Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 52, No.4, P. 198-202
Winter 2010

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۵۲، شماره ٤
زمستان ۸۸ ، صفحه ۱۹۸-۲۰۲

مقاله اصلی

بررسی زیر گروههای لنفوسیتهای خون محیطی در بیماران مبتلا به ویتیلیگو

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۱۱

[۱] ناصر طیبی میبدی *
[۲] زری جاویدی
[۳] محمود محمودی
[۴] مسعود ملکی
[۵] یلدا ناهیدی
[۶] منور افضل آقائی
[۷] بیتا صفائی
[۸] محمد ابراهیمی راد

۱-دانشیار پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی
۲-استاد بیماریهای پوست دانشگاه علوم زشکی
۳-استاد ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات ایمونولوژی
۴-دانشیار بیماریهای پوست دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۵-استادیار بیماریهای پوست دانشگاه علوم پزشکی
۶-استادیار پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۷-دستیار پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی
۸-متخصص پوست، مشهد، ایران

*مشهد- بیمارستان امام رضا (ع)، دفتر گروه پاتولوژی
تلفن : ۵۱۱۸۰۲۲۲۱۰-۹۸+
email: tayebin@mums.ac.ir

خلاصه

مقدمه

ویتیلیگو یک بیماری اکتسابی با شیوع ۱ تا ۲ درصداست که با از دست رفتن رنگدانه پوستی و به صورت لکه هایی سفید رنگ تظاهر می کند. از نظر هیستولوژی، مهم ترین تغییر در ویتیلیگو نبود ملانوسیت ها در محل اتصال درم و اپیدرم است. مکانیسم های اتوایمیون با یک استعداد ژنتیکی زمینه ای محتمل ترین علت ویتیلیگو است این مطالعه به منظور فهم دقیق تر چگونگی اختلال ایمنی در این بیماران ودر جهت آشکار ساختن بیشتر پاتوژنز بیماری انجام شده است.

روش کار

در این مطالعه که به روش مورد شاهدی انجام شد،۲۹ بیمار مبتلا به ویتیلیگوکه در عرض شش ماه گذشته هیچ گونه درمانی دریافت نکرده بودند به علاوه۲۱ فرد شاهد سالم ارزیابی شدند.از تمام افراد مورد مطالعه پس از کسب شرح حال ومعاینه کامل چهار میلی لیتر خون گرفته شد.خون حاصله پس از انجام شمارش مطلق لکوسیتی به روش فلوسیتومتری با اندازه گیری مارکرهای سطحی CD3,CD4,CD8,CD19,CD16,CD56,CD25 بررسی شد و درصد گروههای مختلف لنفوسیتی یعنی کل لنفوسیت های T ، لنفوسیت های T یاریگر و سیتوتوکسیک، لنفوسیت هایB ، سلول های کشنده طبیعی وسلول های تنظیم کننده ایمنی در خون این بیماران مشخص شد. سپس این مقادیردر زیر گروههای بالینی مختلف بیماری ویتیلیگو با یکدیگر و افراد شاهد مقایسه گردید.اطلاعات حاصله با کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۱۱/۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

میزان مطلق کل لنفوسیت هایT ،سلول های T سیتوتوکسیک ، لنفوسیت های $CD25^+$ و لنفوسیت هایB در افراد مبتلا به ویتیلیگوی ژنرالیزه به شکل معنی داری بالا تر از افراد مبتلا به ویتیلیگوی لوکالیزه بود. همچنین میزان سلول های $CD25^+$ هم در افراد مبتلا به ویتیلیگوی ژنرالیزه و هم ویتیلیگوی پایدار به شکل معنی داری بالا تر از گروه شاهد بود و با لا خره میزان کل لنفوسیت ها در افراد مبتلا به ویتیلیگوی لوکالیزه نسبت به گروه شاهد به شکل معنی داری کاهش یافته بود.

نتیجه گیری

یافته های حاصله نشان دهنده اختلال ایمنی سلولی در بیماری ویتیلیگو است . احتمالا نقص سیستم مرکزی تنظیم کننده ایمنی سلولی در ایجاداین اختلال نقش دارد. افزایش سلول های +CD25 یا سلول های تنظیم کننده ایمنی در زیر گروههای بالینی مختلف بیماری نسبت به گروه شاهد به نفع این فرضیه است. با انجام مطالعات گسترده تر بعدی شاید بتوانیم به ایجاد راه درمانی جدید و موثری برای ویتیلیگو که از راه تنظیم ایمنی بدن عمل می کند امیدوار بود.

کلمات کلیدی: ویتیلیگو، فلوسیتومتری، لنفوسیت، خون محیطی

مقدمه

ویتیلیگو یک اختلال اکتسابی ، قابل توارث ونسبتا شایع است که با ظهور ماکولها و پچهای سفید رنگ تا شیری فاقد ملانوسیت روی پوست مشخص می گردد.شیوع بیماری ۱ تا ۲ درصد و شروع آن بیشتر بین سنین ۱۰ تا ۳۰ سالگی است (۱). از نظر هیستولوژی، مهم ترین تغییر در ویتیلیگو نبود ملانوسیت ها در محل اتصال درم و اپیدرم است (۳).

مشخص ترین انواع ویتیلیگو شامل ویتیلیگو فوکال ، سگمنتال، ژنرالیزه ویونیور سالیس می باشد. ویتیلیگوی فوکال با یک یا چند ماکول دپیگمانته که محدود به یک ناحیه خاص هستند مشخص می شود (۴). ویتیلیگوی سگمنتال بیشتریک طرفه است و انتشار درماتومی دارد. شروع بیماری در سنین پائین تر وبیماری نسبت به نوع ژنرالیزه پایدارتر است.همچنین استعداد خانوادگی در اینجا نقشی ندارد. ویتیلیگوی ژنرالیزه شایعترین نوع ویتیلیگو بوده و با وجود چند ماکول یا تعداد زیادی ماکولهای پراکنده در نواحی مختلف بدن مشخص می شود که اغلب به صورت قرینه قرار گرفته اند. ویتیلیگوی یونیورسالیس یک ویتیلیگوی منتشر است که در آن فقط چند کانون پیگمانته طبیعی در بدن باقی می ماند (۵).

به نظر می رسد یک عامل مستعد کننده ژنتیکی معین و نیز تعدادی عوامل مستعد کننده محیطی احتمالی در بروز آن دخیل باشند. سه فرضیه اتو ایمیون، عصبی و خودتخریبی در مورد پاتوژنز ویتیلیگو پیشنهاد شده است (۱).

شواهدی که از فرضیه اتو ایمیون حمایت می کنند شامل وجود لنفوسیتها در درم ضایعات مراحل ابتدائی و وجود اتو آنتی بادیهای در گردش در بسیاری از بیماران و همراهی ویتیلیگو با بیماریهای اتوایمیون خاص است (۶). تخریب ملانوسیت ها می تواند مستقیما به وسیله سلول های T اتوراکتیوصورت گیرد. افزایش تعداد لنفوسیت های T سیتوتوکسیک واکنش دهنده به ملان A،گلیکوپروتئین ۱۰۰و تیروزیناز در بیماران مبتلا به ویتیلیگو گزارش شده است (۷).

گیرنده های سلول T اختصاصی ملانوسیت در بیماران مبتلا به ملانوم و ویتیلیگو از نظر ساختاری بسیار مشابهند(۸). این مطالعه به منظور فهم دقیق تر چگونگی اختلال ایمنی در این بیماران انجام شده است و هدف آن تعیین میزان مطلق زیر گروههای مختلف لکوسیت ها در خون محیطی بیماران مبتلا به ویتیلیگو در مقایسه با افراد طبیعی است.این مطالعه می تواند در جهت آشکار ساختن پاتوژنز بیماری و کشف راههای موثرتردرمانی گام های بیشتری رو به جلو بردارد.

روش کار

در این مطالعه که به روش مورد شاهدی انجام شد، تعداد ۲۹ نفر بیمارمبتلا به ویتیلیگوشامل ۱۳زن و ۱۶ مرد مراجعه کننده به بخش پوست بیمارستان امام رضا (ع) از ابتدای سال ۱۳۸۵ لغایت سال ۱۳۸۶ مورد بررسی قرارگرفتند. ۹ نفر از آنان ویتیلیگو فعال (با تشدید ظرف یک سال اخیر) و۲۰ نفر ویتیلیگوی پایدار داشتند. همچنین در ۶ نفر از بیماران ویتیلیگو لوکالیزه و در ۲۳ نفر دیگر ژنرالیزه بود. بیماران مبتلا سابقه هیچ گونه درمان داروئی سیستمیک را ظرف شش ماه گذشته نداشتند و نیز به بیماری خاصی غیر از ویتیلیگو مبتلا نبودند.

علاوه برآن تعداد ۲۱ نفر شاهد نیز برای ورودبه مطالعه انتخاب شدند. از این افراد ۱۰نفر زن و ۱۱ نفر مرد بودند. شاهدان از نظر میانگین سن و جنس باافراد مبتلا به ویتیلیگو مطابقت داشتند. گروههای مورد و شاهد بر اساس شرح حال و معاینه بالینی و با توجه به نرمال بودن نتایج آزمونهای TSH, ANAو اندکسهای گلبولهای قرمز جهت رد بیماریهای اتوایمیون همراه، مبتلا به هیچ بیماری خاصی نبوده، داروی سیستمیک یا دخانیات مصرف نمی کردند. پس از حصول رضایت در شرکت در مطالعه، کسب شرح حال کامل وانجام معاینه فیزیکی۴ میلی لیتر نمونه خون وریدی از ورید براکیال گرفته و در دو لوله آزمایش حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) به نسبت مساوی تقسیم شد.

همه نمونه گیری ها بین ساعت ۸ تا۱۰ صبح انجام شد تا تغییرات ریتمیک شبانه روزی سلولهای ایمنی در مطالعه مداخله نداشته باشد. یکی از این لوله ها جهت انجام آزمایش شمارش مطلق لکوسیتی و دیگری جهت کشف زیرگروههای مختلف لکوسیت ها به روش فلوسیتومتری به آزمایشگاه ارسال شد. درصد سلولهای T با آنتی بادی CD_3، سلولهای T یاریگر به کمک آنتی بادی CD_4، سلولهای T سیتوتوکسیک با آنتی بادی CD_8، سلولهای NK با آنتی بادی های CD_{56}وCD_{16}، سلولهای B با آنتی بادیهای CD_{19} و CD_{20} و سلولهای تنظیم کننده ایمنی با آنتی بادی های CD_{25}وCD_4 ومیزان

سلول هائی با گیرنده اینترلوکین ۲ با آنتی بادی CD_{25} مورد ارزیابی قرار گرفت.

طلاعات حاصله به صورت درصد و مقدارمطلق (با کمک محاسبه از روی شمارش مطلق گلبول سفید) وارد نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۱/۵ شد و مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفت. بر اساس توزیع داده ها از آزمون تی تست یا من ویتینی برای محاسبات آماری استفاده گردید و میزان p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

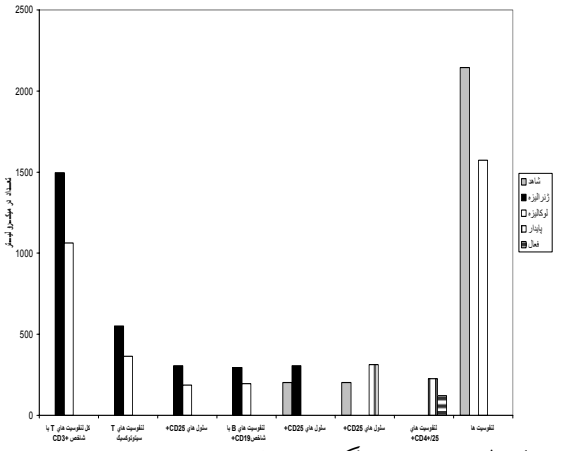
نتایج

ازمجموع ۲۹ بیمار مورد بررسی ۱۶ نفر(٪۵۵/۲) مرد و ۱۳ نفر(٪۴۴/۸) زن و ازمیان ۲۱ نفر افراد گروه شاهد ۱۱ نفر (٪۵۲/۴) مرد و ۱۰ نفر(٪۴۷/۶) زن بودند. نسبت جنسی در دو گروه از نظر آماری معنا دار نمی باشد (p= ۰/۴۸). حداقل سن بیماران مبتلا ۱۰ و حداکثر سن۶۰ سال و میانگین سنی آنها۵/۴± ۲۷/۵ سال بود. افراد گروه شاهد که از جهت تطابق سنی و جنسی با بیماران انتخاب شده بودند حداقل سن ۱۴ و حداکثرسن ۵۳ سال و میانگین سنی ۴/۸±۲۵/۷ سال داشتند (p= ۰/۶۳).

بنابراین دو گروه از نظر سنی و جنسی همسان می باشند. نتایج تحلیل آماری حاصل از مقایسه زیر گروههای مختلف لکوسیتی بین بیماران مبتلا به ویتیلیگوی ژنرالیزه و لوکالیزه از این قرار بود. میزان مطلق کل لنفوسیت هایT، سلول های T سیتوتوکسیک، لنفوسیت های $CD25^+$ و لنفوسیت هایB در افراد مبتلا به ویتیلیگوی ژنرالیزه (Pv به ترتیب با مقادیر ۰/۰۳ ، ۰/۰۳ ، ۰/۰۴ و ۰/۰۲) به شکل معنی داری بالا تر از افراد مبتلا به ویتیلیگوی لوکالیزه بود. مقایسه سایر زیر گروههای لکوسیتی یعنی سلولهای T یاریگر وسلول های کشنده طبیعی و همچنین نسبت سلول های T یاریگر به سیتوتوکسیک بین دو گروه ویتیلیگوی ژنرالیزه و لوکالیزه تفاوت معنی داری را نشان نداد. مقایسه زیر گروههای مختلف لکوسیتی بین بیماران مبتلا به ویتیلیگوی ژنرالیزه، لوکالیزه، پایدار و فعال با افراد گروه شاهد نتایج زیر را نشان داد. میزان سلول های $CD25^+$ هم در افراد مبتلا به ویتیلیگوی ژنرالیزه (p= ۰/۰۳) و هم ویتیلیگوی پایدار (p= ۰/۰۱) به شکل معنی داری بالا تر از گروه شاهد بود. میزان کل لنفوسیت ها در افراد مبتلا به ویتیلیگوی لوکالیزه نسبت به گروه شاهد به شکل معنی داری کاهش یافته بود (p= ۰/۴۳). مقایسه سایر زیر گروههای لکوسیتی و همچنین نسبت سلول های T یاریگر به سیتوتوکسیک بین افراد مبتلا به زیرگروههای مختلف بالینی ویتیلیگو و افراد گروه شاهد تفاوت معنی داری را نشان نداد. نتایج معنی دار این مطالعه در جدول ۱ و همچنین نمودار ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ – میانگین مقادیر مطلق سلولهای دارای اختلاف معنی دار در زیر گروه های بالینی مختلف بیماران مبتلا به ویتیلیگو و افراد شاهد

	گروه (تعداد افراد)	میانگین	انحراف معیار	p-Value
تعداد مطلق کل لنفوسیت های T با شاخص $CD3^+$	ژنرالیزه (۲۳)	۱۴۹۷	۴۳۶	۰/۰۳
	لوکالیزه (۶)	۱۰۶۴	۳۱۴	
تعداد مطلق لنفوسیت های T سیتوتوکسیک	ژنرالیزه (۲۳)	۵۵۱	۲۱۳	۰/۰۳
	لوکالیزه (۶)	۳۶۴	۱۴۰	
تعداد مطلق سلول های $CD25^+$	ژنرالیزه (۲۳)	۳۰۶	۱۸۳	۰/۰۴
	لوکالیزه (۶)	۱۸۶	۶۰	
تعداد مطلق لنفوسیت های B با شاخص $CD19^+$	ژنرالیزه (۲۳)	۲۹۶	۱۰۰	۰/۰۲
	لوکالیزه (۶)	۱۹۵	۲۷	
تعداد مطلق سلول های $CD25^+$	ژنرالیزه (۲۳)	۳۰۶	۱۸۳	۰/۰۳
	شاهد (۲۱)	۲۰۳	۷۷	
تعداد مطلق سلول های $CD25^+$	پایدار (۲۰)	۳۱۴	۱۹۳	۰/۰۱
	شاهد (۲۱)	۲۰۳	۷۷	
تعداد مطلق لنفوسیت ها	لوکالیزه (۶)	۱۵۷۲	۳۶۸	۰/۰۴
	شاهد (۲۱)	۲۱۴۴	۶۲۴	



نمودار ۱– فراوانی زیرگروههای لنفوسیتی در بیماران مبتلا به ویتیلیگو و افراد شاهد در مواردیکه اختلاف معنی دار ی داشته اند

بحث

میزان کل لنفوسیت ها در ویتیلیگو لوکالیزه نسبت به گروه شاهدبه شکل معنی داری کاهش یافته بود کاهش مشابهی در

مطالعه انجام شده توسط محمود در سال ۲۰۰۲ و هالدر[1] در ۱۹۸۶ گزارش شده است (۹، ۱۰). کاهش کل لنفوسیت ها احتمالا به علت افزایش فعالیت ایمنی و گسیل سلول ها به پوست وافزایش مرگ سلولی است. افزایش فعالیت ایمنی احتمالا در آغاز بیماری بیشتر است و اکثر بیماری های مبتلا به نوع لوکالیزه بیماری در آغاز حمله بیماری قرار داشتند.

میزان کل لنفوسیت هایT در افراد مبتلا به ویتیلیگو ژنرالیزه به شکل معنی داری بالاتر از افراد مبتلا به ویتیلیگو لوکالیزه بود.درمطالعه انجام شده توسط باساک نیز مشابه همین افزایش در ویتیلیگوی ژنرالیزه نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (۱۱). علت احتمالی این افزایش مربوط به افزایش سلول های T سیتوتوکسیک $CD3/8^+$ است . زیرا میزان این سلولها نیز در افراد مبتلا به ویتیلیگو ژنرالیزه به شکل معنی داری نسبت به افراد مبتلا به ویتیلیگو لوکالیزه افزایش داشت. در این زمینه در مقالات مختلف نتایج متفاوتی گزارش شده است. بالا رفتن سلولهای T سیتوتوکسیک در ویتیلیگو ژنرالیزه در این بررسی نشان دهنده افزایش فعالیت ضد ملانوسیتی در این نوع ویتیلیگو است. مطابق مطالعات انجام شده ویتیلیگو، حاصل تخریب ملانوسیت ها توسط سلول های T سیتوتوکسیک است که توسط سلول های عرضه کننده آنتی ژن با عرضه آنتی ژن خودی ملانA، تیروزیناز، گلیکو پروتئین ۱۰۰فعال شده اند (۷).

مقایسه تعداد مطلق لنفوسیت های B با مارکر CD19 مثبت در بیماران مبتلا به نوع ژنرالیزه نسبت به نوع لوکالیزه به شکل معنی داری افزایش یافته بود($P=0.02$). مطالعه انجام شده توسط دکتر قربان کاهش معنی دار سلولهای B CD19 مثبت را در افراد مبتلا به ویتیلیگو فعال نسبت به ویتیلیگو پایدار نشان داد (۱۲). در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری بین تعداد مطلق لنفوسیتهای B بین ویتیلیگوی فعال و پایدار وجود نداشت ($p=0.56$). در بررسی حاضر کاهش این سلولها در ویتیلیگو لوکالیزه که اکثرا در عرض یک سال اخیر به بیماری مبتلا شده بودند احتمالا حاکی از افزایش فعالیت ایمنی ومرگ سلولی یا ناشی از مهاجرت این سلولها به بافت مبتلا جهت سنتز آنتی بادی ضد ملانوسیت است.یافتن آنتی بادی های ضد ملانوسیتی در گردش خون مبتلایان به ویتیلیگو در انسان ها و همچنین مدل های حیوانی حکایت از اختلال ایمنی هومورال در پاتوژنز ویتیلیگو دارد (۱۳، ۱۴).

در مجموع مهمترین تفاوت در بیماران مبتلا به ویتیلیگو نسبت به افراد شاهد افزایش معنی دار سلولهای $CD25^+$ در هردو گروه بیماران مبتلا به ویتیلیگو ژنرالیزه و پایدار بود. نتیجه مشابه توسط محمود در سال ۲۰۰۲ گزارش شده است (۸). مارکر CD25در واقع گیرنده α اینترلوکین۲ است. اثر این سیتوکین در دو جهت مخالف است به این ترتیب که می تواند از یک طرف باعث تکثیر و تمایز سلول های لنفوئیدی فعال شده شود واز طرف دیگر در صورت بروز Fas و لیگاند آن بر روی همین سلول های فعال شده می تواند باعث آپوپتوز آنها گردد (۱۵). به این ترتیب سلولهای $CD4^+/25^+$ سلول های T اتوراکتیو را که بطور بالقوه می توانند باعث بیماری اتوایمیون شوند مهار می کنند (۱۶، ۱۷) به همین دلیل به آنها سلول های Tتنظیم کننده T Reg گفته می شود. تقص این سلول ها باعث افزایش فعالیت خودایمنی ناشی از سلول T خواهد شد (۱۸، ۱۹). افزایش این سلولها در بیماران مبتلا به ویتیلیگو پایدار و ژنرالیزه شاید توجیه گر افزایش سلول های T سیتوتوکسیک باشد .یعنی بروز شاخص CD25 بر سطح سلول های T باعث پرولیفراسیون سلول های Tسیتوتوکسیک گردیده است. شاید این افزایش نشانه نقص کیفی این گیرنده در تنظیم سلولهای T اتوراکتیو وآپوپتوز آنها و در نتیجه افزایش پاسخ خودایمنی باشد.به عبارت دیگرعملکرد گیرنده اینترلوکین ۲ نقص داردو تعداد آن به صورت جبرانی افزایش یافته است در نتیجه تنظیم سلول های T دچار اختلال شده و پاسخ خود ایمنی ایجاد شده است.

نتیجه گیری

در صورتی که نقص عملکردی گیرنده اینترلوکین ۲در سرکوب سلول های T اتوراکتیو ثابت شود، می توان از طریق تکنیک های خالص سازی این سلولها و تزریق آنها به بدن یا دستکاری آنها و با استفاده از مارکرهای جدید سلولی تحولی در درمان این بیماران ایجاد کردو در صورتی که افزایش عملکرد سلول های T اتوراکتیو در نتیجه تحریک از سوی اینترلوکین ۲ و گیرنده های آن علت بیماری ویتیلیگو باشد، می وان از آنتی بادی

[1] Halder

ضد CD25 یا سایر ترکیبات سرکوبگر سلول های مترشحه اینترلوکین ۲ جهت درمان بیماران استفاده کرد.

با انجام مطالعات گسترده تر بعدی شامل مقایسه میزان لنفوسیت ها در خون محیطی و محل ضایعه با بیوپسی پوستی، ارزیابی سطوح سرمی سیتوکین های مختلف پیش التهابی و ضد التهابی به خصوص اینترلوکین ۲، ارزیابی شاخص میانگین فلورسانس (mean flourescence index) ازطریق فلوسیتومتری جهت بررسی تعداد متوسط شاخص های آنتی ژنی بر هر سلول لنفوسیتی و استفاده از جمعیت بیشتری از افراد بیمار خصوصا افراد مبتلا به بیماری فعال (تشدید در یک سال اخیر) جهت مطالعه شاید بتوان به ایجاد راه درمانی جدید و موثری برای ویتیلیگو که از راه تنظیم ایمنی بدن عمل می کند، امیدوار بود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که هزینه این طرح را تقبل نموده اند و از سرکار خانم دکترهدیه پدرام، آقای دکتر کرامتی ,خانم نفیسه طبسی و آقای قربانی تشکر مینمایند.

References:

1- Bleehen SS, Anstey AV. Disorders of skin color. In : Burn T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Rook's textbook of Dermatology. 7th ed. Oxford: Blackwell science; 2004.p. 39.1-39.68.
2- Cindy L, James J. Vitilgo. In: John H, Arnold O, Neil P. Textbook of pediatric dermatology. 6 th ed .Oxford: Blackwell science; 1998.p.1802 -1805.
3- Spievogel RL, Kantor GR. Pigmentary disorders of the skin. In: Elder DE, Elenitsas R, Sohnson BL, Murphy GF. Lever's histopathology of the skin. 9th ed. Philalelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.p.705-713.
4- Boissy RE, Nordlund IJ. Vitiligo. In: Arndt KA, LeBoit. PE, Robinson JK, Wintroub BU. cutaneous medicine and surgery. 1st ed. Philadelphia. saunders; 1996.p.1210- 1218.
5- Halder RM, Taliaferro SJ. Vitiligo in: Wolff K, Gold smith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ. Dermatology in general medicine. 7th ed. McGraw – Hill; 2008. P.616-621.
6- Nordlund JJ, Lerner AB. Vitiligo-It is important? Arch Dermatol 1982; 118: 5–8.
7- Garbelli S, Mantovani S, Palermo B,Giachino C.Melanocyte-specific, cytotoxic T cell responses in vitiligo:the effective variant of melanoma immunity? Pigment cell res 2005; 18:234- 242.
8- Lengagne R, Legal FA,Garcette M.Spontaneous vitiligo in an animal model for human melanoma: role of tumor-specific CD8 T cells. Cancer Res 2004; 64:1496-501.
9- Mahmoud F, Abul H, Haines D, Al-Saleh C. Decresed total number of peripheral blood lymphocytes with elevated percentages of CD4+, CD4SRO+ and CD4 CD25+ of T-helper cells in nonsegmental vitiligo . J Dermatol 2002; 29:68-73.
10- Halder RM, Walters CS, Johnson BA, Chakrabarty SG. Abberation in T lymphocytes and natural killer cell in vitiligo: a flowcytometric study. J Am Acad Dermatol 1986; 14:733-737.
11- Basak P, Adiloglu A, Koc I, Tas T, Akkaya V. Evaluation of activatory and inhibitory natural killer cell receptors in non-segmental vitiligo: a flow cytometric study. J Eur Acad Dermatol Venereol 2008; 22:970-976.
12- Ghorban K, Dadmanesh M, Masood A, Mansori P. B and T Lymphocyte and subsets in the peripheral blood in vitiligo patients. JAUMS 2006; 3:891-394.
13- Ongenae K,Van Geel N, Naeyaert J. Evidence for an autoimmune pathogenesis of vitiligo. Pigment. Cell Res 2003; 16:90-100.
14- Passeron T, Ortonne JP. Physiopathology and genetics of vitiligo. J Autoimmun 2005; 25:63-8. Epub 2005 Nov 18.
15- Abbas AK, Litchman AH. Cellular and Molecular Immunology.5th ed.Saunders:Philadelphia; 2004.p.216-274.
16- Askenasy N, Kaminitz A, Yarkoni S. Mechanisms of T regulatory cell function. Autoimmun Rev 2008; 7:370-375.
17- Zwar TD, Van Driel IR, Gleeson. Guarding the immune system: Supression of autoimmunity by $CD4^+$ $CD25^+$ immunoregulatory T cells. Immunol Cell Biol 2006; 84: 487–501.
18- Zeiser R, Negrin RS. Interleukin-2 receptor downstream events in regulatory T cells: implications for the choice of immunosuppressive drug therapy. Cell Cycle 2008; 7:458-462.
19- Basak PY, Adiloglu AK, Ceyhan AM, Tas T, Akkaya VB. The role of helper and regulatory T cells in the pathogenesis of vitiligo. J Am Acad Dermatol 2009; 60:256-260.