δεσμεύσεως του VDR στο γονιδίωμα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, βρέθηκε ότι ορισμένες θέσεις περιέχουν προσδεμένους VDR και RXR, πριν από την ενεργοποίηση με το πρόσδεμα. Αν και ο μηχανισμός παραμένει ασαφής, στοιχεία υποδηλώνουν ότι ο VDR μπορεί να ρυθμίζει την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων μέσω τουλάχιστον δύο διαφορετικών μηχανισμών που πιθανώς εμπλέκουν δέσμευση του DNA από το VDR, ανεξάρτητα από τη $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. [68]

Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι απουσία της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, ο VDR μπορεί να καταστείλει την έκφραση γονιδίων που επάγονται από τον υποδοχέα παρουσία προσδέματος. Αυτό μπορεί να υποδηλώνει ότι ο μη συνδεδεμένος με το πρόσδεμα VDR μπορεί να ασκήσει μεταγραφικές επιδράσεις στα γονίδια-στόχους, αντίθετες από εκείνες που ασκεί μετά την ενεργοποίηση με τη $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Απαιτούνται πολλές πρόσθετες έρευνες για να αποδειχθεί αυτή η υπόθεση. [68]

4.4. Γονίδιο VDR

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του υποδοχέα της βιταμίνης D (γονίδιο *VDR*) βρίσκεται στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 12 (12q12-14) και αποτελείται από τουλάχιστον πέντε περιοχές υποκινητή και τουλάχιστον 11 εξόνια. Το πρώτο εξόνιο δεν μεταφράζεται, ενώ τα εξόνια 2-8 κωδικοποιούν την πρωτεΐνη του *VDR*. [69] Κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη 427 αμινοξέων, όμως το εναλλακτικό μάτισμα έχει σαν αποτέλεσμα πολλαπλές μεταγραφικές παραλλαγές που κωδικοποιούν μία πρωτεΐνη *VDR* διαφόρων μηκών. [67] Το γονιδίωμα (cistrome)⁹ του *VDR* μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των κυττάρων, της ωρίμανσης και της εμφάνισης κάποιας νόσου. [53] [68]

4.4.1. Ρύθμιση του *VDR* από περιβαλλοντικούς παράγοντες

Η ρύθμιση του *VDR* είναι πολύπλευρη και διαμορφώνεται από το περιβάλλον, γενετικούς και την επιγενετικούς παράγοντες. Διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες ρυθμίζουν την έκφραση του *VDR*, μεταξύ των οποίων είναι η διατροφή, η έκθεση στον ήλιο, η ηλικία, η ρύπανση και οι λοιμώξεις. Οι περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες ασκούν τα αποτελέσματά τους στη ρύθμιση του *VDR* με τη μεταβολή των επιπέδων βιταμίνης D. Όταν συνδέεται με τον *VDR*, η 1,25(OH)₂D ρυθμίζει την έκφραση του *VDR* μέσω των VDREs, που βρίσκονται στους ενισχυτές του, δηλαδή η βιταμίνη D αυτορρυθμίζει το *VDR*. Η σταθεροποίηση του *VDR* με το πρόσδεμά του, που επεκτείνει τον χρόνο ημίσειας ζωής του, είναι ένας άλλος μηχανισμός μέσω του οποίου η βιταμίνη D ρυθμίζει τα επίπεδα του *VDR*. [47]

Το χρώμα του δέρματος και η εποχιακή διακύμανση της UVB καθορίζουν τα επίπεδα βιταμίνης D στο πλάσμα, με συνέπειες στην αυτορρύθμιση του *VDR*. Τα αυξημένα επίπεδα 25(OH)D του ορού μέσω της διαιτητικής πρόσληψης μπορούν να συμβάλλουν σε υψηλότερα επίπεδα ενεργού 1,25(OH)₂D, επηρεάζοντας έτσι την αυτορρύθμιση του *VDR*. Η έμμεση αρνητική ρύθμιση του *VDR* μπορεί επίσης να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στην αυτορρύθμιση. [47], [51]

⁹ Cistrome: θέσεις δέσμευσης μεταγραφικού παράγοντα [65]

4.4.2. Ρύθμιση του *VDR* από γενετικούς παράγοντες

Το πολύπλοκο σύνολο κωδικοποιητικών και μη κωδικοποιητικών εξονίων του *VDR* είναι υπό τον έλεγχο τεσσάρων υποκινητών. Το γονίδιο περιέχει ένα οδηγούμενο από Sp1 πρωτογενή υποκινητή χωρίς TATA (TATAless, Sp1-driven primary promoter) (GXP_168257) στο εξόνιο 1α. Έχουν εντοπιστεί τρεις επιπλέον υποψήφιοι υποκινητές: δύο στα μη κωδικοποιητικά εξόνια 1c (GXP_3654258) και 1f (GXP_3654261) και ένας στο εξόνιο 9 (GXP_168256), ο οποίος ελέγχει την έκφραση ενός μακρού μη κωδικοποιητικού RNA (long noncoding RNA, lncRNA) στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' UTR). Το εξόνιο 1α υπάρχει μέσα σε μια νησίδα CpG (CGI). Η παρουσία αυτού του συντηρημένου CGI υποδηλώνει ότι η ρύθμιση των μεταγράφων από τον πρωτογενή υποκινητή προκύπτει από μια συνεργία μεταξύ της σύνδεσης των μεταγραφικών παραγόντων και της μεθυλίωσης του CGI. [47], [56]

Μέχρι σήμερα, έχουν βρεθεί τέσσερα στοιχεία ενισχυτή μέσα και πριν (στο 5' άκρο) (upstream) το γονίδιο *VDR*. Η μεταγραφή του *VDR* μπορεί να αυτορρυθμιστεί άμεσα μέσω των ενισχυτών με θετικό τρόπο, σε ανταπόκριση στα επίπεδα της 1,25(OH)₂D. [47] Στον άνθρωπο, το γονίδιο του *VDR* εμφανίζει πολλαπλές παραλλαγές εναλλακτικού ματίσματος, οι οποίες είναι πιθανό να επηρεάσουν την έκφραση και τη δραστηριότητα της πρωτεΐνης του *VDR*. [55]

4.4.3. Ρύθμιση του *VDR* από επιγενετικούς παράγοντες

Η επιγενετική αναφέρεται σε κληρονομικές και παροδικές μεταβολές στην γονιδιακή έκφραση που δεν προκαλούνται από παραλλαγές της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας, αλλά υποκινούνται από επιγενετικούς παράγοντες. Η επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής λειτουργίας μπορεί να εμφανιστεί σε τέσσερα επίπεδα: μεθυλίωση DNA, τροποποιήσεις ιστονών, μη κωδικοποιητικό RNA (ncRNA), μεσολαβούμενη από prion μεταβολή στην αναδίπλωση πρωτεϊνών. [47]

Η μεθυλίωση του DNA σε δινουκλεοτίδια φωσφορικής κυτοσίνης-γουανίνης (Cytosine-phosphate-Guanine, CpGs) στα CGIs στους υποκινητές, καθώς και ανώμαλη μεθυλίωση του τμήματος του γονιδίου που μεταγράφεται (gene body), μπορεί να μεταβάλλει τη γονιδιακή έκφραση. Η ανώμαλη μεθυλίωση, όπως η υπερμεθυλίωση, στις περιοχές του υποκινητή ή του ενισχυτή συνήθως οδηγεί σε κατάργηση της γονιδιακής έκφρασης. Το *VDR* περιέχει τρία CGIs στην περιοχή του υποκινητή: τα CGI 1065, 1062 και 1060. [47]

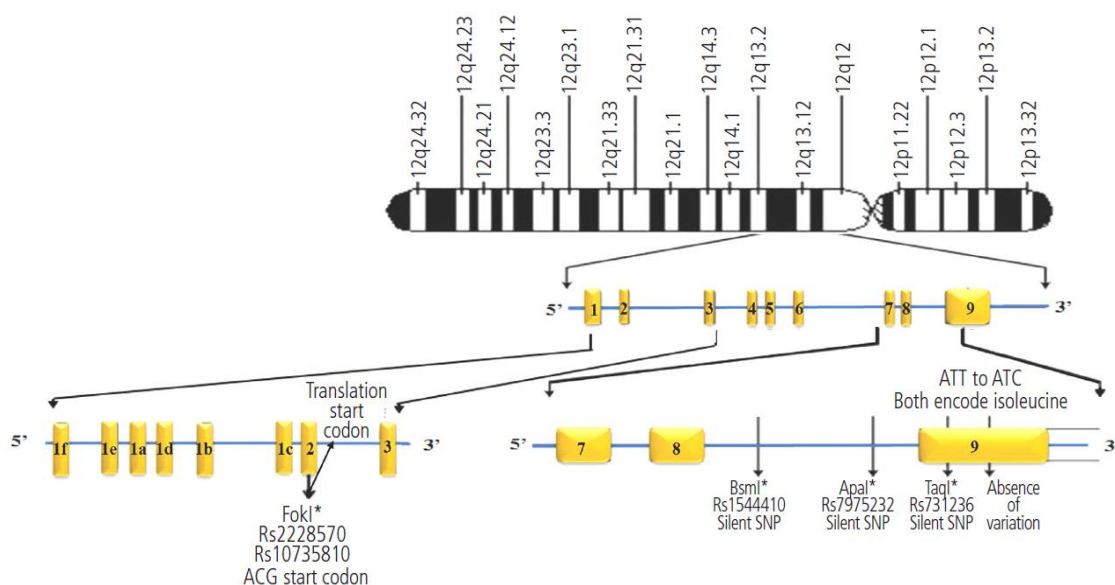
Τα μη κωδικοποιητικά RNAs (ncRNAs) είναι μόρια RNA τα οποία δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες, αλλά τα οποία μπορεί να έχουν επιδράσεις στη σταθερότητα των mRNA στόχων. Η σταθερότητα του mRNA είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τα τελικά επίπεδα της παραγόμενης πρωτεΐνης. Το ncRNA περιλαμβάνει το miRNA (micro RNA) και το lncRNA. Το miRNA είναι μία κατηγορία ενδογενούς ncRNA μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων. Οι αλληλουχίες στόχοι των miRNA βρίσκονται συνήθως στο 3' άκρο του γονιδίου. Μετά τη μεταγραφή του γονιδίου, το mRNA που παράγεται περιέχει στοιχεία αναγνώρισης miRNA (miRNA recognition elements, MREs) στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' UTR) του, που συμβάλλουν στον έλεγχο της σταθερότητας του mRNA μέσω του miRNA. Τα miRNA μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είτε με τη διάσπαση του mRNA είτε με την καταστολή της μετάφρασης. Το mRNA του *VDR* έχει τρία MREs που βρίσκονται στην 3' UTR. [47]

Τα lncRNAs είναι μόρια RNA μεγαλύτερα από 200 νουκλεοτίδια που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Ο υποκινητής GXP_168256 του *VDR* ελέγχει την έκφραση ενός lncRNA μήκους 1687 νουκλεοτιδίων, για το οποίο δεν έχει ταυτοποιηθεί αντίστοιχη πρωτεΐνη. Η έκφραση αυτού του lncRNA μπορεί να εξαρτάται από τα επίπεδα μεθυλίωσης του 3' υποκινητή, ο οποίος με τη σειρά του επηρεάζεται από τον πολυμορφισμό TaqI. [47]

4.5. Πολυμορφισμοί του VDR

Περισσότεροι από εξήντα πολυμορφισμοί του *VDR* έχουν ανακαλυφθεί εντός και γύρω από τα εξόνια 2-9 και στην 3' αμετάφραστη περιοχή του υποκινητή. [46] Στους 5' πολυμορφισμούς του *VDR* ανήκουν ο rs11568820 (A>G, κοινώς γνωστός ως Cdx2) και ο rs4516035 (T> C, κοινώς γνωστός ως GATA), και ο rs2228570 (T>C, κοινώς γνωστός ως FokI). Στους 3' πολυμορφισμούς του *VDR* ανήκουν ο rs7975232 (C>A, κοινώς γνωστός ως ApaI), που βρίσκεται στο ιντρόνιο 8, ο rs1544410 (G>A, κοινώς γνωστός ως BsmI) και ο rs731236 (T>C, κοινώς γνωστός ως TaqI). [67] Οι BsmI και ApaI βρίσκονται στο ιντρόνιο 8 και δεν επηρεάζουν κάποια θέση ματίσματος και/ή θέση δέσμευσης παράγοντα μεταγραφής. Ο TaqI είναι ένας συνώνυμος πολυμορφισμός, δηλαδή βρίσκεται μέσα στην κωδικοποιητική αλληλουχία (στο εξόνιο 9) αλλά δεν μεταβάλλει την

αλληλουχία αμινοξέων της κωδικοποιημένης πρωτεΐνης.¹⁰ [70] Οι πολυμορφισμοί στην 3' UTR φαίνεται να είναι σε ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD). [69] Γενικά, οι περισσότεροι από τους πολυμορφισμούς στο γονίδιο του *VDR* βρίσκονται σε ρυθμιστικές περιοχές και όχι στα κωδικοποιητικά εξώνια. [69] (Εικόνα 8) Οι παραλλαγές στο 5' υποκινητή μπορούν να επηρεάσουν τα πρότυπα και τα επίπεδα έκφρασης του mRNA ενώ οι παραλλαγές στην 3' UTR μπορούν να επηρεάσουν την σταθερότητα του mRNA και/ή την αποτελεσματικότητα της μετάφρασης. Σε συνδυασμό αυτές οι γονοτυπικές παραλλαγές είναι πιθανό να επηρεάσουν τα επίπεδα της πρωτεΐνης του *VDR* και/ή τη λειτουργία της, ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου, το αναπτυξιακό του στάδιο και την κατάσταση ενεργοποίησής του. [70] [71]



Εικόνα 8: Πολυμορφική δομή του γονιδίου *VDR* [72]

¹⁰ Οι πολυμορφισμοί που δεν έχουν επίπτωση στην παραγόμενη πρωτεΐνη (μη λειτουργικό αλληλόμορφο), εξακολουθούν να είναι χρήσιμοι στις μελέτες συσχέτισης επειδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες. Όταν υπάρχει συσχέτιση π.χ. μιας ασθένειας με ένα αλληλόμορφο-δείκτη, τότε η συσχέτιση πιστεύεται ότι προκαλείται από ένα λειτουργικό αλληλόμορφο (δηλαδή από ένα πολυμορφισμό που έχει επίπτωση στην παραγόμενη πρωτεΐνη) το οποίο συνδέεται με το αλληλόμορφο-δείκτη και το οποίο βρίσκεται σε άλλη περιοχή αλλά συνήθως κοντά στο ίδιο γονίδιο. Ωστόσο, μια τέτοια σύνδεση (linkage) μεταξύ του αλληλόμορφου-δείκτη και του λειτουργικού αλληλόμορφου εξαρτάται από την έκταση και τη δύναμη της ανισορροπίας σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD) σε όλη την περιοχή του χρωμοσώματος. Κατά συνέπεια, οι διαφορές στη LD μεταξύ του αλληλόμορφου-δείκτη και του λειτουργικού αλληλόμορφου μπορεί να οδηγήσουν σε ποικίλες συσχετίσεις με κάποια ασθένεια. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και οι αλληλεπιδράσεις με περιβαλλοντικούς παράγοντες παίζουν κάποιο ρόλο στη δράση του υποδοχέα. Επιπλέον, οι πλειοτροπικές επιδράσεις του ίδιου γονιδίου μπορούν να διαδραματίσουν ρόλο στην επίδραση μιας συσχέτισης με την ασθένεια. [70]

4.5.1. TaqI (rs731236)

Ο πολυμορφισμός TaqI (rs731236) (T>C) του *VDR* οδηγεί σε μια σιωπηλή αλλαγή κωδικονίου 352, από ATT σε ATC, που αντιστοιχούν σε μια ισολευκίνη στο κωδικόνιο αυτό. [46], [69] Βρίσκεται στο εξόνιο 9 του *VDR*. Το αλληλόμορφο που φέρει τη θυμίνη (T) αναφέρεται ως αλληλόμορφο T και το αλληλόμορφο που φέρει την κυτοσίνη (C) ως αλληλόμορφο t. [67] Ο πολυμορφισμός έχει λάβει τα όνόματά του από την πέψη με την περιοριστική ενδονουκλεάση TaqI. Τα προϊόντα της πέψης είναι 2 θραύσματα των 495 και 245 bp για το αλληλόμορφο T (απουσία περιοριστικής θέσης) ή 3 θραύσματα των 290, 245 και 205 bp για το αλληλόμορφο t (παρουσία της περιοριστικής θέσης).¹¹ Τα άτομα ταξινομούνται συνήθως ως TT, TC ή CC. Ο γονότυπος TT έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα της δραστικής βιταμίνης D στην κυκλοφορία. [46] Βρίσκεται σε μία θέση CpG¹² και επηρεάζει τη μεθυλίωση όχι μόνο σε αυτή τη θέση, αλλά και την περιφερειακή μεθυλίωση του CGI (CG Island) 1060 στο 3' άκρο του *VDR*. Με άλλα λόγια, πολυμορφισμός TaqI δημιουργεί ή καταστρέφει μια θέση CpG. Αν υπάρχει αυτή η θέση CpG, μεθυλιώνεται και αυτό συσχετίζεται με μειωμένη περιφερειακή μεθυλίωση του CGI 1060. Η μεθυλίωση του CGI 1060 μπορεί να επηρεάσει τη ρύθμιση του 3' υποκινητή, οδηγώντας τη μεταγραφή ενός lncRNA (long non-coding RNA) και ενδεχομένως ρυθμίζοντας έκφραση του *VDR* μετα-μεταγραφικά. [47] Έχει παρατηρηθεί χαμηλότερο ποσοστό του αλληλόμορφου T μεταξύ Ασιάτων (8%) σε σύγκριση με Καυκάσιους (43%) και Αφρικανούς (31%). [69]

4.5.2. BsmI (rs1544410)

Ο πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) (G>A) βρίσκεται στο ιντρόνιο 8 στο 3' άκρο του *VDR*. [46], [67] Δεν αλλάζει την αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης, ωστόσο, μπορεί να επηρεάσει την γονιδιακή έκφραση μέσω της μεταβολής της σταθερότητας του mRNA, της διαταραχής των θέσεων ματίσματος του mRNA ή της αλλαγής στα ρυθμιστικά στοιχεία του ιντρονίου που βρίσκεται. [46], [67], [69], [70], [73] Το αλληλόμορφο G αναφέρεται ως αλληλόμορφο b και το αλληλόμορφο A αναφέρεται ως αλληλόμορφο B. [67] Το

¹¹ Στην ονοματολογία των παραλλαγών (variants), τα αλληλόμορφα που ορίζονται με κεφαλαία γράμματα, αντιστοιχούν σε απουσία περιοριστικής θέσης και με μικρά γράμματα, αντιστοιχούν σε παρουσία μιας δεδομένης περιοριστικής θέσης. Για παράδειγμα, τα T και C αλληλόμορφα του TaqI ονομάζονται T και t, αντίστοιχα. [67]

¹² Η μεθυλίωση του DNA που εμφανίζεται σε δινουκλεοτίδια φωσφορικής κυτοσίνης-γουανίνης (CpGs) σε CGIs σε υποκινητές, καθώς και η ανώμαλη μεθυλίωση του γονιδίου, μπορεί να μεταβάλλει τη γονιδιακή έκφραση. [47]

αλληλόμορφο B εμφανίζεται λιγότερο συχνά στους Ασιάτες (7%) από ότι στους Καυκάσιους (42%) και τους Αφρικανούς (36%). [69] Η ομοζυγωτία για το αλληλόμορφο A του BsmI και το αλληλόμορφο C του TaqI σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης VDR. [47]

4.5.3. FokI (rs2228570)

Ο πολυμορφισμός FokI (rs2228570) (T>C) εντοπίζεται στην θέση έναρξης μετάφρασης, όπου μια αλλαγή βάσης T (αλληλόμορφο f) σε C (αλληλόμορφο F) εξαλείφει το κωδικόνιο έναρξης στο εξόνιο 2 και η κωδικοποιούμενη πρωτεΐνη έχει μήκος τρία αμινοξέα λιγότερα. [46], [47], [67] Το φυσικό αλληλόμορφο T ασκεί μικρότερη μεταγραφική δραστηριότητα (το αλληλόμορφο C είναι 1,7 φορές πιο δραστικό). Η μικρότερη πρωτεΐνη επιδεικνύει μεγαλύτερη μεταγραφική δραστηριότητα λόγω της μεγαλύτερης αποτελεσματικότητας σύνδεσης στο μεταγραφικό παράγοντα IIB. Ο FokI μπορεί να επηρεάσει έμμεσα τα επίπεδα της παραγόμενης πρωτεΐνης του VDR μέσω της αυτορρύθμισης. Είναι ο μόνος γνωστός πολυμορφισμός γονιδίου VDR που οδηγεί στη δημιουργία μιας τροποποιημένης πρωτεΐνης. [46], [47], [67] Το αλληλόμορφο T εμφανίζεται λιγότερο συχνά στους Αφρικανούς (24%) από ότι στους Καυκάσιους (34%) και τους Ασιάτες (51%). [69]

4.5.4. Ασθένειες που σχετίζονται με τους πολυμορφισμούς του VDR

Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου VDR έχουν συσχετιστεί με διάφορες μορφές καρκίνου και άλλων χρόνιων ασθενειών. Θεωρείται ότι οι πολυμορφισμοί γονιδίων VDR μπορεί να επηρεάσουν τόσο τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου όσο και την πρόγνωση του. [10], [69], [74], [75] Οι γενετικές παραλλαγές του έχουν συσχετιστεί με μια μεγάλη ποικιλία ασθενειών/φαινοτύπων, συμπεριλαμβανομένης της φυματίωσης, του άσθματος, του ύψους, της μακροζωίας/θνησιμότητας, του ινσουλινο-εξαρτώμενου σακχαρώδη διαβήτη, της οστικής πυκνότητας (BMD), των ασθενειών του νεφρού, της αρτηριακής πίεσης και του υπερπαραθυρεοειδισμού. [10], [67], [69] Υπάρχουν επίσης μελέτες που τους συσχετίζουν με αυτοάνοσες διαταραχές όπως η κίρρωση, η ηπατίτιδα, ο νόσος του Crohn, η νόσος του Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και η σκλήρυνση κατά πλάκας. [10], [59] (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: Πίνακας 25) Η ετερογένεια μεταξύ των ερευνών μπορεί να αποδοθεί στην ποικιλομορφία του μεγέθους του δείγματος, τις διαφορές σχεδιασμού, τις διαφορετικές εθνότητες, το φύλο, και τις μεθόδους προσδιορισμού του γονοτύπου. [76]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β: ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Η λεύκη είναι η πιο συχνή διαταραχή αποχρωματισμού του δέρματος, έχοντας σοβαρή επίπτωση στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Η παθοφυσιολογία και τα αίτια εμφάνισης της νόσου δεν είναι απολύτως κατανοητά, κάτι που επηρεάζει την εύρεση και την εφαρμογή αποτελεσματικών θεραπευτικών μεθόδων. Η εύρεση γενετικών δεικτών που σχετίζονται με την ασθένεια θα μπορούσε να βοηθήσει στην κατανόηση της αιτιοπαθογένεσής της και να συμβάλλει στην αύξηση της αποτελεσματικότητας και/ή την εξατομίκευση της θεραπείας ανάλογα με το γενετικό υπόβαθρο.

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στην εύρεση της συσχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών rs2228570 (FokI), rs1544410 (BsmI) και rs731236 (TaqI) του γονιδίου VDR και της πιθανότητας εμφάνισης λεύκης σε δείγμα ασθενών Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας καταγωγής. Συσχετισμός αυτών των πολυμορφισμών με τη λεύκη θα μπορούσε να συμβάλλει στη χρήση τους ως γενετικούς δείκτες προδιάθεσης της εμφάνισης της νόσου, αλλά και ως εργαλείο κατανόησης της παθοφυσιολογίας της και της εύρεσης κατάλληλης θεραπείας.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ & ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη έλαβε χώρα στο Νοσοκομείο Δερματικών & Αφροδισίων Νόσων «Ανδρέας Συγγρός» και στο εργαστήριο της Ερευνητικής Ομάδας Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής του Τμήματος Φαρμακευτικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών την περίοδο μεταξύ Σεπτεμβρίου 2018 και Μαΐου 2019. Συμπεριλήφθηκαν 87 ασθενείς με διαφορετικούς κλινικούς τύπους λεύκης, οι οποίοι προσήλθαν στο ιατρείο λεύκης της Α' Πανεπιστημιακής Κλινικής Αφροδισίων & Δερματικών Νόσων του Νοσοκομείου «Ανδρέας Συγγρός» (Υπεύθυνη ιατρός: Ηλέκτρα Νικολαΐδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια) και 509 μάρτυρες από τη βιοτράπεζα της Ερευνητικής Ομάδας Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογικής Έρευνας του Νοσοκομείου «Ανδρέας Συγγρός», και ελήφθησαν ειδικά έντυπα ενυπόγραφης συγκατάθεσης από όλους τους συμμετέχοντες.

2.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η συμμετοχή των ασθενών στη μελέτη ήταν εθελοντική. Οι ασθενείς ενημερώθηκαν για τον σκοπό της μελέτης, το είδος του δείγματος, τη διαδικασία της μελέτης και την τήρηση του απορρήτου μέσω ειδικού εντύπου συγκατάθεσης (Informed Consent, IC), το οποίο υπέγραψαν. Το ίδιο έγγραφο υπογράφει κι ο υπεύθυνος ιατρός. (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ)

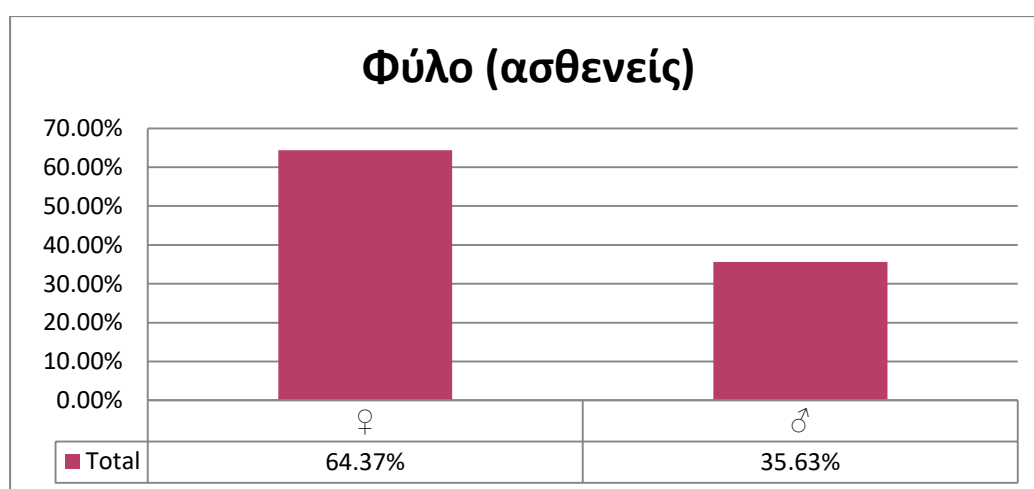
Στη μελέτη έλαβαν μέρος ενήλικοι άνδρες και γυναίκες μέχρι 65 ετών, με νοτιοανατολική ευρωπαϊκή καυκάσια καταγωγή και με βέβαιη διάγνωση λεύκης. Έγινε λήψη ιστορικού από όλους τους ασθενείς, το οποίο συμπεριλάμβανε την ηλικία, το φύλο, το βάρος, το ύψος και το φωτότυπο των ασθενών, το ατομικό ιστορικό των ασθενών (ηλικία έναρξης, αρχική εντόπιση βλαβών, εντόπιση και έκταση των βλαβών, διάρκεια εξάπλωσης, δραστηριότητα¹³, και κλινικός τύπος της λεύκης, επιβαρυντικοί παράγοντες, συνοδά νοσήματα), το οικογενειακό ιστορικό των ασθενών και η θεραπευτική αγωγή (παρούσα και προηγηθείσα). Επίσης, ελήφθησαν οι τιμές της 25(OH)D₃ στον ορό μετά από εργαστηριακό έλεγχο της.

Τα δείγματα των ασθενών και το CRF (Case Report Form) φέρουν μόνο τον αριθμό του κάθε ασθενούς. Με αυτό τον τρόπο, τα δεδομένα και τα δείγματα που συλλέχθηκαν ανωνυμοποιήθηκαν και αποταυτοποιήθηκαν.

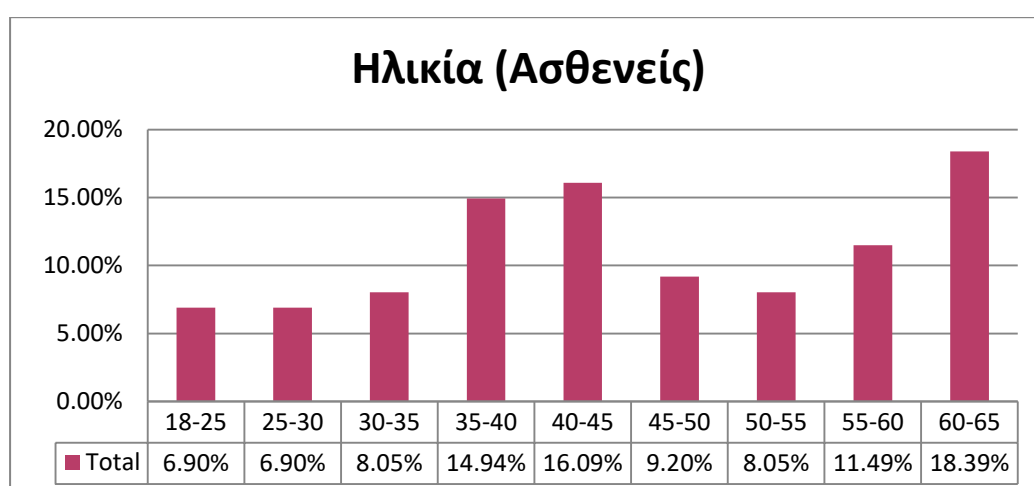
¹³ Ενεργή λεύκη ορίστηκε ως εμφάνιση νέων βλαβών ή διεύρυνση των υφιστάμενων βλαβών έως και 1 έτος πριν από τη μελέτη.

2.1.1. Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία ασθενών

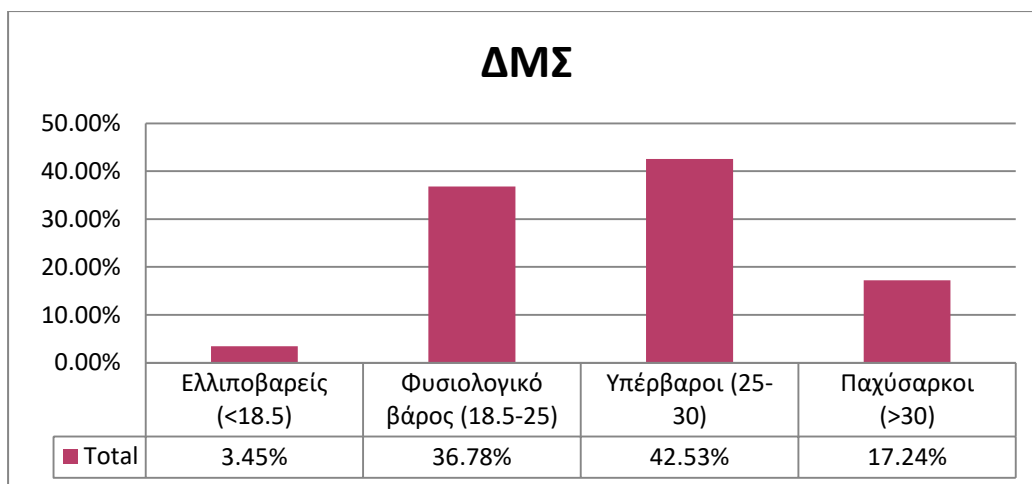
Στη μελέτη συμμετείχαν 87 ασθενείς με βέβαιη διάγνωση λεύκης, από τους οποίους οι 56 (64.37%) ήταν γυναίκες και οι 31 (35.63%) ήταν άνδρες. (Διάγραμμα 1) Η μέση τιμή της ηλικίας ήταν 44.7 ± 13.1 , με ηλικίες που κυμαίνονταν από 18 έως 65 ετών. (Διάγραμμα 2) Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) των ασθενών κυμάνθηκε ανάμεσα στις τιμές 15.6-34.7, με μέση τιμή 25.79 ± 4.00 . Οι ασθενείς με ΔΜΣ < 18.5 θεωρήθηκαν ελλιποβαρείς, με ΔΜΣ 18.5-24.9 θεωρήθηκαν ασθενείς με φυσιολογικό βάρος, ενώ οι ασθενείς με τιμές ΔΜΣ 25.0-29.9 και > 30 κατηγοριοποιήθηκαν ως υπέρβαροι και παχύσαρκοι, αντίστοιχα. (Διάγραμμα 3)



Διάγραμμα 1: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση το φύλο

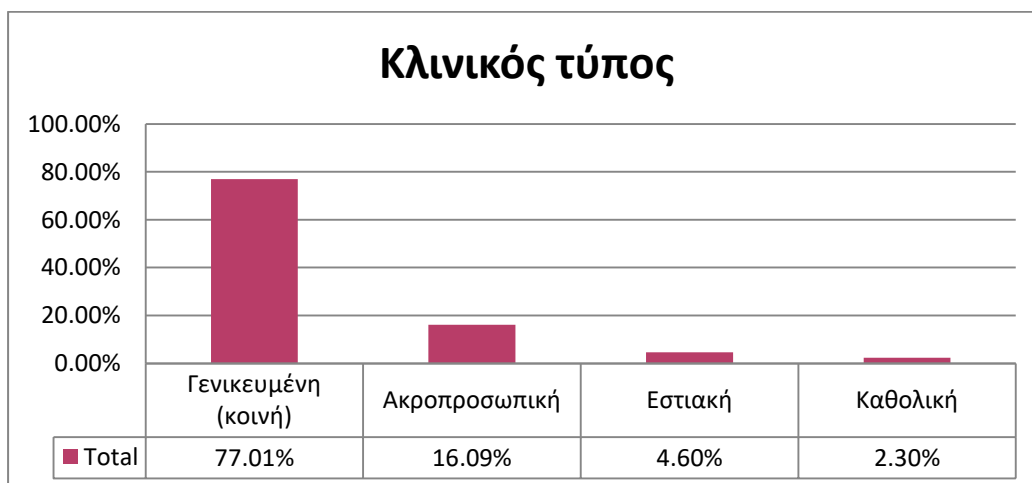


Διάγραμμα 2: Ηλικιακή κατανομή ασθενών με λεύκη



Διάγραμμα 3: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση το ΔΜΣ

Όσον αφορά το κλινικό τύπο της λεύκης, η πλειονότητα των ασθενών (67 ασθενείς, 77.01%) είχαν διαγνωσθεί με τη γενικευμένη μορφή της νόσου, με τη δεύτερη θέση να καταλαμβάνεται από τη ακροπροσωπική λεύκη (14 ασθενείς, 16.09%), ενώ 4 (4.40%) από τους ασθενείς είχαν διαγνωσθεί με εστιακή λεύκη και 2 (2.30%) με καθολική. (Διάγραμμα 4)

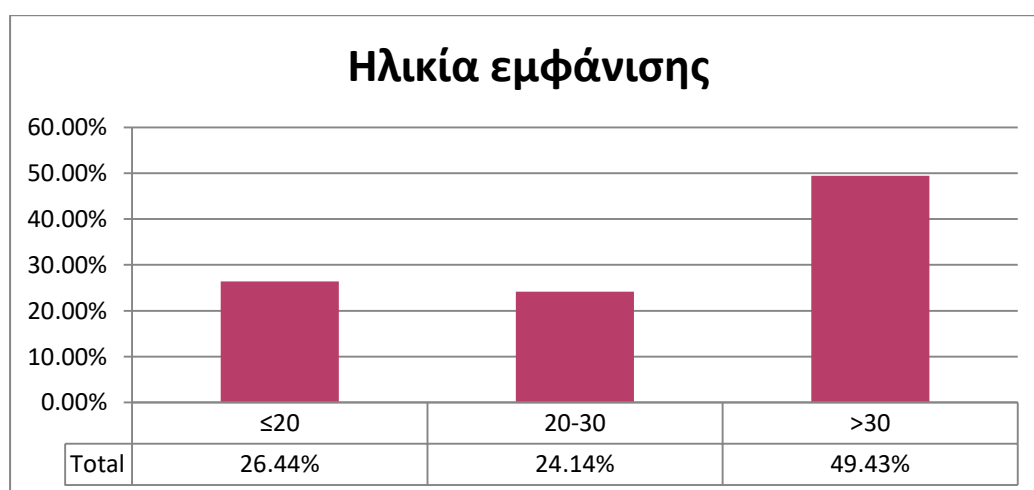


Διάγραμμα 4: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση τον κλινικό τύπο της νόσου

Στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών η ασθένεια εντοπίστηκε αρχικά στα άκρα (χέρια και/ή πόδια) (58 ασθενείς, 66.67%), με τους περισσότερους ασθενείς (46 ασθενείς, 52.87%) να εμφανίζουν λεύκη αρχικά στις άκρες χείρες. Ένα ποσοστό αυτών (5 ασθενείς, 5.75%), εμφάνισε λεύκη ταυτόχρονα και σε άλλες περιοχές όπως το πρόσωπο και τα γεννητικά

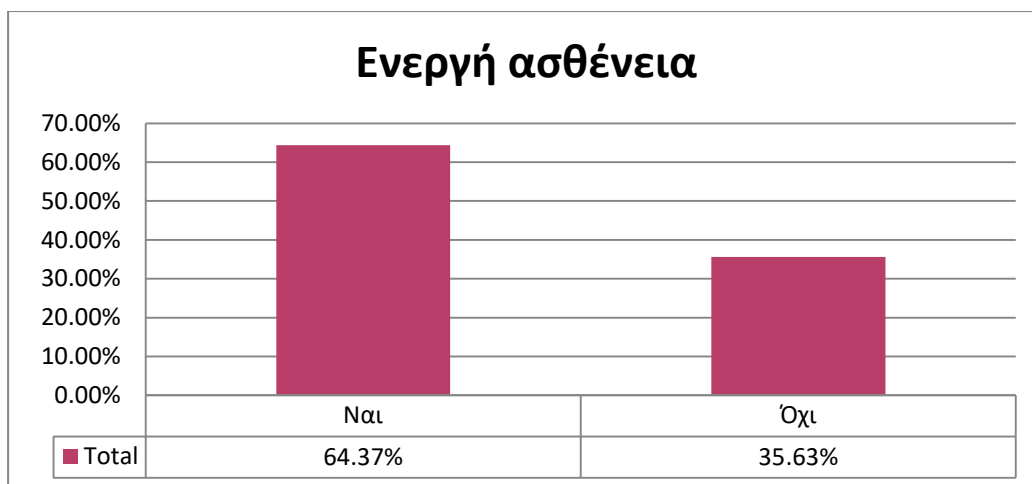
όργανα. Το πρόσωπο ήταν η αρχική εντόπιση της ασθένειας για 18 ασθενείς (20.69%), από τους οποίους οι 6 (7.15%) εμφάνισαν ταυτόχρονα λεύκη σε πρόσωπο και άλλες περιοχές όπως τα άκρα και τα γεννητικά όργανα. Συμμετοχή άλλων περιοχών του σώματος, εκτός των άκρων και του προσώπου, κατά την έναρξη της ασθένειας εμφάνισαν 20 ασθενείς (22.99%), με το μεγαλύτερο ποσοστό να εμφανίζεται στα γεννητικά όργανα (8 ασθενείς, 9.20%) και στις μασχάλες (6 ασθενείς, 7.15%). 35 ασθενείς (41.18%) εμφάνισαν το φαινόμενο Köbner και 28 ασθενείς (32.94%) εμφάνισαν λευκοτριχία σε κάποιο σημείο του σώματος ή του προσώπου.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών εμφάνισε τη νόσο σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών (λεύκη όψιμης έναρξης) (43 ασθενείς, 49.43%) και 21 ασθενείς (24.14%) σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών (λεύκη πρώιμης έναρξης). (Διάγραμμα 5)



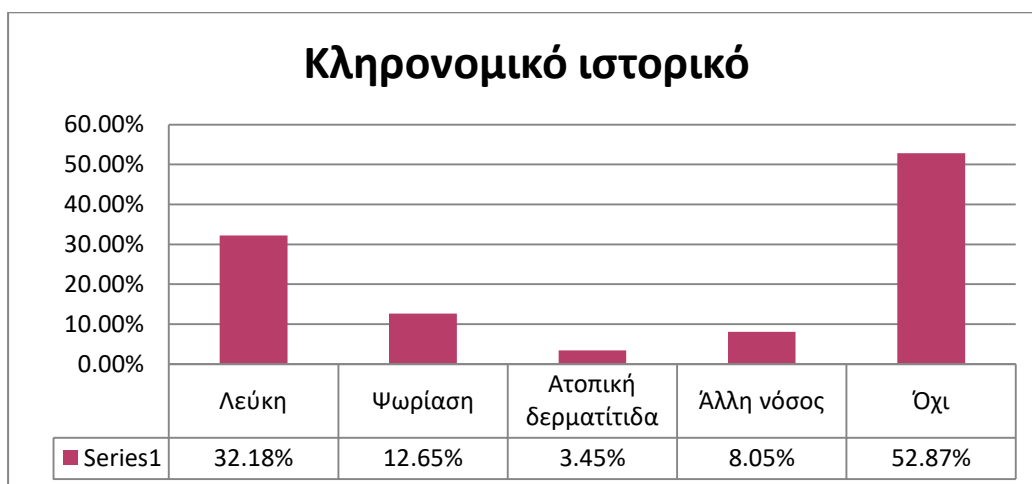
Διάγραμμα 5: Κατανομή των ασθενών με βάση την ηλικία εμφάνισης της νόσου

Όσον αφορά την ενεργότητα της νόσου, στο μεγαλύτερο ποσοστό (56 ασθενείς, 64.37%) η λεύκη ήταν ενεργή, δηλαδή παρατηρήθηκε εμφάνιση νέων βλαβών ή επέκταση των παλαιότερων μέσα στο χρονικό διάστημα του τελευταίου χρόνου. (Διάγραμμα 6)



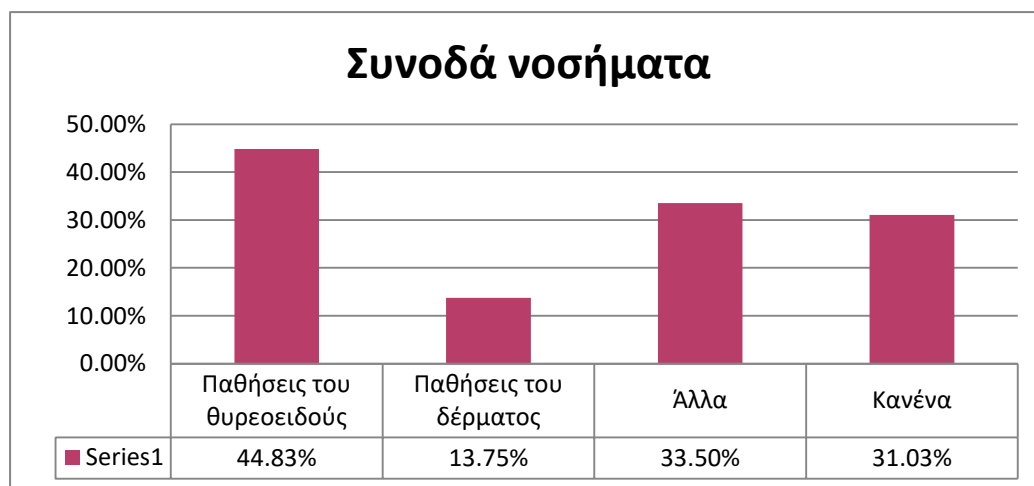
Διάγραμμα 6: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση την ενεργότητα της ασθένειας

Η πλειονότητα των ασθενών δεν είχε κάποιο συγγενή με λεύκη ή κάποια άλλη δερματική ή αυτοάνοση ασθένεια. Ωστόσο, 28 ασθενείς (32.18%) είχαν τουλάχιστον ένα συγγενή πρώτου ή δευτέρου βαθμού με λεύκη. Από αυτούς 6 ασθενείς (6.90%) είχαν κληρονομικό ιστορικό λεύκης και ψωρίασης, 8 ασθενείς (9.20%) είχαν κάποιο συγγενή με κάποια άλλη δερματική νόσο, με 5 (5.75%) από αυτούς να έχουν τουλάχιστον ένα συγγενή με ψωρίαση (αυξάνοντας το συνολικό ποσοστό εμφάνισης ψωρίασης στο κληρονομικό ιστορικό στο 12.65%) και 3 (3.45%) να εμφανίζουν κληρονομικό ιστορικό ατοπίας. Τέλος, 7 ασθενείς (8.05%) είχαν κάποιο συγγενή με άλλη αυτοάνοση νόσο, όπως ο διαβήτης τύπου Ι, η αλωπεκεία και ο ΣΕΛ, από τους οποίους οι 2 ανήκουν και στις κατηγορίες με κληρονομικό ιστορικό λεύκης ή ψωρίασης. (Διάγραμμα 7)



Διάγραμμα 7: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση το κληρονομικό ιστορικό

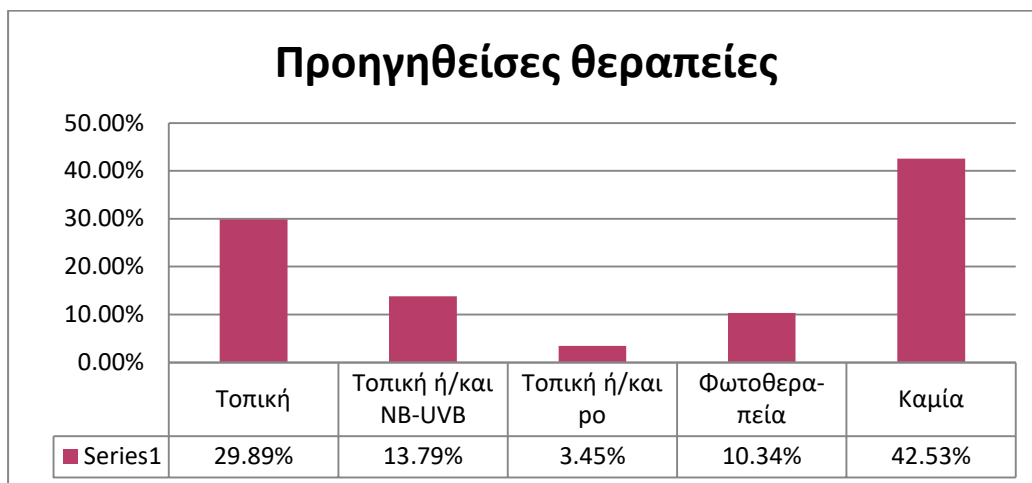
Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών (39 ασθενείς, 44.83%) είχαν κάποια πάθηση του θυρεοειδούς, ταυτόχρονα με τη λεύκη, από τις οποίες η πλειονότητα ήταν υποθυρεοειδισμός (κυρίως θυρεοειδίτιδα Hashimoto). Από αυτούς, οι 20 έπασχαν ταυτόχρονα και από άλλες ασθένειες (ασθένειες του δέρματος και των εξαρτημάτων του: 2 με ψωρίαση ονύχων, 1 με ψωρίαση, 1 με κνίδωση, αυτοάνοσες νόσοι: 1 με σύνδρομο Sjorgen, 1 με νόσο του Biermer, 3 με άσθμα). 11 (13.75%) ασθενείς νοσούσαν από παθήσεις του δέρματος και των εξαρτημάτων του, από τους οποίους οι 4 είχαν και κάποια πάθηση του θυρεοειδούς. Κυρίαρχη δερματική ασθένεια ήταν η ψωρίαση, με 5 (6.25%) ασθενείς να πάσχουν από αυτή, ακολουθούμενη από την κνίδωση (2 ασθενείς) και την ατοπική δερματίτιδα (2 ασθενείς). 30 ασθενείς (33.5%) έπασχαν και από κάποια άλλη νόσο εκτός από λεύκη, με τους περισσότερους από αυτούς να νοσούν από υπέρταση και υπερχολιστερολαιμία. 1 ασθενής έπασχε από σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι και 1 από οστεοπόρωση. (Διάγραμμα 8)



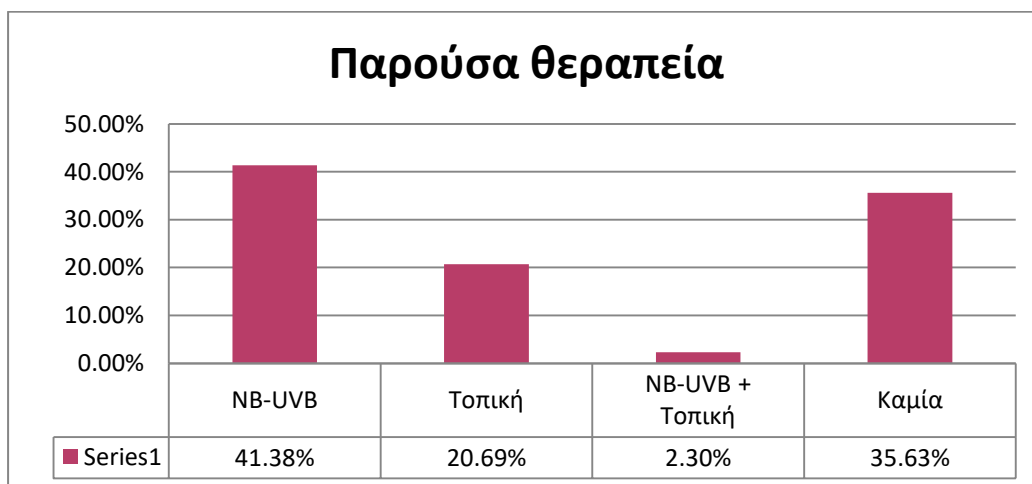
Διάγραμμα 8: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση τα συνοδά νοσήματα

Οι περισσότεροι ασθενείς είχαν χρησιμοποιήσει στο παρελθόν μόνο κάποια τοπική θεραπεία (κορτικοστεροειδή και/ή αναστολείς καλσινευρίνης) για την αντιμετώπιση της λεύκης (26 ασθενείς, 29.89%), ενώ 12 ασθενείς (13.79%) είτε χρησιμοποίησαν κάποιο τοπικό σκεύασμα σε συνδυασμό με φωτοθεραπεία με NB-UVB είτε έλαβαν και τις δύο θεραπείες σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Αντίστοιχα, 3 ασθενείς (3.45%) λάμβαναν από του στόματος σκευάσματα μαζί με την τοπική θεραπεία (είτε στο ίδιο είτε σε διαφορετικό

χρονικό διάστημα). Τέλος, 9 ασθενείς (10.34%) έκαναν κάποιας μορφής φωτοθεραπεία (NB-UVB ή PUVA). (Διάγραμμα 9) Αντιθέτως, η πλειονότητα των ασθενών κατέφυγε στη NB-UVB ως παρούσα θεραπεία για την αντιμετώπιση της λεύκης (36 ασθενείς, 41.38%), με τις τοπικές θεραπείες να καταλαμβάνουν τη δεύτερη θέση (18 ασθενείς, 20.69%), ενώ 2 ασθενείς (2.30%) χρησιμοποιούσαν ένα συνδυασμό και των 2 τύπων θεραπείας. (Διάγραμμα 10)



Διάγραμμα 9: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση την προηγούμενη θεραπευτική αντιμετώπιση



Διάγραμμα 10: Κατανομή ασθενών με λεύκη με βάση την παρούσα θεραπεία

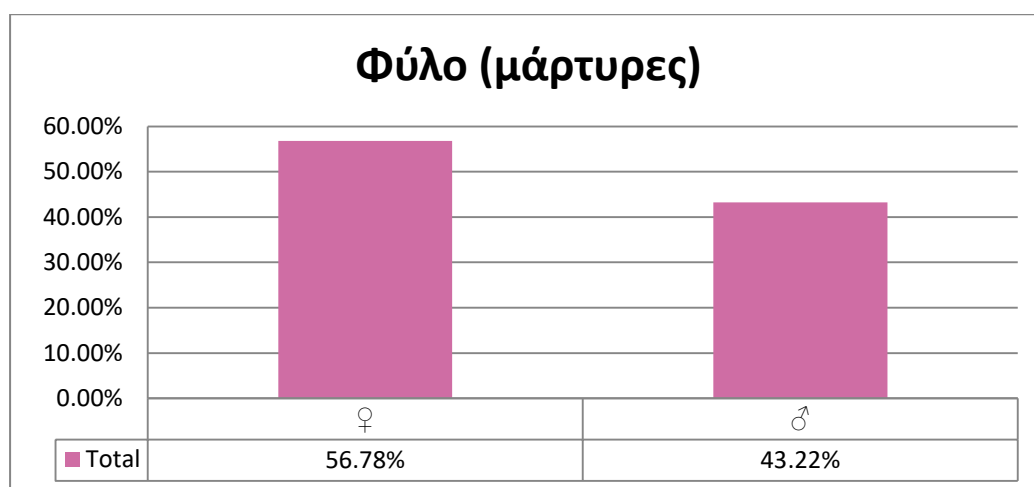
Πίνακας 5: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών

Χαρακτηριστικό		Τιμές
Ηλικία	Μέση $\pm$ Τυπική απόκλιση	44.7 $\pm$ 13.1
	Εύρος	18-65
Φύλο	Θήλυ	56 (64.37%)
	Άρρεν	32 (35.63%)
BMI	Μέσος όρος $\pm$ Τυπική απόκλιση	25.79 $\pm$ 4.00
Τύπος	Γενικευμένη (κοινή)	67 (77.01%)
	Ακροπροσωπική	14 (16.09%)
	Εστιακή	4 (4.60%)
	Καθολική	2 (2.30%)
Ηλικία εμφάνισης	Μέση τιμή $\pm$ Τυπική απόκλιση	32.98 $\pm$ 15.32
	Εύρος	5-65
	Λεύκη πρώιμης έναρξης	21 (24.14%)
	Λεύκη όψιμης έναρξης	43 (49.43%)
Αρχική εντόπιση	Άκρα	58 (66.67%)
	Πρόσωπο	18 (20.69%)
	Άλλο	20 (22.99%)
Köbner		35 (41.18%)
Λευκοτριχία		28 (32.94%)
Ενεργή νόσος	Ναι	56 (64.37%)
	Όχι	31 (35.63%)
Κληρονομικό ιστορικό	Λεύκη	28 (32.18%)
	Λεύκη + Ψωρίαση	6 (6.90%)
	Ψωρίαση	11 (12.65%)
	Ατοπική δερματίτιδα	3 (3.45%)
	Άλλη νόσος	7 (8.05%)
	Όχι	46 (52.87%)
Προηγούμενες θεραπείες	Τοπική	26 (29.89%)
	Τοπική ή/και NB-UVB	12 (13.79%)
	Τοπική ή/και po	3 (3.45%)
	Φωτοθεραπεία	9 (10.34%)
	Καμία	37 (42.53%)
Παρούσα θεραπεία	NB-UVB	36 (41.38%)
	Τοπική	18 (20.69%)
	Τοπική και NB-UVB	2 (2.30%)
	Καμία	31 (35.63%)
Συνοδά νοσήματα	Παθήσεις του θυρεοειδούς	39 (44.83%)
	Δερματικές παθήσεις (Ψωρίαση)	11 (13.75%)
	Άλλα	5 (6.25%)
	Κανένα	30 (33.5%)

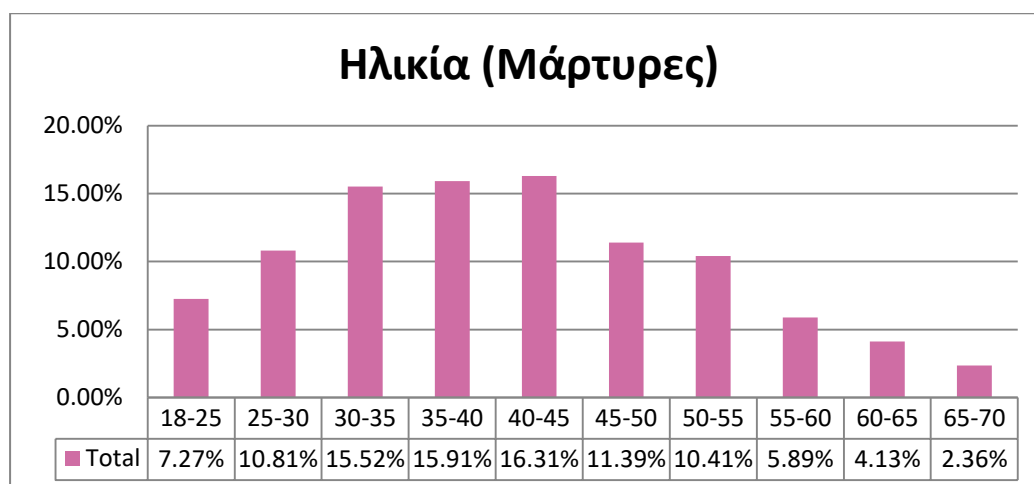
2.1.2. Δημογραφικά στοιχεία μαρτύρων

Στη μελέτη συμμετείχαν 509 μάρτυρες Νοτιοανατολικής Ευρωπαϊκής Καυκάσιας προέλευσης. Από αυτούς οι 289 (56.78%) ήταν γυναίκες και οι 220 (43.22%) ήταν άνδρες. (Διάγραμμα 11) Η μέση τιμή της ηλικίας ήταν 40.5 ± 11.3 , με εύρος 18-70 έτη. (Διάγραμμα 12)

Τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν μετά τη λήψη γραπτής ενυπόγραφης συγκατάθεσης των εθελοντών, ανωνυμοποίηση και αποταυτοποίηση. Τα μόνα γνωστά στοιχεία είναι η ηλικία και το φύλο τους. Συνεπώς, το δείγμα ανήκει στο γενικό πληθυσμό.



Διάγραμμα 11: Κατανομή μαρτύρων με βάση το φύλο

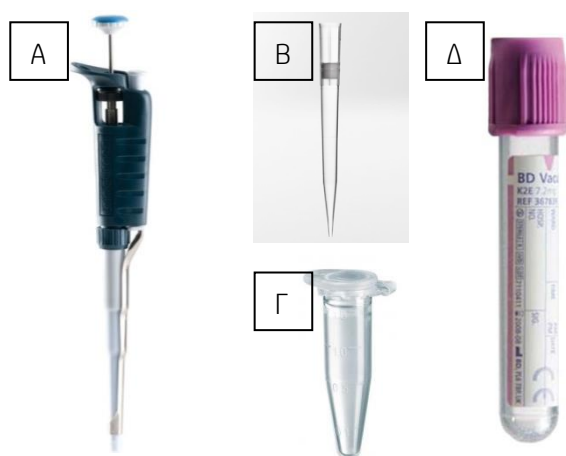


Διάγραμμα 12: Ηλικιακή κατανομή μαρτύρων

2.2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1. Λήψη αίματος

Έγινε λήψη 2 mL περιφερικού αίματος, το οποίο τοποθετήθηκε σε σωληνάρια τύπου Vacutainer K2EDTA (Becton, Dickinson and Company, BD, US). Η αιμοληψία έλαβε χώρα στο Νοσοκομείο «Ανδρέας Συγγρός». Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο -όπου ανωνυμοποιήθηκαν και αποταυτοποιήθηκαν λαμβάνοντας νέο κωδικό- εντός ειδικού δοχείου διατήρησης της θερμοκρασίας. Ακολούθησε η λήψη 200 μ L ολικού αίματος με τη χρήση πιπέτας ακριβείας μεταβαλλόμενου όγκου PIPETMAN Neo 100-1000 μ L (Gilson Inc., US), με αναλώσιμο στόμιο με φίλτρο (filter tip) 100-1000 μ L (Nerbe plus GmbH, Germany), η τοποθέτηση του σε σωληνάρια τύπου Eppendorf (Eppendorf Tubes®) 1,5 mL (Eppendorf, Germany) και η φύλαξή τους σε θερμοκρασία -20°C . (Εικόνα 9)



Εικόνα 9: Α) Πιπέτα ακριβείας PIPETMAN Neo 100-1000 μ L Β) Στόμιο πιπέτας με φίλτρο 100-1000 μ L Γ) Σωληνάριο τύπου Eppendorf 1,5 mL Δ) Σωληνάριο Vacutainer K2EDTA

2.2.2. Απομόνωση DNA

Για την απομόνωση του DNA από το ολικό αίμα χρησιμοποιήθηκε το Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, US).

2.2.2.1. Αρχή μεθόδου

Σύμφωνα με το εγχειρίδιο του κατασκευαστή, το PureLink® Genomic DNA Kit βασίζεται στην εκλεκτική δέσμευση του DNA σε μεμβράνη με βάση το διοξείδιο του πυριτίου (silica-based membrane) παρουσία χαοτροπικών αλάτων. [77] Αυτή η μέθοδος ανήκει στους μεθόδους εκχύλισης στερεάς φάσης (solid phase extraction), και πιο συγκεκριμένα είναι

ένα είδος χρωματογραφίας συγγένειας. Βασίζεται στην αναστρέψιμη προσρόφηση (surface adsorption) του DNA πάνω σε συγκεκριμένες επιφάνειες όπως το διοξείδιο του πυριτίου (silica). [78] Τα χαοτροπικά άλατα παίζουν ρόλο στην κυτταρική λύση και τη δέσμευση του DNA στην επιφάνεια της silica. [78]

Η διαδικασία της απομόνωσης του DNA περιλαμβάνει τρία στάδια: i) την εκχύλιση ή απελευθέρωση του DNA από το ολικό αίμα, και συγκεκριμένα από τα λευκά αιμοσφαίρια, με λύση των μεμβρανών των κυττάρων αυτών, ii) το διαχωρισμό ή απομόνωση του DNA από το ολικό αίμα και iii) τον καθαρισμό του DNA, με απομάκρυνση των υπόλοιπων συστατικών του ολικού αίματος. [78] Η απομόνωση του DNA με χρωματογραφία συγγένειας περιλαμβάνει 4 βασικά στάδια: i) τη λύση (lysis), ii) τη δέσμευση (binding), iii) την έκπλυση (washing) και iv) την έκλυση (elution). [78]

Η λύση (lysis) των κυττάρων είναι απλή και μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαλύματα αλάτων. Το αντιδραστήριο λύσης συνήθως περιέχει και κάποιο απορρυπαντικό για τη διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών και τη διαλυτοποίηση πρωτεϊνών και λιπιδίων. [78], [79]

Μετά τη λύση, το DNA καθαρίζεται (purification) με διαχωρισμό από το διάλυμα, το οποίο περιέχει κυτταρικό υλικό εκτός του DNA όπως το RNA, τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες. [79] Μόρια εκτός του DNA, που δεν έχουν αφαιρεθεί, μπορούν να αναστείλουν ενζυματικές και/ή χημικές αντιδράσεις όπως η PCR ή να παρεμποδίσουν την οπτική ανίχνευση στη real-time PCR, εμποδίζοντας το φως ή μεταβάλλοντας το φθορισμό υποβάθρου. [78]

Οι πρωτεΐνες μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα είτε στη διαδικασία απομόνωσης είτε στις μετέπειτα αναλύσεις. Ένζυμα όπως οι νουκλεάσες μπορούν να διασπάσουν τα νουκλεϊκά οξέα κατά τη διάρκεια της απομόνωσης και οι μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών μπορεί να επηρεάσουν μελλοντικές αναλύσεις, όπως η PCR. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να μετουσιωθούν ή να απομακρυνθούν από το δείγμα. Αυτό πρέπει να συμβεί αμέσως, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης λύσης του κυττάρου, επειδή η αποδόμηση των νουκλεϊκών οξέων είναι ταχεία. Για την αφαίρεση των πρωτεϊνών με αποικοδόμηση ή καταβύθιση μπορούν να χρησιμοποιηθούν χημικές ή ενζυματικές τεχνικές. Οι χημικές ουσίες όπως τα χαοτροπικά οξέα και τα απορρυπαντικά μπορούν μόνο να μετουσιώσουν τις πρωτεΐνες, ενώ τα ένζυμα όπως οι πρωτεάσες τις διασπούν σε μικρότερα μόρια με διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών. Οι πρωτεάσες είναι ένζυμα που μειώνουν την

ποσότητα των πρωτεϊνών και βοηθούν στην λύση με την πέψη των μεμβρανικών πρωτεϊνών. Η κύρια πρωτεάση που χρησιμοποιείται για την απομόνωση νουκλεϊκών οξέων είναι μία πρωτεάση σερίνης, η πρωτεϊνάση K, που απομονώθηκε αρχικά από το *Engyodontium album*. Η προσθήκη πρωτεϊνάσης K σε διαλύματα νουκλεϊκών οξέων απενεργοποιεί ταχέως τις νουκλεάσες. Είναι σταθερή σε εύρος pH 4-12 και είναι δραστική παρουσία παραγόντων μετουσίωσης πρωτεϊνών όπως τα SDS, UREA και EDTA. Με τη βοήθεια τέτοιων παραγόντων, πρωτεΐνη ξεδιπλώνεται και έτσι αυξάνεται προσβασιμότητα στην πρωτεάση με αποτέλεσμα αυξημένη δραστικότητα της πρωτεϊνάσης K. Οι πρωτεάσες μπορεί να απαιτούν ένα στάδιο επώασης, μερικές φορές σε αυξημένες θερμοκρασίες, και πρέπει να αφαιρεθούν ή να απενεργοποιηθούν, διαφορετικά μπορεί να παρεμποδίσουν την ανάλυση. [77] [78] [79] Τα υπολείμματα RNA απομακρύνονται με πέψη με RNάση, όπως η RNάση A, πριν από τη σύνδεση των δειγμάτων στη μεμβράνη της silica. [77]

Μόλις ολοκληρωθεί η κυτταρική λύση, το DNA μπορεί να απομονωθεί από το υπόλοιπο δείγμα με μεθόδους διαχωρισμού (separation). Τα νουκλεϊκά οξέα δεσμεύονται στην επιφάνεια (φίλτρο) silica υπό συγκεκριμένες συνθήκες σύνδεσης, ειδικά παρουσία χαοτροπικών αλάτων. Η σύνδεση πραγματοποιείται όταν το γραμμικό νουκλεϊκό οξύ προσροφάται στην επιφάνεια της silica λόγω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου μεταξύ των επιφανειών διοξειδίου του πυριτίου και του νουκλεϊκού οξέος παρουσία χαοτροπικών αλάτων ή αλκοολών σε υψηλή συγκέντρωση και χαμηλού pH (pH κάτω από το 7). Επειδή οι επιφάνειες της silica και των νουκλεϊκών οξέων είναι αρνητικά φορτισμένες, η σύνδεση οφείλεται σε προσρόφηση σε συνθήκες υψηλής ιοντικής ισχύος και σε δεσμούς υδρογόνου που συμβαίνουν όταν απομακρύνεται νερό από τις επιφάνειες. Το DNA απελευθερώνεται όταν αφαιρείται το άλας ή η αλκοόλη και οι επιφάνειες ενυδατώνονται. Η έκλουση (elution) του DNA λαμβάνει χώρα όταν η δέσμευση του στη silica αναστρέφεται με τη χρήση ύδατος. [78]

2.2.2.2. Αντιδραστήρια & Εξοπλισμός

Για την απομόνωση του DNA από το δείγμα του ολικού αίματος χρησιμοποιήθηκαν:

- Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, το οποίο περιέχει:
 - ο Πρωτεϊνάση K

- RNase A
- Lysis/Binding Buffer
- Wash Buffer 1 (Διάλυμα έκπλυσης)
- Wash Buffer 2 (Διάλυμα έκπλυσης)
- Elution Buffer (Διάλυμα έκλουσης)
- PureLink® Spin Column (Στήλη με μεμβράνη silica) με Collection Tubes
- PureLink® Collection Tubes (Σωληνάρια περισυλλογής)
- Απόλυτη Αιθανόλη (96-100%) (Merck, Germany)
- Dri-block heater DB-3 (Επωαστήρας) (Techne Ltd., UK) (Εικόνα 10)
- Vibrofix VF1 Electronic (Συσκευή Vortex) (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Germany) (Εικόνα 10)
- Centrifuge 5424 (Μικροφυγόκεντρος) (Eppendorf, Germany) (Εικόνα 10)
- Πιπέτα ακριβείας μεταβαλλόμενου όγκου PIPETMAN Neo 20-200 μ L & 100-1000 μ L (Gilson Inc., US) (Εικόνα 9)
- Αναλώσιμα στόμια με φίλτρο (filter tips) 20-200 μ L & 100-1000 μ L (Nerbe plus GmbH, Germany) (Εικόνα 9)
- Σωληνάρια τύπου Eppendorf (Eppendorf Tubes®) 1,5 mL (Eppendorf, Germany) (Εικόνα 9)



Εικόνα 10: Α) Vibrofix VF1 Electronic Β) Centrifuge 5424 Γ) Dri-block heater DB-3

2.2.2.3. Πρωτόκολλο απομόνωσης DNA από ολικό αίμα

Σύμφωνα με το εγχειρίδιο του κατασκευαστή, τα βήματα της απομόνωσης του DNA από ολικό αίμα είναι τα εξής:

- i. Χρησιμοποιούνται 200 μ L φρέσκου ή παγωμένου (στους -20°C) ολικού αίματος. Στη δεύτερη περίπτωση το αίμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να ξεπαγώσει.
- ii. Ο επωαστήρας ρυθμίζεται σε θερμοκρασία 55°C .
- iii. Γίνεται προσθήκη 20 μ L πρωτεϊνάσης K στο δείγμα.
- iv. Γίνεται προσθήκη 20 μ L RNase A στο δείγμα και σύντομη ανάδευση με τη χρήση της συσκευής Vortex. Το δείγμα αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 2 λεπτά.
- v. Γίνεται προσθήκη 200 μ L Lysis/Binding Buffer στο δείγμα και ανάδευση με τη χρήση της συσκευής Vortex, για την ομογενοποίηση του δείγματος.
- vi. Το δείγμα τοποθετείται στον επωαστήρα, στους 55°C για 10 λεπτά, για να διευκολυνθεί η διαδικασία της πέψης των πρωτεϊνών.
- vii. Γίνεται προσθήκη 200 μ L αιθανόλης (96-100%) στο δείγμα και ανάδευση με τη χρήση της συσκευής Vortex για 5 δευτερόλεπτα, για την ομογενοποίηση του δείγματος.
- viii. Το δείγμα μεταφέρεται στη στήλη και φυγοκεντρείται στη μικροφυγόκεντρο, για 1 λεπτό, στα 10.000 g (12.000 rpm), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- ix. Το σωληνάριο περισυλλογής απορρίπτεται και η στήλη τοποθετείται σε ένα νέο.
- x. Γίνεται προσθήκη 500 μ L Wash Buffer 1 στη στήλη και φυγοκέντρηση στη μικροφυγόκεντρο, για 1 λεπτό, στα 10.000 g (12.000 rpm), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- xi. Το σωληνάριο περισυλλογής απορρίπτεται και η στήλη τοποθετείται σε ένα νέο.
- xii. Γίνεται προσθήκη 500 μ L Wash Buffer 2 στη στήλη και φυγοκέντρηση στη μικροφυγόκεντρο, για 3 λεπτά, στα 10.000 g (12.000 rpm), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- xiii. Το σωληνάριο περισυλλογής απορρίπτεται και η στήλη τοποθετείται σε σωληνάριο τύπου Eppendorf των 1,5 μ L.
- xiv. Γίνεται προσθήκη 75 μ L Elution Buffer στη στήλη, επώαση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1 λεπτό και φυγοκέντρηση στη μικροφυγόκεντρο, για 1 λεπτό,

στα 10.000 g (12.000 rpm), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αυτό το βήμα επαναλαμβάνεται 2 φορές.

χν. Το σωληνάριο που περιέχει το δείγμα του DNA αποθηκεύεται στους -20°C.

2.2.3. Φωτομέτρηση διαλυμάτων DNA

2.2.3.1. Αρχή μεθόδου

Η φωτομέτρηση είναι μία μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της ποσότητας και της καθαρότητας του DNA. Η φασματοφωτομετρία βασίζεται στην ιδιότητα των μορίων να απορροφούν εκλεκτικά μέρος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλεπιδρά με την ύλη και οδηγεί στη διέγερση των ηλεκτρονίων των εξωτερικών στιβάδων και στην παροδική μετάπτωση τους σε μοριακά τροχιακά υψηλότερων ενεργειών. Κατά την αποδιέγερσή τους τα μόρια αποδίδουν την ενέργεια που έχει απορροφηθεί είτε ως θερμότητα είτε ως φωσφορισμό ή φθορισμό. [80]

Στη φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού (UV/Vis) (μήκος κύματος 200-750 nm), κάθε χημική ένωση έχει ένα χαρακτηριστικό μήκος κύματος (λ_{max}), στο οποίο εμφανίζει τη μέγιστη απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Τα νουκλεϊκά οξέα εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση στα 260 nm. Για τον υπολογισμό της ποσότητας του DNA μετριέται η απορρόφηση της ακτινοβολίας στα 260 nm και υπολογίζεται η συγκέντρωσή του με βάση το νόμο Lambert-Beer. [80]

Για τη μέτρηση της καθαρότητας του δείγματος μετριέται η απορρόφηση σε 2 μήκη κύματος, στα 260 nm και στα 280 nm, και στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος των δύο απορροφήσεων A_{260nm} / A_{280nm} . Στην περίπτωση που ο λόγος αυτός είναι 1,8-2 το δείγμα θεωρείται καθαρό, ενώ στην περίπτωση που η τιμή είναι <1,7 θεωρείται ότι υπάρχουν προσμίξεις, συνήθως πρωτεϊνών. [80]

2.2.3.2. Αντιδραστήρια & Εξοπλισμός

Για την εκτέλεση της φωτομέτρησης χρησιμοποιήθηκαν:

- Water for injection
- Φωτόμετρο BioPhotometer (Eppendorf, Germany) (Εικόνα 11)
- Κυψελίδες (Eppendorf, Germany)

- Centrifuge 5424 (Μικροφυγόκεντρος) (Eppendorf, Germany) (Εικόνα 10)
- Πιπέτα ακριβείας μεταβαλλόμενου όγκου PIPETMAN Neo 2-20 μL & 10-100 μL (Gilson Inc., US) (Εικόνα 9)
- Αναλώσιμα στόμια με φίλτρο (filter tips) 2-20 μL & 10-100 μL (Nerbe plus GmbH, Germany) (Εικόνα 9)



Εικόνα 11: BioPhotometer

2.2.3.3. Πρωτόκολλο φωτομέτρησης

Τα βήματα που ακολουθούνται για τη φωτομέτρηση είναι τα εξής:

- Προσθήκη 100 μL water for injection στην κυψελίδα
- Φωτομέτρηση του λευκού δείγματος
- Φυγοκέντρηση του δείγματος του DNA στη μικροφυγόκεντρο και προσθήκη 5 μL DNA στην κυψελίδα
- Φωτομέτρηση δείγματος DNA

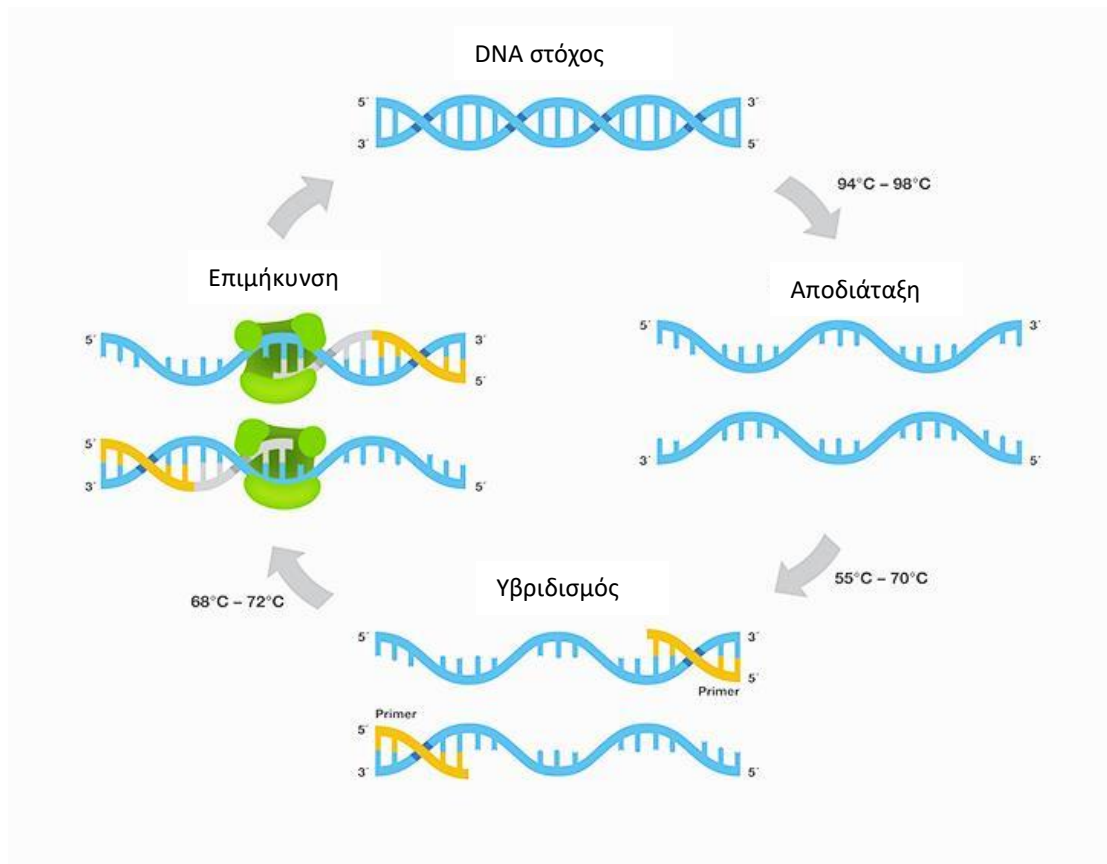
2.2.4. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης Πραγματικού Χρόνου (real-time PCR)

2.2.4.1. Αρχή μεθόδου

Για την ανίχνευση των πολυμορφισμών εφαρμόστηκε η τεχνική της real-time PCR, με τη χρήση SimpleProbe® ως ανιχνευτή (probe). Η real-time PCR είναι η εξέλιξη της συμβατικής PCR (Polymerase Chain Reaction). Η PCR είναι μία τεχνική που επιτρέπει την

ενίσχυση μορίων στόχων, όπως το DNA, σε ανιχνεύσιμα επίπεδα. [81] Τα συστατικά της συμβατικής PCR περιλαμβάνουν: (i) το DNA στόχο, (ii) δύο εκκινητές (primers), (iii) μία θερμοσταθερή DNA πολυμεράση (συνήθως Taq πολυμεράση), (iv) τριφωσφορικά δεοξυνουκλεοτίδια (dNTPs που περιλαμβάνουν τα dATP, dCTP, dGTP και dTTP), και (v) ένα ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει Mg^{2+} . Οι εκκινητές είναι ολιγονουκλεοτίδια συγκεκριμένης αλληλουχίας (20-30 ζεύγη βάσεων) που είναι συμπληρωματικά προς τα δύο 3'-άκρα του DNA στόχου. Η Taq πολυμεράση παράγει νέους κλώνους DNA χρησιμοποιώντας το πρότυπο DNA και εκκινητές, και είναι θερμοανθεκτική. Αυτό είναι απαραίτητο επειδή μετά από κάθε κύκλο αντιγραφής του DNA, το προκύπτον δίκλωνο DNA (dsDNA) πρέπει χωριστεί 2 σε μονές έλικες μέσω αύξησης της θερμοκρασίας, για να συνεχιστεί η PCR. [81], [82]

Η ενίσχυση (amplification) με PCR είναι αυτοματοποιημένη και εκτελείται σε thermocyclers, οι οποίοι είναι προγραμματισμένοι να λειτουργούν σε διαφορετικές θερμοκρασίες για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα. Κάθε κύκλος PCR περιλαμβάνει τρία στάδια: (i) την αποδιάταξη του DNA (denaturation), (ii) τον υβριδισμό των εκκινητών (annealing), και (iii) την επιμήκυνση (extension). Οι κύκλοι επαναλαμβάνονται 20-40 φορές. Κατά την διάρκεια της αποδιάταξης, το DNA θερμαίνεται (94-96°C) για να διαχωριστούν οι δύο αλυσίδες του. Στη συνέχεια η θερμοκρασία πέφτει (50-65°C), κατά τη διάρκεια του σταδίου του υβριδισμού για να επιτρέψει στους εκκινητές να υβριδοποιηθούν με τα 3' άκρα των διαχωρισμένων αλυσίδων DNA. Η θερμοκρασία υβριδισμού εξαρτάται από το μήκος και την αλληλουχία των εκκινητών. Τέλος, κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης (72°C), η θερμοσταθερή Taq DNA πολυμεράση καταλύει την επιμήκυνση των εκκινητών με την ενσωμάτωση των συμπληρωματικών dNTPs που δεσμεύονται στο DNA στόχο. Με την επιμήκυνση των εκκινητών, σχηματίζονται δύο νέοι κλώνοι DNA για τον επόμενο κύκλο της PCR. Θεωρητικά, η ποσότητα του DNA στόχου διπλασιάζεται μετά από κάθε κύκλο PCR. [81] (Εικόνα 12)



Εικόνα 12: Στάδια PCR

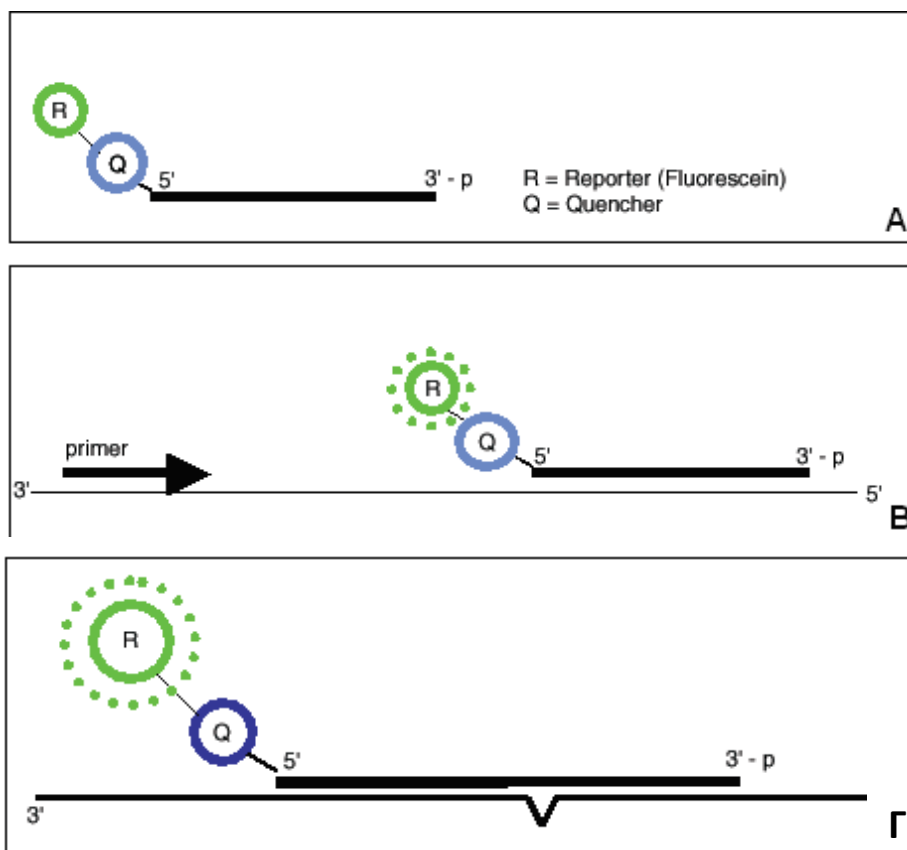
Η "hot-start" PCR βελτίωσε την αποτελεσματικότητα και την εξειδίκευση της PCR. Το ένζυμο hot-start Taq DNA πολυμεράση είναι ανενεργό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αποτρέποντας την επέκταση μη ειδικώς υβριδοποιημένων εκκινητών ή τον σχηματισμό διμερών από τους εκκινητές. Η λειτουργικότητα του ενζύμου αποκαθίσταται κατά την επώαση του στους 95°C για 5-10 λεπτά, πριν την έναρξη της ενίσχυσης (amplification). [81]

Η real-time PCR περιλαμβάνει ανιχνευτές φθορισμού (fluorescent probes) οι οποίοι απελευθερώνουν ένα φθορίζον σήμα, του οποίου η ένταση εξαρτάται από την ποσότητα του DNA που παράγεται στην PCR. Ένας αριθμός διαφορετικών φθορίζουσών χημικών ουσιών χρησιμοποιούνται, συμπεριλαμβανομένων μη-ειδικών χρωστικών, συστημάτων χρωστικών-εκκινητών και ειδικών ολιγονουκλεοτιδικών ανιχνευτών (oligoprobes). [81], [83] Τα oligoprobes αποτελούνται από φθοροφόρα συνδεδεμένα με τα ολιγονουκλεοτίδια και ανιχνεύουν μόνο συγκεκριμένα προϊόντα PCR. Υποδιαιρούνται σε τρεις υποομάδες ανάλογα με το φθοροφόρο: (i) ανιχνευτές που δρουν ως εκκινητές, που

ονομάζονται ανιχνευτές-εκκινητές (primer-probes), (ii) ανιχνευτές υδρόλυσης (hydrolysis probes) που εκπέμπουν σήμα φθορισμού κατά αποικοδόμησή τους στη φάση της επιμήκυνσης (π.χ. TaqMan), και ανιχνευτές υβριδισμού (hybridization probes) (π.χ. HybProbe, SimpleProbe) που εκπέμπουν σήμα όταν συνδέονται με το DNA στόχο και (iii) ανάλογα των νουκλεϊκών οξέων. [82], [83]

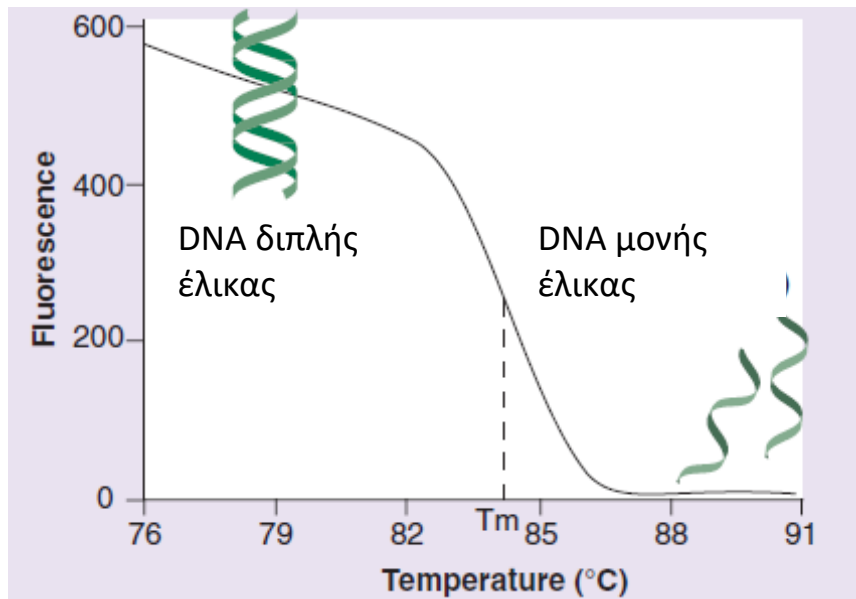
Ο SimpleProbe είναι ένας μονοεπισημασμένος (single-labeled) ανιχνευτής υβριδισμού (hybridization probe). Αποτελείται από έναν ανιχνευτή υβριδισμού, επισημασμένο με ένα φθοροφόρο (φλουορεσκεΐνη). Ο ανιχνευτής αυτός έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να υβριδίζεται με μια αλληλουχία που περιέχει το SNP στόχο, αλλά δεν συμμετέχει στη διαδικασία ενίσχυσης. Όταν υβριδοποιηθεί με την αλληλουχία στόχο, απελευθερώνει περισσότερο φθορισμό από όταν είναι ελεύθερος. [84], [85] Όταν ο SimpleProbe είναι ελεύθερος στο διάλυμα, η εκπομπή της φθορίζουσας χρωστικής (δότης) (donor ή reporter) απορροφάται από ένα συγκεκριμένο μη φθορίζοντα δέκτη (acceptor ή quencher). Με άλλα λόγια, όταν ο ανιχνευτής δεν έχει συνδεθεί στο DNA, ο δέκτης και ο δότης βρίσκονται κοντά και ο δέκτης απορροφά το σήμα από τον δότη μέσω του φαινομένου FRET¹⁴. Όταν ο ανιχνευτής υβριδίζεται με τον στόχο του, η απόσβεση μειώνεται και η φλουορεσκεΐνη, που διεγείρεται από το LED του LightCycler, εκπέμπει πράσινο φθορισμό. [81], [82], [85] (Εικόνα 13)

¹⁴ Όταν ένας φθοροφόρος δότης (donor) απορροφά την ενέργεια του φωτός, διεγείρεται. Κατά την επιστροφή του στη βασική κατάσταση εκπέμπει την ενέργεια ως φθορισμό. Αυτό το εκπεμπόμενο φως από το δότη έχει χαμηλότερη ενέργεια και συχνότητα και μεγαλύτερο μήκος κύματος από το απορροφούμενο φως και μπορεί να μεταφερθεί σε ένα φθοροφόρο δέκτη (acceptor). Εάν και τα δύο φθοροφόρα βρίσκονται σε μια συγκεκριμένη απόσταση, συνήθως 10 έως 100 Å, η μεταφορά ενέργειας από διεγερμένη κατάσταση από το δότη στο δέκτη ονομάζεται μεταφορά ενέργειας συντονισμού φθορισμού (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET). [82] [83]



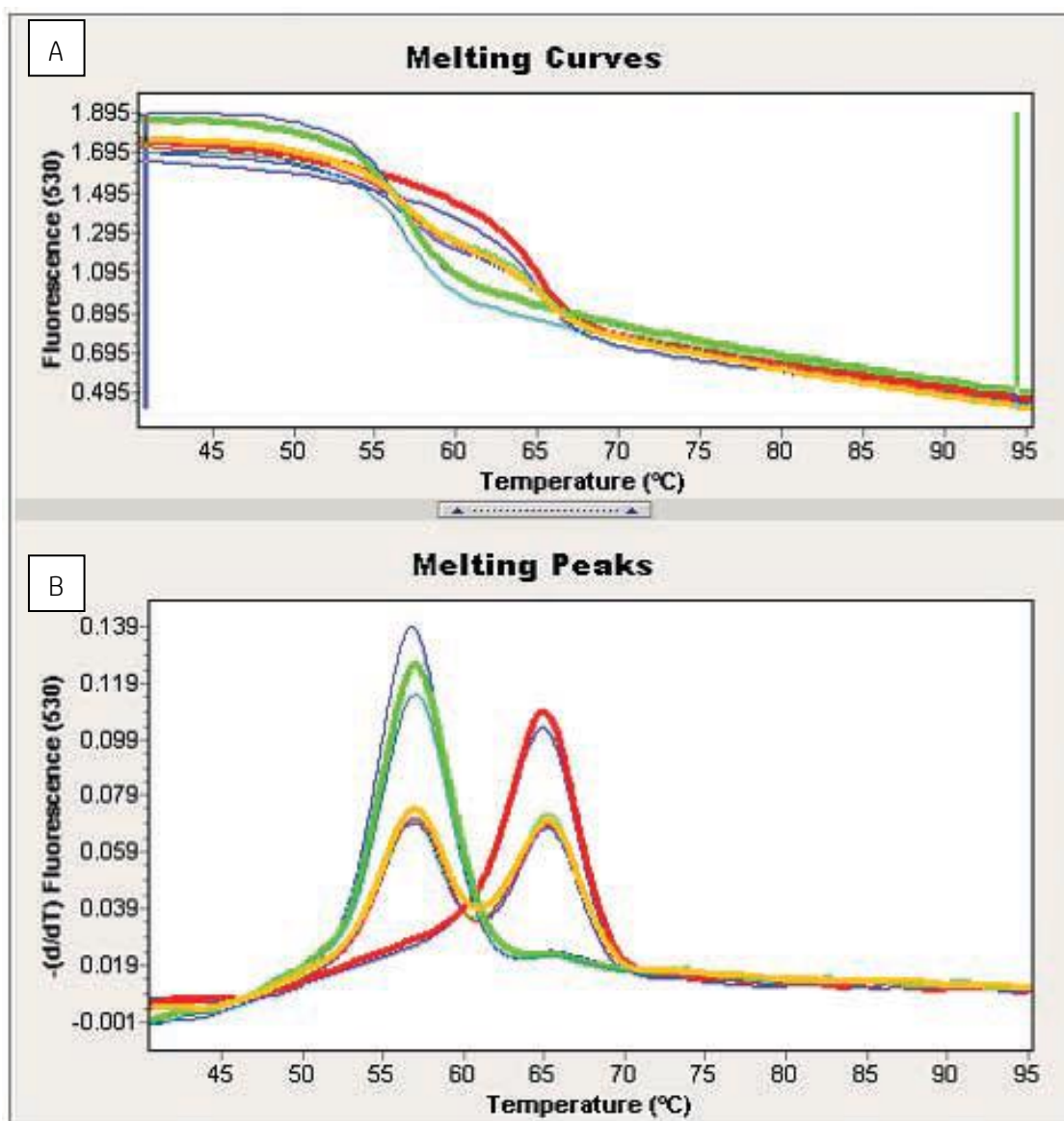
Εικόνα 13: Δομή SimpleProbe: Α) Ελεύθερου Β) και Γ) Υβριδοποιημένου με περιοχή του DNA με SNP [85]

Η real-time PCR χρησιμοποιείται για την ανάλυση πολυμορφισμών, συμπεριλαμβανομένων των SNPs. Για την ανίχνευση των πολυμορφισμών, εφαρμόζεται η ανάλυση καμπύλης τήξης (melting curve analysis) στο προϊόν της PCR (amplicon). [82] Η τήξη (melting) έχει ως αποτέλεσμα την αποδιάταξη της διπλής έλικας σε δύο ξεχωριστούς κλώνους. [86] Για τη δημιουργία μίας καμπύλης τήξης (melting curve), το δείγμα θερμαίνεται σε αυξανόμενες θερμοκρασίες, ενώ ταυτόχρονα γίνεται μέτρηση του φθορισμού. Με την αύξηση της θερμοκρασίας ο φθορισμός μειώνεται, αρχικά με αργό ρυθμό, και στη συνέχεια, σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία (θερμοκρασία τήξης, melting temperature, T_m), η τιμές του φθορισμού μειώνονται απότομα. Η T_m του DNA εξαρτάται από το περιεχόμενο GC (γουανίνη-κυτοσίνη), το μήκος του και την αλληλουχία του. Ορίζεται ως η θερμοκρασία στην οποία τήκεται το 50% των ζευγών βάσεων και είναι η θερμοκρασία στην οποία ο φθορισμός είναι 50%. [86], [87] (Εικόνα 14)



Εικόνα 14: Καμπύλη τήξης (melting curve): Η άνοδος της θερμοκρασίας οδηγεί σε γραμμική πτώση του φθορισμού, και στη συνέχεια σε μία γρήγορη πτώση γύρω από την T_m . [87]

Οι μεταβολές του φθορισμού, που βασίζονται στον υβριδισμό του ανιχνευτή, ανιχνεύονται με ανάλυση της καμπύλης τήξης (melting curve analyses). Οποιαδήποτε αναντιστοιχία (mismatch) με το SimpleProbe θα μειώσει τους δεσμούς, και συνεπώς τη θερμοκρασία τήξης (melting temperature), αφού όσο πιο σταθερή είναι η υβριδοποίηση μεταξύ του SimpleProbe και της αλληλουχίας στόχου, τόσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία τήξης (melting temperature). Μεταλλάξεις όπως τα SNPs αποδυναμώνουν τη σταθερότητα της σύνδεσης του SimpleProbe. Έτσι οι μεταλλάξεις προκαλούν μια μετατόπιση στο σημείο τήξης (melting point). [84], [85] (Εικόνα 15)

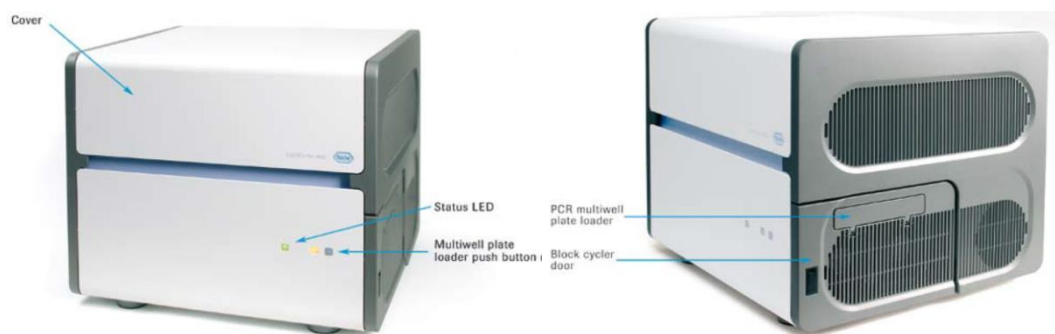


Εικόνα 15: Διαγράμματα καμπύλων τήξεως: Α) Το διάγραμμα Α δείχνει το φθορισμό δείγματος σε σχέση με τη θερμοκρασία (melting curve data). Σε κάθε δείγμα, ο φθορισμός μειώνεται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, αντανακλώντας την απόσβεση του σήματος του SimpleProbe καθώς ο ανιχνευτής απομακρύνεται από το DNA. Β) Το διάγραμμα Β απεικονίζει την πρώτη αρνητική παράγωγο του φθορισμού του δείγματος σε σχέση με τη θερμοκρασία, το οποίο δείχνει τη θερμοκρασία τήξης κάθε δείγματος ως κορυφή. Σε αυτό το παράδειγμα, ο προσδιορισμός μπορεί να διαφοροποιήσει τα wild-type δείγματα (υψηλότερες κορυφές τήξης (melting peaks) που αντανακλούν την τέλεια αντιστοιχία μεταξύ αλληλουχίας στόχου και ανιχνευτή) από τα μεταλλαγμένα δείγματα (χαμηλότερες κορυφές τήξης που αντανακλούν τις αναντιστοιχίες αλληλουχίας μεταξύ στόχου και ανιχνευτή). [85]

2.2.4.2. Αντιδραστήρια & Εξοπλισμός

Τα όργανα με τα οποία εκτελείται η real-time PCR αποτελούνται από ένα θερμικό κυκλοποιητή (thermal cycler) με μία πηγή διέγερσης και σύστημα ανίχνευσης του σήματος φθορισμού και έναν υπολογιστή με κατάλληλο λογισμικό συλλογής και ανάλυσης δεδομένων. Χρησιμοποιούνται τρία πηγές διέγερσης φθοροφόρων: (i)

λαμπτήρες, (ii) δίοδοι εκπομπής φωτός (LED), ή (iii) λέιζερ. [81]–[83] Οι ανιχνευτές για τη συλλογή της ενέργειας εκπομπής περιλαμβάνουν κάμερες συσκευής συζευγμένου φορτίου, σωλήνες φωτοπολλαπλασιαστή ή άλλους τύπους φωτοανιχνευτών. Μόνο τα επιθυμητά μήκη κύματος συλλέγονται με τη χρήση στενών φίλτρων ή καναλιών. Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό της real-time PCR είναι η ικανότητα του θερμικού κυκλοποιητή να μεταβάλλει ταχύτατα τις θερμοκρασίες και να διατηρεί μια σταθερή θερμοκρασία. Η συνεχής θέρμανση επιτυγχάνεται με τη χρήση heating block, θερμού αέρα ή συνδυασμού των δύο. [81], [82] Για την εκτέλεση της real-time PCR χρησιμοποιήθηκε ο LightCycler® 480 (La Roche Ltd., Switzerland), ο οποίος χρησιμοποιεί έναν λαμπτήρα Xenon ως πηγή διέγερσης. [88] (Εικόνα 16)

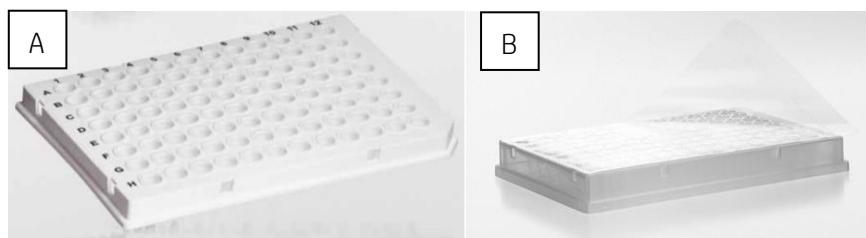


Εικόνα 16: LightCycler® 480

Για την real-time PCR χρησιμοποιήθηκαν:

- LightCycler® FastStart DNA, Master HybProbe (La Roche Ltd., Switzerland), το οποίο περιέχει:
 - LC FastStart Enzyme (το οποίο περιέχει την FastStart Taq DNA πολυμεράση) & LC FastStart Reaction Mix (το οποίο περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα, μίγμα dNTP με dUTP αντί dTTP και MgCl₂), τα οποία αναμειγνύονται πριν τη χρήση (LC FastStart DNA Master)
 - MgCl₂ stock solution
 - Water, PCR Grade
- LightSNiP® (TIB MolBiol GmbH, Germany): περιέχει ανιχνευτή τύπου SimpleProbe
- Centrifuge 5424 (Μικροφυγόκεντρος) (Eppendorf, Germany) (Εικόνα 10)

- Πιπέτα ακριβείας μεταβαλλόμενου όγκου PIPETMAN Neo 2-20 μL & 20-200 μL (Gilson Inc., US) (Εικόνα 9)
- Αναλώσιμα στόμια με φίλτρο (filter tips) 2-20 μL & 20-200 μL (Nerbe plus GmbH, Germany) (Εικόνα 9)
- Σωληνάρια τύπου Eppendorf (Eppendorf Tubes®) 1,5 mL (Eppendorf, Germany) (Εικόνα 9)
- PCR-plate PP, 96x0,2 mL (Nerbe plus GmbH, Germany) (Εικόνα 17)
- Adhesive sealing film (Nerbe plus GmbH, Germany) (Εικόνα 17)
- LightCycler® 480 (La Roche Ltd., Germany) (Εικόνα 16)



Εικόνα 17: A) PCR-plate B) Adhesive sealing film

2.2.4.3. Πρωτόκολλο real-time PCR

Τα βήματα που ακολουθούνται για την εκτέλεση της real-time PCR είναι τα ακόλουθα:

- Προσθήκη κατάλληλων ποσοτήτων όλων των αντιδραστηρίων του LightCycler® FastStart DNA, Master HybProbe και του LightSNiP® σε σωληνάρια τύπου Eppendorf 1,5 mL. (Πίνακας 6)
- Προσθήκη 7,5 μL του διαλύματος αυτού σε 1 “πηγαδάκι” (well) του PCR-plate.
- Προσθήκη 1-5 μL του διαλύματος που περιέχει το προς ανάλυση DNA στο “πηγαδάκι”, μετά από φυγοκέντρηση στη μικροφυγόκεντρο.
- Τοποθέτηση του adhesive sealing film στο PCR-plate.
- Τοποθέτηση του PCR-plate στο LightCycler 480 και επιλογή του κατάλληλου προγράμματος θερμοκρασιών-χρόνου. (Πίνακας 7)
- Ανάλυση των αποτελεσμάτων με melting curve analysis.

Πίνακας 6: Όγκος αντιδραστηρίων και DNA για την ανάλυση 1 δείγματος

Αντιδραστήριο	Όγκος
Water, PCR Grade	10,4-14,4 μL
MgCl ₂ solution	1,6 μL
LC FastStart DNA Master	2,0 μL
LightSNiP®	1,0 μL
DNA	1-5 μL

Πίνακας 7: Πρόγραμμα PCR στο LightCycler 480

Program	Denaturation	Cycling			Melting			Cooling
Parameter								
Analysis Mode	None	Quantification			Melting Curves			None
Cycles	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Target [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Hold [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Ramp Rate [°C/s] 96	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Acquisition mode	None	None	Single	None	None	None	Continu.	None
Acquisitions [per °C]							3	

2.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και η σύγκριση των συχνοτήτων γονοτύπων και αλληλομόρφων για τους ασθενείς και τους μάρτυρες έγινε με τη χρήση του προγράμματος SPSS Statistics 22.0 (IBM, USA). Πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος χ^2 (Pearson & Fischer exact). Σχεδιάστηκαν πίνακες συνάφειας 2x2 και υπολογίστηκαν οι λόγοι σχετικών πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR)¹⁵ και τα διαστήματα εμπιστοσύνης αυτών (Confidence Interval, CI) 95%¹⁶. Ο στατιστικός έλεγχος έγινε σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05. Για την εύρεση της στατιστικής σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε η τιμή p (p-value)¹⁷.

Η ανάλυση των απλοτύπων για τους ασθενείς και τους μάρτυρες, δηλαδή η εκτίμηση των συχνοτήτων των απλοτύπων και οι αναλύσεις συσχετισμού τους, έγιναν με τη χρήση του προγράμματος RStudio®. Χρησιμοποιήθηκε λογιστική παλινδρόμηση για την εύρεση συσχέτισης μεταξύ των απλοτύπων. Η σύγκριση των συχνοτήτων των απλοτύπων έγινε επίσης με το πρόγραμμα SPSS Statistics 22.0 (IBM, USA). Πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος χ^2 (Pearson & Fischer exact). Σχεδιάστηκαν πίνακες συνάφειας 2x2 και υπολογίστηκαν οι λόγοι σχετικών πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR) και τα διαστήματα εμπιστοσύνης αυτών (Confidence Interval, CI) 95%. Ο στατιστικός έλεγχος έγινε σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05. Για την εύρεση της στατιστικής σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε η τιμή p (p-value).

¹⁵ Odds ratio: πιθανότητα εμφάνισης ενός φαινομένου (π.χ. ασθένειας) ανάλογα με την έκθεση σε έναν συγκεκριμένο παράγοντα (π.χ. γονότυπος) (πιθανότητα το άτομο να ανήκει στον πληθυσμό των ασθενών ή όχι ανάλογα με το γονότυπό του)

OR=1: ο γονότυπος δεν επιδρά στην εμφάνιση της ασθένειας

OR>1: βλαπτική επίδραση του συγκεκριμένου γονοτύπου

OR<1: προστατευτική επίδραση του συγκεκριμένου γονοτύπου

¹⁶ Confidence Interval: όρια μέσα στα οποία βρίσκεται η πραγματική τιμή του OR (πόσο μικρότερη ή μεγαλύτερη μπορεί να είναι η πραγματική τιμή)

Αν μέσα σε αυτό το διάστημα συμπεριλαμβάνεται η μονάδα (1) τότε θεωρούμε ότι οι πληθυσμοί δε διαφέρουν.

¹⁷ Όταν $p \leq 0.05$ (σε επίπεδο σημαντικότητας 95%) (στατιστικά σημαντικό) απορρίπτω τη μηδενική υπόθεση H_0 (δηλ. ότι οι πληθυσμοί δε διαφέρουν), άρα οι εξεταζόμενοι πληθυσμοί διαφέρουν μεταξύ τους.

Όταν $p > 0.05$ (σε επίπεδο σημαντικότητας 95%) (στατιστικά μη σημαντικό) δεν απορρίπτω τη μηδενική υπόθεση H_0 .

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ

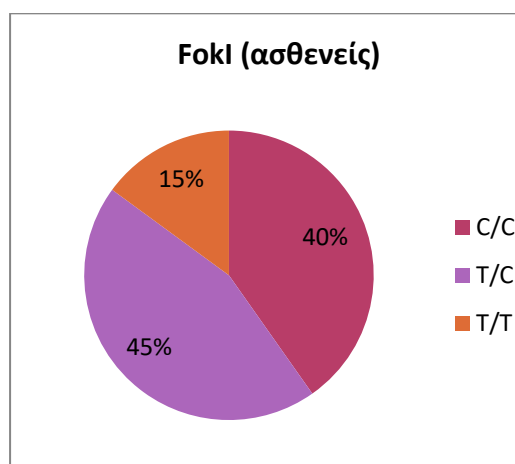
3.1.1. Κατανομή συχνοτήτων του FokI (rs2228570)

Από τους 87 ασθενείς, η πλειοψηφία (39 ασθενείς, 44.83%) είναι ετερόζυγοι (T/C) για τον πολυμορφισμό rs2228570, 35 ασθενείς (40.23%) είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C) και 13 (14.94%) για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 37.36% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 62.64%. (Διάγραμμα 13) (Πίνακας 8)

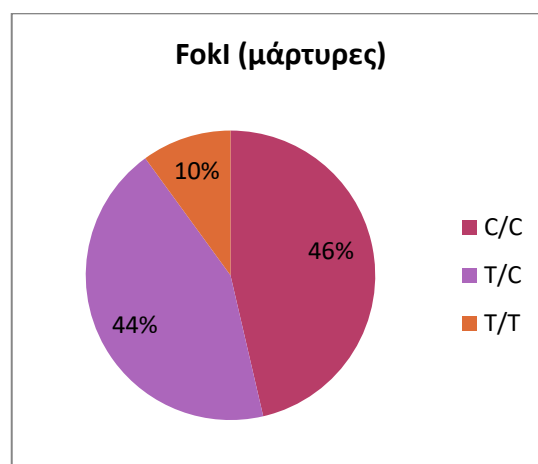
Στο γενικό πληθυσμό, επικρατεί η ομοζυγωτία για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο C (C/C), με τους 236 (46.37%) από τους 509 μάρτυρες να φέρουν αυτό το γονότυπο. 222 μάρτυρες (43.61%) είναι ετερόζυγοι (T/C), ενώ 51 (10.02%) είναι ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 31.83% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 68.17%. (Διάγραμμα 14) (Πίνακας 8)

Πίνακας 8: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες

FokI (rs2228570)		
	Ασθενείς	Μάρτυρες
T/T	13 (14.94%)	51 (10.02%)
T/C	39 (44.83%)	222 (43.61%)
C/C	35 (40.23%)	236 (46.37%)
αλληλόμορφο T	37.36%	31.83%
αλληλόμορφο C	62.64%	68.17%



Διάγραμμα 13: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) ασθενών με λεύκη



Διάγραμμα 14: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) μαρτύρων

Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες, ούτε σε επίπεδο γονοτύπων ούτε σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 9)

Πίνακας 9: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης

FokI (rs2228570)				
	Ασθενείς, n (%)	Μάρτυρες, n (%)	OR (95% CI)	p value
T/T	13 (14.94)	51 (10.02)	reference	
T/C	39 (44.83)	222 (43.61)	1.451 (0.722 - 2.915)	0.294
C/C	35 (40.23)	236 (46.37)	1.719 (0.849 - 3.478)	0.129
T/C + C/C	74 (85.06)	458 (89.98)	1.578 (0.818 - 3.042)	0.170
C/C	35 (40.23)	236 (46.37)	reference	
T/C	39 (44.83)	222 (43.61)	0.844 (0.516 - 1.380)	0.499
T/C + T/T	52 (59.77)	273 (53.63)	0.779 (0.490 - 1.237)	0.288
αλληλόμορφο T	65 (37.36)	324 (31.83)	reference	
αλληλόμορφο C	109 (62.64)	694 (68.17)	1.277 (0.914 - 1.784)	0.151

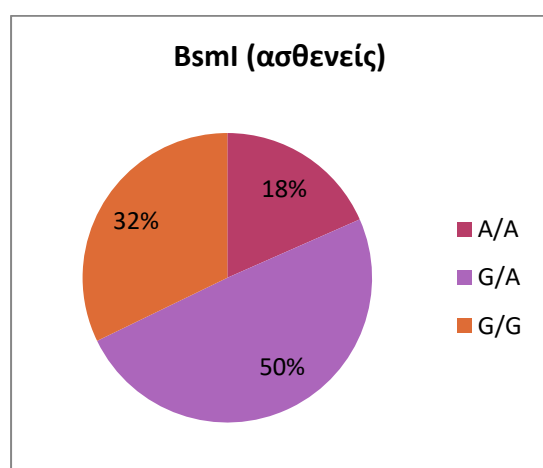
3.1.2. Κατανομή συχνοτήτων του BsmI (rs1544410)

Οι περισσότεροι από τους 87 ασθενείς (43 ασθενείς, 49.43%) είναι ετερόζυγοι (G/A) για τον πολυμορφισμό rs1544410, ενώ οι 28 (32.18%) είναι ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (G/G) και 16 (18.39%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (A/A). Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 56.89% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 43.10%. (Διάγραμμα 15) (Πίνακας 10)

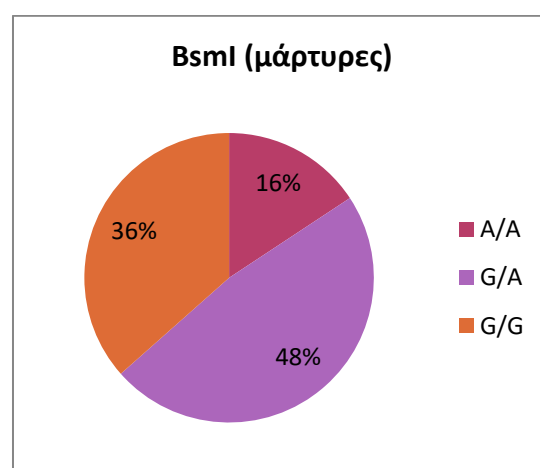
Στο γενικό πληθυσμό, επικρατεί επίσης η ετεροζυγωτία (G/A), με τους 243 (47.74%) από τους 509 μάρτυρες να φέρουν αυτό το γονότυπο. 186 μάρτυρες (36.54%) είναι ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο G (G/G) και 80 (15.72%) είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο A (A/A). Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 60.41% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 39.59%. (Διάγραμμα 16) (Πίνακας 10)

Πίνακας 10: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες

BsmI (rs1544410)		
	Ασθενείς	Μάρτυρες
G/G	28 (32.18%)	186 (36.54%)
G/A	43 (49.43%)	243 (47.74%)
A/A	16 (18.39%)	80 (15.72%)
αλληλόμορφο G	56.89%	60.41 %
αλληλόμορφο A	43.10%	39.59%



Διάγραμμα 15: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) ασθενών με λεύκη



Διάγραμμα 16: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) μαρτύρων

Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες, ούτε σε επίπεδο γονοτύπων ούτε σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 11)

Πίνακας 11: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης

BsmI (rs1544410)				
	Ασθενείς, n (%)	Μάρτυρες, n (%)	OR (95% CI)	p value
G/G	28 (32.18)	186 (36.54)	reference	
G/A	43 (49.43)	243 (47.74)	0.851 (0.509 - 1.421)	0.536
A/A	16 (18.39)	80 (15.72)	0.753 (0.386 - 1.468)	0.403
G/A + A/A	59 (67.82)	323 (63.46)	0.824 (0.508 - 1.338)	0.434
A/A	16 (18.39)	80 (15.72)	reference	
G/A	43 (49.43)	243 (47.74)	1.130 (0.604 - 2.116)	0.702
G/A + G/G	71 (81.61)	427 (84.28)	1.203 (0.665 - 2.176)	0.541
αλληλόμορφο G	99 (56.89)	615 (60.41)	reference	
αλληλόμορφο A	75 (43.10)	403 (39.59)	0.865 (0.625 - 1.197)	0.382

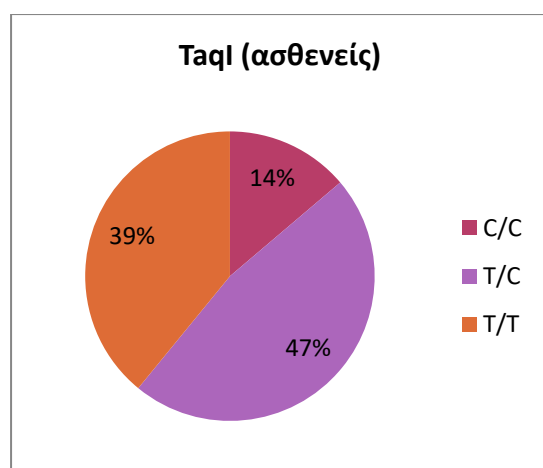
3.1.3. Κατανομή συχνοτήτων του TaqI (rs731236)

Από τους 87 ασθενείς, το μεγαλύτερο ποσοστό (41 ασθενείς, 47.13%) είναι ετερόζυγοι (T/C) για τον πολυμορφισμό rs1544410, 34 (39.08%) είναι ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T) και 12 (13.79%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 62.64% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 37.36%. (Διάγραμμα 17) (Πίνακας 12)

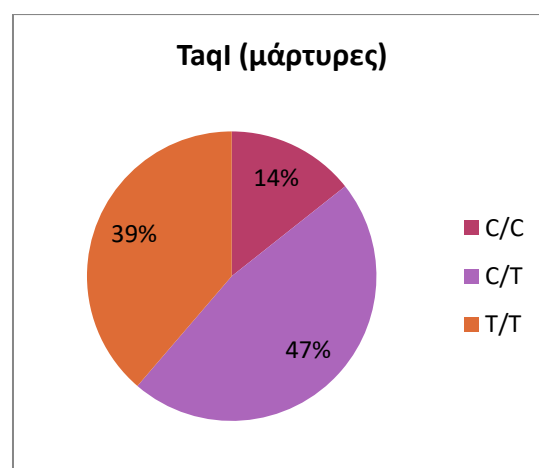
Όσον αφορά το γενικό πληθυσμό, επικρατεί επίσης η ετεροζυγωτία (T/C), με 239 (46.95%) από τους 509 μάρτυρες να είναι ετερόζυγοι. 197 μάρτυρες (38.70%) είναι ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο T (T/T) και 73 (14.34%) είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο C (C/C). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 62.18% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 37.82%. (Διάγραμμα 18) (Πίνακας 12)

Πίνακας 12: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες

TaqI (rs731236)		
	Ασθενείς	Μάρτυρες
T/T	34 (39.08%)	197 (38.70%)
T/C	41 (47.13%)	239 (46.95%)
C/C	12 (13.79%)	73 (14.34%)
αλληλόμορφο T	62.64%	62.18%
αλληλόμορφο C	37.36%	37.82%



Διάγραμμα 17: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) ασθενών με λεύκη



Διάγραμμα 18: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) μαρτύρων

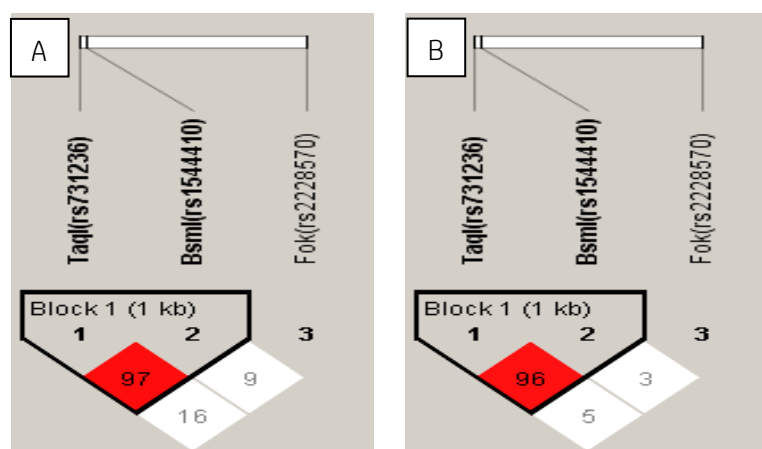
Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες, ούτε σε επίπεδο γονοτύπων ούτε σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 13)

Πίνακας 13: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης

TaqI (rs731236)				
	Ασθενείς, n (%)	Μάρτυρες, n (%)	OR (95% CI)	p value
T/T	34 (39.08)	197 (38.70)	reference	
T/C	41 (47.13)	239 (46.95)	1.006 (0.615 - 1.646)	0.981
C/C	12 (13.79)	73 (14.34)	1.050 (0.516 - 2.137)	0.893
T/C + C/C	53 (60.92)	312 (61.30)	1.016 (0.637 - 1.619)	0.947
C/C	12 (13.79)	73 (14.34)	reference	
T/C	41 (47.13)	239 (46.95)	0.958 (0.478 - 1.919)	0.904
T/C + T/T	75 (86.21)	436 (85.66)	0.956 (0.495 - 1.845)	0.892
αλληλόμορφο T	109 (62.64)	633 (62.18)	reference	
αλληλόμορφο C	65 (37.36)	385 (37.82)	1.020 (0.732 - 1.422)	0.907

3.1.4. Κατανομή συχνοτήτων και συσχετισμός των απλοτύπων

Ο τυποποιημένος συντελεστής ανισορροπίας (D') του Levontin υπολογίστηκε, ως μέτρο για την ανισορροπία σύνδεσης (Linkage disequilibrium, LD) μεταξύ των SNPs στο γονίδιο VDR. Οι BsmI και TaqI βρέθηκε ότι είναι σε ισχυρή LD και στους ασθενείς και στους μάρτυρες (για τους ασθενείς: $D'=0.971$, $r^2=0.742$, για τους μάρτυρες: $D'=0.960$, $r^2=0.856$), ενώ ανάμεσα στους BsmI-FokI (για τους ασθενείς: $D'=0.093$, $r^2=0.007$, για τους μάρτυρες: $D'=0.036$, $r^2=0.0$) και TaqI-FokI (για τους ασθενείς: $D'=0.164$, $r^2=0.010$, για τους μάρτυρες: $D'=0.051$, $r^2=0.001$) η LD δεν ήταν ισχυρή. (Εικόνα 18)



Εικόνα 18: Περιορισμένη ανάλυση απλοτύπων (restricted haplotype analysis) (συμπεριλαμβάνει τους BsmI και TaqI) και πρότυπα LD (LD patterns) (υπολογίζονται ως r^2 και D') για τους ασθενείς (Α) και τους μάρτυρες (Β). Υπήρχε ισχυρή LD μεταξύ των TaqI/BsmI και ασθενής LD μεταξύ των BsmI/FokI και TaqI/FokI (λευκό: $r^2=0$, κόκκινο: $r^2=1$). Οι αριθμοί στα κουτιά υποδηλώνουν δεκαδικά ψηφία του D' .

Ο απλότυπος TG των TaqI/BsmI εμφανίστηκε σε συχνότητα >50% και στους ασθενείς και στους μάρτυρες. Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες σε επίπεδο απλοτύπων. (Πίνακας 14, Πίνακας 15)

Πίνακας 14: Κατανομή απλοτύπων για τους πολυμορφισμούς TaqI/ BsmI/ FokI σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης

Απλότυπος TaqI/ BsmI/ FokI	Συχνότητα εμφάνισης στους ασθενείς	Συχνότητα εμφάνισης στους μάρτυρες	p value
TGC	0.361	0.398	reference
CAC	0.240	0.256	0.853
TGT	0.202	0.197	0.608
CAT	0.128	0.113	0.570
TAC	0.020	0.018	0.641

Πίνακας 15: Κατανομή απλοτύπων για τους πολυμορφισμούς TaqI/ BsmI σε ασθενείς με λεύκη και μάρτυρες και η σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης (*: το $0.05 < p \text{ value} \leq 0.1$ φανερώνει μία τάση του απλότυπου να επηρεάσει την εμφάνιση λεύκης, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας 95%)

Απλότυπος TaqI/ BsmI	Συχνότητα εμφάνισης στους ασθενείς	Συχνότητα εμφάνισης στους μάρτυρες	Odds Ratio (CI 95%)	p value
TG	0.563	0.595		reference
CA	0.367	0.369	0.950 (0.587-1.537)	0.835
TA	0.064	0.027	0.377 (0.138-1.029)	0.095*

3.2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΕΝΑΡΞΗΣ ΤΗΣ ΛΕΥΚΗΣ

3.2.1. Κατανομή συχνοτήτων του FokI (rs2228570)

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 υποομάδες, ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Από τους 87 ασθενείς, οι 23 εμφάνισαν την ασθένεια σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών (early-onset vitiligo). Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών (14 ασθενείς, 60.87%) ήταν ετερόζυγοι (T/C), 7 ασθενείς (30.43%) ήταν ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C) και 2 ασθενείς (8.70%) για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 39.13% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 60.87%. (Πίνακας 16)

Στους υπόλοιπους ασθενείς (64 ασθενείς) κυριάρχησε η ομοζυγωτία για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C) (28 ασθενείς, 43.75%), ενώ 25 ασθενείς (39.06%) ήταν ετερόζυγοι (T/C) και 11 ασθενείς (11.19%) για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 36.72% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 63.28%. (Πίνακας 16)

Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 20 ετών και σε > 20 ετών, ούτε σε επίπεδο γονοτύπων ούτε σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 16)

Πίνακας 16: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 20 έτη

FokI (rs2228570)				
	Ηλικία εμφάνισης ≤ 20 , n (%)	Ηλικία εμφάνισης > 20 , n (%)	OR (95% CI)	p value
T/T	2 (8.70)	11 (11.19)	reference	
T/C	14 (60.87)	25 (39.06)	0.325 (0.063 – 1.678)	0.298
C/C	7 (30.43)	28 (43.75)	0.727 (0.130 – 4.059)	0.999
T/C + C/C	21 (91.30)	53 (82.81)	0.459 (0.094 – 2.248)	0.500
C/C	7 (30.43)	28 (43.75)	reference	
T/C	14 (60.87)	25 (39.06)	0.446 (0.155 – 1.283)	0.130
T/C + T/T	16 (69.57)	36 (50.25)	0.563 (0.204 – 1.554)	0.264
αλληλόμορφο T	18 (39.13)	47 (36.72)	reference	
αλληλόμορφο C	28 (60.87)	81 (63.28)	1.108 (0.554–2.215)	0.772

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 υποομάδες, ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Από τους 87 ασθενείς, οι 43 εμφάνισαν την ασθένεια σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών (late-onset vitiligo). Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών (21 ασθενείς, 47.73%) είναι ετερόζυγοι (T/C), 14 ασθενείς (31.82%)

ήταν ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C) και 9 ασθενείς (20.45%) για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 44.32% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 55.68%. (Πίνακας 17)

Στους υπόλοιπους ασθενείς (44 ασθενείς) κυριάρχησε η ομοζυγωτία για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C) (21 ασθενείς, 48.84%), ενώ 18 ασθενείς (41.86%) ήταν ετερόζυγοι (T/C) και 4 ασθενείς (9.30%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 20.23% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 69.77%. (Πίνακας 17)

Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 30 ετών και σε > 30 ετών, ούτε σε επίπεδο γονοτύπων ούτε σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 17)

Πίνακας 17: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό FokI (rs2228570) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 30 έτη (*: το $0.05 < p \text{ value} \leq 0.1$ φανερώνει μία τάση του γονότυπου ή του αλληλόμορφου να επηρεάσει την ηλικία εμφάνιση λεύκης, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας 95%)

FokI (rs2228570)				
	Ηλικία εμφάνισης > 30 , n (%)	Ηλικία εμφάνισης ≤ 30 , n (%)	OR (95% CI)	p value
T/T	4 (9.30)	9 (20.45)	reference	
T/C	18 (41.86)	21 (47.73)	0.519 (0.136 – 1.971)	0.331
C/C	21 (48.84)	14 (31.82)	0.296 (0.076 – 1.152)	0.072*
T/C + C/C	39 (90.7)	35 (79.55)	0.399 (0.113 – 1.411)	0.145
C/C	21 (48.84)	14 (31.82)	reference	
T/C	18 (41.86)	21 (47.73)	1.750 (0.695 – 4.409)	0.234
T/C + T/T	22 (51.16)	30 (68.18)	2.045 (0.855 – 4.891)	0.106
αλληλόμορφο T	26 (20.23)	39 (44.32)	reference	
αλληλόμορφο C	60 (69.77)	49 (55.68)	0.544 (0.292 – 1.016)	0.055*

3.2.2. Κατανομή συχνοτήτων του BsmI (rs1544410)

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 υποομάδες, ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Από τους 87 ασθενείς, οι 23 εμφάνισαν την ασθένεια σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών (early-onset vitiligo). Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών (12 ασθενείς, 52.17%) ήταν ετερόζυγοι (G/A), 10 ασθενείς (43.48%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (G/G) και 1 ασθενής (4.35%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (A/A). Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 69.57% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 30.43%. (Πίνακας 18)

Στους υπόλοιπους ασθενείς (64 ασθενείς) κυριάρχησε επίσης η ετεροζυγωτία (G/A) (31 ασθενείς, 48.44%), ενώ 18 ασθενείς (28.13%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (G/G) και 15 ασθενείς (23.44%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (A/A). Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 52.34% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 47.66%. (Πίνακας 18)

Υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 20 ετών και σε > 20 ετών, και σε επίπεδο γονοτύπων και σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 18)

Πίνακας 18: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 20 έτη (*: το $0.05 < p \text{ value} \leq 0.1$ φανερώνει μία τάση του γονότυπου να επηρεάσει την ηλικία εμφάνισης λεύκης, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας 95%, **: στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα)

BsmI (rs1544410)				
	Ηλικία εμφάνισης ≤ 20 , n (%)	Ηλικία εμφάνισης > 20 , n (%)	OR (95% CI)	p value
G/G	10 (43.48)	18 (28.13)	reference	
G/A	12 (52.17)	31 (48.44)	1.435 (0.517 - 3.982)	0.487
A/A	1 (4.35)	15 (23.44)	8.333 (0.955 - 72.754)	0.036**
G/A + A/A	13 (56.52)	46 (71.87)	1.966 (0.732 - 5.281)	0.176
A/A	1 (4.35)	15 (23.44)	reference	
G/A	12 (52.17)	31 (48.44)	0.172 (0.020 - 1.451)	0.090*
G/A + G/G	22 (95.65)	49 (76.56)	0.148 (0.018 - 1.195)	0.059*
αλληλόμορφο G	32 (69.57)	67 (52.34)	reference	
αλληλόμορφο A	14 (30.43)	61 (47.66)	2.081 (1.016 - 4.264)	0.043**

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 υποομάδες, ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Από τους 87 ασθενείς, οι 43 εμφάνισαν την ασθένεια σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών (late-onset vitiligo). 19 από αυτούς τους ασθενείς (43.18%) είναι ετερόζυγοι (A/G), 19 ασθενείς (43.18%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (G/G) και 6 ασθενείς (13.64%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (A/A). Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 64.77% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 35.23%. (Πίνακας 19)

Στους υπόλοιπους ασθενείς (44 ασθενείς) κυριάρχησε η ετεροζυγωτία (A/G) (24 ασθενείς, 55.81%), ενώ 10 ασθενείς (23.26%) ήταν ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (A/A) και 9 ασθενείς (20.93%) για το φυσικό αλληλόμορφο (G/G). Το φυσικό αλληλόμορφο G εμφανίζεται σε ποσοστό 51.16% ενώ το μεταλλαγμένο A σε ποσοστό 48.84%. (Πίνακας 19)

Υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 30 ετών και σε > 30 ετών, και σε επίπεδο γονοτύπων και σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 19)

Πίνακας 19: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό BsmI (rs1544410) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 30 έτη (*: το $0.05 < p \text{ value} \leq 0.1$ φανερώνει μία τάση του γονότυπου να επηρεάσει την ηλικία εμφάνισης λεύκης, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας 95%, **: στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα)

BsmI (rs1544410)				
	Ηλικία εμφάνισης > 30 , n (%)	Ηλικία εμφάνισης ≤ 30 , n (%)	OR (95% CI)	p value
G/G	9 (20.93)	19 (43.18)	reference	
G/A	24 (55.81)	19 (43.18)	0.375 (0.139 – 1.015)	0.051*
A/A	10 (23.26)	6 (13.64)	0.284 (0.079 – 1.028)	0.051*
G/A + A/A	34 (79.07)	25 (56.82)	0.348 (0.135 – 0.897)	0.026**
A/A	10 (23.26)	6 (13.64)	reference	
G/A	24 (55.81)	19 (43.18)	1.319 (0.406 – 4.283)	0.644
G/A + G/G	33 (76.74)	38 (86.36)	1.919 (0.630 – 5.849)	0.247
αλληλόμορφο G	42 (48.84)	57 (64.77)	reference	
αλληλόμορφο A	44 (51.16)	31 (35.23)	0.519 (0.283 – 0.954)	0.034**

3.2.3. Κατανομή συχνοτήτων του TaqI (rs731236)

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 υποομάδες, ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Από τους 87 ασθενείς, οι 23 εμφάνισαν την ασθένεια σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών (early-onset vitiligo). Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών (14 ασθενείς, 60.87%) ήταν ετερόζυγοι (T/C), 9 ασθενείς (39.13%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T), ενώ κανένας ασθενής δεν ήταν ομόζυγος για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 69.57% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 30.43%. (Πίνακας 20)

Στους υπόλοιπους ασθενείς (64 ασθενείς) κυριάρχησε επίσης η ετεροζυγωτία (T/C) (27 ασθενείς, 42.19%), ενώ 25 ασθενείς (39.06%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T) και 12 ασθενείς (18.75%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 60.16% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 39.84%. (Πίνακας 20)

Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 20 ετών και σε > 20 ετών, ούτε σε επίπεδο γονοτύπων ούτε σε επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 20)

Πίνακας 20: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 20 έτη (*: το $0.05 < p \text{ value} \leq 0.1$ φανερώνει μία τάση του γονότυπου να επηρεάσει την ηλικία εμφάνιση λεύκης, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας 95%)

TaqI (rs731236)				
	Ηλικία εμφάνισης ≤ 20 , n (%)	Ηλικία εμφάνισης > 20 , n (%)	OR (95% CI)	p value
T/T	9 (39.13)	25 (39.06)	reference	
T/C	14 (60.87)	27 (42.19)	0.694 (0.256 - 1.885)	0.473
C/C	-	12 (18.75)	5.000 (0.576 - 43.388)	0.148
T/C + C/C	14 (60.87)	39 (60.94)	1.003 (0.378 - 2.662)	0.995
C/C	-	12 (18.75)	reference	
T/C	14 (60.87)	27 (42.19)	0.144 (0.017 - 1.206)	0.083*
T/C + T/T	23 (100.00)	52 (81.25)	0.170 (0.021 - 1.374)	0.101*
αλληλόμορφο T	32 (69.57)	77 (60.16)	reference	
αλληλόμορφο C	14 (30.43)	51 (39.84)	1.514 (0.736 - 3.113)	0.258

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 υποομάδες, ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Από τους 87 ασθενείς, οι 43 εμφάνισαν την ασθένεια σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών (late-onset vitiligo). Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών (21 ασθενείς, 47.73%) είναι ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T), 20 ασθενείς (45.45%) ήταν ετερόζυγοι (T/C) και 3 ασθενείς (6.82%) ήταν ετερόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 70.45% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 29.55%. (Πίνακας 21)

Στους υπόλοιπους ασθενείς (44 ασθενείς) κυριάρχησε η ετεροζυγωτία (T/C) (21 ασθενείς, 48.84%), ενώ 13 ασθενείς (30.23%) ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T) και 4 ασθενείς (9.30%) για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (C/C). Το φυσικό αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε ποσοστό 56.63% ενώ το μεταλλαγμένο C σε ποσοστό 43.37%. (Πίνακας 21)

Υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 30 ετών και σε > 30 ετών, σε επίπεδο γονοτύπων αλλά όχι επίπεδο αλληλομόρφων. (Πίνακας 21)

Πίνακας 21: Κατανομή γονοτύπων και αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό TaqI (rs731236) σε ασθενείς με ηλικία εμφάνισης της λεύκης πριν και μετά τα 30 έτη (*: το $0.05 < p \text{ value} \leq 0.1$ φανερώνει μία τάση του γονότυπου να επηρεάσει την ηλικία εμφάνιση λεύκης, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας 95%, **: στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα)

TaqI (rs731236)				
	Ηλικία εμφάνισης >30, n (%)	Ηλικία εμφάνισης ≤30, n (%)	OR (95% CI)	p value
T/T	13 (30.23)	21 (47.73)	reference	
T/C	21 (48.84)	20 (45.45)	0.590 (0.234 – 1.485)	0.261
C/C	9 (20.93)	3 (6.82)	0.206 (0.047 – 0.905)	0.028**
T/C + C/C	30 (69.77)	23 (52.27)	0.475 (0.197 – 1.144)	0.095*
C/C	9 (20.93)	3 (6.82)	reference	
T/C	21 (48.84)	20 (45.45)	2.857 (0.675 – 12.096)	0.144
T/C + T/T	34 (79.07)	41 (93.18)	3.618 (0.907 – 14.430)	0.056*
αλληλόμορφο T	47 (56.63)	62 (70.45)	reference	
αλληλόμορφο C	36 (43.37)	26 (29.55)	0.547 (0.291 – 1.029)	0.060*

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η λεύκη θεωρείται μία σύνθετη, πολυπαραγοντική ασθένεια, αν και το ανοσοποιητικό σύστημα φαίνεται να έχει κυρίαρχο ρόλο. [8], [15], [16], [25], [28] Το γενετικό υπόβαθρο, σε συνδυασμό με τα περιβαλλοντικά ερεθίσματα, σχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου. [35] Η βιταμίνη D εμφανίζει ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες, δρα έναντι των ROS και ασκεί τις λειτουργίες της με τη σύνδεση της στον υποδοχέα βιταμίνης D (VDR). [18], [28], [48], [50], [61], [63] Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του VDR (VDR), μπορούν να αλλάξουν την έκφραση του γονιδίου, άρα και την ποσότητα της παραγόμενης πρωτεΐνης, ή τη δομή, άρα και τη δράση της πρωτεΐνης. [46], [47], [67], [69] Οι πολυμορφισμοί του VDR έχουν συσχετισθεί στο παρελθόν και με άλλες δερματικές ασθένειες αυτοάνοσης αιτιολογίας όπως η ψωρίαση και η ατοπική δερματίτιδα, αλλά και με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, με τα αποτελέσματα των μελετών όμως να είναι πολλές φορές αντικρουόμενα. [89]–[99] Υπάρχουν επίσης μελέτες που τους συσχετίζουν και με άλλες αυτοάνοσες διαταραχές όπως ο νόσος του Crohn, η νόσος του Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και η σκλήρυνση κατά πλάκας. [10], [59]

Η συγκέντρωση στον ορό της 25(OH)D₃ είναι σημαντικά χαμηλότερη στους ασθενείς με λεύκη σε σχέση με τους υγιείς, αν και υπάρχουν έρευνες που δε συμφωνούν με αυτό το εύρημα. Περίπου το 70,5% των ασθενών με λεύκη έχουν έλλειψη βιταμίνης D (25(OH)D₃ <20ng/mL). Αυτή η έλλειψη δεν γνωρίζουμε αν είναι αίτιο ή αποτέλεσμα της παρουσίας λεύκης. [55], [64], [76], [100]–[108] Οι ασθενείς που πάσχουν από λεύκη, οι οποίοι παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D, συνιστούν ομάδα κινδύνου για εμφάνιση δευτερογενών αυτοάνοσων νοσημάτων. [55], [107], [109], [110]

Οι μελέτες συσχέτισης των πολυμορφισμών του VDR με την εμφάνιση λεύκης εμφανίζουν αντιφατικά αποτελέσματα. (Πίνακας 22) Σύμφωνα με τη μετα-ανάλυση των J. Z. Zhang et al., η λεύκη δε φαίνεται να σχετίζεται με κάποιον από τους τρεις πολυμορφισμούς (FokI, BsmI, TaqI). Παρά όλα αυτά, η ανεπάρκεια 25(OH)D του ορού συσχετίστηκε θετικά με τη συχνότητα εμφάνισης της λεύκης. [76] Η μελέτη των L. A. Ochoa-Ramírez et al., στην οποία συμμετείχαν ασθενείς μεξικανικής καταγωγής, επίσης δεν έδειξε κάποια συσχέτιση μεταξύ λεύκης και πολυμορφισμών του VDR. [111] Στη μελέτη των S. Birlea et al., σε μία ρουμάνικη κοινότητα, βρέθηκε ότι ο πολυμορφισμός ApaI του VDR, αλλά όχι οι FokI και TaqI, σχετίζονται με την εμφάνιση λεύκης. [112] Οι I. Hassan et al. έδειξαν στη μελέτη τους στον ινδικό πληθυσμό ότι η εμφάνιση λεύκης σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο του VDR, όχι όμως με κάποιον από τους 3 πολυμορφισμούς με τους οποίους ασχολείται η παρούσα μελέτη. Στην ίδια μελέτη τα χαμηλά επίπεδα της 25(OH)D στον ορό συσχετίστηκαν με την ασθένεια. [100] Αντίθετα, η μελέτη των K. Li et al. έδειξε ότι οι πολυμορφισμοί του VDR μπορεί να επηρεάσουν τα επίπεδα της βιταμίνης D στον ορό και τον κίνδυνο ανάπτυξης λεύκης σε Κινέζους.

Το αλληλόμορφο A του BsmI και το αλληλόμορφο C του TaqI σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης λεύκης. [113] Στη μελέτη των İ. E. Aydingöz et al. εμφανίστηκε συσχέτιση μεταξύ του γονότυπου CC και του C αλληλόμορφου του TaqI και της λεύκης σε Καυκάσιο πληθυσμό (Τούρκοι). [114] Στη μελέτη των S. Sobeih et al. σε Αιγύπτιους ασθενείς, ο γονότυπος CC του TaqI σχετίστηκε επίσης με τον κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας. [105] Μία μετα-ανάλυση των L. Li et al. έδειξε ότι ο γονότυπος GG του BsmI σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης σε Ανατολικούς Ασιάτες. [115] Κοινό εύρημα όλων των μελετών αυτών είναι η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ του πολυμορφισμού FokI του VDR και τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης. Ο πολυμορφισμός BsmI σχετίστηκε με την εμφάνιση λεύκης μόνο στους Ανατολικούς Ασιάτες. Ο πολυμορφισμός TaqI, και συγκεκριμένα ο γονότυπος CC, βρέθηκε ότι αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης σε Αιγύπτιους και Τούρκους, ενώ δρα προστατευτικά στους Ανατολικούς Ασιάτες.

Πίνακας 22: Μελέτες συσχέτισης των πολυμορφισμών του VDR και της εμφάνισης λεύκης (*: μετα-ανάλυση)

Μελέτη	Πληθυσμός	N	♀	♂	Ηλικία (mean±SD)	Μέθοδος	FokI	BsmI	TaqI
[113]	Ανατολικοί Ασιάτες (Κινέζοι)	749	44.7%	55.3%	24.7±13.6	PCR-RFLP	καμία συσχέτιση	αλληλόμορφο A: ↓ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης	αλληλόμορφο C: ↓ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης
[105]	Αιγύπτιοι	75	-	-	31.5±13.5	PCR-RFLP	καμία συσχέτιση	-	γονότυπος CC: ↑ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης
[114]	Καυκάσιοι (Τούρκοι)	98	46.9%	53.1%	39.0±12.05	PCR με LightSNiP	καμία συσχέτιση	καμία συσχέτιση	γονότυπος CC και αλληλόμορφο C: ↑ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης
[112]	Καυκάσιοι (Ρουμάνοι)	31	67.7%	32.3%	53.0±17.1	PCR-RFLP	καμία συσχέτιση	-	καμία συσχέτιση
[100]	Ινδοί	100	61.0%	39.0%	28.66±11.98	PCR-RFLP	καμία συσχέτιση	καμία συσχέτιση	καμία συσχέτιση
[111]	Μεξικανοί	173	53.2%	46.8%	-	PCR-RFLP	-	καμία συσχέτιση	καμία συσχέτιση
[76]*	-	-	-	-	-	-	καμία συσχέτιση	καμία συσχέτιση	καμία συσχέτιση
[115] *	Ανατολικοί Ασιάτες και Καυκάσιοι	1144	-	-	-	-	-	γονότυπος GG: ↑ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης στους Ανατολικούς Ασιάτες	-

4.1. Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία

Η σύγκριση της κατανομής των φύλων μεταξύ ασθενών και μαρτύρων έδειξε ότι ο αριθμός των γυναικών ήταν μεγαλύτερος στο δείγμα των ασθενών από ότι στο δείγμα των μαρτύρων ($OR=1.375$), χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό ($p=0.185$). (Διάγραμμα 1, Διάγραμμα 11) Αυτή η διαφορά μπορεί να οφείλεται στη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή των δειγμάτων, η οποία ήταν τυχαία δειγματοληψία. Επίσης, μπορεί να είναι απόρροια των κοινωνικών διακρίσεων σχετικών με την εξωτερική εμφάνιση, που απευθύνονται και επηρεάζουν εντονότερα το γυναικείο φύλο. [17] Η κατανομή των ηλικιών παρουσιάζει επίσης διαφοροποιήσεις, η οποίες αντίστοιχα μπορεί να είναι αποτέλεσμα του τρόπου δειγματοληψίας. (Διάγραμμα 2, Διάγραμμα 12)

Ο κύριος κλινικός τύπος της ασθένειας ήταν η γενικευμένη λεύκη, αποτέλεσμα που ήταν αναμενόμενο, αφού αποτελεί την πιο κοινή μορφή της. [25] (Διάγραμμα 4) Αντιθέτως, οι μισοί ασθενείς εμφάνισαν τη νόσο σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών, αποτέλεσμα μη αναμενόμενο αφού το 70-80% των ασθενών εμφανίζουν λεύκη σε ηλικία μικρότερη των 30 ετών. [16], [19] (Διάγραμμα 5) Αυτό μπορεί να οφείλεται στην ηλικιακή κατανομή του δείγματος, αλλά και σε γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.

4.2. Πολυμορφισμός FokI (rs2228570) του γονιδίου VDR

Ο πολυμορφισμός FokI (rs2228570) εντοπίζεται στην θέση έναρξης μετάφρασης του *VDR*, όπου μια αλλαγή βάσης T σε C εξαλείφει το κωδικόνιο έναρξης στο εξόνιο 2 και η κωδικοποιούμενη πρωτεΐνη έχει μήκος τρία αμινοξέα λιγότερα. [46], [47], [67] Το φυσικό αλληλόμορφο T ασκεί μικρότερη μεταγραφική δραστηριότητα. Είναι ο μόνος γνωστός πολυμορφισμός γονιδίου *VDR* που οδηγεί στη δημιουργία μιας τροποποιημένης πρωτεΐνης. Επίσης, ο πολυμορφισμός αυτός μπορεί να επηρεάσει έμμεσα τα επίπεδα της παραγόμενης πρωτεΐνης του *VDR* μέσω της αυτορρύθμισης. [46], [47], [67]

Ο φυσικός γονότυπος T/T εμφανίζεται 58% πιο συχνά στους ασθενείς με λεύκη σε σχέση με τους μάρτυρες ($OR=1.578$) και το φυσικό αλληλόμορφο T 28% πιο συχνά στους ασθενείς από τους μάρτυρες ($OR=1.277$). Επίσης, η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου είναι περίπου διπλάσια σε άτομα που είναι ομόζυγα για το φυσικό αλληλόμορφο (T/T) σε σχέση με αυτά που είναι ομόζυγα για το μεταλλαγμένο (C/C) ($OR=1.719$). Η ομοζυγωτία για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο C ενδεχομένως δρα προστατευτικά, καθώς ο γονότυπος C/C εμφανίζεται 22% λιγότερο συχνά στους ασθενείς ($OR=0.779$). (Πίνακας 9) Αντίθετα, στη μελέτη των İ. E. Aydingöz et al. σε Καυκάσιους (Τούρκους) φαίνεται ότι ο γονότυπος T/T και το αλληλόμορφο T έχουν προστατευτικό ρόλο, χωρίς να υπάρχει στατιστική σημαντικότητα σε αυτό το

αποτελέσματα. [114] Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συνάδουν με το γεγονός ότι το γονίδιο που φέρει το φυσικό αλληλόμορφο T παράγει μία πρωτεΐνη με μικρότερη μεταγραφική δραστηριότητα. Με άλλα λόγια είναι πιθανό στα άτομα που φέρουν αυτό το αλληλόμορφο η βιταμίνη D να έχει χαμηλότερη ανοσορρυθμιστική και αντιοξειδωτική δράση. Όμως, στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού FokI (rs2228570) και της εμφάνισης λεύκης σε νοτιοανατολικούς ευρωπαίους καυκάσιους ασθενείς. (Πίνακας 9) Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τα ευρήματα των μελετών των S. Birlea et al., I. Hassan et al., K. Li et al., İ. E. Aydingöz et al. και S. Sobeih et al. και της μετα-ανάλυσης των J. Z. Zhang et al., οι οποίοι δε βρήκαν συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού και της λεύκης. [76], [100], [112]–[114]

Ο πολυμορφισμός Fok (rs2228570) είναι πιθανό να παίζει ρόλο στην ηλικία έναρξης της νόσου. Ο φυσικός γονότυπος T/T εμφανίζεται 2.5 φορές λιγότερο συχνά στους ασθενείς με λεύκη όψιμης έναρξης (OR=0.779) και ο μεταλλαγμένος γονότυπος C/C εμφανίζεται σχεδόν με διπλάσια συχνότητα σε αυτούς τους ασθενείς (OR=2.045). Επιπλέον, οι ασθενείς που ήταν ομόζυγοι για το φυσικό αλληλόμορφο T/T είχαν περίπου 3 φορές μικρότερη πιθανότητα να εμφανίσουν λεύκη μετά την ηλικία των 30 ετών σε σχέση με τους ομόζυγους για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο C/C (OR=0.296) και οι φορείς του φυσικού αλληλόμορφου T είχαν επίσης 46% μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης λεύκης όψιμης έναρξης σε σχέση με τους φορείς του μεταλλαγμένου C (OR=0.544). Τα αποτελέσματα αυτά ήταν στατιστικά μη σημαντικά, όμως υπήρχε μία τάση ($p \geq 0.1$) του γονότυπου T/T, σε σύγκριση με το C/C, και του αλληλόμορφου T να επηρεάσουν την ηλικία εμφάνισης λεύκης. (Πίνακας 17) Από αυτά τα αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι υπάρχει πιθανότητα το αλληλόμορφο C και ο γονότυπος C/C να προδιαθέτουν στην εμφάνιση της λεύκης μετά τα 30 έτη.

4.3. Πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) του γονιδίου VDR

Ο πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) (G>A) βρίσκεται στο ιντρόνιο 8 στο 3' άκρο του VDR. [46], [67] Δεν αλλάζει την αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης, ωστόσο, μπορεί να επηρεάσει την γονιδιακή έκφραση μέσω της μεταβολής της σταθερότητας του mRNA, της διαταραχής των θέσεων ματίσματος του mRNA ή της αλλαγής στα ρυθμιστικά στοιχεία του ιντρονίου που βρίσκεται. [46], [67], [69], [70], [73]

Ο φυσικός γονότυπος G/G φαίνεται να έχει προστατευτική δράση στην εμφάνιση της λεύκης, αφού όσοι έχουν το συγκεκριμένο γονότυπο έχουν 18% μικρότερη πιθανότητα να νοσήσουν (OR=0.824). Το ίδιο ισχύει και για το φυσικό αλληλόμορφο G καθώς οι φορείς του εμφανίζουν 14% μικρότερη πιθανότητα να

νοσήσουν ($OR=0.865$). Αντίθετα, ο μεταλλαγμένος γονότυπος A/A ενδεχομένως έχει βλαπτική επίδραση αφού η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου είναι 20% παραπάνω. (Πίνακας 11) Η μετα-ανάλυση των L. Li et al. δε συμφωνεί με τα αποτελέσματα αυτά, καθώς έδειξε ότι ο γονότυπος G/G του BsmI και το αλληλόμορφο G σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης σε Ανατολικούς Ασιάτες. [115] Το αποτέλεσμα έρχεται επίσης σε αντίθεση με τη μελέτη των K. Li et al., η οποία έδειξε ότι ο γονότυπος G/G του BsmI σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης λεύκης και το αλληλόμορφο A σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε Ανατολικούς Ασιάτες. [113] Αυτός ο πληθυσμός όμως διαφέρει γενετικά τόσο σε σχέση με τον παγκόσμιο πληθυσμό, όσο και τον ευρωπαϊκό, αφού σύμφωνα με τα δεδομένα της σελίδας Ensembl οι Ανατολικοί Ασιάτες φέρουν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο A σε πολύ μικρότερο ποσοστό (6.4%) σε σχέση με τους Ευρωπαίους (40.4%) αλλά και τον παγκόσμιο πληθυσμό (29.6%) (www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:47845552-47846552;v=rs1544410;vdb=variation;vf=471620292). Στη μελέτη των İ. E. Aydingöz et al. φαίνεται επίσης ότι το αλληλόμορφο G και ο γονότυπος G/G έχει προστατευτική επίδραση στην εμφάνιση της νόσου, όμως το αποτέλεσμα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό. [114] Στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού BsmI (rs1544410) και της εμφάνισης λεύκης σε ασθενείς νοτιοανατολικής ευρωπαϊκής καυκάσιας καταγωγής. (Πίνακας 11) Οι μελέτες των L. A. Ochoa-Ramírez et al., I. Hassan et al., İ. E. Aydingöz et al. και η μετα-ανάλυση των J. Z. Zhang et al. δε βρήκαν επίσης καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού και της λεύκης. [76], [100], [111], [114]

Ο πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) φαίνεται να παίζει ρόλο στην ηλικία έναρξης της νόσου, αφού ο φυσικός γονότυπος G/G συνδέεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης λεύκης πρώιμης έναρξης (early-onset) σε σχέση με το μεταλλαγμένο γονότυπο A/A ($p=0.036$, $OR=8.333$), όπως και το φυσικό αλληλόμορφο G σε σχέση με το μεταλλαγμένο A ($p=0.043$, $OR=2.081$). Οι ασθενείς που είναι ομόζυγα για το φυσικό γονότυπο G/G έχουν οκταπλάσια πιθανότητα να νοσήσουν σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών σε σχέση με αυτούς που είναι ομόζυγα για το μεταλλαγμένο A/A και οι φορείς του φυσικού αλληλόμορφου G έχουν διπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν την ασθένεια σε ηλικία κάτω των 20 ετών. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν στατιστικά σημαντικά ($p \geq 0.05$) σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Επιπλέον, εμφανίστηκε μία τάση ($p < 0.1$) του μεταλλαγμένου γονότυπου A/A να επηρεάσει την ηλικία έναρξης της νόσου. Πιο συγκεκριμένα, ο μεταλλαγμένος γονότυπος A/A είναι πιθανό να επιδρά προστατευτικά στην εμφάνιση λεύκη πρώιμης έναρξης, αφού ασθενείς με αυτό το γονότυπο έχουν περίπου 7 φορές μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών ($OR=0.148$). Αντίστοιχα, η πιθανότητα εμφάνισης λεύκης πρώιμης έναρξης είναι περίπου 6 φορές μικρότερη στους ασθενείς που

είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο γονότυπο A/A σε σχέση με τους ετεροζυγώτες (OR=0.172). (Πίνακας 18) Από αυτά τα δεδομένα θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο A αλλά και η ομοζυγωτία για αυτό (A/A) δρα προστατευτικά στην εμφάνιση λεύκης πριν την ηλικία των 20 ετών και ότι το φυσικό αλληλόμορφο G συμβάλλει στον κίνδυνο εμφάνισής της.

Επιπλέον, ο πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) είναι πιθανό να συνδέεται και με τη λεύκη όψιμης έναρξης (late-onset), καθώς οι ασθενείς που φέρουν το φυσικό γονότυπο G/G εμφανίζουν 3 φορές μικρότερη πιθανότητα να νοσήσουν σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών ($p=0.026$, OR=0.348). Οι φορείς του φυσικού αλληλόμορφου G έχουν επίσης σχεδόν 2 φορές μικρότερη πιθανότητα να εμφανίσουν λεύκη όψιμης έναρξης ($p=0.034$, OR=0.519). Τα αποτελέσματα αυτά ήταν στατιστικά σημαντικά ($p \geq 0.05$) σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Επιπλέον, εμφανίστηκε μία τάση ($p < 0.1$) του φυσικού γονότυπου G/G να επηρεάσει την ηλικία έναρξης της νόσου, σε σχέση με το μεταλλαγμένο γονότυπο A/A και την ετεροζυγωτία G/A. Η πιθανότητα να εμφανίσει ένα άτομο που έχει το γονότυπο G/G λεύκη όψιμης έναρξης είναι 2.5 φορές μικρότερη σε σχέση με ένα άτομο που είναι ετερόζυγο και 3.5 φορές μικρότερη σε σχέση με ένα άτομο που έχει το μεταλλαγμένο γονότυπο A/A (OR=0.375 και OR=0.248, αντίστοιχα). Τέλος, ο μεταλλαγμένος γονότυπος A/A φαίνεται να αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης λεύκης μετά την ηλικία των 30 ετών, αφού ασθενείς με αυτό γονότυπο έχουν σχεδόν διπλάσια πιθανότητα εμφάνισης αυτού του τύπου λεύκης (OR=1.919), χωρίς όμως αυτό το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό. (Πίνακας 19) Από αυτό θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο A συμβάλλει στην εμφάνιση λεύκης μετά την ηλικία των 30 ετών.

4.4. Πολυμορφισμός TaqI (rs731236) του γονιδίου *VDR*

Ο πολυμορφισμός TaqI (rs731236) (T>C) βρίσκεται στο εξόνιο 9 του *VDR*. [67] Ο γονότυπος TT έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα της δραστηρικής βιταμίνης D στην κυκλοφορία. [46] Βρίσκεται σε μία θέση CpG και επηρεάζει την περιφερειακή μεθυλίωση του CGI (CG Island) 1060 στο 3' άκρο του *VDR*. Η μεθυλίωση του CGI 1060 μπορεί να επηρεάσει τη ρύθμιση του 3' υποκινητή, οδηγώντας τη μεταγραφή ενός lncRNA (long non-coding RNA) και ενδεχομένως ρυθμίζοντας έκφραση του *VDR* μετα-μεταγραφικά. [47]

Στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού TaqI (rs731236) και της εμφάνισης λεύκης σε ευρωπαίους νοτιοανατολικούς καυκάσιους ασθενείς. (Πίνακας 13) Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τα ευρήματα των μελετών των L. A. Ochoa-Ramírez et al., S. Birlea et al., I. Hassan et al. και της μετα-ανάλυσης των J. Z. Zhang et al.. [76], [100], [111], [112] Αντίθετα, η μελέτη των K. Li et al. σε Ανατολικούς Ασιάτες έδειξε το αλληλόμορφο C του TaqI σχετίζεται

με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης λεύκης. [113] Ο πληθυσμός αυτός διαφέρει γενετικά σε σχέση με τον παγκόσμιο και τον ευρωπαϊκό πληθυσμό, αφού με βάση τα δεδομένα της σελίδας Ensembl οι Ανατολικοί Ασιάτες φέρουν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο T σε πολύ μικρότερο ποσοστό (6.7%) σε σχέση με τους Ευρωπαίους (40.0%) και τον παγκόσμιο πληθυσμό (27.7%) (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=12:47844474-47845474;v=rs731236;vdb=variation;vf=471590521). Στη μελέτη των İ. E. Aydingöz et al. σε Τούρκους εμφανίστηκε συσχέτιση μεταξύ του CC γονότυπου και του C αλληλόμορφου του TaqI και της λεύκης. [114] Στη μελέτη των S. Sobeih et al. σε Αιγύπτιους ασθενείς, ο CC γονότυπος του TaqI σχετίστηκε επίσης με τον κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας, κάτι που δε συμφωνεί με τα αποτελέσματά μας. [105]

Ο πολυμορφισμός TaqI (rs731236) φαίνεται να παίζει ρόλο στην ηλικία έναρξης της νόσου. Εμφανίστηκε μία τάση ($p < 0.1$) του μεταλλαγμένου γονότυπου C/C να επηρεάσει την ηλικία έναρξης της νόσου. Οι ασθενείς με αυτό το γονότυπο είχαν σχεδόν 6 φορές μικρότερη πιθανότητα να εμφανίσουν λεύκη πρώιμης έναρξης ($OR = 0.170$). Επιπλέον, η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου φαίνεται να είναι 7 φορές μικρότερη στους ασθενείς που έχουν το μεταλλαγμένο γονότυπο C/C σε σχέση με τους ετερόζυγους ασθενείς ($OR = 0.144$). Ο φυσικός γονότυπος T/T ενδεχομένως συμβάλει στη εμφάνιση λεύκης σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών, αφού οι ασθενείς με αυτό το γονότυπο έχουν πενταπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν αυτόν τον τύπο λεύκης, σε σχέση με αυτούς που έχουν το μεταλλαγμένο γονότυπο C/C, χωρίς όμως το αποτέλεσμα να είναι στατιστικά σημαντικό. Τέλος, το αλληλόμορφο T εμφανίζεται ως επιβαρυντικός παράγοντας στην εμφάνιση λεύκης πρώιμης έναρξης, καθώς οι ασθενείς που φέρουν αυτό το αλληλόμορφο έχουν 51% πιθανότητα εμφάνισης λεύκης πριν από τα 20. Το αποτέλεσμα αυτό δεν ήταν στατιστικά σημαντικό. (Πίνακας 20) Συμπερασματικά, είναι πιθανόν ο γονότυπος C/C να δρα προστατευτικά στην εμφάνιση της νόσου σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών.

Επιπλέον, ο πολυμορφισμός TaqI (rs731236) είναι πιθανό να συνδέεται και με τη λεύκη όψιμης έναρξης (late-onset). Ασθενείς που έχουν το φυσικό γονότυπο T/T φαίνεται να έχουν περίπου 5 φορές μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης αυτού του τύπου λεύκης σε σχέση με αυτούς που έχουν το μεταλλαγμένο γονότυπο C/C ($p = 0.028$, $OR = 0.206$). Το αποτέλεσμα αυτό ήταν στατιστικά σημαντικό ($p \geq 0.05$) σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Η ομοζυγωτία για το φυσικό αλληλόμορφο T/T φαίνεται ότι μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης λεύκης σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 στους ασθενείς σχεδόν 2 φορές ($OR = 0.475$), ενώ ασθενείς ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο C/C έχουν 3.5 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης λεύκης όψιμης έναρξης ($OR = 3.618$). Το αλληλόμορφο T είναι πιθανό να σχετίζεται επίσης με μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης αυτού του τύπου λεύκης, και συγκεκριμένα οι φορείς του εμφανίζουν

σχεδόν 2 φορές μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης λεύκης μετά την ηλικία των 30 ετών. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν στατιστικά μη σημαντικά, όμως υπήρχε μία τάση ($p \geq 0.1$) του γονότυπου T/T και του γονότυπου C/C, και του αλληλόμορφου T να επηρεάσουν την ηλικία εμφάνισης λεύκης. (Πίνακας 21) Από αυτό θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο C και ο γονότυπος C/C συμβάλλουν στην εμφάνιση λεύκης μετά την ηλικία των 30 ετών.

4.5. Απλότυποι του γονιδίου *VDR*

Δεν υπήρχε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$) ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες σε επίπεδο απλοτύπων, όμως ο απλότυπος TG των TaqI/BsmI εμφανίζει μία τάση προστασίας από την εμφάνιση λεύκης ($p < 0.1$), (Πίνακας 14, Πίνακας 15) όταν συγκρίνεται με τον TA. Άτομα που φέρουν τον απλότυπο TG έχουν 2.5 φορές μικρότερη πιθανότητα να εμφανίσουν την ασθένεια ($OR = 0.377$), σε σχέση με αυτά που φέρουν τον απλότυπο TA. (Πίνακας 15) Στη βιβλιογραφία δύο μελέτες εφάρμοσαν ανάλυση και σύγκριση απλοτύπων. Από αυτές, η μελέτη των L. A. Ochoa-Ramírez et al. δεν έδειξε κάποια συσχέτιση μεταξύ λεύκης και των διαφορετικών απλοτύπων του *VDR*, ενώ αυτή των İ. E. Aydingöz et al. έδειξε ότι η συχνότητα του απλότυπου GAT των BsmI/ApaI/TaqI ήταν χαμηλότερη στους ασθενείς με λεύκη. [111], [114]

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φαίνεται ότι δεν υπάρχει κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της προδιάθεσης για εμφάνιση λεύκης και των πολυμορφισμών FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) και TaqI (rs731236) του γονιδίου *VDR*. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί για τον FokI (rs2228570) και με άλλες μελέτες που έχουν γίνει, όπου επίσης δε βρέθηκε συσχέτιση. Αντίθετα, για τους BsmI (rs1544410) και TaqI (rs731236) έχουν υπάρξει μελέτες που τους έχουν συσχετίσει με την ασθένεια.

Ωστόσο, οι πολυμορφισμοί του *VDR* είναι πιθανόν να σχετίζονται με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Ειδικότερα, το αλληλόμορφο G και ο γονότυπος G/G του BsmI (rs1544410) φαίνεται να σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης λεύκης πρώιμης έναρξης, και το αλληλόμορφο G και ο γονότυπος G/G του BsmI (rs1544410) και ο γονότυπος T/T του TaqI (rs731236) με μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης λεύκης όψιμης έναρξης. Θα πρέπει όμως να γίνουν περισσότερες μελέτες, με περισσότερους ασθενείς, για να επιβεβαιωθεί το αποτέλεσμα αυτό. Οι πολυμορφισμοί αυτοί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί βιοδείκτες σε άτομα με αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης λεύκης, όπως άτομα με οικογενειακό ιστορικό λεύκης ή κάποιας άλλης αυτοάνοσης διαταραχής και σε άτομα που τα ίδια πάσχουν από κάποια αυτοάνοση διαταραχή. Πιο συγκεκριμένα, ο πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης σε άτομα μικρής ηλικίας που φέρουν αυτά τα χαρακτηριστικά για την πρόγνωση εμφάνισης λεύκης πρώιμης έναρξης, ενώ τόσο ο πολυμορφισμός BsmI (rs1544410) όσο και ο TaqI (rs731236) θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την πρόγνωση της εμφάνισης λεύκης όψιμης έναρξης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] P. A. J. Kolarsick, M. A. Kolarsick, and C. Goodwin, "Anatomy and Physiology of the Skin," *J. Dermatology Nurses' Assoc.*, vol. 3, no. 4, pp. 203–213, 2011.
- [2] S. Patel, A. Rauf, H. Khan, B. R. Meher, and S. S. ul Hassan, "A holistic review on the autoimmune disease vitiligo with emphasis on the causal factors," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 92, pp. 501–508, 2017.
- [3] A. Reichert Faria, R. Gomes Tarle, G. Dellatorre, M. Tavora Mira, and C. C. Silva de Castro, "Vitiligo - Part 2 - Classification, histopathology and treatment," *An. Bras. Dermatol.*, vol. 89, no. 5, pp. 784–790, 2014.
- [4] S. A. N. D'Mello, G. J. Finlay, B. C. Baguley, and M. E. Askarian-Amiri, "Signaling pathways in melanogenesis," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, no. 7, pp. 1–18, 2016.
- [5] M. Singh, A. Kotnis, S. D. Jadeja, A. Mondal, M. S. Mansuri, and R. Begum, "Cytokines: the yin and yang of vitiligo pathogenesis," *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2018.
- [6] C. Niu and H. A. Aisa, "Upregulation of Melanogenesis and Tyrosinase Activity: Potential Agents for Vitiligo," *Molecules*, vol. 22, no. 8, 2017.
- [7] E. Bastonini, B. Bellei, A. Filoni, D. Kovacs, P. Iacovelli, and M. Picardo, "Involvement of non melanocytic skin cells in vitiligo," *Exp. Dermatol.*, 2018.
- [8] A. Bishnoi and D. Parsad, "Clinical and molecular aspects of vitiligo treatments," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 5, 2018.
- [9] S. Kim and A. Misra, "SNP Genotyping: Technologies and Biomedical Applications," *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 9, no. 1, pp. 289–320, 2007.
- [10] J. M. Valdivielso and E. Fernandez, "Vitamin D receptor polymorphisms and diseases," *Clin. Chim. Acta*, vol. 371, pp. 1–12, 2006.
- [11] K. Matsuda, *PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation*, 1st ed. Elsevier Inc., 2017.
- [12] E. J. Fernandez, "Allosteric Pathways in Nuclear Receptors – Potential Targets for Drug Design," *Pharmacol. Ther.*, vol. 183, no. 3, pp. 152–159, 2018.
- [13] J. El Hokayem, C. Amadei, J.-P. Obeid, and Z. Nawaz, "Ubiquitination of nuclear receptors," *Clin. Sci.*, vol. 131, pp. 917–934, 2017.
- [14] E. R. Levin and S. R. Hammes, "Nuclear receptors outside the nucleus: extranuclear signalling by steroid receptors," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 17, no. 12, pp. 783–797, 2016.
- [15] R. Gomes Tarle, L. Machado do Nascimento, M. Tavora Mira, and C. C. Silva de Castro, "Vitiligo - Part 1," *An. Bras. Dermatol.*, vol. 89, no. 3, pp. 461–470, 2014.
- [16] M. Picardo, M. L. Dell'Anna, K. Ezzedine, I. Hamzavi, J. E. Harris, D. Parsad, and A. Taieb, "Vitiligo," *Nat. Rev. Dis. Prim.*, vol. 1, pp. 1–16, 2015.
- [17] D. Chen, H. Tuan, E. Y. Zhou, D. Liu, and Y. Zhao, "Quality of life of adult vitiligo patients using camouflage: A survey in a Chinese vitiligo community," *PLoS One*, vol. 14, no. 1, 2019.
- [18] S. A. Birlea, G.-E. Costin, and D. A. Norris, "New insights on therapy with vitamin D analogs targeting the intracellular pathways that control repigmentation in human vitiligo," *Med. Res. Rev.*, vol. 29, no. 3, pp. 514–546, 2009.
- [19] A. M. Dahir and S. F. Thomsen, "Comorbidities in vitiligo: comprehensive review," *Int. J. Dermatol.*, vol. 57, no. 10, pp. 1157–1164, 2018.
- [20] A. J. Kanwar, R. Mahajan, and D. Parsad, "Effect of Age at Onset on Disease Characteristics in Vitiligo," *J. Cutan. Med. Surg.*, vol. 17, no. 4, pp. 253–258, 2015.
- [21] J. Tang, J. L. Liu, C. Zhang, D. Y. Hu, S. M. He, X. B. Zuo, P. G. Wang, L. D. Sun, X. J. Zhang, and S. Yang, "The association between a single nucleotide polymorphism rs11966200 in MHC region and clinical features of generalized vitiligo in Chinese Han population," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 40, pp. 4097–4100, 2013.
- [22] T. Traks, M. Karelson, E. Reimann, R. Rätsep, H. Silm, E. Vasar, S. Kõks, and K. Kingo, "Association analysis of class II cytokine and receptor genes in vitiligo patients," *Hum. Immunol.*, vol. 77, pp. 375–381, 2016.
- [23] P. Song, K. Li, L. Liu, X. Wang, Z. Jian, W. Zhang, G. Wang, C. Li, and T. Gao, "Genetic polymorphism of the Nrf2 promoter region is associated with vitiligo risk in Han Chinese populations," *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 20, no. 10, pp. 1840–1850, 2016.
- [24] T. Traks, M. Keermann, M. Karelson, R. Rätsep, E. Reimann, H. Silm, E. Vasar, S. Kõks, and K. Kingo, "Polymorphisms in Toll-like receptor genes are associated with vitiligo," *Front. Genet.*, vol. 6, 2015.
- [25] K. Boniface, J. Seneschal, M. Picardo, and A. Taïeb, "Vitiligo: Focus on Clinical Aspects, Immunopathogenesis, and

Therapy," *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, vol. 54, pp. 52–67, 2018.

- [26] K. Ezzedine, V. Eleftheriadou, M. Whittton, and N. Van Geel, "Vitiligo," *Lancet*, vol. 386, no. 9988, pp. 74–84, 2015.
- [27] M. Hu, T.-M. Wang, Y.-Y. Dong, Q.-Y. She, S. Gao, D.-X. Liu, and Y.-H. Deng, "Rs3213758 in the RPGRIP1L Gene Associated with Susceptibility to Segmental Vitiligo in a Chinese Han Population," *Chin. Med. J. (Engl.)*, vol. 131, no. 24, pp. 3022–3024, 2018.
- [28] S. Birlea, G.-E. Costin, and D. Norris, "Cellular and Molecular Mechanisms Involved in the Action of Vitamin D Analogs Targeting Vitiligo Depigmentation," *Curr. Drug Targets*, vol. 9, no. 4, pp. 345–359, 2008.
- [29] V. Delmas and L. Larue, "Molecular and cellular basis of depigmentation in vitiligo patients," *Exp. Dermatol.*, 2018.
- [30] R. A. Spritz and G. H. L. Andersen, "Genetics of Vitiligo," *Dermatol. Clin.*, vol. 35, no. 2, pp. 245–255, 2017.
- [31] M. Ghada F, G. Amal HA, and M. Saleh Al-Dhubaibi, "Highlights in pathogenesis of vitiligo," *World J. Clin. Cases*, vol. 3, no. 3, pp. 221–230, 2015.
- [32] T. Lotti and A. M. D'Erme, "Vitiligo as a systemic disease," *Clin. Dermatol.*, vol. 32, no. 3, pp. 430–434, 2014.
- [33] A. K. Jha, S. Sonthalia, A. Lallas, and R. K. P. Chaudhary, "Dermoscopy in vitiligo: Diagnosis and beyond," *Int. J. Dermatol.*, vol. 57, no. 1, pp. 50–54, 2018.
- [34] B. S. Daniel and R. Wittal, "Vitiligo treatment update," *Australas. J. Dermatol.*, vol. 56, no. 2, pp. 85–92, 2015.
- [35] R. Czajkowski and K. Mecińska-Jundziłł, "Current aspects of vitiligo genetics," *Postep. Dermatologii i Alergol.*, vol. 31, no. 4, pp. 247–255, 2014.
- [36] R. A. Spritz, "Modern vitiligo genetics sheds new light on an ancient disease," *J. Dermatol.*, vol. 40, no. 5, pp. 310–318, 2013.
- [37] R. A. Spritz, "The genetics of vitiligo," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 131, no. E1, pp. E18–E20, 2011.
- [38] Y. Jin, G. H. L. Roberts, T. M. Ferrara, S. Ben, N. van Geel, A. Wolkerstorfer, K. Ezzedine, J. Siebert, C. P. Neff, B. E. Palmer, S. A. Santorico, and R. A. Spritz, "Early-onset autoimmune vitiligo associated with an enhancer variant haplotype that upregulates class II HLA expression," *Nat. Commun.*, vol. 10, no. 391, 2019.
- [39] T. Sindhuja, K. Vinay, D. Parsad, and M. S. Kumaran, "Coexisting cutaneous disorders in vitiligo: a retrospective analysis," *Clin. Exp. Dermatol.*, pp. 8–10, 2019.
- [40] S. Esmat, R. A. Hegazy, S. Shalaby, S. Chu-Sung Hu, and C. C. E. Lan, "Phototherapy and Combination Therapies for Vitiligo," *Dermatol. Clin.*, vol. 35, no. 2, pp. 171–192, 2017.
- [41] A. Juzeniene, M. Grigalavicius, M. Juraleviciute, and W. B. Grant, "Phototherapy and vitamin D," *Clin. Dermatol.*, vol. 34, no. 5, pp. 548–555, 2016.
- [42] N. Silpa-Archa, P. Weerasubpong, N. Junsuwan, P. Yothachai, O. Supapueng, and C. Wongpraparut, "Treatment outcome and persistence of repigmentation from narrow-band ultraviolet B phototherapy in vitiligo," *J. Dermatolog. Treat.*, 2018.
- [43] T. F. Mohammad and I. H. Hamzavi, "Surgical Therapies for Vitiligo," *Dermatol. Clin.*, vol. 35, no. 2, pp. 193–203, 2017.
- [44] P. E. Grimes and R. Nashawati, "Depigmentation Therapies for Vitiligo," *Dermatol. Clin.*, vol. 35, no. 2, pp. 219–227, 2017.
- [45] B. E. Cohen, N. Elbuluk, E. W. Mu, and S. J. Orlow, "Alternative Systemic Treatments for Vitiligo: A Review," *Am. J. Clin. Dermatol.*, vol. 16, no. 6, pp. 463–474, 2015.
- [46] E. M. Burns, C. A. Elmets, and N. Yusuf, "Invited Review Vitamin D and skin cancer," *Photochem. Photobiol.*, vol. 91, no. 1, pp. 201–209, 2015.
- [47] D. Saccone, F. Asani, and L. Bornman, "Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics," *Gene*, vol. 561, no. 2, pp. 171–180, 2015.
- [48] K. AlGhamdi, A. Kumar, and N. Moussa, "The role of vitamin D in melanogenesis with an emphasis on vitiligo," *Indian J. Dermatology, Venereol. Leprol.*, vol. 79, no. 6, p. 750, 2013.
- [49] D. D. Bikle, "Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications," *Chem. Biol.*, vol. 21, no. 3, pp. 319–329, 2014.
- [50] S. Christakos, P. Dhawan, A. Verstuyf, L. Verlinden, and G. Carmeliet, "Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects," *Physiol. Rev.*, vol. 96, no. 1, pp. 365–408, 2016.
- [51] M. R. Haussler, G. K. Whitfield, I. Kaneko, C. A. Haussler, D. Hsieh, J. C. Hsieh, and P. W. Jurutka, "Molecular mechanisms of vitamin D action," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 92, no. 2, pp. 77–98, 2013.
- [52] J. Reichrath, R. Saturnus, and T. Vogt, "Endocrine actions of vitamin D in skin: Relevance for photocarcinogenesis of non-melanoma skin cancer, and beyond," *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 453, pp. 96–102, 2017.
- [53] J. W. Pike and S. Christakos, "Biology and Mechanisms of Action of the Vitamin D Hormone," *Endocrinol. Metab.*

Clin. North Am., vol. 46, no. 4, pp. 815–843, 2017.

- [54] J. Reichrath, R. Saturnus, and T. Vogt, “Challenge and perspective: the relevance of ultraviolet (UV) radiation and the Vitamin D endocrine system (VDES) for psoriasis and other inflammatory skin diseases,” *Photochem. Photobiol. Sci.*, vol. 16, no. 3, pp. 433–444, 2017.
- [55] A. Piotrowska, J. Wierzbicka, and M. A. Zmijewski, “Vitamin D in the skin physiology and pathology,” *Acta Biochim. Pol.*, vol. 63, no. 1, pp. 17–29, 2016.
- [56] H. F. DeLuca, *Vitamin D: Historical Overview*, 1st ed., vol. 100. Elsevier Inc., 2016.
- [57] E. Kechichian and K. Ezzedine, “Vitamin D and the Skin: An Update for Dermatologists,” *Am. J. Clin. Dermatol.*, vol. 19, no. 2, pp. 223–235, 2018.
- [58] S. Upala and A. Sanguankeo, “Low 25-hydroxyvitamin D levels are associated with vitiligo: a systematic review and meta-analysis,” *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, vol. 32, no. 4, pp. 181–190, 2016.
- [59] G. Bizzaro, A. Antico, A. Fortunato, and N. Bizzaro, “Vitamin D and autoimmune diseases: Is vitamin D receptor (VDR) polymorphism the culprit?,” *Isr. Med. Assoc. J.*, vol. 19, no. 7, pp. 438–443, 2017.
- [60] T. R. Mutchie, O. B. Yu, E. S. Di Milo, and L. A. Arnold, “Alternative binding sites at the vitamin D receptor and their ligands,” *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2019.
- [61] Y. Wang, J. Zhu, and H. F. DeLuca, “Where is the vitamin D receptor?,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 523, no. 1, pp. 123–133, 2012.
- [62] N. Nemazannikova, G. L. Blatch, R. Sinclair, C. R. Dass, and V. Apostolopoulos, “Vitamin D enzymes (CYP27A1, CYP27B1, and CYP24A1) and receptor expression in non-melanoma skin cancer,” *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, pp. 1–4, 2018.
- [63] T. Matsui, K. Tanaka, H. Yamashita, K. Saneyasu, H. Tanaka, Y. Takasato, S. Sugiura, N. Inagaki, and K. Ito, “Food allergy is linked to season of birth, sun exposure, and vitamin D deficiency,” *Allergol. Int.*, 2019.
- [64] G. Karagüzel, N. P. Sakarya, S. Bahadır, S. Yaman, and A. Ökten, “Vitamin D status and the effects of oral vitamin D treatment in children with vitiligo: A prospective study,” *Clin. Nutr. ESPEN*, vol. 15, pp. 28–31, 2016.
- [65] S.-M. Lee, J. W. Pike, M. Onal, N. A. Benkusky, and M. B. Meyer, “The vitamin D receptor: contemporary genomic approaches reveal new basic and translational insights,” *J. Clin. Invest.*, vol. 127, no. 4, pp. 1146–1154, 2017.
- [66] A. Y. Belorusova and N. Rochel, *Structural Studies of Vitamin D Nuclear Receptor Ligand-Binding Properties*, 1st ed., vol. 100. Elsevier Inc., 2016.
- [67] A. H. Poon, L. Gong, C. Brasch-Andersen, A. A. Litonjua, B. A. Raby, Q. Hamid, C. Laprise, S. T. Weiss, R. B. Altman, and T. E. Klein, “Very important pharmacogene summary for VDR,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 22, no. 10, pp. 758–763, 2012.
- [68] J. W. Pike, M. B. Meyer, N. A. Benkusky, S. M. Lee, H. St. John, A. Carlson, M. Onal, and S. Shamsuzzaman, *Genomic Determinants of Vitamin D-Regulated Gene Expression*, 1st ed., vol. 100. Elsevier Inc., 2016.
- [69] M. I. Khan, Z. F. Bielecka, M. Z. Najm, E. Bartnik, J. S. Czarnecki, A. M. Czarnecka, and C. Szczylik, “Vitamin D receptor gene polymorphisms in breast and renal cancer: Current state and future approaches (Review),” *Int. J. Oncol.*, vol. 44, no. 2, pp. 349–363, 2014.
- [70] J. C. E. Serrano, D. De Lorenzo, A. Cassanye, M. Martín-Gari, A. Espinel, M. A. Delgado, R. Pamplona, and M. Portero-Otin, “Vitamin D receptor BsmI polymorphism modulates soy intake and 25-hydroxyvitamin D supplementation benefits in cardiovascular disease risk factors profile,” *Genes Nutr.*, vol. 8, pp. 561–569, 2013.
- [71] N. Kurucu, G. Şahin, N. Sari, S. Ceylaner, and İ. E. İlhan, “Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with osteosarcoma risk and prognosis,” *J. Bone Oncol.*, vol. 14, 2019.
- [72] F. Silan, Ö. Özdemir, Z. Öğretmen, S. Işık, S. Kılıç, and M. Hız, “Vitamin D Receptor Gene BSMI, FOKI, APAI, and TAQI Polymorphisms and the Risk of Atopic Dermatitis,” *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, vol. 26, no. 2, pp. 106–110, 2016.
- [73] C. Triantos, I. Aggeletopoulou, M. Kalafateli, P. I. Spantidea, G. Vourli, G. Diamantopoulou, D. Tapratzi, M. Michalaki, S. Manolakopoulos, C. Gogos, V. Kyriazopoulou, A. Mouzaki, and K. Thomopoulos, “Prognostic significance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms in liver cirrhosis,” *Sci. Rep.*, vol. 8, pp. 1–14, 2018.
- [74] V. Rai, J. O. E. Abdo, S. Agrawal, and D. K. Agrawal, “Vitamin D Receptor Polymorphism and Cancer: An Update,” *Anticancer Res.*, vol. 37, no. 8, pp. 3991–4003, 2017.
- [75] F. Shaikh, S. Baig, and Q. Jamal, “Do VDR Gene Polymorphisms Contribute to Breast Cancer?,” *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 17, no. 2, pp. 479–483, 2016.
- [76] J. Z. Zhang, M. Wang, Y. Ding, F. Gao, Y. Y. Feng, B. Yakeya, P. Wang, X. J. Wu, F. X. Hu, J. Xian, and X. J. Kang, “Vitamin D receptor gene polymorphism, serum 25-hydroxyvitamin D levels, and risk of vitiligo: A meta-analysis,”

Medicine (Baltimore), vol. 97, no. 29, 2018.

- [77] Invitrogen, "PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA," no. 25. pp. 1–48, 2013.
- [78] S. A. Thatcher, "DNA/RNA preparation for molecular detection," *Clin. Chem.*, vol. 61, no. 1, pp. 89–99, 2015.
- [79] F. M. Carpi, F. Di Pietro, S. Vincenzetti, F. Mignini, and V. Napolioni, "Human DNA Extraction Methods: Patents and Applications," *Recent Pat. DNA Gene Seq.*, vol. 5, pp. 1–7, 2012.
- [80] J. F. Sambrook and D. W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [81] M. Schuller, T. P. Sloots, G. S. James, C. L. Halliday, and I. W. J. Carter, Eds., *PCR for Clinical Microbiology*. Springer US, 2010.
- [82] M. A. Valasek and J. J. Repa, "The power of real-time PCR," *Adv. Physiol. Educ.*, vol. 29, pp. 151–159, 2005.
- [83] E. Navarro, G. Serrano-Heras, M. J. Castaño, and J. Solera, "Real-time PCR detection chemistry," *Clin. Chim. Acta*, vol. 439, pp. 231–250, 2015.
- [84] S. Cheli, F. Pietrantonio, E. Clementi, and F. S. Falvella, "LightSNiP assay is a good strategy for pharmacogenetics test," *Front. Pharmacol.*, vol. 6, pp. 1–5, 2015.
- [85] Roche Applied Science, "Technical Note."
- [86] A. Vologodskii and M. D. Frank-Kamenetskii, "DNA melting and energetics of the double helix," *Phys. Life Rev.*, vol. 25, pp. 1–21, 2018.
- [87] G. H. Reed, J. O. Kent, and C. T. Wittwer, "High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics," *Pharmacogenomics*, vol. 8, no. 6, pp. 597–608, 2007.
- [88] Roche Applied Science, "LightCycler® 480 Instrument Operator's Manual - Software Version 1.5," pp. 147–159, 2008.
- [89] G. Heine, N. Hoefler, A. Franke, U. Nöthling, R. R. Schumann, L. Hamann, and M. Worm, "Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with severe atopic dermatitis in adults," *Br. J. Dermatol.*, vol. 168, pp. 855–858, 2013.
- [90] H. Saeki, N. Asano, Y. Tsunemi, T. Takekoshi, M. Kishimoto, H. Mitsui, Y. Tada, H. Torii, M. Komine, A. Asahina, and K. Tamaki, "Polymorphisms of vitamin D receptor gene in Japanese patients with psoriasis vulgaris," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 30, pp. 167–171, 2002.
- [91] I. Rucevic, M. Stefanic, S. Tokic, M. Vuksic, L. Glavas-Obrovac, and V. Barisic-Drusko, "Lack of association of vitamin D receptor gene 3'-haplotypes with psoriasis in Croatian patients," *J. Dermatol.*, vol. 39, pp. 58–62, 2012.
- [92] D. Dayangac-Erden, A. Karaduman, and H. Erdem-Yurter, "Polymorphisms of vitamin D receptor gene in Turkish familial psoriasis patients," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 299, pp. 487–491, 2007.
- [93] C. Ryan, L. Renfro, P. Collins, B. Kirby, and S. Rogers, "Clinical and genetic predictors of response to narrowband ultraviolet B for the treatment of chronic plaque psoriasis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 163, pp. 1056–1063, 2010.
- [94] J. L. Liu, S. Q. Zhang, and H. M. Zeng, "Apal, BsmI, FokI and TaqI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of psoriasis: A meta-analysis," *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.*, vol. 27, pp. 739–746, 2013.
- [95] M. Stefanic, I. Rucevic, and V. Barisic-Drusko, "Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and psoriasis risk," *Int. J. Dermatol.*, vol. 52, pp. 705–710, 2013.
- [96] X. Zhou, L. dan Xu, and Y. zhen Li, "The association of polymorphisms of the vitamin D receptor gene with psoriasis in the Han population of northeastern China," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 73, pp. 63–66, 2014.
- [97] Y. Zhao, X. Chen, J. Li, Y. He, J. Su, M. Chen, W. Zhang, W. Chen, and W. Zhu, "VDR gene polymorphisms are associated with the clinical response to calcipotriol in psoriatic patients," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 79, pp. 305–307, 2015.
- [98] Y. H. Lee, "Vitamin D receptor Apal, TaqI, BsmI, and FokI polymorphisms and psoriasis susceptibility: an updated meta-analysis," *Clin. Exp. Dermatol.*, pp. 1–8, 2018.
- [99] H. Okita, T. Ohtsuka, A. Yamakage, and S. Yamazaki, "Polymorphism of the vitamin D3 receptor in patients with psoriasis," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 294, pp. 159–162, 2002.
- [100] I. Hassan, Y. J. Bhat, S. Majid, P. Sajad, F. Rasool, R. A. Malik, and I. U. Haq, "Association of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Serum 25-Hydroxy Vitamin D Levels in Vitiligo – A Case-control Study," *Indian Dermatol. Online J.*, vol. 10, no. 2, pp. 131–138, 2019.
- [101] R. W. Doss, A.-A. El-Rifaie, Y. M. Gohary, and L. A. Rashed, "Vitamin D Receptor Expression in Vitiligo," *Indian J. Dermatol.*, vol. 60, no. 6, pp. 544–548, 2015.
- [102] H. M. A. Saleh, N. S. A. Abdel Fattah, and H. T. M. M. Hamza, "Evaluation of serum 25-hydroxyvitamin D levels in vitiligo patients with and without autoimmune diseases," *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, vol. 29, no.

1, pp. 34–40, 2013.

- [103] B. A., G. H., B. A., and H. M. F., “Assessment of vitamin D plasma levels in patients with Vitiligo Vulgaris,” *Acta Med. Iran.*, vol. 52, no. 8, pp. 609–614, 2014.
- [104] H. Khurram and K. M. AlGhamdi, “The Relationship Between the Serum Level of Vitamin D and Vitiligo,” *J. Cutan. Med. Surg.*, vol. 20, no. 2, pp. 139–145, 2015.
- [105] S. Sobeih, H. M. Mashaly, H. Gawdat, K. Amr, M. F. A. Hamid, and E. Shaalan, “Evaluation of the correlation between serum levels of vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphisms in an Egyptian population,” *Int. J. Dermatol.*, vol. 55, no. 12, pp. 1329–1335, 2016.
- [106] E. Karagün, C. Ergin, S. Baysak, G. Erden, H. Aktaş, and Ö. Ekiz, “The role of serum Vitamin D levels in vitiligo,” *Postep. Dermatologii i Alergol.*, vol. 33, no. 4, pp. 300–302, 2016.
- [107] X. Xu, W. W. Fu, and W. Y. Wu, “Serum 25-Hydroxyvitamin D Deficiency in Chinese Patients with Vitiligo: A Case-Control Study,” *PLoS One*, vol. 7, no. 12, pp. 7–11, 2012.
- [108] R. Liu, H. Wang, X. Zhang, L. Zhu, Y. Li, and W. Wang, “Serum 25-hydroxyvitamin D status in chinese children with vitiligo: a case-control study,” *Clin. Pediatr. (Phila.)*, 2017.
- [109] Z. Takci, Ö. Tekin, D. T. Ertuğrul, A. S. Karadağ, and K. O. Akin, “A case-control study: Evaluation of vitamin D metabolism in patients with vitiligo,” *Turkish J. Med. Sci.*, vol. 45, no. 4, pp. 837–841, 2015.
- [110] J. I. Silverberg, A. I. Silverberg, E. Malka, and N. B. Silverberg, “A pilot study assessing the role of 25 hydroxy vitamin D levels in patients with vitiligo vulgaris,” *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 62, no. 6, pp. 937–941, 2010.
- [111] L. A. Ochoa-Ramírez, S. P. Díaz-Camacho, D. S. Becerra-Loaiza, L. Verdugo-Nieto, V. F. Muñoz-Estrada, L. A. Servín-Vázquez, I. Osuna-Ramírez, J. Rodríguez-Millán, and J. S. Velarde-Félix, “Catalase but not vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with nonsegmental vitiligo in Northwestern Mexicans,” 2019.
- [112] S. Birlea, M. Birlea, D. Cimponeriu, P. Apostol, R. Cosgarea, L. Gavrilă, S. Tigan, G. Costin, and P. Das, “Autoimmune diseases and vitamin D receptor Apa-I polymorphism are associated with vitiligo in a small inbred Romanian community,” *Acta Derm. Venereol.*, vol. 86, pp. 209–214, 2006.
- [113] K. Li, L. Yang, G. Wang, L. Liu, L. Wang, T.-W. Gao, Q. Li, Q. Shi, C.-Y. Li, and X. Li, “The association of vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D levels with generalized vitiligo,” *Br. J. Dermatol.*, vol. 167, no. 4, pp. 815–821, 2012.
- [114] I. Bingül, S. Dogru-Abbasoglu, I. E. Aydingöz, M. Uysal, and P. Vural, “Analysis of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Vitiligo,” *Dermatology*, vol. 224, no. 4, pp. 361–368, 2012.
- [115] L. Li, Y. Wu, L. Li, Y. F. Cai, L. Geng, X. H. Gao, and H. D. Chen, “Association of Apal and Bsml polymorphisms with vitiligo risk: A meta-analysis,” *Clin. Exp. Dermatol.*, vol. 40, no. 7, pp. 794–803, 2015.
- [116] C. Shen, J. Gao, Y. Sheng, J. Dou, F. Zhou, X. Zheng, R. Ko, X. Tang, C. Zhu, X. Yin, L. Sun, Y. Cui, and X. Zhang, “Genetic susceptibility to vitiligo: GWAS approaches for identifying vitiligo susceptibility genes and loci,” *Front. Genet.*, vol. 7, pp. 1–12, 2016.
- [117] K. Tizaoui and K. Hamzaoui, “Association between VDR polymorphisms and rheumatoid arthritis disease: Systematic review and updated meta-analysis of case-control studies,” *Immunobiology*, vol. 220, no. 6, pp. 807–816, 2015.
- [118] G. G. Song, S.-C. Bae, and Y. H. Lee, “Vitamin D receptor FokI, Bsml, and TaqI polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis,” *Z. Rheumatol.*, vol. 75, no. 3, pp. 322–329, 2015.
- [119] X. Han, L. Xue, Y. Li, B. Chen, and A. Xie, “Vitamin D receptor gene polymorphism and its association with Parkinson’s disease in Chinese Han population,” *Neurosci. Lett.*, vol. 525, no. 1, pp. 29–33, 2012.
- [120] R. Török, F. Somogyvari, Z. Szolnoki, L. Vecsei, L. Szalardy, N. Török, P. Klivenyi, and I. Plangar, “Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and Parkinson’s disease in Hungarians,” *Neurosci. Lett.*, vol. 551, pp. 70–74, 2013.
- [121] Y. H. Lee, J. H. Kim, and G. G. Song, “Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to Parkinson’s disease and Alzheimer’s disease: a meta-analysis,” *Neurol. Sci.*, vol. 35, no. 12, pp. 1947–1953, 2014.
- [122] S. H. Abd-Allah, H. F. Pasha, H. A. Hagrass, and A. A. Alghobashy, “Vitamin D status and vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes in Egyptian children,” *Gene*, vol. 536, no. 2, pp. 430–434, 2014.
- [123] A. A. Imam, H. E. Ibrahim, M. A. A. Farghaly, U. M. Alkholy, H. H. Gawish, N. Abdalmonem, A. M. Sherif, Y. F. Ali, M. E. Hamed, N. M. Waked, *et al.*, “Vitamin D receptor gene FokI polymorphism in Egyptian children and adolescents with SLE: A case-control study,” *Lupus*, vol. 26, no. 13, pp. 1426–1434, 2017.
- [124] H. Matsumoto, K. Brower, A. Jakubczyk, M. Wojnar, M. Wrzosek, B. Kaleta, M. Wrzosek, G. Nowicka, and J.

- Łukaszkiwicz, "Association between Fok I vitamin D receptor gene (VDR) polymorphism and impulsivity in alcohol-dependent patients," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 41, no. 11, pp. 7223–7228, 2014.
- [125] N. Swapna, U. M. Vamsi, G. Usha, and T. Padma, "Risk conferred by FokI polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene for essential hypertension," *Indian J. Hum. Genet.*, vol. 17, no. 3, pp. 201–206, 2011.
- [126] R. D. Mittal, P. K. Manchanda, S. Bhat, and H. K. Bid, "Association of vitamin-D receptor (Fok-I) gene polymorphism with bladder cancer in an Indian population," *BJU Int.*, vol. 99, no. 4, pp. 933–937, 2007.
- [127] N. Yousaf, S. Afzal, T. Hayat, J. Shah, N. Ahmad, R. Abbasi, K. Ramzan, R. Jan, I. Khan, J. Ahmed, and S. Siraj, "Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with prostate cancer risk in the Pakistani population," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 15, no. 22, pp. 10009–10013, 2014.
- [128] L. Chen, H. Li, P. Zhang, and S. Wang, "Association Between Vitamin D Receptor Polymorphisms and Periodontitis: A Meta-Analysis," *J. Periodontol.*, vol. 83, no. 9, pp. 1095–1103, 2011.
- [129] V. Maione, S. Cauci, M. Brayda-Bruno, G. Banfi, G. Lombardi, S. J. Croiset, A. Colombini, and V. Vrech, "FokI Polymorphism in the Vitamin D Receptor Gene (VDR) and Its Association with Lumbar Spine Pathologies in the Italian Population: A Case-Control Study," *PLoS One*, vol. 9, no. 5, 2014.
- [130] C. Guja, C. Ionescu-Tîrgoviste, J. A. Todd, A. Smith, M. Merriman, K. Welsh, and S. Marshall, "The study of CTLA-4 and vitamin D receptor polymorphisms in the Romanian type 1 diabetes population," *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 6, no. 1, pp. 75–81, 2007.
- [131] G. Lombardi, G. Banfi, S. Cauci, V. Maione, A. Colombini, M. Brayda-Bruno, and L. Ferino, "Gender Differences in the VDR-FokI Polymorphism and Conventional Non-Genetic Risk Factors in Association with Lumbar Spine Pathologies in an Italian Case-Control Study," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, no. 2, pp. 3722–3739, 2015.
- [132] X. Chen, J. Liu, A. Yao, X. Li, L. Wang, X. Zhang, Y. Zhao, S. Kang, G. Zhao, and L. Zhang, "Association of vitamin D receptor Fok I polymorphism with the risk of prostate cancer: a meta-analysis," *Oncotarget*, vol. 7, no. 47, pp. 77878–77889, 2016.
- [133] T. B. Zhou, Z. P. Jiang, M. F. Huang, and N. Su, "Association of vitamin D receptor Fok1 (rs2228570), TaqI (rs731236) and Apal (rs7975232) gene polymorphism with the risk of chronic kidney disease," *J. Recept. Signal Transduct.*, vol. 35, no. 1, pp. 58–62, 2015.
- [134] D. K. Mishra, H. K. Bid, D. S. L. Srivastava, A. Mandhani, and R. D. Mittal, "Association of vitamin D receptor gene polymorphism and risk of prostate cancer in India," *Urol. Int.*, vol. 74, no. 4, pp. 315–318, 2005.
- [135] W. Kaabachi, S. Kaabachi, A. Rafrafi, A. ben Amor, K. Tizaoui, F. Haj sassi, and K. Hamzaoui, "Association of vitamin D receptor FokI and Apal polymorphisms with lung cancer risk in Tunisian population," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 41, no. 10, pp. 6545–6553, 2014.
- [136] X. Hu, M. Liu, Y. Ni, and G. Zhang, "Genetic analysis of the Vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) in cervical vertebra and lumbar spine pathologies: a meta-analysis," *Oncotarget*, vol. 8, no. 42, pp. 72921–72932, 2017.
- [137] L. Li, B. Wu, J. Y. Liu, and L. B. Yang, "Vitamin D receptor gene polymorphisms and type 2 diabetes: A Meta-analysis," *Arch. Med. Res.*, vol. 44, no. 3, pp. 235–241, 2013.
- [138] C. Ou, H. L. Zhao, B. Zhu, L. S. Huang, P. Z. Li, and M. Lao, "Association of vitamin D receptor gene polymorphism with the risk of renal cell carcinoma: A meta-analysis," *J. Recept. Signal Transduct.*, vol. 34, no. 6, pp. 463–468, 2014.
- [139] Y. H. Lee, S. J. Choi, J. D. Ji, and G. G. Song, "Vitamin D receptor Apal, TaqI, BsmI, and FokI polymorphisms and psoriasis susceptibility: A meta-analysis," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 39, no. 6, pp. 6471–6478, 2012.
- [140] M. Singh, P. Singh, S. Singh, P. K. Juneja, and T. Kaur, "Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism influences the risk of osteoporosis in postmenopausal women of Northwest India," *Arch. Osteoporos.*, vol. 8, no. 1–2, pp. 1–8, 2013.
- [141] G. G. Song and Y. H. Lee, "Vitamin D receptor FokI, BsmI, Apal, and TaqI polymorphisms and susceptibility to ovarian cancer: A meta-analysis," *Immunol. Invest.*, vol. 42, no. 7, pp. 661–672, 2013.
- [142] H. Xu, S. Li, J. Q. Qiu, X. L. Gao, P. Zhang, and Y. X. Yang, "The VDR gene FokI polymorphism and ovarian cancer risk," *Tumor Biol.*, vol. 34, no. 6, pp. 3309–3316, 2013.
- [143] Y. Pan, R. Li, Y. Xu, H. Sun, S. Wang, B. He, T. Gao, Q. Deng, and G. Song, "Systematic review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk," *Tumor Biol.*, vol. 35, no. 5, pp. 4153–4169, 2014.
- [144] R. D. Mittal, D. K. Mishra, P. Srivastava, P. Manchanda, H. K. Bid, and R. Kapoor, "Polymorphisms in the vitamin D receptor and the androgen receptor gene associated with the risk of urolithiasis," *Indian J. Clin. Biochem.*, vol. 25, no. 2, pp. 119–126, 2010.

- [145] T. B. Zhou, Z. P. Jiang, A. H. Li, and L. Ju, "Association of vitamin D receptor BsmI (rs1544410), FokI (rs2228570), TaqI (rs731236) and Apal (rs7975232) gene polymorphism with the nephrolithiasis susceptibility," *J. Recept. Signal Transduct.*, vol. 35, no. 2, pp. 107–114, 2015.
- [146] O. A. Koroglu, H. Onay, B. Cakmak, B. Bilgin, M. Yalaz, S. Tunc, F. Ozkinay, and N. Kultursay, "Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia," *Pediatr. Res.*, vol. 76, no. 2, pp. 171–176, 2014.
- [147] K. Tizaoui, A. Berraies, B. Hamdi, W. Kaabachi, K. Hamzaoui, and A. Hamzaoui, "Association of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms with Asthma Risk: Systematic Review and Updated Meta-analysis of Case–Control Studies," *Lung*, vol. 192, no. 6, pp. 955–965, 2014.
- [148] P. Prabhakar, V. Majumdar, G. B. Kulkarni, and R. Christopher, "Genetic variants of vitamin D receptor and susceptibility to ischemic stroke," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 456, no. 2, pp. 631–636, 2015.
- [149] S. Jain, V. L. Valluri, V. S. K. Neela, S. Jonnalagada, S. S. Singh, S. S. Pydi, M. P. J. S. Anandaraj, N. C. Suryadevara, and V. G. Shinde, "Association of Taq I, Fok I and Apa I polymorphisms in Vitamin D Receptor (VDR) gene with leprosy," *Hum. Immunol.*, vol. 76, no. 6, pp. 402–405, 2015.
- [150] B. A. Khan, S. Rasool, A. S. Sameer, T. Khan, B. A. Ganai, S. A. Kadla, Q. Ahktar, F. Qazi, J. Basu, and N. A. Shah, "Association of a VDR Gene Polymorphism with Risk of Colorectal Cancer in Kashmir," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 14, no. 10, pp. 5833–5837, 2014.
- [151] K. Zhang and L. Song, "Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk: A meta-analysis of 39 studies," *PLoS One*, vol. 9, no. 4, 2014.
- [152] M. O. Gökçe, L. M. Yurdum, Ü. Zeybek, A. M. Kafadar, C. Cacina, I. Yaylım, B. Toptaş, S. Turan, and N. Yiğitbaşı, "The Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms in Turkish Brain Cancer Patients," *Biomed Res. Int.*, vol. 2013, pp. 1–6, 2013.
- [153] Y. H. Lee and G. G. Song, "Vitamin D receptor FokI, BsmI, Apal, and TaqI polymorphisms and the susceptibility to breast cancer: a meta-analysis," *Neoplasma*, vol. 61, no. 5, pp. 607–616, 2014.
- [154] S. Raza, A. Dhasmana, M. L. B. Bhatt, M. Lohani, and J. M. Arif, "Molecular mechanism of cancer susceptibility associated with FokI single nucleotide polymorphism of VDR in relation to breast cancer," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 20, no. 1, pp. 199–206, 2019.
- [155] P. Tang, M. Wu, C. Xu, C. Li, J. Zhao, Y. Mao, J. Chen, Z. Xu, and C. Ding, "Vitamin D Receptor Gene FOKI Polymorphism Contributes to Increasing the Risk of HIV-Negative Tuberculosis: Evidence from a Meta-Analysis," *PLoS One*, vol. 10, no. 10, p. e0140634, 2015.
- [156] Y. S. Yildirim, T. Apuhan, S. Düzenli, and A. O. Arslan, "Otosclerosis and vitamin D receptor gene polymorphism," *Am. J. Otolaryngol. - Head Neck Med. Surg.*, vol. 34, no. 5, pp. 454–457, 2013.
- [157] Y. Motohashi, S. Yamada, T. Yanagawa, T. Maruyama, R. Suzuki, M. Niino, T. Fukazawa, A. Kasuga, H. Hirose, K. Matsubara, A. Shimada, and T. Saruta, "Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type 1 diabetes," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 88, no. 7, pp. 3137–3140, 2003.
- [158] W. H. Qin, H. X. Wang, J. L. Qiu, X. Bin Huang, Y. Huang, N. R. Wu, and H. S. Liang, "A meta-analysis of association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with the risk of type 1 diabetes mellitus," *J. Recept. Signal Transduct.*, vol. 34, no. 5, pp. 372–377, 2014.
- [159] X. Y. Luo, M. H. Yang, F. X. Wu, L. J. Wu, L. Chen, Z. Tang, N. T. Liu, X. F. Zeng, J. L. Guan, and G. H. Yuan, "Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism B allele, but not BB genotype, is associated with systemic lupus erythematosus in a Han Chinese population," *Lupus*, vol. 21, no. 1, pp. 53–59, 2012.
- [160] Q. Lu, J. Yang, K. Yu, R. Song, and Y. Jiang, "Vitamin D Receptor BsmI Polymorphism and Colorectal Cancer Risk: an Updated Analysis," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 15, no. 12, pp. 4801–4807, 2014.
- [161] M. Škereňová, J. Michalik, J. Javor, J. Lehotský, E. Kantorová, E. Kurča, Š. Sivák, D. Čierny, and D. Dobrota, "Apal, BsmI and TaqI VDR gene polymorphisms in association with multiple sclerosis in Slovaks," *Neurol. Res.*, vol. 38, no. 8, pp. 678–684, 2016.
- [162] M. Clerici, A. K. Mohammed, N. M. Al-Daghri, I. Saulle, A. S. Costa, O. S. Al-Attas, H. M. Draz, M. Biasin, C. Agliardi, F. R. Guerini, K. M. Alkharfy, and M. S. Alokail, "Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Obesity and Inflammation Activity," *PLoS One*, vol. 9, no. 7, 2014.
- [163] X. Li, Y. Lv, Q. Yao, J. Ji, H. Liu, and W. Ma, "Associations of vitamin D deficiency and vitamin D receptor (Cdx-2, Fok I, Bsm I and Taq I) polymorphisms with the risk of primary open-angle glaucoma," *BMC Ophthalmol.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–7, 2016.
- [164] H. Y. YU, B. R. LIU, L. X. ZHAO, Y. J. WANG, S. L. GAO, B. R. CHI, Y. J. DU, F. H. PEI, and W. LIU, "Vitamin D receptor

- gene polymorphism and ulcerative colitis susceptibility in Han Chinese," *J. Dig. Dis.*, vol. 12, no. 2, pp. 90–98, 2011.
- [165] J.-Y. Zhang, W. Chen, Y.-H. Zhong, R. Zhou, Y. Liang, G.-X. Zheng, X.-Q. Qin, H. Zhong, Y. Feng, and J.-Q. Wu, "Association of vitamin D receptor gene polymorphism with the risk of lung cancer: a meta-analysis," *J. Recept. Signal Transduct.*, vol. 34, no. 6, pp. 500–505, 2014.
- [166] K. Majidzadeh-A, A. Soleimani, S. Alavi, S. Shahbazi, R. Mahdian, and M. GhaffarPour, "BsmI but not FokI polymorphism of VDR gene is contributed in breast cancer," *Med. Oncol.*, vol. 30, no. 1, 2012.
- [167] T. Fukazawa, I. Yabe, S. Kikuchi, H. Sasaki, T. Hamada, K. Miyasaka, and K. Tashiro, "Association of vitamin D receptor gene polymorphism with multiple sclerosis in Japanese," *J. Neurol. Sci.*, vol. 166, no. 1, pp. 47–52, 1999.
- [168] Y. Wu, X. Yang, X. Wang, M.-T. Qiu, Y. You, Z. Zhang, S. Zhu, L. Xu, and F. Tang, "Association of Vitamin D Receptor BsmI Gene Polymorphism with Risk of Tuberculosis: A Meta-Analysis of 15 Studies," *PLoS One*, vol. 8, no. 6, 2013.
- [169] S. Rasool, S. A. Kadla, V. Rasool, F. Qazi, T. Khan, N. A. Shah, and B. A. Ganai, "Role of the VDR Bsm I and Apa I polymorphisms in the risk of colorectal cancer in Kashmir," *Oncol. Res. Treat.*, vol. 37, no. 6, pp. 345–349, 2014.
- [170] S. W. Lee, T. Y. Chuang, H. H. Huang, C. W. Liu, Y. H. Kao, and L. S. H. Wu, "VDR and VDBP genes polymorphisms associated with susceptibility to tuberculosis in a Han Taiwanese population," *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, vol. 49, no. 5, pp. 783–787, 2016.
- [171] S. El Gawad, E. Samee, A. Metwali, and M. El Gawad, "Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and its Association with 1,25-Dihydroxyvitamin D 3 in Patients with Graves Disease in an Egyptian Population: A Pilot Study," *Endocr. Pract.*, vol. 18, no. 2, pp. 132–139, 2011.
- [172] E. A. E. Abd-El Salam, N. A. Ismaeil, and H. S. Abd-El Salam, "Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk among postmenopausal Egyptian women," *Tumor Biol.*, vol. 36, no. 8, pp. 6425–6431, 2015.
- [173] M. M. Sasiadek, A. Milewicz, P. Karpinski, L. Laczmannski, I. Laczmannska, H. Czemarmazowicz, M. Bebenek, and D. Ramsey, "Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to the risk of colorectal cancer in the Polish population," *Tumor Biol.*, vol. 35, no. 12, pp. 12397–12401, 2014.
- [174] Q.-H. Li, F. Zhao, B.-L. Liu, R.-F. Sun, Y. Xiong, Z.-Z. Zhang, Q. Pu, D.-X. Wang, F. Jia, J.-M. Li, and Y. Jin, "Vitamin D Receptor Bsm I Polymorphism and Osteoporosis Risk: A Meta-Analysis from 26 Studies," *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, vol. 17, no. 1, pp. 30–34, 2012.
- [175] M. Narooie-Nejad, M. Moossavi, A. Torkamanzehi, A. Moghtaderi, and S. Salimi, "Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and the Risk of Multiple Sclerosis in South Eastern of Iran," *J. Mol. Neurosci.*, vol. 56, no. 3, pp. 572–576, 2015.
- [176] C. Rosati, M. Martelli, A. Mengoni, E. Fanti, and F. S. Martelli, "VDR TaqI polymorphism is associated with chronic periodontitis in Italian population," *Arch. Oral Biol.*, vol. 56, no. 12, pp. 1494–1498, 2011.
- [177] Y. Tachi, H. Shimpuku, Y. Nosaka, T. Kawamura, M. Shinohara, M. Ueda, H. Imai, and K. Ohura, "Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with chronic periodontitis," *Life Sci.*, vol. 73, no. 26, pp. 3313–3321, 2003.
- [178] G. Rahmannedzhad, F. J. Mashayekhi, M. T. Goodarzi, M. R. Rezvanfar, and A. Sadeghi, "Association between vitamin D receptor ApaI and TaqI gene polymorphisms and gestational diabetes mellitus in an Iranian pregnant women population," *Gene*, vol. 581, no. 1, pp. 43–47, 2016.
- [179] Z. Li, W. T. Yuan, S. J. Ning, and S. J. Zhang, "Vitamin D receptor genetic variants are associated with susceptibility of gallbladder adenocarcinoma in a Chinese cohort," *Genet. Mol. Res.*, vol. 13, no. 3, pp. 5387–5394, 2014.
- [180] H. MA, H.-R. FAN, L.-Q. LIN, C.-H. SUN, and Y. LI, "Association between vitamin D receptor gene polymorphism (TaqI) and obesity in Chinese population," *J. Genet.*, vol. 94, no. 3, pp. 473–478, 2015.
- [181] R. W. Keen, D. J. Hart, J. S. Lanchbury, and T. D. Spector, "Association of early, osteoarthritis of the knee with a Taq I polymorphism of the vitamin D receptor gene," *Arthritis Rheum.*, vol. 40, no. 8, pp. 1444–1449, 1997.
- [182] I. Ahmad, T. Jafar, F. Mahdi, K. Ameta, M. Arshad, S. K. Das, S. Waliullah, I. Rizvi, and A. A. Mahdi, "Association of vitamin D receptor gene polymorphism (TaqI and ApaI) with bone mineral density in North Indian postmenopausal women," *Gene*, vol. 659, no. November 2017, pp. 123–127, 2018.
- [183] B. Sanlı, S. Aktan, I. Acikbas, S. Ergin, H. Bagci, and E. Tepeli, "Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes (Apa I, Bsm I, Fok I, Taq I) in Turkish psoriasis patients," *Med. Sci. Monit.*, vol. 18, no. 11, pp. CR661–CR666, 2013.
- [184] J.-D. Liu, Q.-H. Chen, Z.-M. Shi, Y.-J. Guo, N. Lei, and Y. Tang, "Meta-analysis of the Relation Between the VDR Gene TaqI polymorphism and Genetic Susceptibility to Prostate Cancer in Asian Populations," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 13, no. 9, pp. 4441–4444, 2013.
- [185] N. A. Bowden, M. B. Cox, J. Lechner-Scott, M. Ban, A. Baker, and R. J. Scott, "Potential association of vitamin D receptor polymorphism Taq1 with multiple sclerosis," *Mult. Scler. J.*, vol. 18, no. 1, pp. 16–22, 2011.

- [186] A. S. El-Shal, S. M. Shalaby, N. M. Aly, N. M. Rashad, and A. M. Abdelaziz, "Genetic variation in the vitamin D receptor gene and vitamin D serum levels in Egyptian women with polycystic ovary syndrome," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 40, no. 11, pp. 6063–6073, 2013.
- [187] K. Bektaş-Kayhan, M. Ünür, I. Yaylim-Eraltan, H. A. Ergen, B. Toptaş, G. Hafiz, A. Karadeniz, and T. Isbir, "Association of vitamin D receptor Taq I polymorphism and susceptibility to oral squamous cell carcinoma," *In Vivo (Brooklyn)*, vol. 24, no. 5, pp. 755–760, 2010.
- [188] Y. jun Li, Y. wei Tang, Y. quan Shi, S. Han, J. bo Wang, X. min Zhou, Y. Chen, Z. dan Wu, Z. yi Han, Y. Han, K. chun Wu, and D. ming Fan, "Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of primary biliary cirrhosis: A meta-analysis," *J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 29, no. 4, pp. 706–715, 2014.
- [189] S. Z. Moossavi, T. Tavakkoli, M. Naseri, M. Moossavi, N. Parsamanesh, T. Fakharian, and H. Javdani, "Positive correlation between vitamin D receptor gene Taq I variant and gastric cancer predisposition in a sample of Iranian population," *J. Cell. Physiol.*, pp. 1–4, 2019.
- [190] W. Liu, M. Chen, M. Li, H. Ma, S. Tong, Y. Lei, and L. Qi, "Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphisms and the urolithiasis risk: An updated meta-analysis based on 20 case-control studies," *Urolithiasis*, vol. 42, no. 1, pp. 45–52, 2014.
- [191] S. Seyhan, I. Yavascaoglu, H. Kilicarslan, H. S. Dogan, and Y. Kordan, "Association of vitamin D receptor gene Taq I polymorphism with recurrent urolithiasis in children," *Int. J. Urol.*, vol. 14, no. 12, pp. 1060–1062, 2007.
- [192] A. Kamal, S. M. Gamal, F. T. Elgengehy, A. K. Alkernary, and I. Siam, "Association of VDR Apal and TaqI Gene Polymorphisms with the Risk of Scleroderma and Behçet's Disease," *Immunol. Invest.*, vol. 45, no. 6, pp. 531–542, 2016.
- [193] K. Sahni and D. Parsad, "Stability in Vitiligo: Is there a Perfect Way to Predict it?," *J. Cutan. Aesthet. Surg.*, vol. 6, no. 2, pp. 75–82, 2013.
- [194] L. Sagi and H. Trau, "The Koebner phenomenon," *Clin. Dermatol.*, vol. 29, no. 2, pp. 231–236, 2011.
- [195] P. A. Whitman and O. O. Adigun, *Anatomy, Skin, Dermatomes*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2019.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 23: Επιβεβαιωμένοι και πιθανοί τόποι ευαισθησίας για τη λεύκη που αναγνωρίζονται από μελέτες genome-wide association ή linkage [16] [30] [36] [116]

Χρωμόσωμα	Γονίδιο	Θέση/ Τύπος Μετάλλαξης	Πρωτεΐνη	Λειτουργία
1p13.2	<i>PTPN22</i>	Ιντρόνιο	Φωσφατάση της τυροσίνης της LYP πρωτεΐνης, μη υποδοχέας τύπου 22	Ρύθμιση σηματοδότησης των T κυττάρων
1p31.2	<i>FOXD3</i>		Forkhead box D3	Μεταγραφικός ρυθμιστής της νευρικής ακρολοφίας Διαφοροποίηση μελανοβλαστών
1p36.23	<i>RELE</i>	Ιντρόνιο	Ισομορφή β της πρωτεΐνης τύπου ατροφίνης-1 Επαναλήψεις διπεπτιδίου αργινίνης-γλουταμικού οξέος	Λεμφοειδής μεταγραφικός συγκαταστολέας Αποπτωτικός ρυθμιστής
1	<i>FASLG</i>		Πρόσδεμα του FAS	Ρυθμιστής ανοσολογικής απόπτωσης
1	<i>PTPRC</i>		Φωσφατάση της τυροσίνης, υποδοχέας τύπου C	Ρυθμιστής υποδοχέα αντιγόνων T- και B-κυττάρου
2q24.2	<i>IFIH1</i>	Διαγονιδιακή	Διεγερόμενη από την ιντερφερόνη RNA ελικάση C περιοχή 1	Υποδοχέας έμφυτης ανοσοαπόκρισης Ρυθμίζει την έμφυτη αντιική ανοσοαπόκριση
2q33.2	<i>CTLA4</i>		Κυτταροτοξική πρωτεΐνη που σχετίζεται με T-λεμφοκύτταρα 4	Αναστέλλει τα T κύτταρα μέσω αλληλεπίδρασης με τα CD80 και CD86 Ρυθμιστής σημείων ελέγχου των T-λεμφοκυττάρων
2	<i>PPP4R3B</i>		Ρυθμιστική υπομονάδα 3B της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 4	Άγνωστη
2	<i>BCL2L11</i>		BCL2 like 11	Ρυθμιστής απόπτωσης στην αρνητική επιλογή των θυμοκυττάρων
2	<i>FARP2-STK25</i>			
3p13	<i>FOXP1</i>		Forkhead box P1	Μεταγραφικός ρυθμιστής της ανάπτυξης των B-κυττάρων, T-κυττάρων, και των μονοκυττάρων
3q13.33	<i>CD80</i>	Διαγονιδιακή	Αντιγόνο ενεργοποίησης B-κυττάρων B7-1 Αντιγόνο ενεργοποίησης T-λεμφοκυττάρων CD80	T-κύτταρα που ενεργοποιούνται από τα B κύτταρα, τα T-κύτταρα, τα δενδριτικά κύτταρα (συν-διεγερτικό σήμα για τα T-κύτταρα) Αλληλεπιδρά με το CTLA-4
3q28	<i>LPP</i>	Ιντρόνιο	LIM domain containing preferred translocation	Συμπαράγοντας μεταγραφής

			Lipoma-preferred partner	
3	<i>UBE2E2</i>		Ένζυμο συζεύξεως ουμπικουϊτίνης E2 E2	Οδός ουβικουτινοποίησης πρωτεΐνης Ανταπόκριση σε βλάβη
3	<i>FBXO45-NRROS</i>			
4p16.1	<i>CLNK</i>	Διαγονιδιακή	Μετατροπέας σήματος ανοσοϋποδοχέα μαστοκυττάρων	Θετικός ρυθμιστής της σηματοδότησης του ανοσοϋποδοχέα
4	<i>PPP3CA</i>		Άλφα ισομορφή καταλυτικής υπομονάδας φωσφατάσης 2B της σερίνης/θρεονίνης	T-λεμφοκυτταρική εξαρτώμενη από το ασβέστιο και διεγερόμενη από την καλμοδουλίνη πρωτεϊνική φωσφατάση
5q22.1	<i>TSLP</i>		Θυμική στρωματική λεμφοποιητίνη	Ρυθμιστής κυτοκίνης της ωρίμανσης δενδριτικών κυττάρων του δέρματος (Langerhans)
6p22.1	<i>HLA-A</i>	NearGene-5	α-Αλυσίδα λευκοκυτταρικού αντιγόνου A (HLA αντιγόνο ιστοσυμβατότητας κατηγορίας I, A)	Αντιγονοπαρουσίαση πεπτιδικών αντιγόνων
6p21.1	<i>HLA-B-C</i>	Ιντρόνιο Διαγονιδιακή	α-Αλυσίδα λευκοκυτταρικού αντιγόνου B ή C	Αντιγονοπαρουσίαση πεπτιδικών αντιγόνων
6p21.32	<i>HLA-DRB1-DQ1</i>		Περιοχή μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης II (MHC II) (HLA αντιγόνο ιστοσυμβατότητας κατηγορίας II, DRB1 και DQA1)	Αντιγονοπαρουσίαση πεπτιδικών αντιγόνων
6p21.32	<i>C6orf10-BTNL2</i>	Διαγονιδιακή		
6q15	<i>BACH2</i>	Ιντρόνιο	BTB and CNC homology 1, basic leucine zipper Περιοχή BTB και ομόλογο 2 CNC	Καταστολέας μεταγραφής B κυττάρων Μεταγραφικός ενεργοποιητής Ρυθμιστής της απόπτωσης
6q27	<i>RNASET2-FGFR1OP-CCR6</i>	Ιντρόνιο Διαγονιδιακή	Υποκινητής χημειοκίνης (μοτίβο C-C) 6	Ρυθμίζει τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των B κυττάρων, των T κυττάρων, των δενδριτικών κυττάρων
6q27	<i>SMOC2</i>	Ιντρόνιο	SPARC-related modular calcium-binding protein	Ρύθμιση αλληλεπιδράσεων εξωκυττάριας μήτρας
6	<i>IRF4</i>		Ρυθμιστικός παράγων ιντερφερόνης 4	Μεταγραφικός ενεργοποιητής στα ανοσοκύτταρα και τα μελανοκύτταρα
6	<i>SERPINB9</i>		Serpin B9	Ενδογενής αναστολέας του granzyme B
6q24	<i>RNASET2-FGFR1OP-CCR6</i>			
7	<i>CPVL</i>		Πιθανή καρβοξυπεπτιδάση σερίνης CPVL	Φλεγμονώδης πρωτεάση Κόβει τα αντιγόνα για παρουσίαση στο ανοσοποιητικό
8q24.22	<i>TG/SLA</i>	Ιντρόνιο	Θυρεοσφαιρίνη, ισομορφή c προσαρμογέα τύπου Src	Ρύθμιση σηματοδότησης υποδοχέα αντιγόνου στα T κύτταρα, τα B κύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα
9	<i>NEK6</i>		Σχετιζόμενη με NIMA κινάση σερίνης/θρεονίνης Nek6	Ρυθμιστής απόπτωσης

10p15.1	<i>IL2RA</i>	Ιντρόνιο	α-Αλυσίδα υποδοχέα ιντερλευκίνης 2	Ρύθμιση μεσολαβούμενης από την ιντερλευκίνη 2 ενεργοποίησης των T-κυττάρων και των ρυθμιστικών T-κυττάρων Υποδοχέας ιντερλευκίνης 2
10q22.1	<i>SLC29A3-CDH23</i>	Διαγονιδιακή		
10q25.3	<i>CASP7</i>	UTR-3	Κασπάση 7	Αποπτωτική πρωτεΐνη εκτελεστής
10	<i>ARID5B</i>		Πλούσια σε AT διαδραστική περιοχή που περιέχει την πρωτεΐνη 5B	Μεταγραφικός συνενεργοποιητής
10q22.3	<i>ZMIZ1</i>	Ιντρόνιο	Πρωτεΐνη 1 δακτύλου ψευδαργύρου που περιέχει την περιοχή MIZ	Πιθανός ρυθμιστής της μεταγραφής ή της σουμμοποίησης, μέλος της οικογένειας PIAS
11p13	<i>CDD44</i>	UTR-3	Αντιγόνο CDD44	Ρυθμιστής T κυττάρων Ρυθμιστής έκφρασης του FOXP3
11q14.3	<i>TYR</i>	Ιντρόνιο	Τυροσινάση	Βιοσυνθετικό ένζυμο μελανίνης Αυτοαντιγόνο λεύκης
11q21	<i>Gene desert</i>	Διαγονιδιακή	Κανένα	Ρυθμιστής TYR
11q23.3	<i>CXCR5-DDX6</i>	Διαγονιδιακή		
11	<i>PPP1R14B- PLCB3- BADGPR137- KCNK4-TEX40- ESRRA- TRMT112-PRDX5</i>			
12q13.2	<i>IKZF4</i>	Ιντρόνιο	Πρωτεΐνη δακτύλου ψευδαργύρου Ikaros, υποοικογένεια 1A, 4	Ρυθμιστής μεταγραφής T-κυττάρων Μεταγραφικός καταστολέας Ρυθμίζει τη μεταγραφή του FOXP3 στα ρυθμιστικά T λεμφοκύτταρα
12q13.2	<i>PMEL-IKZF4</i>	NearGene-5		
12q24.12	<i>SH2B3</i>	Ιντρόνιο	Προσαρμογέας LNK Πρωτεΐνη 3 προσαρμογέα SH2B	Ρυθμιστής ανάπτυξης B-κυττάρων και T-κυττάρων Συνδέει το σήμα ενεργοποίησης του υποδοχέα των λεμφοκυττάρων T με τη φωσφολιπάση C-γ-1, το GRB2 και την 3-κινάση της φωσφατιδυλινοσιτόλης
12	<i>PMEL</i>		Προμελανοσωμική πρωτεΐνη PMEL	Μελανοκυτταρική μελανοσωμική τύπου I διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη

13	<i>TNFSF11</i>		Μέλος 11 της υπερικογένειας του παράγοντα νέκρωσης των όγκων	Κυτοκίνη Τ λεμφοκυττάρων που δεσμεύεται με τα TNFRSF11A και TNFRSF11Be
14q12	<i>GZMB</i>	Παρανοηματική (Missense) NearGene-5	Granzyme B	Μεσολαβεί στην επαγόμενη από το κυτταροτοξικά Τ κύτταρα απόπτωση των κυττάρων-στόχων, την απόπτωση των βοηθητικών Τ-κυττάρων
15q12-13.1	<i>OCA2-HERC2</i>	UTR-3	Oculocutaneous albinism II	Μεταφορέας/αντλία μελανοσωματικής μεμβράνης Μελανογόνος πρωτεΐνη μελανοκυττάρων Αυτοαντιγόνο λεύκης
16q12.2	<i>KIAA1005</i>	Παρανοηματική (Missense)		
16q24.3	<i>MC1R</i>	Ιντρόνιο	Υποδοχέας μελανοκορτίνης-1	Ρυθμίζει τη μελανογένεση Μελανογόνος πρωτεΐνη μελανοκυττάρων Αυτοαντιγόνο λεύκης
17p13.2	<i>NLRP1</i>		Οικογένεια NLR, πρωτεΐνη που περιέχει την περιοχή της πυρίνης 1	Ρυθμίζει την έμφυτη ανοσοαπόκριση της IL-1b μέσω του φλεγμονοσώματος NLRP1
17	<i>KAT2A-HSPB9-RAB5C</i>			
18	<i>TNFRSF11A</i>		Μέλος 11A της υπερικογένειας του υποδοχέα του παράγοντα νέκρωσης των όγκων	Ρυθμίζει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των Τ λεμφοκυττάρων και των δενδριτικών κυττάρων
19p13.3	<i>TICAM1</i>	Ιντρόνιο	Μόριο προσαρμογέας υποδοχέα Toll-like 1 Μόριο προσαρμογέας 1 που περιέχει την περιοχή TIR	Μεσολαβεί στην έμφυτη αντιική ανοσοαπόκριση Προσαρμογέας Τ ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων 3 και 4 Μεσολαβεί στην ενεργοποίηση του NF-κάπα-B και του παράγοντα ρύθμισης της ιντερφερόνης (IRF) Προκαλεί απόπτωση
19	<i>SCAF1-IRF3-BCL2L12</i>			
20	<i>RALY-ASIP</i>		Πρωτεΐνη σηματοδότησης Agouti	Ρυθμιστής μελανοκυττάρων μέσω του MC1R
20	<i>PTPN1</i>		Φωσφατάση τυροσίνης, μη υποδοχέας τύπου 1	Αποφωσφορυλιώνει τις κινάσες JAK2 και TYK2 Κυτταρική απόκριση στην ιντερφερόνη
21q22.3	<i>UBASH3A</i>	Ιντρόνιο	Πρωτεΐνη Α σχετιζόμενη με ουβικουΐτίνη, που περιέχει την περιοχή SH3	Ρυθμίζει την σηματοδότηση και την απόπτωση των Τ-κυττάρων Πρωωθεί τη συσσώρευση των ενεργοποιημένων υποδοχέων των Τ-κυττάρων στην επιφάνειά τους

22q12.1	<i>XBP1</i>		X-box binding protein 1	Μεταγραφικός ρυθμιστής έκφρασης του MHC τάξης II (κύτταρα πλάσματος)
22q12.3	<i>C1QTNF6</i>	Παρανοηματική (Missense)	Πρωτεΐνη 6 που σχετίζεται με το συμπλήρωμα C1q του παράγοντα νέκρωσης των όγκων	Έμφυτη ανοσοαπόκριση στην επαγόμενη από το φως απόπτωση
22q13.2	<i>TOB2</i>	Διαγονιδιακή	Μετατροπέας του ERBB2, 2	Αναστολέας της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου/ εμπλέκονται στην ανοχή των T κυττάρων
22	<i>ZC3H7B-TEF</i>			
Xp11.23	<i>FOXP3</i>		Forkhead box P3	Μεταγραφικός ρυθμιστής της ρυθμιστικής λειτουργίας και ανάπτυξης των T κυττάρων
X	<i>IL1RAPL1</i>		Interleukin-1 receptor accessory protein-like 1	Άγνωστη
X	<i>CCDC22-FOXP3-GAGE</i>			Το FOXP3 ρυθμίζει την ανάπτυξη και ανασταλτική λειτουργία των ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων

Πίνακας 24: SNPs που σχετίζονται με τα επίπεδα της βιταμίνης D [54]

Χρωμόσωμα	Γονίδιο	Θέση/ Τύπος Μετάλλαξης	Πρωτεΐνη	Λειτουργία
4q12-q13	GC	rs222020 (ιντρόνιο) (C/T) rs2282679 (ιντρόνιο) (C/A) rs4588 (εξόνιο) (C/A) rs7041 (εξόνιο) (T/G) rs1155563 (ιντρόνιο) (C/T) rs17467825 (3' άκρο) rs16846876 (3' άκρο) rs12512631 (-) (C/T) rs1155563 (ιντρόνιο) (C/T)	πρωτεΐνη δέσμευσης της βιταμίνης D	μεταφορέας βιταμίνης D
11p15.2	CYP2R1	rs1993116 (ιντρόνιο) (A/G) rs12794714 (εξόνιο) (A/G) rs10766197 (5' άκρο) (A/G) rs10741657 (5' άκρο) (A/G) rs7116978 (ιντρόνιο) (T/C) rs1562902 (5' άκρο) (C/T)	25 υδροξυλάση της βιταμίνης D	μετατρέπει τη χοληκαλσιφερόλη στη 25(OH)D
12q13.1-q13.3	CYP27B1	rs10877012 (υποκινητής) (A/C) rs4646536 (ιντρόνιο) (T/C) rs703842 (5' άκρο) (T/C)	1α υδροξυλάση της 25 υδροξυβιταμίνης D	μετατρέπει τη 25(OH)D στη 1,25(OH) ₂ D
11q13.4	DHCR7	rs11234027 (5' άκρο) (A/G) rs12785878 (5' άκρο) (T/G)	αναγωγή της 7-δεϋδροχοληστερόλης	μετατρέπει τη 7-δεϋδροχοληστερόλη στη χοληστερόλη στην επιδερμίδα
12q13.11	VDR	rs10783219 (ιντρόνιο) (T/A) rs2228570 (5' UTR) (T/C)	υποδοχέας βιταμίνης D	υποδοχέας βιταμίνης D
20q13	CYP24A1	rs6013897 (3' άκρο) (A/T) rs2209314 (-) (-)	24-υδροξυλάση της βιταμίνης D	μεταβολισμός (αδρανοποίηση) της 1,25(OH) ₂ D

Πίνακας 25: Ασθένειες που σχετίζονται με τους πολυμορφισμούς του *VDR*

SNP	Αλληλόμορφα	Δράση αλληλομόρφων	Πηγή	Γονότυποι	Δράση γονοτύπων	Πηγή
Foql (rs2228570) (T>C)	C → F	↑ κίνδυνος εμφάνισης ρευματοειδούς αρθρίτιδας	[117] [118]	FF (CC)	↑ κίνδυνος εμφάνισης ρευματοειδούς αρθρίτιδας	[117]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Parkinson	[119] [120] [121]		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[122]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης συστηματικού ερυθρεναιμικού λυκού παιδικής ηλικίας	[123]		↑ κίνδυνος εμφάνισης εξάρτησης από το αλκοόλ	[124]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης υπέρτασης	[125]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστης	[126]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[127]		↑ κίνδυνος εμφάνισης συστηματικού ερυθρεναιμικού λυκού παιδικής ηλικίας	[123]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης επιθετικής περιοδοντίτιδας	[128]		↑ κίνδυνος εμφάνισης υπέρτασης	[125]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης δισκοπαθειών και/ή οστεοχόνδρωσης ταυτόχρονα με δισκοκήλη	[129]		↑ κίνδυνος εμφάνισης νεφρίτιδας του λυκού	[123]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[130]		↑ κίνδυνος εμφάνισης δισκοπαθειών και/ή οστεοχόνδρωσης ταυτόχρονα με δισκοκήλη	[131] [129]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[132]		↑ κίνδυνος εμφάνισης χρόνιας νεφρικής νόσου	[133]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[134]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα	[135]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης ασθενειών της σπονδυλικής στήλης	[136]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[134]
	T → f	↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 2	[137]	Ff (CT)	↑ κίνδυνος εμφάνισης ασθενειών της σπονδυλικής στήλης	[136]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του νεφρού	[138]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ψωρίασης	[139]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	[140]		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[132]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών	[141] [142] [143]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του νεφρού	[138]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης ουροληθίας	[144]		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 2	[137]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης δερματικού καρκίνου	[143]		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[122]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης γλοιώματος	[143]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ουροληθίας	[144]

		↑ κίνδυνος εμφάνισης νεφρολιθίαςης	[145]	ff (TT)	↑ κίνδυνος εμφάνισης βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας	[146]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης χρόνιας νεφρικής νόσου	[133]		↑ κίνδυνος εμφάνισης άσθματος	[147]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου	[148]
					↑ επίπεδα χοληστερόλης	[148]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 2	[137]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης λέπρας	[149]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παχέως εντέρου	[150] [151]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης μηνιγγιώματος	[152]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης ψωρίασης	[139]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού	[153] [154]
					↑ ευαισθησία στο μυκοβακτήριο της φυματίωσης	[155]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας	[146]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης νεφρολιθίαςης	[145]
BsmI (rs1544410) (A>G)	A→ B	↓ κίνδυνος εμφάνισης ρευματοειδούς αρθρίτιδας	[117]	BB (AA)	↑ κίνδυνος εμφάνισης χρόνιας νεφρικής νόσου	[133]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[157] [158]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ωτοσκλήρυνσης	[156]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης νεφρίτιδας του λύκου	[159]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ατοπικής δερματίτιδας	[72]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης	[113]		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παχέως εντέρου	[160]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης παχυσαρκίας	[162]		↓ κίνδυνος εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης (σκλήρυνση κατά πλάκας)	[161]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης γλαυκώματος	[163] [159]		↑ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Parkinson	[121]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης ελκώδους κολίτιδας	[164]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του νεφρού	[138]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παχέως εντέρου	[160]		↑ κίνδυνος εμφάνισης άσθματος	[147]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης ψωρίασης	[139]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα	[165]
				Bb (AG)	↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[122]

	G→ b	↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα	[165]	bb (GG)	↑ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Parkinson	[166] [121]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης (σκλήρυνση κατά πλάκας)	[167]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ελκώδους κολίτιδας	[164]
		↑ ευαισθησία στο μυκοβακτήριο της φυματίωσης	[168]		↑ κίνδυνος εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης (σκλήρυνση κατά πλάκας)	[167]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου	[169]		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[122] [158]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού	[166]		↑ ευαισθησία στο μυκοβακτήριο της φυματίωσης	[170] [168]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου	[143]		↑ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Graves	[171] [172] [166]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου	[173]
					↓ κίνδυνος εμφάνισης οστεοπόρωσης	[174]
					↓ κίνδυνος εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης (σκλήρυνση κατά πλάκας)	[175]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα	[165]
TaqI (rs731236) (T>C)	T→ T	↑ κίνδυνος εμφάνισης ρευματοειδούς αρθρίτιδας	[117]	TT (TT)	↑ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης	[115]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης περιοδοντίτιδας			↑ κίνδυνος εμφάνισης περιodontίτιδας	[176] [177]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη κύησης	[178]		↑ κίνδυνος εμφάνισης αδενοκαρκινώματος της χοληδόχου κύστης	[179]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης παχυσαρκίας	[180]		↑ ευαισθησία στο μυκοβακτήριο της φυματίωσης	[170]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου 1	[130]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου	[173]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης οστεοαρθρίτιδας του γονάτου	[181]		↓ οστική πυκνότητα	[182]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Alzheimer	[121]		↑ κίνδυνος εμφάνισης οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	[182]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης ψωρίασης	[183]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ρευματοειδούς αρθρίτιδας	[117]
	C→ t	↑ κίνδυνος εμφάνισης οστεοπόρωσης σε	[182]		↑ κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη κύησης	[178]

		μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες		Tt (TC)		
		↑ κίνδυνος εμφάνισης γλαυκώματος	[163]		↑ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Graves	[171]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[184]		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα	[165]
			[143]			
		↓ κίνδυνος εμφάνισης χρόνιας περιοδοντίτιδας	[128]		↑ κίνδυνος εμφάνισης παχυσαρκίας	[180]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης (σκλήρυνση κατά πλάκας)	[185]		↑ κίνδυνος εμφάνισης νεφρολιθίαςης	[145]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών	[186]		↑ κίνδυνος εμφάνισης στοματικού βασικοκυτταρικού καρκινώματος	[187]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης	[188]		↑ κίνδυνος εμφάνισης γαστρικού καρκίνου	[189]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης παχυσαρκίας	[162]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ουροληθίαςης	[144]
						[190]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης υποτροπιάζουσας ουρολιθίαςης	[191]		↓ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη	[127]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του στόματος	[143]	tt (CC)	↑ κίνδυνος εμφάνισης αδenoκαρκινώματος της χοληδόχου κύστης	[179]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού	[143]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ψωρίασης	[183]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης βασικοκυτταρικού καρκίνου	[143]		↑ κίνδυνος εμφάνισης άσθματος	[147]
		↑ κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα	[165]		↑ κίνδυνος εμφάνισης ωτοσκλήρυνσης	[156]
		↓ κίνδυνος εμφάνισης λεύκης	[113]		↑ κίνδυνος εμφάνισης συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών	[186]
					↓ κίνδυνος εμφάνισης νόσου του Behcet	[192]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης ουροληθίαςης	[190]
					↓ κίνδυνος εμφάνισης βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας	[146]
					↑ κίνδυνος εμφάνισης υποτροπιάζουσας ουρολιθίαςης	[191]



Έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης εθελοντή ασθενή

Αυτή η ενυπόγραφη συγκατάθεση ασθενούς απευθύνεται σε άτομα που πάσχουν από λεύκη

Ο τίτλος του έργου αυτού είναι:

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΜΕ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΛΕΥΚΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΥΚΑΣΙΑΣ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ

Αυτό το έντυπο βεβαίωσης ενημερότητας έχει δύο μέρη:

- Φύλλο Πληροφοριών (για την ανταλλαγή πληροφοριών σχετικά με την έρευνα μαζί σας)
- Πιστοποιητικό της συναίνεσης (για υπογραφές, αν συμφωνείτε να πάρετε μέρος)

Μέρος Ι: ΦΥΛΛΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λεύκη είναι μια χρόνια συστηματική διαταραχή η οποία χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση αχρωματικών ή υποχρωμικών κηλίδων στο δέρμα και τους βλεννογόνους, λόγω της απώλειας των μελανοκυττάρων. Επηρεάζει περίπου το 0.5%-2% του παγκόσμιου πληθυσμού και μία από τις κυριότερες συνέπειες της είναι ο ψυχολογικός αντίκτυπός της που οδηγεί στην επιδείνωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Η αιτιοπαθογένεση της λεύκης δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως και έχουν προταθεί αρκετές θεωρίες. Σε γενετικό επίπεδο, μπορεί να θεωρηθεί μία σύνθετη γενετική ασθένεια, αφού κάποιες μελέτες στο πλαίσιο αυτό έχουν δείξει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Ανάλογα με τη βαρύτητα και την ανταπόκριση της νόσου στη θεραπεία, έχουν χρησιμοποιηθεί τοπικοί και από του στόματος παράγοντες καθώς και θεραπεία με υπεριώδης ακτινοβολία. Η καλσιτριόλη (βιταμίνη D3) και τα παράγωγά της έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς ως τοπική θεραπεία, αυτούσιες ή σε συνδυασμό με κάποιο κορτικοστεροειδές ή UVB ακτινοβολία. Η καλσιτριόλη ασκεί την επίδρασή της μέσω του υποδοχέα βιταμίνης D (VDR) και δρα στα ανοσορρυθμιστικά συστήματα, τους μεσολαβητές φλεγμονής και τα μελανοκύτταρα και μπορεί να διεγείρει την παραγωγή μελανίνης ενεργοποιώντας τα μελανοκύτταρα και τα κερατινοκύτταρα. Μειωμένη συγκέντρωσή της στον ορό έχει συσχετισθεί με τη νόσο σε κάποιες μελέτες και πολυμορφισμοί του γονιδίου του VDR φαίνεται να σχετίζονται με τη λεύκη.

Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη συγκεκριμένων πολυμορφισμών του γονιδίου του VDR σε ασθενείς με λεύκη από την Ελλάδα και η συσχέτιση του γονοτύπου με την ανταπόκριση του ασθενή στη θεραπεία με στόχο την πιθανή ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπευτικών σχημάτων.

Είδος ερευνητικής παρέμβασης

Αν συμφωνήσετε να συμμετέχετε στη μελέτη, θα χρησιμοποιηθεί από εσάς βιολογικό υλικό (αίμα). Το δείγμα αυτό θα μεταφερθεί εργαστήριο της ερευνητικής ομάδας Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής του Τμήματος Φαρμακευτικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στη συνέχεια αφού ανωνυμοποιηθεί θα διενεργηθούν οι απαιτούμενες αναλύσεις για την διεξαγωγή της έρευνας. Οι παραπάνω διαδικασίες δε θα δώσουν πληροφορίες άμεσες για την προσωπική σας ιατρική φροντίδα, αλλά θα συμβάλλουν γενικότερα στην ανάπτυξη της ιατρικής έρευνας.

Εθελοντική συμμετοχή

Η συμμετοχή σας στη μελέτη είναι απολύτως εθελοντική. Είτε αποφασίσετε να συμμετέχετε στη μελέτη είτε όχι, δε θα αλλάξει απολύτως τίποτα στην κλινική σας παρακολούθηση και θεραπεία. Έχετε το δικαίωμα να αρνηθείτε να χρησιμοποιηθούν τα δείγματα σας χωρίς απώλεια των ιατρικών παροχών που είχατε μέχρι τώρα. Αν συμφωνήσετε να συμμετέχετε, πρέπει να γνωρίζετε ότι δεν μπορείτε να κάνετε άρση της συγκατάθεσής σας μετά την ανωνυμοποίηση καθώς δε θα μπορεί με κανένα τρόπο να βρεθεί το δείγμα σας επειδή θα έχει αποκοπεί ολοκληρωτικά από τα στοιχεία σας μετά την ανωνυμοποίησή του.

Β. Περιγραφή της διαδικασίας

1. Λήψη των δειγμάτων

Αίμα: Η λήψη δείγματος γίνεται από τους ιατρούς που συμμετέχουν στη μελέτη. Θα ληφθούν από εσάς σε μία εφάπαξ συνάντηση 10 ml περιφερικό αίμα το οποίο μεταφέρεται αφενός μεν σε ένα φιαλίδιο που περιέχει αντιπηκτικό EDTA (3,5 ml) αφετέρου δε σε φιαλίδιο πήξης (4,5 ml).

2. Ανωνυμοποίηση

Τα δείγματά σας θα ανωνυμοποιηθούν με ειδικά υπολογιστικά προγράμματα και τα στοιχεία που θα συνοδεύουν το δείγμα σας πριν και μετά την αποθήκευση δε θα έχουν καμία σχέση με τα στοιχεία της ταυτότητός σας.

3. Μεταφορά των δειγμάτων

Η παραλαβή των δειγμάτων, από τον επιστημονικό συνεργάτη του ερευνητικού εργαστηρίου, γίνεται αμέσως μετά τη λήψη. Κατόπιν, τα δείγματα θα μεταφέρονται στο εργαστήριο σε θερμοκρασία απλής ψύξης (+3 έως +10°C) εντός ειδικού δοχείου διατήρησης της θερμοκρασίας.

4. Επεξεργασία δειγμάτων

Στα δείγματά σας μπορεί να γίνει επιπλέον επεξεργασία (π.χ. απομόνωση γενετικού υλικού και πρωτεϊνών) πριν την αποθήκευση ή και να αποθηκευθούν ως έχουν. Μετά την επεξεργασία το κάθε δείγμα μεταφέρεται στους -80°C για μακροχρόνια φύλαξη.

Η διάρκεια της μελέτης

Σε ένα προγραμματισμένο ραντεβού με το γιατρό σας θα σας ληφθεί εφάπαξ το δείγμα. Το δείγμα ή τα δείγματά σας θα αποθηκευθούν επ'αόριστον.

Κίνδυνοι

Δεν υπάρχει κανένας γνωστός κίνδυνος.

Τήρηση απορρήτου

Αν δώσετε τη συγκατάθεσή σας για τη λήψη αίματος από εσάς, τα δείγματα αυτά θα κωδικοποιηθούν με κωδικό αριθμό, ο οποίος θα διασφαλίζει το απόρρητο της ταυτότητάς σας. Υπάρχει πλήρης εμπιστευτικότητα των στοιχείων σας και των ιατρικών σας δεδομένων καθώς δεν μπορεί να συσχετιστεί με κανένα τρόπο η ταυτότητα σας με το δείγμα σας που έχει ληφθεί από εσάς.

Διάδοση των αποτελεσμάτων

Πληροφορίες και δεδομένα από αυτά τα δείγματα θα αναφέρονται μόνο σε ειδικά ιατρικά ή επιστημονικά έντυπα, επιστημονικά συνέδρια στην Ελλάδα και το εξωτερικό, συμπόσια, σεμινάρια και μαθήματα στο Πανεπιστήμιο. Τα ονόματα αλλά και τα προσωπικά σας στοιχεία δεν αναφέρονται πουθενά ούτε είναι δυνατόν να αποκαλυφθούν, και αυτό προστατεύεται από την νομοθεσία σε όλο το κόσμο.

Με ποιον να επικοινωνήσω

Αν έχετε κάποιες απορίες παρακαλώ ρωτήστε τον ιατρό που σας ενημερώνει για τη μελέτη αυτή τη στιγμή ή οπουδήποτε άλλη φορά θελήσετε.

Δήλωση/συγκατάθεση του ερευνητή, πρόσωπου που λαμβάνει το έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης:

Έχω διαβάσει με ακρίβεια το φύλλο πληροφοριών για τις δυνατότητες των συμμετεχόντων, και με τον καλύτερο δυνατό τρόπο φρόντισα ώστε ο συμμετέχων αντιλαμβάνεται ότι θα πρέπει να γίνουν τα παραπάνω και ότι υπογράφοντας, επιβεβαιώνει τα εξής:

1. Έχει διαβάσει και κατανοήσει όλες τις πληροφορίες που περιέχονται στο παρόν έντυπο.
2. Όλα τα ερωτήματά του έχουν απαντηθεί ικανοποιητικά.
3. Δέχεται με τη θέλησή του να συμμετέχουν στην παρούσα ερευνητική μελέτη
4. Επιτρέπετε στα πλαίσια της μελέτης να δημοσιοποιηθούν πληροφορίες που αφορούν το ανωνυμοποιημένο δείγμα τους, σύμφωνα πάντα με το νόμο 2472/97 περί προσωπικών δικαιωμάτων.
5. Έχει πάρει ένα αντίγραφο του παρόντος εντύπου, το οποίο και θα κρατήσει.

Επιβεβαιώνω ότι ο συμμετέχων είχε την ευκαιρία να υποβάλει ερωτήσεις σχετικά με τη φύση και τον τρόπο αποθήκευσης των δειγμάτων, καθώς και όλες οι ερωτήσεις που τέθηκαν από τον συμμετέχοντα έχουν απαντηθεί σωστά και με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Βεβαιώνω ότι το άτομο δεν έχει εξαναγκαστεί να δώσει τη συγκατάθεσή του και η συγκατάθεση έχει δοθεί ελεύθερα και εθελοντικά.

Ονοματεπώνυμο ερευνητή

Υπογραφή ερευνητή

.....