

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI



**PSORİASİSDE HÜCRESEL STRES, OKSİDATİF STRES VE OKSİDATİF DNA
HASARININ PASİ SKORU İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Funda KIRTAY TÜTÜNCÜLER

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Dilek ÜLKER ÇAKIR

Çanakkale

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**PSORİASİSDE HÜCRESEL STRES, OKSİDATİF STRES VE OKSİDATİF DNA
HASARININ PASİ SKORU İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Funda KIRTAY TÜTÜNCÜLER

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Dilek ÜLKER ÇAKIR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 112 proje kodu ile desteklenmiştir.

Çanakkale 2013

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Biyokimya uzmanlık/ yan dal uzmanlık eğitimi
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Uzmanlık/Yan Dal Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 11/09/2013

Psoriasisde Hücrel Stres, Oksidatif Stres ve Oksidatif DNA Hasarının PASI
Skoru ile İlişkisi

Tez Danışmanı: Doç.Dr.Dilek ÜLKER ÇAKIR

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

Prof.Dr.Can DUMAN

Doç.Dr.Dilek ÜLKER ÇAKIR

Yrd.Doç.Dr.Hakan TÜRKÖN

İmzası

.....
.....
.....

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim
Kurulunun 29/09/2013 tarih ve 2012/11 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.....
Dekan
Prof. Dr. Hüseyin ÖZDEMİR
ÇOMU Tıp Fakültesi
DEKAN

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimimin başından itibaren tecrübelerinden faydalandığım, eğitimime katkı sağlamış olan ve tez sürecimde yardımlarını, bilgilerini, desteklerini, sabrını esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç.Dr. Dilek Ülker Çakır'a teşekkürü borç bilirim. Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr. Can Duman'a desteklerinden ve eğitimime sağladığı katkıdan ötürü teşekkür ederim. Yrd.Doç.Dr. Hakan Türkön'e desteklerinden ötürü teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam boyunca çalışmama katkı sağlayan değerli Dermatoloji Anabilim Dalı Öğretim üyeleri; Doç.Dr. Zerrin Öğretmen, Yrd.Doç.Dr. Sevilay Oğuz, ve Yrd.Doç.Dr. Selda Işık'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın istatistik değerlendirmesini birlikte yaptığım Halk Sağlığı Anabilim Dalı üyesi Doç.Dr. Coşkun Bakar'a değerli zamanını ayırdığı için teşekkürü borç bilirim.

Asistan arkadaşlarım Dr. Ertan Eşsizoğlu ve Dr. Elif Demircan'a tez sürecim boyunca verdikleri destekten ötürü teşekkür ederim. Biyokimya laboratuvarının değerli çalışanlarına asistanlık sürecim boyunca ellerinden gelen yardımı esirgemedikleri için teşekkür ederim.

Tezimi, eğitimimin en başından itibaren desteklerini hep hissettiğim sevgili annem, babam ve ağabeyime; en büyük destekçim, hayat arkadaşım Dr. İzzet Akın Tütüncüler'e ithaf ediyorum.

Dr.Funda Kırtay Tütüncüler

ÖZET

Amaç:Psoriasis toplumda sık görülen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Daha önce yapılmış araştırmalarda hastalığın artmış oksidatif stres ile ilişkisi olduğunu düşündürülen bulgular vardır. İMA yeni tanımlanmış bir oksidatif stres belirtecidir ve psoriasis hastalarında düzeyleri yüksek saptanmıştır. 8-OHdG düzeyi Oksidatif DNA Hasarı belirtecidir. Isı şok proteinleri hücrel stres varlığında tüm hücreler gibi keratinositler tarafından da sentezlenir ve yükselmiş düzeyleri hücreyi ileri oksidatif hasara karşı korur.

Psoriasis hastalığının klinik evrelendirilmesi için Psoriasis Area Severity İndeks(PASİ) kullanılır. Bu skor baş, gövde, alt ve üst ekstremitelerdeki lezyonların şiddeti ve yaygınlığı dikkate alınarak yapılır. Bu çalışma psoriasis hastalarında PASİ skoru ile Hücrel stres, Oksidatif stres düzeyi ve Oksidatif DNA hasarı düzeyi arasındaki ilişkiyi saptamayı amaçlamaktadır.

Yöntem:Çalışmaya katılan gönüllüler üniversitemize başvuran 39 psoriasis hastası ve bu hastalar ile benzer demografik özellikler gösteren 39 sağlıklı bireyden oluşmaktadır. İma düzeyleri spektrofotometrik yöntemle, Isı şok proteini olan Hsp27 ve Oksidatif DNA Hasarı belirteci olan 8-OHdG düzeyleri ELİSA yöntemi ile çalışılmıştır.

Bulgular:Araştırmanın verileri SPSS 19,0 istatistik programı kullanılmıştır. Çalışmamızda hasta grubunda ortalama İMA düzeyi $0,883\pm 0,090$, kontrol grubunda İMA düzeyi $0,889\pm 0,107$ olarak tespit edildi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.Psoriasis vakalarının şiddetine göre de İMA düzeyleri açısından anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Ortalama serum 8(OH)dG düzeyi hasta grubunda $25,5\pm 5,9$; sağlıklı bireylerde ise ortalama $24,8\pm 7,1$ olarak tespit edildi. İki grup arasında ortalama serum 8(OH)dG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. 8 OHdG düzeyleri ile hastalığın şiddeti arasında bir fark olmadığı saptandı. Hasta grubunda ortalama serum Hsp 27

düzeyi $31,7 \pm 75,0$; sağlıklı bireylerde ise ortalama $4,2 \pm 1,1$ olarak saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi. Ancak bu farkın birkaç hastanın aşırı yüksek sonucundan kaynaklanmakta olduğu görüldü.

Sonuç: Elde edilen bulgular, psoriasisli hastalarla sağlıklı bireyler arasında oksidatif stres belirteçleri olarak kabul edilen İMA ve 8(OH)dG arasında anlamlı bir fark olmadığını; hem oksidatif stres belirteci hem de hücre büyüme ve farklılaşmasının göstergesi olan Hsp 27 düzeylerinde anlamlı bir fark olduğunu ortaya koymuştur.

Genetik ve çevresel farklılıklar psoriasisde önemli yer tutmaktadır. Ülke çapında daha geniş hasta gruplarında yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler:Psoriasis, oksidatif stres, İMA, 8 OHdG

ABSTRACT

Psoriasis is a chronic inflammatory disease that affect the 1-3% society over the world. Increased oxidative stress has been previously shown to correlate with psoriasis research. Ischemia modified albumin, a marker of oxidative stress in a newly defined and IMA levels were higher in patients with psoriasis. Oxidative stress in many diseases such as psoriasis causes oxidative DNA damage. 8 OHdG level marker of oxidative DNA damage. Heat shock proteins are present in all cells in the presence of cellular stress, such as synthesized by keratinocytes and protects the cell against increased further oxidative damage levels. For the clinical staging of the disease psoriasis area severity index (PASI) is used. This score is done with head, trunk, upper and lower extremity considering the severity and extent of the lesions. This study in psoriasis patients of cellular stress, oxidative stress levels and oxidative DNA damage and to determine the relationship between the level of PASI score is done.

Volunteers who participated in the study with 39 patients with psoriasis patients and 39 healthy individuals were similar demographic characteristics. The data were evaluated using SPSS 19.0 statistical software. These 39 patients with psoriasis in a balanced manner consisted of mild, moderate and severe cases of psoriasis.

In our study, the level of IMA 0,883 per patient group and the control group was found in 0.889 IMA level. We found no significant difference between the two groups. Also according to the severity of cases of psoriasis found no significant difference in the levels of IMA.

In our study, the mean serum 8 OHdG levels in patients 25.5 ± 5.9 ; 24.8 ± 7.1 , the average was found in healthy individuals. We found no significant difference between the two groups. Also according to the severity of cases of psoriasis found no significant difference in the levels of 8 OhdG.

In our study, patients with a median serum levels of Hsp27 31.7 ± 75.0 , the mean was 4.2 ± 1.1 was found in healthy individuals. In our study, we found that the difference between the two groups was statistically significant. However, this difference was due to the result of too high a few patients.

Genetic and environmental differences are important in psoriasis. Given these differences in a more comprehensive studies are needed across the country.

Key Words: Psoriasis, oxidative stress, ima, 8-OHdG

İÇİNDEKİLER

İç kapak.....	i
Kabul-onay sayfası.....	ii
Teşekkür.....	iii
Özet	iv
Abstract	vi
İçindekiler.....	viii
Şekiller Dizini.....	xi
Tablolar Dizini.....	xiii
Kısaltmalar ve semboller dizini.....	xv
1. GİRİŞ	
2 .Genel Bilgiler.....	1
2.1.Psoriasisin Etiyolojisi.....	1
2.1.1.Psoriasisin Presipite Eden Faktörler.....	2
2.1.2.Psoriasisin Histopatolojisi.....	8
2.1.3.Psoriasisin Genetik Temelleri.....	10
2.1.4. Psoriasisin Klinik Skorlaması.....	11

2.2.Hücresel Stres, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	12
2.2.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	13
2.2.2.Oksidatif Hasar ve Belirteçleri.....	16
2.2.3.Antioksidan Sistem.....	28
2.2.4 Oksidatif Stres ve Psoriasis.....	34
2.2.5 Çalışmada kullanılan Oksidatif Stres Biyobelirteçleri.....	35
İskemi Modifiye Albumin.....	39
8- (OH)dG.....	45
Isı şok Proteinleri.....	49
3.GEREÇ YÖNTEM.....	52
3.1.Kullanılan Gereçler.....	52
3.1.1. Hasta Grupları.....	52
3.1.2 Kullanılan Aletler.....	52
3.1.3.Kullanılan Kimyasallar.....	53
3.1.4. Uygulanılan Yöntemler.....	53
ELİSA.....	53
Serum 8(OH)dG Seviyelerinin Ölçümü.....	59
Serum HSP27 Seviyelerinin Ölçümü.....	62

Kolorimetrik Yöntem ve İskemi Modifiye Albumin Düzeylerinin Ölçümü.....	66
Hasta PASI Değerlerinin Hesaplanması.....	69
4.İstatistiksel Analiz.....	71
5.Bulgular.....	72
6.Tartışma.....	86
7. Sonuç ve Öneriler.....	96
8.Kaynaklar.....	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Normal ve psöriatik derinin mikroskopik görüntüsü.....	9
Şekil 2: lipid peroksidasyonunun aşamaları ve MDA oluşumu.....	18
Şekil 3: Hidroksil radikali ile çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonunun şematik gösterimi	19
Şekil 4:Peptit ve proteinlerde C-3 konumunda alkoksil radikallerinin oluşma mekanizması ve bu radikallerin α -karbon merkezli radikaller vermek ve karbonil oluşturmak üzere β - kırılmaları.....	23
Şekil 5: Histidinin metal iyonları aracılığıyla oksidasyonu.....	23
Şekil 6: Nitrik oksit ile süperoksitin reaksiyonu sonucu daha reaktif peroksinitritin oluşumu (A). Peroksinitrit'in proteinlerin tirozin köküne saldırısı ile orto-nitrotirozinin oluşumu (B).....	24
Şekil 7:DNA baz modifikasyonları.....	26
Şekil 8: Tyr 138, Tyr 148, Tyr 401, Tyr 411, Tyr 452, Ser 232, and Ser 287 yüzey lokasyonlarını gösteren insan albumininin kristal yapısı.	41
Şekil 9:Albuminin geçiş metallerini bağlama bölgeleri.....	43
Şekil 10 : İskemi modifiye albumin testinin işleyiş mekanizması.....	44
Şekil 11: Guanin'den modifiye baz olan 8-OHdG'nin oluşumu.....	46
Şekil 12: Hasarlı bazın yanlış eşleşmesi.....	48
Şekil 13: Hidroksil radikalinin guanin ile reaksiyonu.....	48
Şekil 14: Çeşitli ELİSA protokolleri.....	59
Şekil 15: 8-hidroksi deoksi guanozin ELİSA standartlarının hazırlanması.....	60
Şekil 16: 8-hidroksi deoksi guanozin kalibrasyon eğrisi.....	62

Şekil 17: Hsp27 Standartlarının hazırlanması.....	63
Şekil 18: Hsp27 kalibrasyon eğrisi.....	65
Şekil 19 :Örnek içinden geçen ışık ışınının absorpsiyonunu ve etki eden faktörler...	67
Şekil 20:Vaka ve kontrol grubunda yaş dağılımı.....	72
Şekil 21:Vaka ve kontrol grubu 8(OH)dG düzeyleri.....	77
Şekil 22: Vaka ve kontrol gruplarında İMA düzeyleri.....	79

TABLolar DİZİNİ

Tablo1: Psoriasisiste Gen Lokusları.....	11
Tablo 2: Reaktif oksijen türleri (ROS).....	16
Tablo 3 :Serbest radikal artışı içerdiği düşünölen fizyolojik ve patolojik durumlar.....	27
Tablo 4: İntraseluler antioksidanlar ve reaksiyonları.....	30
Tablo 5 :Membran antioksidanları ve membrandaki işlevleri.....	30
Tablo 6 :Ekstraseluler antioksidanlar ve özellikleri.....	32
Tablo 7: ELİSA Protokolleri	55
Tablo 8: 8-hidroksi deoksi guanozin ELİSA standartlarının konsantrasyonları ve 450 nm deki absorbanları.....	62
Tablo 9: Hsp27 ELİSA standartlarının konsantrasyonları ve 450 nm'deki absorban değerleri.....	66
Tablo 10:Çalışmada kullanılan veriler	73
Tablo 11:Hasta Grubunda PASİ Skorunun ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı.....	73
Tablo 12:Hasta Grubunda Pasi Skoruna göre Pasi Skorunun ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı.....	74
Tablo 13:Hasta ve Kontrol Gruplarında 8 hidroksi deoksi guanozin ortalama ve ortanca değerlerinin dağılımı.....	75
Tablo 14: Hasta ve Kontrol Gruplarında Heat Shock Protein 27 ortalama ve ortanca değerlerinin dağılımı.....	76

Tablo 15: Hasta ve Kontrol Gruplarında İskemi Modifiye Albümin ortalama ve ortanca değerlerinin dağılımı.....	77
Tablo 16: Hasta Grubunda Pasi skoruna göre 8 hidroksi deoksi guanozin ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı.....	78
Tablo 17: Hasta Grubunda Pasi skoruna göre Heat Shock Protein 27 ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı.....	79
Tablo 18: Hasta Grubunda Pasi skoruna göre İskemi Modifiye Albumin ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı.....	81
Tablo 19 : 8(OH)dG ve HSP27 Düzeyleri arasındaki ilişki.....	82
Tablo 20 : İMA ve 8(OH)dG Düzeyleri arasındaki ilişki.....	83
Tablo 21 : İMA ve HSP27 Düzeyleri arasındaki ilişki.....	83
Tablo 22: Hasta ve Kontrol Grubunda Sigara içen ve içmeyenlerin sayı ve yüzdeleri.....	84
Tablo 23: Tüm katılımcılarda sigara içme durumuna göre İskemi Modifiye Albümin ortalama ve ortanca değerleri.....	84
Tablo 24:Hastaların Hastaneye başvuru sırasında kullandıkları ilaçların PASİ ye göre dağılımı.....	85

KISALTMALAR VE SEMBOLLER

ATP	: Adenintrifosfat
DC	: Dendritik hücre
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
HLA	: İnsan lökosit antijen
HIV	: İnsan immünyetmezlik virüs
HSP(27)	: Isı şok proteini 27
HPV	: Human papilloma virüs
ICAM	: İntersellüler adhezyon molekülü
İMA	: İskemi modifiye albumin
PASİ	: Psoriasis Area Severity İndeks(Psoriazis alan şiddet indeksi)
PUVA	: Psoralen ve ultraviyole-A
Sit c	: Sitokrom c
MHC	: Majör histokompatibilite kompleksi
NO	: Nitrik oksit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
THR	: T hücre reseptörü
Th	: Yardımcı T lenfosit hücresi
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
VCAM	: Vasküler hücre adhezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
8(OH)dG	: 8 hidroksi deoksi guanozin

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Psoriasis dünyada toplumun %1-3'ünü etkileyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır(1). Daha önce yapılmış araştırmalarda hastalığın artmış oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir(2). İşkemi modifiye albümin yeni tanımlanmış bir oksidatif stres belirtecidir ve psoriasis hastalarında İMA düzeyleri yüksek saptanmıştır(3). Oksidatif stres birçok hastalıkta olduğu gibi Psoriasisde de Oksidatif DNA Hasarına sebep olmaktadır(4,5). 8 OHdG düzeyi yukarıda da belirtildiği üzere Oksidatif DNA Hasarı belirteci olup Psoriasisli hastalarda düzeyleri artmıştır(6).

Isı şok proteinleri mevcut olan hücresele stres varlığında tüm hücreler gibi keratinositler tarafından da sentezlenir ve yükselmiş düzeyleri hücreyi ileri oksidatif hasara karşı korur(7).

Psoriasisde hastalığın klinik evrelendirilmesi için Psoriasis Area Severity Index (PASI) kullanılır. Bu skor baş, gövde, alt ve üst ekstremitelerdeki lezyonların şiddeti ve yaygınlığı dikkate alınarak yapılır(1,8). Bu çalışma psoriasis hastalarında PASİ skoru ile Hücresele stres, Oksidatif stres düzeyi ve Oksidatif DNA hasarı düzeyi arasındaki ilişkiyi saptamayı amaçlamaktadır. Bu amaca ulaşıldığında hastaların lezyonlarının şiddeti ile oksidatif stres arasındaki ilişki açıklık kazanmış olacak ve tedavinin agresifliğini belirlemek açısından yol gösterici olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Psoriasisin Etiyolojisi

Psoriasis kelimesi yunanca kaşıntı anlamına gelen "psora"dan köken almaktadır. Modern tıbbın babası olan Hipokrat(MÖ 460-377) "*Corpus Hippocraticum*" adlı toplu yazmalarında psoriasisden, lepra dahil diğer benzer bulguları olan hastalıklardan ayırmadan "psora" terimi ile bahsetmiştir. Bu yanlış anlaşılma nedeniyle hastalar birkaç yüzyıl boyunca toplumdan dışlanmış ve izole edilmişlerdir. Bergamalı Galen (MÖ 200-130) kaşıntı ile seyreden tüm dermo ve epidermopatileri "psoriasis vulgaris" terimi ile ifade etmiştir. Nihayet 18. yüzyılda

İngiliz dermatolog Robert William psoriasis eritematöz skuamöz durumlara dahil ederek ayrı bir hastalık olarak tanımlamıştır. 1841'de Ferdinand to Von Hebra ve Moritz Kaposi psoriasisin klinik ve anatomopatolojik karakterlerini açıkça ortaya koyarak, hastalığı lepradan kesin olarak ayırmışlardır (9,19).

Psoriasis toplumda %1-3 sıklıkla görülen relapslarla seyreden kronik inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır (9).

Hastalık ciltte bir dizi değişiklikle kendini gösterir. Bunlar epidermal keratinositlerin hiperplazisi, vasküler hiperplazi ve ektazi yanı sıra etkilenmiş deri dokusunda T lenfosit , nötrofil ve diğer lökosit türlerinin infiltrasyonudur (10). Ekvator bölgesinde düşük insidansla iken kutuplara doğru insidansı artar(9). Hastalık en sık İskandinavya ve Kuzey Avrupa'da görülür ve oran toplumun %3'üne denk gelir. Japonya'da görülme sıklığı %0.2 civarındadır. Bu da çevresel ve genetik koşulların hastalığın prevalansını etkilediğini göstermektedir. Kadın ve erkekler eşit olarak etkilenir.

Hastaların %75'inde bulgular 40 yaşından önce özellikle 20'li yaşlarda başlar. Hastalığın pik yaptığı iki yaş grubu vardır. Büyük çoğunluğu oluşturan birinci pik 20-30'lu yaşlar, daha küçük olan ikinci pik ise 50-60 yaş arasındadır. Bir hipoteze göre diabetes mellitusa benzer şekilde hastalığın iki tipi vardır. Erken başlangıçlı olan tip1'de histolojik olarak HLA antijenleri gösterilmiş olup bu vakalarda aile hikayesi mevcuttur ve daha ağır seyirlidir. Geç başlangıçlı olan tip2'de ise histolojik olarak HLA ilişkisi yoktur, sporadiktir ve hastalık daha hafif seyreder. Ancak bu durumun dışında olan vakalar da vardır (11).

2.1.1.Psöriasisi presipite eden faktörler

Hastalıkta riskli ve presipite edici faktörler vardır. Bunlar fiziksel ve kimyasal travma, infeksiyonlar (Streptokok, stafilokok aureus, candida albicans, pitrosporum orbiculare, virüsler), stres, ilaçlar (β blokerler, antimalaryaller, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, kortikosteroidler vs), hipokalsemi, iklim, alkol, diyet, sigara,

obezite ve kardiyovasküler hastalıklardır (9).

Travma

Mekanik, UV, yanık, cerrahi gibi fiziksel ve kimyasal travmalar, psikolojik stres gibi dış tetikleyiciler genetik olarak yatkın bireylerde psoriasis gelişimini tetikleyebilir. Bu tetikleyiciler psoriasisı kötüleştirebilir veya şiddetli relapsa neden olabilir (9).

İlaçlar

β -bloker, ACE inhibitörleri, antimalaryaller, antiinflamatuvar ve lityum gibi ilaçlar psoriasisı başlatır veya tekrarlatılabilir (9).

İnfeksiyöz Etyoloji

İnfeksiyöz etyolojinin rolü bakteriyel, viral ve fungal infeksiyonlarla ilişkili vakaların bildirilmesiyle düşünülmüştür. Birçok çevresel faktör suçlanmasına karşın psoriasisde β -hemolitik streptokoklar, kesin tanımlanmış olan, özellikle de Cw*0602 aleli taşıyanlarda A grubu β -hemolitik Streptokoklar akut psoriasis tetikleyicilerindedir. Streptokokal süperantijenlerin CLA + T hücre ekspresyonunu indüklediği ve böylece T hücrelerin deriye migrasyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Streptokokların genellikle ekstraselüler patojen olarak düşünülmesine karşın skuamöz epitel ve makrofajlar gibi ökoryatik hücrelere penetre olabildiği gösterilmiştir. Bu durum persistan streptokok taşıyıcılığı, infeksiyon ve rekürren infeksiyonla ilişkilidir. Psoriatik deriden izole edilen CD4 ve CD8+ hücrelerin streptokokal antijenlere yanıt verebildiği gösterilmiştir. Tonsillektomi yapılan vakalarda psoriasis remisyonu da bildirilmiştir. Bakteriyel endotoksinler, süperantijen gibi davranıp T hücreleri, makrofaj, langerhans hücreleri (LC), keratinosit aktivasyonu ve etkileşimini tutan kompleks kaskadı tetiklediği bildirilmiştir (11,12).

HIV enfeksiyonu

Psoriasis tetikleyen önemli bir başlatıcı faktördür. HIV enfeksiyonunun ilk klinik belirtisi psoriasiform dermatit olabilir. Kronik psoriasisde CD8+ T hücrelerin önemi nedeni ile, HIV ile enfekte bireylerde azalan CD4+ T hücreler yüzünden prognoz kötü seyreder. Antiretroviral tedaviye yanıt alınabilir. Regülatuar CD4+CD25+ T hücreler memory CD8+ T hücre cevabını kısıtlar ve, CD4+CD25+ regülatuar T hücrelerin azalması CD8+ T hücre popülasyonunda en az 10 kat artış yapabileceği gösterilmiş olup, HIV enfekte bireylerde CD8+ T hücre aktivitesinde artış gösterilmiştir. Bundan dolayı, HIV (+) psoriasis hastalarında aktivasyon, en azından kısmen regülatuar CD4+ T hücre azalması ve sonradan CD8+ T hücre aktivitesinde artış ile ilişkilidir (12).

HPV

Psoriatik deri örneklerinde %89-90 sıklıkla HPV DNA' ları bulunmuştur. Bu virus ailesi nonlitik siklusla keratinositlere girip E6 ve 7 gibi proteinlerle keratinosit proliferasyonunu indükleyebilir. HPV' nin sıklıkla rastlanması, patogeneizde oldukça önemli rolünü gösterebilir.

Mayalar

Malassesia türlerinin psoriasisde rolü hala tespit edilememesine karşın, bazı çalışmalar bu lipofilik mayaların psoriasisde deri lezyonu gelişimiyle ilişkisini göstermiştir. Vakaların çoğunda saçlı deri tutulumuyla ilişkilidir. Saçlı deri psoriasisinin ketokonazole yanıt vermesi, saçlı deri psoriasisinde m. Ovalis (m. restrictayla ilişkili) varlığı bunu düşündürmektedir. Son zamanlarda da malessezia türlerinin glans psoriasisıyla ilişkisi bildirilmiştir. Bu bireylerin Malessezia türleri ve bunlardan derive proteinlere immunolojik yanıtı olabileceği gösterilmiştir. Gupta ve ark, tüm hastalarda 6 malessezia türü izole ederken, psoriasislilerde en sık m. globosa bulunmuştur. Bu tür aynı zamanda saçlı deri, alın, gövdeden izole edilmiştir.

Bununla birlikte malessezia türlerinin psoriatik ve normal deri dağılım farklılığı olup, saçlı deri tutulumunun da psoriasisde arttığı gösterilmiş olup, M. globosa en baskın tür olarak gözlenmiştir (13).

Sigara

En belirgin ilişki palmoplantar püstüloziste kurulmuştur. Bu kadar yakın ilişkide olmamasına karşın, sigara içme ve psoriasis arasında da ilişki saptanmıştır. Kontrollere göre psoriatiklerin 2 kat daha fazla sigara içtiği belirtilmiştir (14). Sigara içme ve psoriasis şiddeti arası ilişki olmamasına karşın, püstül varlığında akral hastalıkla ilişki kurulmuştur. Sigara içmek psoriasis değişik mekanizmalarla etkileyebilir. Psoriasis inflamatuvar infiltratında baskın hücre olan Polimorf nüveli lokositler morfolojik ve fonksiyonel olarak sigara ile değişebilir. Keratinositler nikotidik kolinerjik reseptörlere sahip olup kalsiyum girişi ve hücre farklılaşmasını hızlandırabilir. Sigara oksidatif hasara yol açar. Sigara içmek, antioksidan meyve ve sebze alımıyla ters korele olup, psoriatiklerde de beslenme tarzı bu şekildedir. Psoriatiklerde antioksidan seviyeleri düşüktür ve sigara oksidatif hasarı değiştirebilir (14).

Diyet

Enerji Alımı ve Gıda Seçimi

Açlık ve düşük enerjili diyet alımı, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların semptomlarını azaltır. Psoriasisin şiddeti ve sıklığının yoğun gıda alımı periyotlarında arttığı bildirilmiştir. Bu yüzden düşük kalori diyetleri hastalığı düzeltebilir. Farelerde 4 hafta kalori kısıtlaması (enerji alımının %33 azaltılması), epidermal hücre proliferasyon oranını %45 azaltır. Yazarlar düşük enerjili diyetin orta derece nonpüstüler psoriasisin önleme ve tedavisinde önerilebileceği sonucuna varmışlardır. Açlıkta psoriasisde düzelmeye gözlenirken, vejeteryan diyetle bu düzelmeyi persistan hale geldiği görülmüştür. Değişik mekanizmalar tartışılmıştır;

1. En önemli neden, belki de araşidonik asit (AA) alımının eksikliğine bağlı, LTB4 üretiminin azalmasıdır.
2. Açlık boyunca, CD4+ T hücre aktivasyonu azalır, IL-4 gibi antiinflamatuvar sitokinler artar.
3. Diğer bir neden, kalorik kısıtlamaya bağlı, psoriasisle ilişkili olduğu düşünülen oksidatif stresin azalması olabilir.
4. Vejeteryan diyeti, aminoasit alımını kısıtladığı için faydalı olabilir.
5. Psoriasisle vücut kitle indeksi korele olduğundan, obez hastalarda kilo kontrolü önerilmektedir (15).

Poliansatüre Asitler

Araşidonik Asit gibi n-6 poliansatüre yağ asitleri IL-1 üretimini ve sitokinlere doku yanıtını arttırmaları, eicosapentaenoic asit (EPA) ve docosahexaenoic acid (DHA) gibi n-3 poliansatüre yağ asitleri ise ters etkiye bulunur. Bazı çalışmalarda n-3 poliansatüre yağ asidinden zengin balık yağıyla beslenmeyle psoriasisde antiinflamatuvar etki gözlenmiştir. Uskumru, sardalya, somon, ringa gibi yağlı balıkların n-3 yağ asitlerinden zengin olup psoriasis tedavisinde kullanışlı olabileceği belirtilmiştir. Parenteral uygulama akut inflamatuvar durumlarda yüz güldürücü olmuştur (15).

Gluten

Toksik bileşikler olan prolaminlerden gluten buğday, sekinler çavdar, hordeinler ise arpada bulunur. Gluten sensitif enteropatinin, minimal veya hiç belirtiye yol açmadan, psoriasis ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Psoriasis ve çölyak hastalığı olanlarda glutensiz diyetle psoriasis semptomlarının düzelmesi bu ilişkiyi düşündürmüştür. Diğer yandan glutensiz diyet IgA ve/veya IgG antigliadin antikoru (AGA) olmayan hastalarda dahi psoriasis şiddetini düzeltebilir. AGA psoriasislilerde,

normalden daha sık bulunur. AGA' lu 30 hastada glutensiz diyetle ortalama PASİ'de belirgin azalma gözlenmiştir. AGA (-) hastalarda ise gözlenmemiştir. Latent gluten sensitif hastalarda normal histolojiye rağmen, barsak permeabilitesi artar. Artmış barsak permeabilitesi mikroorganizma pasajına izin verip, süperantijen rolünde psoriasis predispoze kişilerde aktivasyona yol açabilir ve bu tablo glutensiz diyetle düzelebilir. Psoriasisde baskın Th1 hücreler temelde IFN- γ ve IL-2 üretir. Çölyak hastaları T hücreleri in vitro gluten verilmesine yanıt olarak benzer sitokin paterni salgılar (15).

Oksidatif stres ve antioksidanlar

Oksidatif stres ve artmış serbest radikal oluşumu psoriasisde deri inflamasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Süperoksit anyonu salınımı psoriatik dermal fibroblastlarda artmış olup, psoriasisin inflamatuvar mekanizmalarında merkezi rol alabileceği düşünülmüştür. Psoriasisli hastalarda bazı oksidatif stres belirteçleri saptanmış olup, bozulmuş antioksidan durum gözlenmiştir. MDA (malondialdehid) bir lipid peroksidasyon belirteci olup Psoriasisli hastalarda plazma ve kırmızı küre konsantrasyonları artar (16,17). Buna karşın, β -karoten, α -tokoferol ve selenyum gibi antioksidanların konsantrasyonları azalır. Katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim aktiviteleri de azalmış olarak bulunmuştur. Balık yağı eklenmesi, eritrosit membran lipid paterni değişikliği ve aynı zamanda psoriasisli hastalarda MDA azalmasına yol açarak, oksidatif stresi azaltabilir. Psoriasis riski havuç, domates, ve taze meyve gibi β -karoten içeren gıda ve yeşil sebze alımıyla ters ilişkilidir. Sebze ve meyve alımı karotenoid, flavonoid ve vitamin C gibi değişik antioksidan içeriklerinden dolayı psoriasisde faydalı olabilir. Yeterli antioksidan durumu (vitamin C, E, selenyum ve β -karoten) oksidatif stresi önleyip psoriasisde antioksidan savunmaya yardımcı olabilir (15).

Vitamin D ve analogları

Vitamin D prohormon olarak deride 7-dehidrokolesterolden UVB ışınıyla elde edilir. 1,25 (OH)₂D₃' ün hedeflerinden biri derideki vitamin D reseptörü (VDR) olan keratinositlerdir. İnsan kültüre keratinositleri kalsitriole maruz kalınca büyüme ve matürasyon hızları inhibe olur. VDR vasıtasıyla hücre proliferasyonu ve farklılaşması üzerine etkilerinden dolayı 1,25 (OH)₂D₃ psoriasisde kullanılmaya başlanmıştır. Kalsitriol ve analoglarının antiproliferatif ve prodiferansiyatif gibi immunregülatuar aktiviteleri olup, VDR ligandıyla direkt T hücre aktivasyonu ve fenotipini, antijen sunucu hücre (APC) ve dendritik hücre (DC) fonksiyonunu etkiler (15).

Vitamin B12

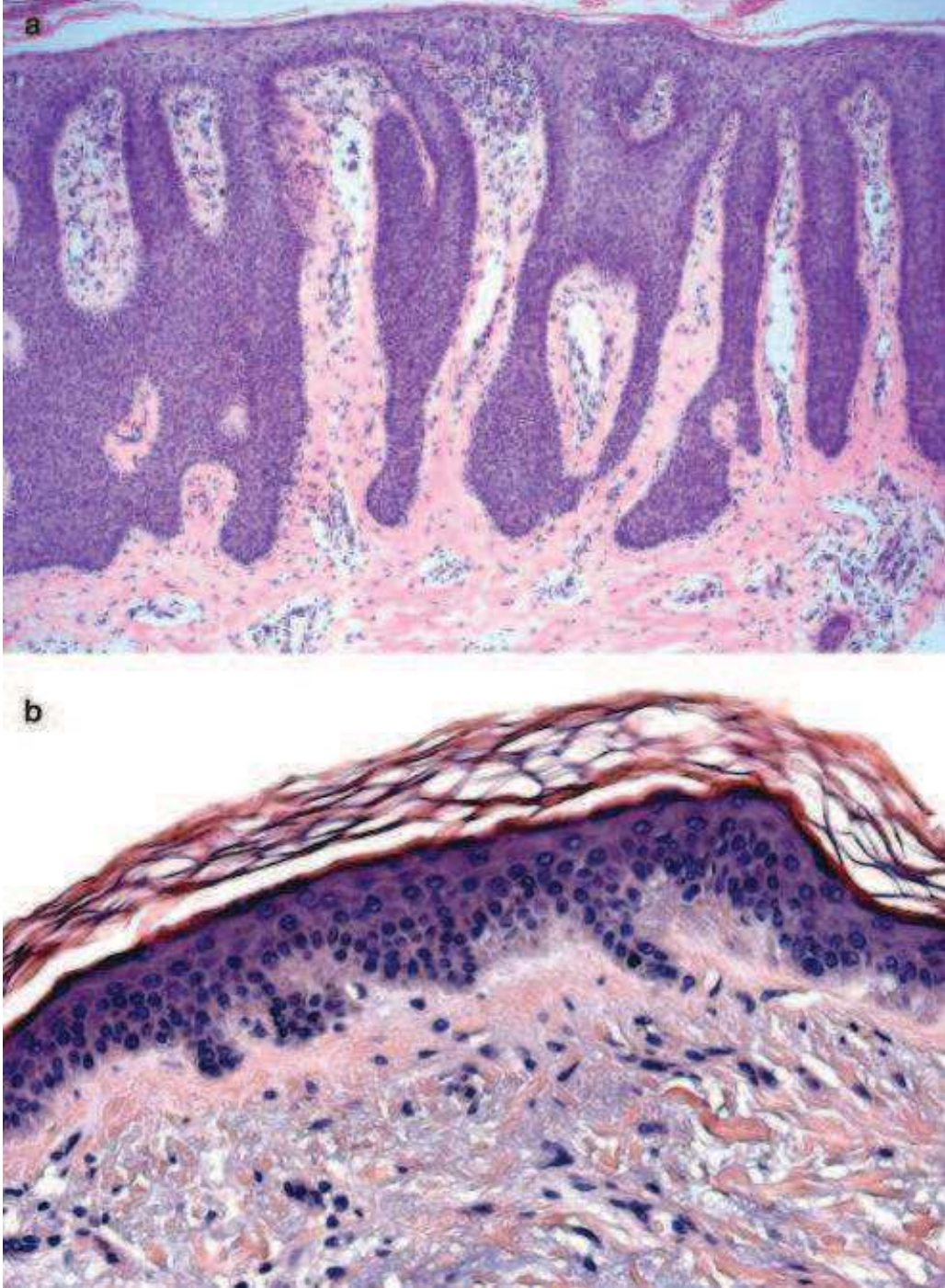
Vitamin B12 psoriasisde nükleik asit sentezindeki rolüyle önemlidir. İn vitro çalışmalarda vitamin B12 nin T lenfosit ve sitokinler üzerine immunmodülatör etkileri gösterilmiştir. Parenteral vitamin B12 verilmesinin yararlı etkisi 1950' lerde gösterilmiştir. Bununla birlikte diğer çalışmalarda doğrulanmamıştır (15).

2.1.2. Psoriasisin Histopatolojisi

Hastalığın patolojik bulguları klinikle ilişkili olarak yüzeysel kan damarlarında büyüme, genişleme ve epidermal hiperplazidir. Epidermal büyüme psoriasiform hiperplazi karakterinde olup, elonge reteler (retelerin uzaması), akantoz (kalınlaşma) olur. Psoriatik epidermiste, keratinosit proliferasyonu, ve matürasyonu hızlı olduğundan dolayı granüler keratinositler ve skuamöz korneositler oluşmaz. Bundan dolayı skuamöz keratinositlerde aberran kalan intakt nükleus (parakeratoz) gözlenir. Normalde korneosit adezyonu çimentosu olan ekstrasellüler lipidlerde az miktarda salgılanma görülür. Zayıf stratum korneum bileşkesi, psoriatik skuamlara yol açar. Psoriasis interfolliküler epidermis hastalığı olup, folliküler epitel ve normal saç büyüme siklusunu etkilemez. Nadiren ufak, az sayıda püstüller çok inflame plaklarda mikroskobik bulgu olarak lökosit infiltrasyonu şeklinde görülür (Munro mikroabseleri).

Papiller dermiste mononükleer lökositler, stratum corneumda ise polimorfonükleer lökositler (PNL) psoriasis histopatolojisini tamamlar (18,19).

Şekil 1: Normal ve psöriatik derinin mikroskopik görüntüsü



Copyright Journal compilation © 2009 Blackwell Publishing Ltd.
Psoriasis histology. (a)Psoriatik derinin Hematoksilen Eosin ile boyanmış görüntüsü. Epidermal kalınlaşma uzamış reteler. Stratum korneumda nötrofil infiltrasyonu. Dermiste lenfotik infiltrat, birkaç makrofaj ve mast hücresi. (b)Düzenli epidermis ve ortokeratozisle sağlıklı deri.

2.1.3 Psoriasisin Genetik Temelleri

Psoriasisde genetik yatkınlığın anahtar rol üstlendiğini düşündüren çok sayıda epidemiyolojik kanıt bulunmaktadır. Genom taraması sırasında 2 locus saptanmıştır. Bunlardan kromozom 6 üzerinde bulunan PSORS1 HLA ilişkilidir. Diğeri 17 kromozom üzerinde bulunan PSOR2'dir (12).

PSORS1 tahmini olarak psoriasis gelişimine %30-50 katkı sağlamaktadır, fakat identifikasyonu güçtür (18). PSORS1'in identifikasyonunun doğru yapılmasının önemli klinik yansımaları vardır. Örneğin; eğer HLA-C'nin geni olduğu kanıtlanırsa yeni bir antijen için araştırmalar başlayacak bu da yeni ilaçların geliştirilmesi için kılavuz olacaktır. Eğer defekt korneodesmozin gibi keratinosit ilişkili bir gende ise tedavi epidermiste korneodesmozin işlenmesi ile ilgili sürecin düzenlenmesi esasına dayanacaktır (12).

Psoriasisde PSORS1'in yanı sıra başka genetik risk faktörlerinin olabileceği de olasıdır. 1994 yılında Tomfohrde ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bazı ailelerde HLA ilişkili olmayan bir lokusun varlığı gösterilmiştir (20). Psoriasisin 17q24-q25 ile bağlantısı belirtilmiştir. ABD, İsveç ve İrlanda da yaşayan farklı beyaz ırk gruplarında bu konu ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur (21,22).

Bunlardan farklı olarak, PSORS3(4qter), PSORS4(1q21), PSORS5(3q21) genleri de saptanmıştır (23,24,25). Genetik çalışmalara her geçen gün yeni bilgiler eklenmektedir.

Tablo1: Psoriasisde Gen Lokusları

Gen Lokusu	Kromozom
PSORS1	6p21.3
PSORS2	17q24-q35,19p13
PSORS3	4q34
PSORS4	1q21,2p
PSORS5	3q21,4q13
PSORS6	19p
PSORS7	1p35-p34
PSORS8	16q12,q13
PSORS9	4q28-q31

2.1.4.Psoriasisin Klinik Skorlaması

Psoriasisde hastalığın klinik şiddetini belirtmek açısından klinik pratikte ve araştırma amaçlı kullanılan bir çok ölçek mevcuttur (26). 1977 ile 2000 yılları arasında yapılan 249 çalışmada cilt lezyonlarını tanımlamak için 44 farklı skorlama sistemi kullanılmıştır (27). Bu çalışmaların üçte birinde Psoriasis Area Severity Index(PASİ) kullanılmıştır, PASİ hem en yaygın kullanılan hem de gold standart olarak kabul edilen ve bilimsel çalışmalarda kullanılması önerilen skorlama sistemidir (26,27). Bu skorlama sisteminin zayıf yönleri; küçük alanları değerlendirirken hassasiyetinin düşük olması, hastalar ve klinisyenler tarafından az anlaşılmasıdır (2,28).

PASI, lezyonların baş, gövde ve ekstremitelerdeki ortalama kızarıklık, kalınlık, kabuklanma ve yaygınlığını ölçmektedir.

PASI, dört vücut bölgesindeki (baş [b], gövde [g], üst ekstremita [u], alt ekstremita [a]), eritem (E), indürasyon(I) ve deskuamasyon (D) derecesinin belirlenmesi ile hesaplanır. PASI hesaplanırken şu formül kullanılır:

$$0.1x(Eb+Ib+Db)xAb + 0.2x(Eu+Iu+Du)xAu + 0.3x(Eg+Ig+Dg)xAg + 0.4x(Ea+Ia+Da)xAa.$$

Formülde 'A' için verilecek değer psoriasis lezyonlarının yaygınlığı %10'un altında ise 1, %10-29 ise 2, %30-49 ise 3, %50-69 ise 4, %70-89 ise 5, %90-100 ise 6 olarak belirlenir. Eritem (E), indürasyon (I) ve deskuamasyon (D) için verilecek değerler semptom yoksa 0, hafif ise 1, orta ise 2, belirgin ise 3, şiddetli ise 4 olarak belirlenir (29).

2.2. Hücresel stres, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Hücresel stres, organizmada yaşanan ve oksidatif stresle birlikte seyreden patofizyolojik olaylarda hücrenin içinde bulunduğu durumdur. Hücrenin bu duruma verdiği tepki 'hücresel stres yanıtı' olarak adlandırılmaktadır. Hücre maruz kaldığı hasarın şiddetine göre kendini tamir etme ya da programlanmış hücre ölümü seçeneklerinden birini seçmektedir. Isı şok proteinlerinin aktif olarak rol aldığı bu süreçte protein renatürasyonunun sağlanması ve hücre ve mitokondri membran stabilitesinin devamlılığı kilit rol oynamaktadır (30-32).

Oksidatif stres serbest radikallerin neden olduğu organizmanın yapısal malzemesi için yıpratıcı etkileri olan; oksidan üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin, oksidan üretimi lehine döndüğü bir durumdur. Serbest radikal eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genellikle elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunurlar ve bu halleri ile stabildirler. Eğer moleküle veya atoma, bir elektron eklenir ya da çıkarsa reaktif hale gelmektedir (33,34).

Organizma sürekli olarak endojen ve eksojen serbest radikal ataklarına maruz kalmaktadır. Eksojen oksidan kaynaklar; X, UV ve gama ışınları ile oluşan iyonize radyasyon, metal katalizörlü reaksiyon ürünleri, hava ve suyu kirleten kimyasallar olarak sıralanabilir (35).

Organizma serbest radikalleri endojen olarak fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı savunma amaçlı olarak belli bir oranda oluşturmakta ve içsel bir takım mekanizmalarla kendini zararlı etkilerinden korumaktadır. Organizmada oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofiller, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir. Solunan oksijenin %95'inden fazlası mitokondrilerde ATP oluşumunda kullanılırken, yaklaşık olarak %5'i de son yörüngelerinde eşleşmemiş elektron içeren serbest radikallere dönüşmektedirler (36).

ROS'un düşük konsantrasyonlarda organizma için yararlı işlevleri vardır, ancak yüksek konsantrasyonlarda hücrenin protein, nükleik asit, lipid ve membran gibi yapılarına zarar vermektedir. Bu oksidatif hasar zaman içinde birikerek pek çok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır (36).

Oksidatif stresin başlıca kaynağı Reaktif oksijen radikalleri (ROS), Reaktif nitrojen türleri (RNS) ve sülfür merkezli radikallerdir (37).

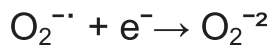
2.2.1.Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Reaktif oksijen türleri (ROS) normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit radikali (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-)'dir. Reaktif oksijen türleri hücrede çeşitli zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve karbon merkezli organik radikallerin oluşumuna sebebiyet verebilirler.

Süperoksit radikali

Aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikalini meydana getirebilir.

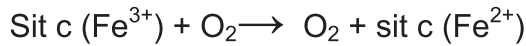
Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar oluşturmamaktadır. Asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olmasından ileri gelmektedir. Aynı zamanda geçiş metallerinde indirgeyicisidir. Düşük ph değerlerinde daha aktif olan süperoksit radikali, oksidan perhidroksi radikali oluşturmak üzere protonlanır.



Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbiri ile reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Böylelikle moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelmektedir.



Süperoksit radikalının hem oksitleyici hem indirgeyici özelliği bulunmaktadır. Örnek olarak ferrisitokrom c ile reaksiyona girdiğinde indirgeyici olarak davranmaktadır, bir elektron kaybetmekte ve moleküler oksijene okside olmaktadır.



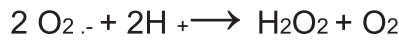
Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO-) oluşmaktadır. Peroksinitrit, nitrit ve nitrata metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO₂) hidroksil radikali, nitronyum (NO₂⁺) iyonuna dönüşebilir ki nitrik oksitin zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur.

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması ile oluşan peroksitin iki protonla birleşmesi sonucu oluşur.



Ancak biyolojik sistemlerde asıl üretim iki süperoksit molekülünün iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşmesi ile olur.



Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana getirdiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir. Reaksiyon çoğunlukla asit pH da spontan gerçekleşebilir yada nötr ve alkali ortamda süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir.

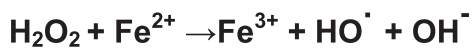
Hidrojen peroksit Fe²⁺ ve diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu ortaya çıkan süperoksit radikali ile birlikte en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturur. Bu reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinir.

Süper oksit radikalinin aksine hidrojen peroksit lipide çözünür ve uzakta olan ve Fe²⁺ içeren membranlarda hasar oluşturabilir.

Hidroksil radikali(OH)

Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu oluşur. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da oluşur.

Fenton Reaksiyonu:



Haber-Weiss Tepkimesi :



Reaktif oksijen radikallerinin en güçlüsü olarak bilinen hidroksil radikalının yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS^{*}), karbon merkezli organik radikaller (R^{*}), organik peroksitler (RCOO^{*}) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuç olarak büyük bir hasara neden olur.

Tablo 2: Reaktif oksijen türleri (ROS)

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	•OH	Peroksinitrit	ONOO ⁻
Alkoksil	L(R)O•	Hipoklorid	-OCl
Hidroperoksil ^a	HOO•	Hidroperoksit ^b	L(R)OOH
Peroksil	L(R)OO•	Singlet oksijen	¹ deltaO ₂
Nitrik Oksit ^c	NO•	Hidrojen peroksit ^d	H ₂ O ₂
Süperoksit ^d	O ₂ • ⁻		

^a Hidroperoksil radikali süperoksit anyonunun konjuge asididir ve sulu ortamlarda konsantrasyonu pH'a bağlıdır.

^b Geçiş metal iyonları varlığında hidroperoksit, alkoksil ve peroksil radikallerine dönüşür.

^c NO• kendi başına reaktif değildir ve lipit peroksidasyonunda antioksidan gibi davranır.

Süperoksit varlığında peroksinitrite dönüşür ki bu formu güçlü bir oksitleyicidir.

^d Süperoksit iyi bir oksidan olmaktan ziyade redüktandır. Geçiş metal iyonlarını hem okside hem de redükte edebilir ve bu iyonların varlığında H₂O₂'nin •OH'a dönüşmesine sebep olur.

2.2.2.Oksidatif Hasar

Oksidatif stres altında tüm biyomoleküller okside olarak fonksiyonel açıdan dejenerasyona uğramaktadır (38,39). Fizyolojik koşullarda, oksidatif hasarlı

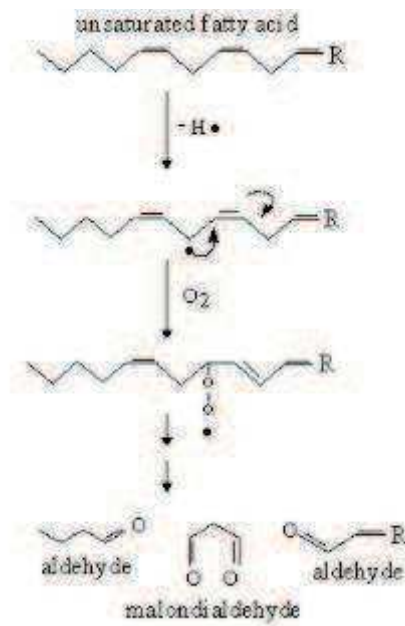
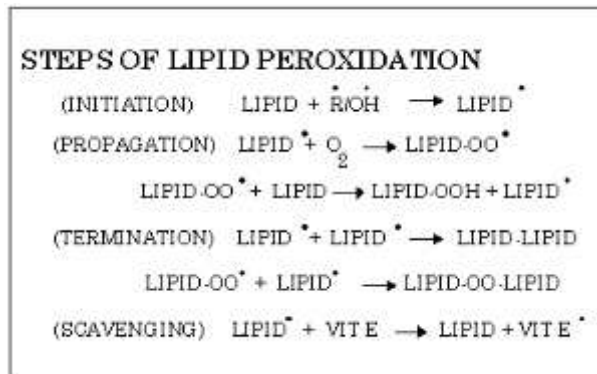
biyomoleküller için özgün onarım mekanizmaları işlemektedir (40). Lipidler, karbonhidratlar ve proteinler gibi DNA'da reaktif oksijen radikallerine maruz kalmaktadır.

Radikaller organik ortamlardaki biyomoleküllerin tümünü etkileşeler de hedefleri başta membran lipidleri olmak üzere diğer lipidler, proteinler ve DNA'dır (41).

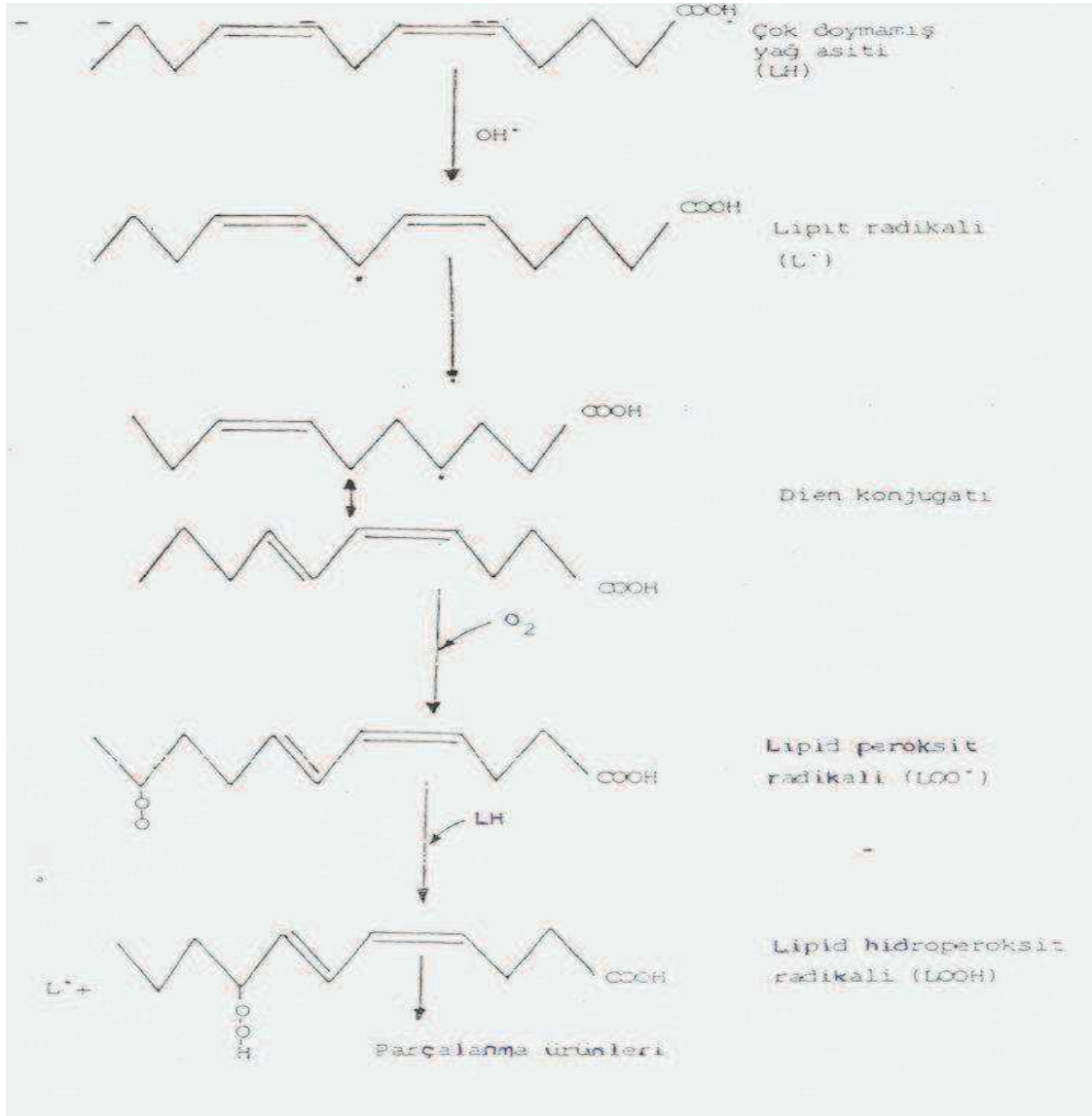
Serbest radikaller, zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirinin alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunu uzaklaştırarak lipid peroksidasyonunu başlatmaktadırlar. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalin süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalin hidroksil radikali (OH[•]) olduğu benimsenmektedir. Bu radikal süperoksit radikalinden veya H₂O₂'den demirin katalitik etkisi altında oluşmaktadır. Bu dönüşümler Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak bilinmektedir (42,43).

Serbest radikal etkisi ile yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipid radikali (L[•]) dayanıksız bir bileşik olup, bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra, lipid radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi ile lipid peroksit radikali (LOO[•]) meydana gelmektedir. Bu lipid peroksit radikalleri de zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasını sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidhidroperoksitlere (LOOH) dönüşmektedir (42, 43) (Şekil 2).

Şekil 2: lipid peroksidasyonunun aşamaları ve MDA oluşumu



Şekil 3: Lipid oksidasyonu



Otoksidasyon ürünlerinden lipid-hidroperoksitler süperoksit iyonu atakları veya lipoksijenaz aktivitesi ile 37 derecede birkaç mekanizma ile parçalanarak yeni radikaller üretmeye başlar (44,45). İkincil oksidasyon ürünleri olarak tanımlanan bu

yapıların şekillenmesi geçiş metalleri iyonlarının katalizi ile olmaktadır. Bu nedenle demir, bakır gibi metaller tüm organik ortamlar için oldukça güçlü radikal hazırlayıcılarıdır (41).

Lipid peroksidasyonu, lipid-hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanmaktadır (46,47).

Malondialdehit (MDA), non-enzimatik oksidatif lipid peroksitlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. İkidenden fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikozanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır (48,49).

MDA miktarının ölçümü, lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaktadır (46,47).

Lipid peroksidasyonunun; hücre zarının lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile hücre zarı işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Her üç olayın da eşit derecede etkili olduğu veya birlikte ya da birbirlerinin ardınca etkili oldukları ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, aldehit yapılı bileşiklerin uzun yaşam süreli ve zarları geçebilme özelliğinde olması, lipid peroksidasyonunun hedef organlardaki etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu olduğunu düşündürmektedir (50-52).

Reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve Reaktif sülfür radikalleri (RNS)'nin proteinler üzerindeki etkileriyle gelişen kimyasal reaksiyonlar ise karmaşıktır. Proteinlerde özellikle histidin, tirozin, fenil alanin gibi amino asitler oksidasyona yatkındır.

ROS çeşitli mekanizmalarla protein yapısını modifiye etmektedir. Metal katalizli protein oksidasyonuna neden olarak (özellikle lizin, arginin, histidin ve prolin) karbonil gruplarının oluşumuna, fragmentasyon veya çapraz bağlanmaya neden olmakta, aldehit yapılı lipid peroksidasyon ürünleri sistein amino asidinin –SH grupları ile veya lizin, histidin ile kovalent olarak bağlanmaktadır. –SH gruplarının kaybı,

okside glutasyonun aşırı oluşumu sonucunda, doğrudan doğruya oksidasyon ile veya bir metabolit ile arilasyon şeklinde meydana gelebilmekte, oksidatif hasarlı olan reseptör, enzim ve transport proteinlerinin fonksiyonlarında bozulma olabilmekte, immün sistemi uyaran yeni antijenik yapılar oluşabilmektedir. Diğer biyomoleküller de sekonder hasara katkıda bulunabilmektedir. Örneğin DNA onarım enzimlerinin inaktivasyonu DNA replikasyonunda hataya yol açmaktadır (53).

Proteinler birçok farklı mekanizma ile okside olabildiklerinden birden fazla protein oksidasyon türü bulunmaktadır (54). Proteinlerin oksidatif modifikasyonları için genel kabul gören bir sınıflandırma şeması yoktur. Ancak protein oksidatif modifikasyonu, oksitlenen rezidünün ve oluşan ürünün özelliğine göre iki gruba ayrılabilir. Ayrılabilir.

Global Modifikasyon: Birden çok rezidünün değiştiği ve birden çok ürünün oluştuğu modifikasyonlardır. Karbonil gruplarının oluşumu bu tür modifikasyonun bir örneğidir (55).

Spesifik Modifikasyon: Hem oksitlenen rezidünün, hem de oluşan ürünün oldukça spesifik olduğu modifikasyonlardır. Ditirozin oluşumu bu tip modifikasyonun bir örneğidir (56). Protein yapısında yer alan amino asitlerin ve serbest amino asitlerin oksidasyonu, protein-protein çapraz bağının oluşması ve okside proteinlerin birikimi spesifik modifikasyonlara örnektir (56).

Proteinlerin oksidatif modifikasyonu sonucu açığa çıkan ürünler göreceli olarak stabil olup duyarlı analizlerle düzeyleri ölçülebilir. Bu nedenle protein oksidasyonu oksidatif stresin düzeyini ortaya koymada uygun bir belirteç olarak kullanılabilir (54).

ROS'un proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin, ve lizin gibi çok sayıda aminoasit kalıntısında ve/veya peptid omurgasında meydana gelen hasar sonucunda protein karbonil (PCO) ürünleri meydana gelir. Protein oksidasyonunun en yaygın olarak ölçülen ürünü protein karbonilleridir. PCO düzeylerinin saptanması, oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntem olmasına rağmen belirli bir

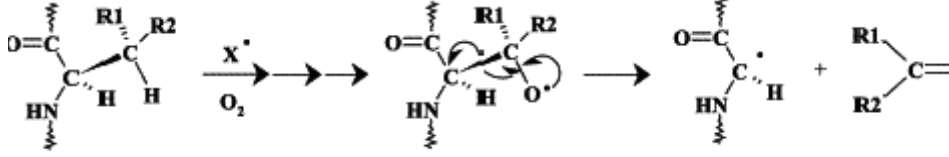
aminoasit için spesifik değildir (55).

Son yıllarda, yeni bir protein oksidasyon belirteci olan AOPP (ileri düzey okside protein ürünleri) tespit edilmiştir. AOPP, ditrozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanır ve protein hasarının saptanmasında güvenilir bir belirteç olduğu düşünülmektedir (57). AOPP ilk defa 1996'da Witko-Sarsat ve arkadaşları tarafından üremik hastalarda tanımlanmıştır (58). Oksidatif stres sırasında, aktive fagositik hücrelerde miyeloperoksidaz (MPO) tarafından oluşturulan hipoklorik asit (HOCl) ve kloramin gibi kloronize oksidanlar ile konakçı savunması sağlanır. Oluşan bu potent radikal (HOCl) bakteri, virüs ve tümör hücrelerine karşı konakçı savunmasında önemli rol oynarken normal dokularda hasara ve proteinlerin oksidasyonuna neden olur. AOPP vücutta oluşan kloronize oksidanların proteinlerle aktivasyonu ile oluşmaktadır. HOCl en sık amin gruplarıyla reaksiyona girer ve oluşan kloronize ürün de reaktif bir oksidandır (58).

Proteinlere olan serbest radikal atakları peroksitlerin ve karbonillerin oluşumu ile sonuçlanır. Karbonillerin tespiti proteinlerde oluşan oksidatif hasarın ölçülmesi için kullanılabilir. Katarakta lens kristallerinin oksidatif hasarının (kristalin oluşumu), proteinlerin radikallerce hasara uğratılması sonucu geliştiği son yıllarda iddia edilmektedir (59).

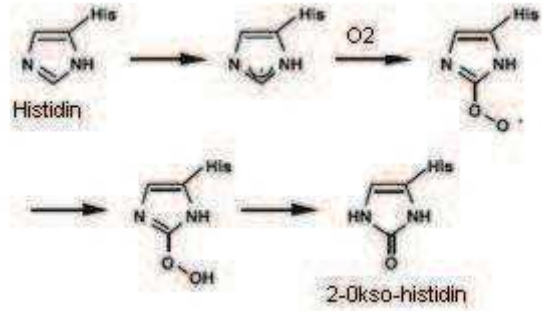
Protein oksidasyonu çok sayıda dejeneratif hastalığın ve yaşlanma sürecinin patogenezinde temel bir rol oynar. Protein oksidasyonu sonucunda protein karbonil bileşikleri oluşmaktadır. Protein zincirlerinde karbonil grupları çok değişik oksidatif yollar ile özellikle proteinlerin spesifik amino asit yan zincirlerinin metallere aracılığıyla katalizlenen oksidasyonu ve aynı zamanda karbonil içeren oksitlenmiş lipid ya da şekerlerin etkisi ile oluşmaktadır. Glutamik semialdehit arjinin ve prolinin birer oksidasyon ürünüdür. Aminoadipik semialdehit lizinin oksidasyon ürünüdür. Karbonil içeren bu iki bileşik metal aracılığı ile katalizlenen protein oksidasyonunun başlıca karbonil ürünleridir (60).

Şekil 4:Peptit ve proteinlerde C-3 konumunda alkoksil radikallerinin oluşma mekanizması ve bu radikallerin α -karbon merkezli radikaller vermek ve karbonil oluşturmak üzere β - kırılmaları



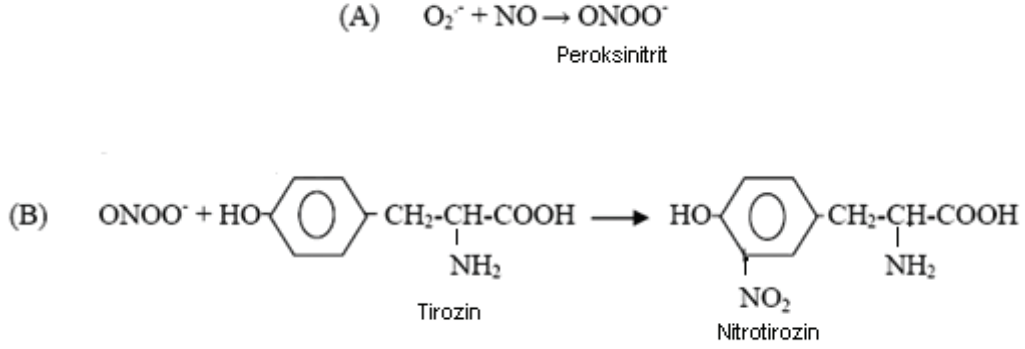
Histidin, 2-okso-histidin ve halka yapısının bozulması ile oluşan ürünleri meydana getiren metal iyonları aracılığıyla oksidasyona oldukça hassastır (61) (Şekil 5). Histidin metal ile katalizlenen oksidasyon sistemi ($O_2/Cu^{2+}/$ askorbat) ile inkübe edildiğinde 2-okso-histidin ana oksidasyon ürünü olduğu belirlenmiştir. 2-okso-histidin daha sonra aspartat, aspartilüre ve formil asparajin gibi açık zincir ürünlerini meydana getirmek üzere daha fazla okside olmaktadır (62).

Şekil 5: Histidin metal iyonları aracılığıyla oksidasyonu



Peroksinitrit ($ONOO^-$), nitrik oksidin (NO), süperoksit ile in vivo reaksiyonu sonucunda oluşan reaktif bir türedir (63-64). Süperoksit ve nitrik oksit radikallerinin peroksinitrite göre nispeten daha dayanıklı olmalarına karşılık, peroksinitrit daha reaktif bir türedir. Peroksinitrit'in proteinler üzerine atağının ana ürünü trozinin orto pozisyonunda nitrolanmasıdır (Şekil 6). Peroksinitrit, DNA'yı, enzimleri, proteinleri, lipidleri ve tiyol gruplarını okside edebilmesinden dolayı yüksek toksisiteye sahiptir (63).

Şekil 6: Nitrik oksit ile süperoksitin reaksiyonu sonucu daha reaktif peroksinitritin oluşumu (A). Peroksinitrit'in proteinlerin tirozin köküne saldırısı ile orto-nitrotirozinin oluşumu (B)



Protein oksidasyonu genelde 2,4-dinitrofenil hidrazin ile protein karbonillerin spektrometrik olarak ölçümü ile belirlenmektedir (65).

Karbohidrat oksidasyon ürünleri de proteinlerin aminoasid içeriğinde modifikasyonlar oluşturmakta ve plazma protein karbonil içeriğinde artışa neden olmaktadır (66).

Kararlı bir molekül olan DNA'da lipitler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. Oksijen radikallerinin oluşumundaki artış, antioksidan enzim düzeylerinde düşüklük veya DNA onarım mekanizmalarında defekt bulunması, oksidatif DNA hasarının artması ile sonuçlanır. DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle çok düşük düzeylerde hasar görülebilir (39,67,68).

Reaktif oksijen türlerinin artması, antioksidan enzim düzeylerinin azalması ve DNA onarım mekanizmalarının yetersiz kalması durumu oksidatif DNA hasarlarının artmasına neden olmaktadır (67).

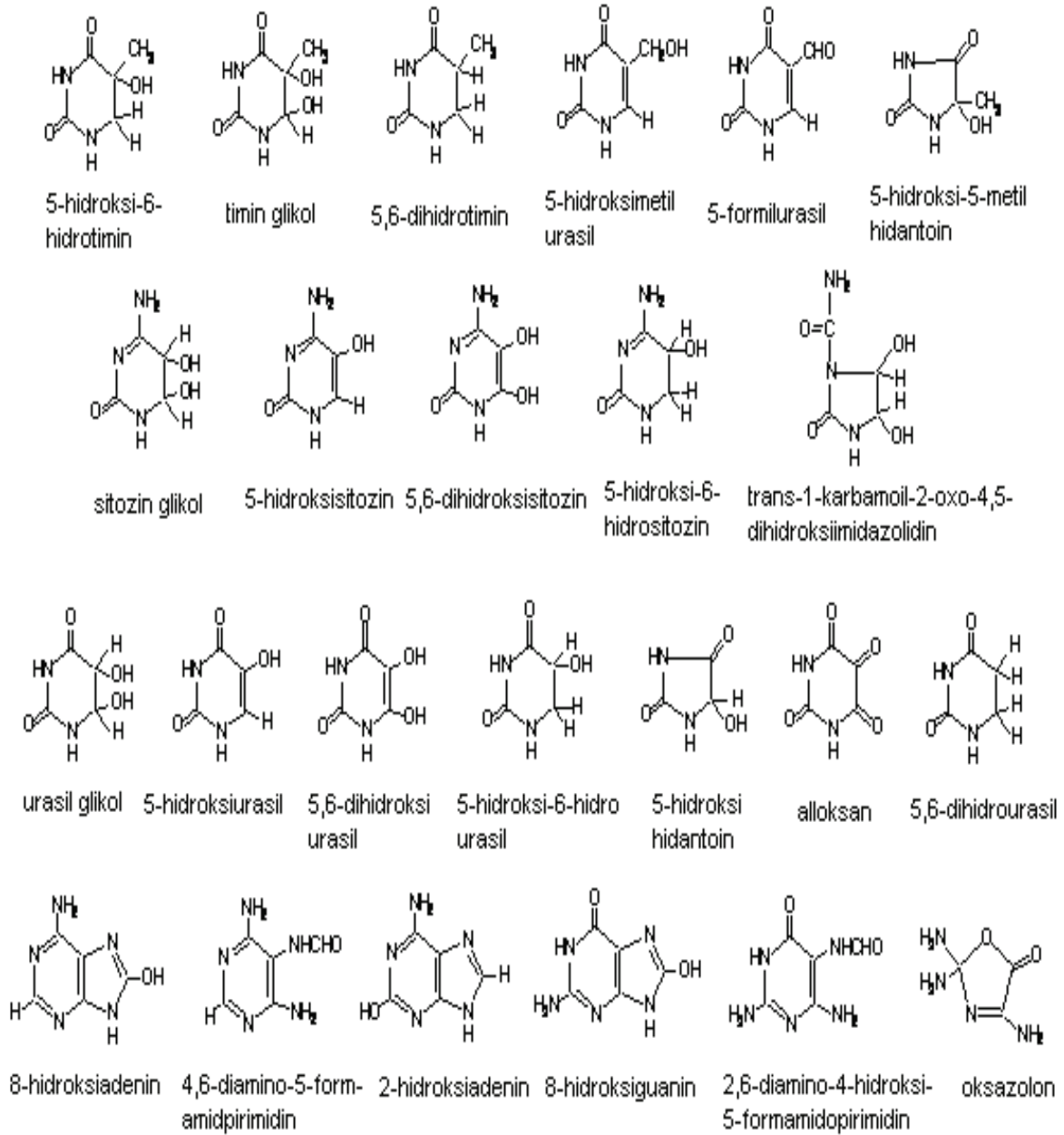
Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, protein-DNA çapraz bağlanmaları ve oksidatif baz hasarı gibi lezyonlar meydana gelir (38,69,70).

Bazı oksidatif DNA modifikasyonları somatik mutasyona yol açarak hücre fonksiyonunu değiştirmekte, bu mutasyonlar yaşam ile bağdaşmayan düzeyde olduğunda ise hücre ölümü gerçekleşmektedir (38,68).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak, sıklıkla DNA baz hasarı analiz edilmiştir (69-72).

Şekil 7'de DNA baz modifikasyonları görülmektedir.

Şekil 7: DNA baz modifikasyonları (Dizdaroğlu 1991)



Tablo 3 :Serbest radikal artışı içerdiği düşünölen fizyolojik ve patolojik durumlar

Yaşlanma	Prematur yaşlanma hastalıkları
İyonize edici radyasyon	Nukleer patlamalar
	Radyoterapi seansları
	Hipoksik hucre aktivatorleri
	Radyasyon hasarı
Alkolizm	Alkol induksyonuna ilişkin aşırı demir yuklenmesi
	Alkolik miyopati
Kan elemanları patolojileri	Fenilhidrazin primakin vb. ilac toksikasyonları
	Kurşun zehirlenmesi, favizm
	Protoporfirin fotooksidasyonu
	Malarya, orak hucre anemisi, Fanconi anemisi
İnflamatuvar-immun hasar	İdyopatik ve membranöz glomerulonefrit
	Vaskulit, hepatit B
	Otoimmun hastalıklar, romatoid artrit
İskemi-reperfuzyon hasarı	Felc, myokard enfarktusu, aritmiler
	Transplantasyonlar, donma
Akciğer patolojileri	Sigara ve yanık dumanı inhalasyonu
	Amfizem, bronkopulmoner displazi
	Fotokimyasal kirler, oksidan kirleticiler (O3, NO2)
	Asbestoz karsinojenitesi
Kardiyovaskuler patolojiler	Ateroskleroz, adriamin toksitesi, Keshan hastalığı
Ürogenital patolojiler	Otoimmun nefrotik olgular ve metal nefrotoksitesitesi
Sinir sistemi bozuklukları	Hiperbarik oksijen, norotoksinler, vit.E yetmezliği
	Alzheimer, Parkinson, steroid lipofusinozis
	Alerjik ensefalomyelit ve demiyelizan hastalıklar
	Multipl skleroz, muskuler distrofi

Gastrointestinal patolojiler	Endotoksik karaciğer hasarı Diabetes Mellitus, Pankreatit Oral demir zehirlenmesi Ulserler, kanserler, inflamatuvar barsak hastalıkları
Diğer patolojiler	Sistemik kanserler, malnutrisyonlar, kwashiorkor Kontakt dermatit, porfiriya, termal haraplanma Katarakt, okuler kanamalar, retrolental fibroplazi Multipl kan transfuzyonları gerektiren anemiler

2.2.3. Antioksidan Sistem

Protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir. Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden güçlü bir savunma sistemine sahiptir. Radikallerle hızlıca reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır. Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküler ve hücre sel yapılar saldırmalarının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir (73).

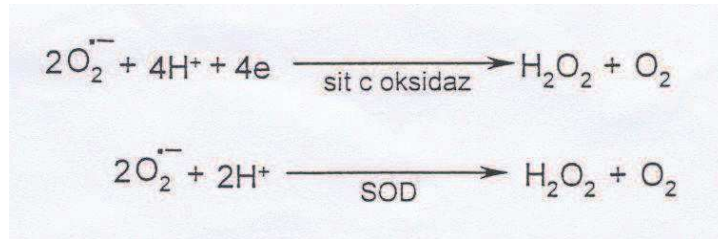
Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkabilmektedir (74,75). Kronik enflamasyon gibi durumlarda organizmada prooksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulmaktadır (Tablo 3) (43,76).

Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre harabiyetinin onarılması, sekonder radikal

üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak ayrımlanan beş değişik yolda yürümektedir (45,50). Bazı yazarlar antioksidan savunmayı; komponentlerinin enzimsel olup olmamasına bakarak, katalaz, superoksit dizmutaz (SOD) ve glutatyon peroksidazın (GSH-Px) rol aldığı antioksidan aktiviteleri “enzimatik antioksidan savunma”; tokoferol, askorbat, glutatyon, ürik asit, glukoz gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini “nonenzimatik savunma” olarak tanımlarlar (73). Diğer yandan antioksidanlara daha spesifik rollerin yüklendiği çalışmalarda antioksidan savunmanın; sellüler, membransal ve ekstrasellüler olarak sınıflandırıldığı görülmektedir (77).

Reaktif oksijen metabolitleri, SOD, GSH-Px, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi sellüler antioksidan enzimlerce indirgenmektedir.

Normal mitokondriyal elektron taşıma zincirinde oluşan superoksit anyonu, mitokondride bulunan sitokrom C oksidaz ve SOD tarafından temizlenmektedir:



SOD’ın enzimatik aktivitesi ile oluşan hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından suya dönüştürülmektedir:



Okside olmuş glutatyon (GSSG) ise glutatyon redüktaz enzimi tarafından redükte glutatyon (GSH) çevrilmiştir (46,74).

Hücrel antioksidanlar ve üstlendikleri işlevler tablo 4’de sunulmuştur.

Tablo 4: İntraseluler antioksidanlar ve reaksiyonları

Antioksidan	Görevi
Süperoksit dismutaz	Süperoksidin reaksiyonlarında katalizör
Katalaz	H ₂ O ₂ ’nin yüksek konsantrasyonlarının giderilmesini katalizler.
Glutasyon peroksidaz.	H ₂ O ₂ ’nin düşük konsantrasyonlarının giderilmesinde kullanılır
Sitokrom oksidaz	Oksijen indirgenmesi basamaklarında reaktif tür oluşması önler.

Membranların hidrofobik lipid yüzünde, intrasellüler ortamdan farklı olarak lipidlerde çözünen ve hücrel enzimlerle yok edilemeyen radikaller üretilmektedir. Başta alfa-tokoferol (Vit E) olmak üzere, B-karoten, ubiquinal bileşikleri ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır. Tablo 5’de membran antioksidanları ve işlevleri gösterilmiştir.

Tablo 5 :Membran antioksidanları ve membrandaki işlevleri

Antioksidan	Membrandaki işlevi
Vitamin E	Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar.
Koenzim Q	Mitokondriyal enerji metabolizmasında antioksidan olarak rol alır.
B-Karoten	Radikal türlerini toplar, ayrıca tekli oksijen oluşumunu inhibe eder.

Vücut sıvıları ve organik ürünler antioksidan enzimlerin hiçbirini içermemektedir. Bu nedenle glikozillenmiş serum proteinleri olarak tanımlanan SOD ve GSH-Px'ın ekstrasellüler ortam ve organik materyellerde antioksidan olarak bir önemi bulunmamaktadır (78). Transferrin, laktoferrin, haptoglobulinler, albumin, seruloplazmin, bilirubin, ürik asit, glukoz gibi proteinler temel ekstrasellüler antioksidanlardır (79).

Hücreler arası ortamda üretilen serbest radikal metabolitlerin; demir ve bakır gibi katalizör metal iyonları ile karşılaşmalarının engellenmesi, ekstrasellüler antioksidan savunmanın temel yoludur (73). Örneğin demir taşıyıcı protein transferin, üç demir bağlayarak plazma serbest demir ve bakır iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarını katalizlemesini önlemekte, böylece tepkime sayısı azaltılmış olmaktadır (80). Laktoferrin, hemoglobin, myoglobin, hemopeksin ve albumin hemen hemen aynı işlevselliktedir. Laktoferrinin nötrofillerde radikal oluşumunu önleyen bir ajan olduğu gösterilmiştir (45). Seruloplazmin bakırı bağlarken; glukoz, urat ve bilirubin ortamdaki radikalleri temizleme uğraşındadır (73). Bu proteinlerden bilirubinin antioksidan kapasitesi B-karotene benzer şekilde oksijen konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (81).

Tablo 6'da ekstrasellüler antioksidanlar ve etki mekanizmaları gösterilmektedir.

Tablo 6 :Ekstrasellüler antioksidanlar ve özellikleri

Antioksidan	Etki Mekanizması
Askorbik asit	Hidroksil radikalini giderici ve tokoferolu indirgeyici antioksidan vitamin.
Transferrin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder.
Laktoferrin	Düşük PH'lı ortamlarda demir iyonlarını bağlar.
Haptoglobinler	Hemoglobini bağlayarak "hem" in salınmasını önler.
Hemopeksin	Ortamdaki serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonu inhibe eder.
Albumin	Hem proteinini ve bakır iyonlarını bağlar.
Seruloplazmin	Süperoksit radikalini nötralize eder, bakır iyonlarını bağlar.
Bilirubin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.
Mukus	Hidroksil radikali toplayıcısı olarak işlev yapar.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleri de toplar.
Glukoz	Hidroksil radikali giderici antioksidan moleküldür.

Oksidatif Hasar Onarımı

Oksidatif hasarın onarımı özellikle de DNA onarımı aerobik organizmaların, mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için çok önemlidir. Bu açıdan DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları gereklidir. DNA'sı hasarlı olan hücreler, bölünmelerini genellikle onarım tamamlanıncaya kadar durdurarak kendilerini korurlar.

Tüm hücrelerde oluşan ROS ve bazı hücrelerde oluşan RNS, DNA'da mutajenik potansiyeli olan modifikasyonlara neden olurlar ve bunların da onarımı gerekir. DNA prekürsörleri de (dATP, dGTP, dTTP ve dCTP) oksidatif hasara maruz kalabilir. Örneğin ROS'un etkisi ile 8OH-dGTP oluşabilir ve bu oluşum DNA polimerazların hatalı fonksiyonları sonucunda DNA'ya katılabilir (82).

DNA'da yanlış eşleşmiş, okside olmuş, deamine olmuş ve karsinojenler ile katılma ürünü oluşturmuş bazların onarımında 4 ayrı mekanizma vardır. Bunlardan ilki olan mismatch onarımda doğru bilgi taşıyan zincir kalıp olarak kullanıldığından onarım sistemi, kalıp ile yeni sentezlenen yanlış eşlenmiş zinciri birbirinden ayırt etmek durumundadır. Hücre bu ayrımı kalıp DNA'daki CH₃ gruplarını işaretlemek suretiyle yapar. Mismatch onarım sisteminde tek bir DNA lezyonunun onarımı için, GATC dizisinden 1000 bazlık bir bölümün koparılması, aynı uzunlukta bir segmentin yerleştirilmesi ve çok sayıda dNTP gerektiğinden, onarım, enerji açısından çok pahalı bir işlemdir. Bu da hücre içi DNA onarımının ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bu sistem ile tüm yanlış eşleşmiş lezyonlar tanınıp onarılabildiği halde onarım tam yapılamaz. G-T lezyonları diğerlerine göre özellikle çok daha etkin bir şekilde onarıldığı halde C-C lezyonlarının onarımı daha az yapılır (53).

İkinci sistem "Baz çıkararak onarım"dır. Bu tip onarım sistemi, hasarlı bazın doğrudan doğruya uzaklaştırılmasıdır. Spesifik DNA-glikosilaz enzimleri anormal baz ile şeker-fosfat arasındaki N-glikozid bağını hidroliz eder. Böylece DNA'da abazik bölgeler oluşur. AP bölgeleri mutajeniktir, transkripsiyonu ve replikasyonu engeller. AP bölgeleri DNA'dan kendiliğinden baz kaybı ile de oluşur. Hücrelerde bulunan tüm DNA glikosilazlar, yüksek derecede özgünlük göstererek hasarlı bazı tanırlar ve bazı kopararak AP bölgeleri oluştururlar. Onarım, AP bölgelerine doğrudan doğruya bazın konması şeklinde gerçekleşmez, geride kalan deoksiriboz 5' fosfat AP endonükleaz ile uzaklaştırılır. Oluşan bir nükleotidlik boşluk ise DNA polimeraz ile doğru kodlanıp sentezlenir ve yerine konur (53).

Üçüncü sistem olan Nükleotid çıkararak onarımda ise Ultraviyole ışına maruz kalmış DNA'da oluşan pirimidin dimerleri ya da yanlış eşleşmiş DNA bazları, ATP

bağımlı “excinuclease” kompleksi tarafından kesilir. Bu enzim hasar görmüş DNA’yı, hasarın 5’ ucundan 8 baz ve 3’ ucundan 4 baz sonra olmak üzere 2 ayrı pozisyonda keser. İstenmeyen baz oligonükleotid yapısı içinde uzaklaştırılır ve bir boşluk oluşur. DNA polimeraz sağlam zincirdaki bilgiyi kullanarak DNA’yı sentezler. Yeni sentezlenen DNA parçası mevcut DNA zincirine DNA ligaz enzimiyle yapıştırılır. Işık ile indüklenen bir reaksiyonla oluşan pirimidin dimerleri, absorbe ettikleri ışığın enerjisini kullanan fotolizaz enzimleri tarafından onarılmaktadır (53).

Bir diğer onarım şekli olan Doğrudan onarımda ise DNA’da istenmeyen değişiklikleri doğrudan uzaklaştırmaya ait bazı örnekler bilinmektedir. DNA fotolizaz enziminin ışık ile oluşan siklobütan pirimidin dimerlerini, baz veya nükleotidi uzaklaştırmadan onarması örnek olarak gösterilebilir (53).

İnsanlar da dahil olmak üzere, bütün aerobik hücrelerden izole edilen DNA’da düşük düzeylerde hasarlı baz bulunması, onarım enzimlerinin modifiye bazların hepsini uzaklaştıramadığını düşündürmektedir.

ROS/RNS’nin, DNA’da hasar oluşturabildiği gibi, onarım enzimlerini de inaktive edebileceği ileri sürülmektedir (53).

2.2.4 Oksidatif Stres ve Psoriasis

Serbest radikallerin hasar verme özelliklerinden dolayı diyabetes mellitus, iskemi reperfüzyon hasarı, ateroskleroz, kanser, yaşlanma, kas hastalıkları gibi birçok hastalıklara yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır ve oksidatif stres birçok hastalıkla ilişkili bulunmuştur (83).

Deride ROS ve sitokinlerin hücrel hemostazın idamesinde aldığı rol biyomoleküler olarak halen tam ortaya konmamıştır. Bu ilişki başlıca transkripsiyon faktörleri (aktivator protein 1, nükleer faktör-kappa B), NO ve protein kinazlarla yönlendirilir. Bir çok biyolojik cevapta ROS ikinci mesajcı olarak tanımlanır (84,85). Dermatoloji literatürüne bakıldığında; psoriasis, atopik dermatit, vitiligo gibi genetik

yatkınlık varlığında mekanik, kimyasal, mikrobiyal stres ile tetiklenen hastalıklarda oksidatif stresin patogeneizde rolü olabileceğine işaret eden çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda sözü geçen hastalıklarda lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid seviyesinin arttığı, antioksidan moleküllerin azaldığı gösterilmiştir (85-87).

Ayrıca günümüzde temel patolojileri yaygın sistemik inflamasyon olan psoriatik artrit (PsA), obesite/metabolik sendrom, otoimmün hastalıklar, psikiyatrik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, uyku apnesi, alkolik olmayan steatohepatoz ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi hastalıkların psoriasisle birlikte sık görülmeleri ve yaşam kalitesini belirgin olarak olumsuz etkileyen hatta yaşam süresini kısaltan komplikasyonların ortaya çıkışı psoriasisin deriye sınırlı bir hastalık olmaktan öte sistemik bir hastalık olabileceği varsayımını gündeme taşımıştır (88,89).

Psoriasisin sistemik bir hastalık olabileceğinden ilk kez 1974 yılında Hoede ve arkadaşları tarafından yazılan bir makalede söz edilmiştir (90). Psoriasisin etiyopatogenezi günümüzde halen ortaya konamamıştır. Ancak son bilgilerin ışığında hastalıkta genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin rol oynadığı karmaşık bir etiyopatogenez ve belirgin inflamasyondan söz edilebilir.

Psoriasisde İnterlökin (IL), tümör nekroz faktör (TNF) ve interferon gama gibi proinflamatuvar sitokinlerin kutanöz ve sistemik overekspresyonun varlığı gösterilmiştir (91).

Reaktif oksijen türleri ilişkili oksidatif stresin DNA modifikasyonu, lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar sitokinlerin üretimi gibi çok sayıda biyolojik yanıtı neden olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır. Bu psoriasis hastalığının patogenezinin aydınlatılmasına katkı sağlayabilir (85,92).

2.2.5 Oksidatif Stres Biyobelirteçleri

Oksidatif stres biyobelirteçleri 3 grupta toplanabilir. Bunlardan ilki direk olarak serbest radikallerin ölçümüdür ve elektron paramagnetik rezonans spektroskopisi (EPR) ile yapılır. Ölçüm metodu radikallerin bünyesinde bulunan manyetik enerji

seviyesinin dışarıdan uygulanan bir manyetik alanla iki farklı enerji seviyesine ayrılması olayı üzerine dayanır. Bu yöntemin dezavantajı kısa ömrü çok kısa olan radikallerin ölçüm işleminin zor olmasıdır ve bu yüzden sadece uzun ömürlü radikaller doğrudan analiz edilebilir. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için kısa ömürlü radikaller spin tuzağı denilen nitrozo veya nitron içeren bileşiklerle reaksiyona sokulup uzun ömürlü türevler oluşturulur ve böylelikle analiz mümkün hale gelir (93).

İkincil grup olarak serbest radikallere hedef olan oksidasyon ürünleri ölçülebilir. Biyomembranlar, membran fosfolipitlerinde doymamış yağ asitlerinin olması nedeniyle oksidanların saldırılarına duyarlıdırlar. Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan lipid peroksitleri ve hidrosiperoksitleri membran yapısına doğrudan, diğer hücre bileşenlerine ise aldehit oluşturarak zarar verir. Membran yapısının bozulması sonucu malondialdehit oluşur (89). Lipid peroksidasyonun en önemli ürünlerinden olan malondialdehit (MDA), hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA, DNA'nın azotu ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (94).

İkincil lipid peroksidasyon ürünleri olan aldehitler demir iyonları varlığında artış gösterirler ve güçlü biyolojik etkileri vardır. MDA yanında asetaldehid, bütanal, propanal, hegzanal ve heptanal gibi aldehidler de insan plazmasında bulunmaktadır (95).

Serbest radikallere hedef olabilen bir diğer molekül grubu proteinlerdir. Hidroksil radikali (OH.) alkoksil radikali (RO.) ve nitrojen reaktif radikalleri ağırlıklı olarak protein hasarına yol açarlar. Proteinler, radikallerin etkilerine lipidlere oranla daha az hassastırlar ve amino asit dizilişi bu hassasiyeti belirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. Albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur (96,97).

DNA ve nükleik asitler serbest radikallere hedef olan üçüncü grubu oluşturur.

Kararlı bir molekül olan DNA'da lipitler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle çok düşük düzeylerde hasar görülebilir. Reaktif oksijen türlerinin artması, antioksidan enzim düzeylerinin azalması ve DNA onarım mekanizmalarının yetersiz kalması oksidatif DNA hasarlarının artmasına neden olmaktadır. Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz eklenmesi, bazlarda yeniden düzenlenme) meydana gelebilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanmalar söz konusu olabilir. Oksidatif DNA hasar belirteci olarak sıklıkla baz hasarlarının analizi yapılmaktadır. Cu^{+2} iyonları DNA'da G-C'den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğu için oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz guanindir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı 8-OHdG olup oksidatif DNA hasarının belirteci olarak kabul edilir (98).

Karbohidratlarda ise monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilen özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki ederler. Bu olaylar kanser ve yaşlanmaya neden olabilmektedir (99).

Biyobelirteçler açısından üçüncül grup yaklaşımı ise oluşmuş serbest radikallere organizmanın cevabı olan antioksidan durumun ölçümüdür. Bunun için antioksidan savunma sistemi enzimlerinden süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon-s-transferaz, glutatyon redüktaz enzimlerinin düzeyleri ölçülebilir. Organizmanın total antioksidan kapasitesini ölçmekte bir diğer yoldur. Bunun yanı sıra düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar olan alfa-tokoferol, askorbik asit, glutatyon ve melatonin ölçümleri yapılabilir. Antioksidan enzimlere kofaktörlük eden Cu, Zn, Mn, Se, Fe elementlerinin düzeyleri incelenebilir.

Oksidatif Stres Biyobelirteçleri

Radikallerin Ölçümü Elektron Paramagnetik Rezonans
Spektroskopisi (EPR)

Oksidatif Hasar Biyobelirteçlerinin Ölçümü1- Lipid peroksidasyon ürünlerinin

belirlenmesi

-Malondialdehit (MDA)

-Aldehitler

2-Protein hasarının belirlenmesi

3-Karbonhidrat yapılara hasarın

ölçümü

4-DNA Hasar Belirteçlerinin Ölçümü

- 8hidroksideoksiguanozin

5-Total oksidan durumun

ölçülmesi (TOS)

6-İskemi Modifiye Albumin

düzeylerinin ölçülmesi (İMA)

Antioksidan Savunma Sisteminin Ölçümü

Antioksidan enzimlerin belirlenmesi

- Süper Oksit Dismutaz(SOD)
- Glutasyon Peroksidaz(GPx)
- Katalaz(CAT)
- Glutasyon-S-Transferaz(GST)
- Glutasyon Redüktaz(GR)

Total antioksidan aktivitenin belirlenmesi(TAS)

Düşük molekül ağırlıklı antioksidanların ölçümü(LMWA)

- Alfa-tokoferol
- Askorbik asit
- Glutasyon
- Melatonin

Enzim Kofaktörlerinin ÖlçümüCu, Zn, Mn, Se, Fe elementleri

İMA 2000'li yıllarda iskemi ve oksidatif stres çalışmalarında kullanılmaya başlanmış yeni bir biyobelirteçtir (100,101).

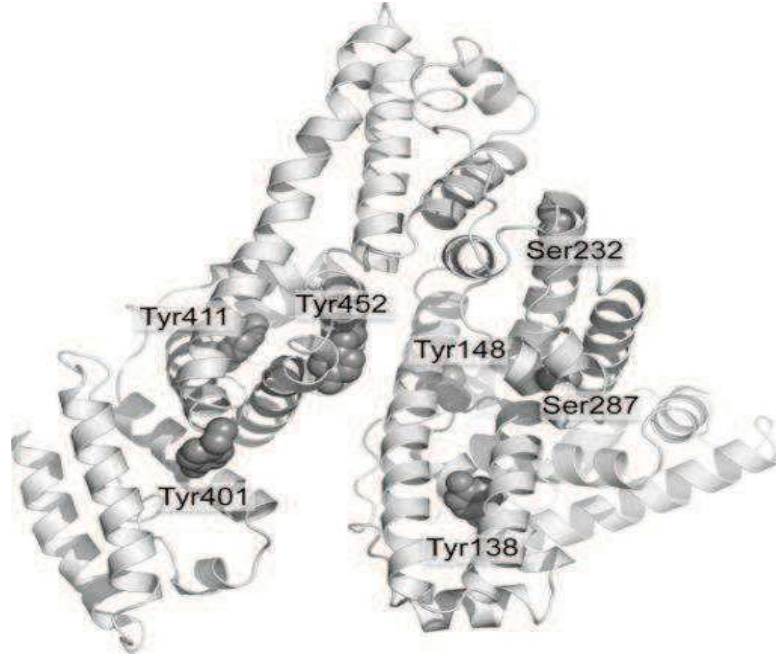
İskemi Modifiye Albumin

Albumin, 585 aminoasit içeren tek bir polipeptid zincirden oluşan, en az 17 disülfid bağı içeren (bu bağlar üç boyutlu yapının oluşmasını sağlar), moleküler ağırlığı 66248 dalton olan, plazmadaki diğer proteinlere oranla küçük bir proteindir (102-106). Hepatositlerde gerçekleşen albumin sentezinin en önemli düzenleyicisi interstisyel sıvının kolloid ozmotik basıncıdır, ancak albumin sentezi besinsel, hormonal ve inflamatuvar faktörlerden de etkilenir (102-107). Albumin sentezlendikten sonra intravasküler ve ekstrasvasküler kompartmanlara dağılır,

vücuttaki total albuminin %40'ı intravasküler (plazma) kompartmanda, %60'ı interstisyel sıvıdadır (105). Ayrıca, doku sıvılarında, özellikle kas ve deride, az miktarda göz yaşı, ter, mide suları ve safrada da bulunur. Vücuttaki toplam albüminin %30-40'ı kadardır (108). Albuminin eliptik bir şekli vardır ve içsel viskozitesi düşüktür (64,66). Albumin molekülü çok esnektir, çevresel faktörlerdeki değişikliklere bağlı olarak şekil değiştirir, özellikle fizyolojik koşullarda kolayca eski şekline döner (103).

Albuminin en önemli fizyolojik fonksiyonu kolloid ozmotik basınç sağlamaktır, plazma kolloid ozmotik basıncının %75-80'ninden sorumludur (102,105). Albumin sentezi hepatositlerde endoplazmik retikuluma bağlı polizomlarda gerçekleşir (83,87). Albumin depolanmadığından karaciğerde albumin rezervi yoktur ve gerekli durumlarda karaciğerdeki albumin sentezi en fazla 2–3 kat artırılabilir (102-105). İnvasküler ve ekstrasvasküler kompartmanlardaki albumin dağılımı dinamik bir dengededir. Albumin sürekli olarak intravasküler aralıktan interstisyel aralığa geçer ve lenfatik sistem yoluyla intravasküler alana geri döner (103,104). Kapiller duvar boyunca gerçekleşen bu albumin geçişi, albuminin dolaşım yarı ömrü veya transkapiller kaçış hızı olarak ölçülür ve tanımlanır (102). Albuminin transkapiller kaçış hızı normalde 16–18 saattir (102). Albuminin normal plazma yarı ömrü ise 15-19 gündür (107).

Şekil 8: Tyr 138, Tyr 148, Tyr 401, Tyr 411, Tyr 452, Ser 232, and Ser 287 yüzey lokasyonlarını gösteren insan albumininin kristal yapısı. The residues are shown as space-filled structures. Bu görüntü PyMol software kullanılarak PDB kodu ile yapılmıştır.



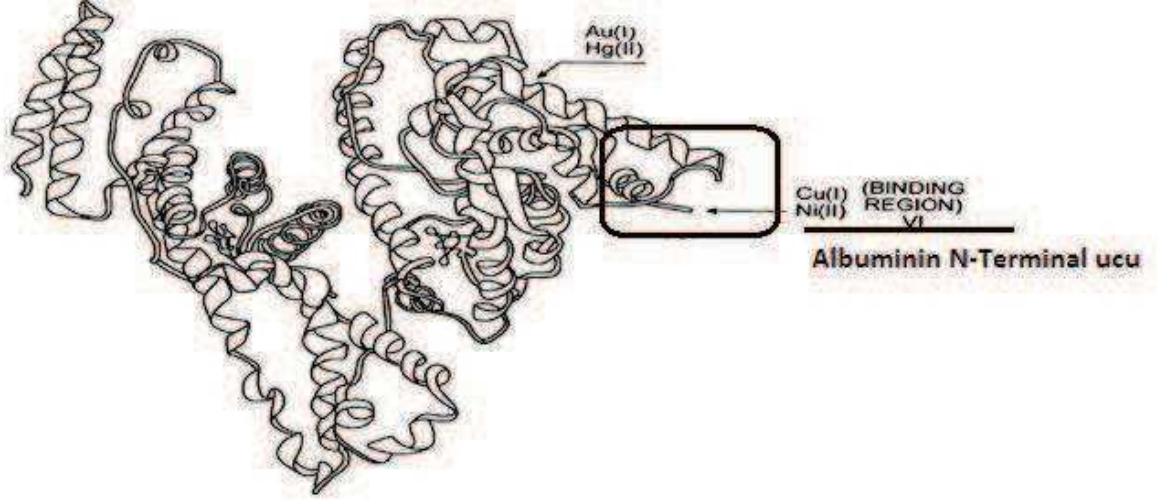
Albumin negatif yüklü bir protein olmasına rağmen katyon ve anyonlara zayıf ve geri dönüşümlü olarak bağlanabilir. Bu nedenle albumin birçok metabolitin dolaşımında depolandığı ve taşındığı molekül olarak görev yapar (102). Albumin iyonları, metabolitleri, ilaçları ve hormonları geri dönüşümlü olarak bağlar ve dolaşımında depolanmalarında ve taşınmalarında görev yapar (102). Albumin en kuvvetli olarak uzun zincirli yağ asitleri, bilirubin, hematin gibi orta büyüklükteki hidrofobik organik anyonlara bağlanır (104). Askorbat ve triptofan gibi daha az hidrofobik ve daha küçük moleküller albumine spesifik olarak ama düşük afinite ile bağlanır (104). Tek değerli katyonlar albumine bağlanamazken kalsiyum, magnezyum gibi iki değerli katyonlar bağlanabilir (104). Asidik ilaçlar, α 1-asit glikoprotein gibi plazma proteinlerine bağlanma eğiliminde iken bazik ilaçlar istisnalarla birlikte albumine bağlanma eğilimindedir (104).

Albumine bağlanan diğer endojen bileşikler safra asitleri, eikosanoidler, bakır, çinko, akuakobalamindir. Albumin ayrıca steroidler, vitamin D, tiroksin gibi spesifik bağlayıcı proteinleri olan bazı maddelerin de sekonder veya tersiyer taşıyıcı proteindir (104,105).

Albümin yapısı ve işlevi gereği çeşitli ağır metal iyonlarını da bağlayarak onların kandaki konsantrasyonunu kontrol eder. Albümin proteininde iki metal iyonu bağlanma yeri vardır ve bunlara çinko, bakır, kadmiyum, cıva, altın, gümüş, nikel ve kobalt dahil olmak üzere çeşitli iyonlar bağlanabilir. Ağır metaller olarak da adlandırılan bu geçiş metalleri renkli olmaları nedeni ile analizlerde kolayca değerlendirilebilmekte ve kullanılmaktadırlar (108,109).

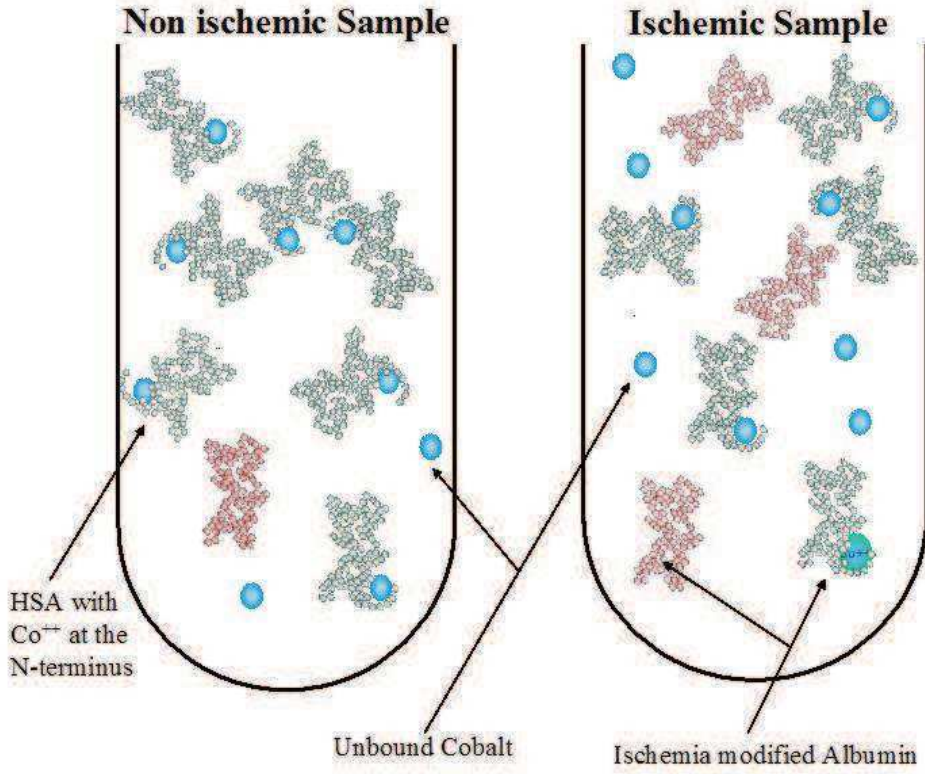
Albumin kobalt bağlama kapasitesi testi ile iskemi modifiye albumin (IMA) ölçümü kardiyak, iskelet kası ve serebral iskeminin tanısında yeni bir belirteçtir. Albuminin toksik moleküller de dahil olmak üzere pek çok molekülü bağlama kapasitesi vardır ve bu sayede homeostazisin sağlanmasında bir tampon olarak çalışır (110). İskemik durumlarda albuminin N-terminal ucu geçiş metallerini bağlama yeteneğini kaybeder. Kobalt nikel gibi geçiş metallerinin iskemiye maruz kalmış albumine bağlanmalarının azaldığı ilk olarak 2000 yılında Bar-Or ve arkadaşları tarafından kolorimetrik olarak saptanmış olup hemen ardından 2001 yılında High Performance Liquid Chromatography (HPLC) metodu ile gösterilmiştir (111,112).

Şekil 9:Albuminin geçiş metallerini bağlama bölgeleri



Albuminin geçiş metallerini bağlayan kısmı olan ve N-Terminal ucunda yer alan 'bağlanma bölgesi 6' daki oksidatif stresin neden olduğu mutasyon, albuminin N- Terminal ucunda konformasyonel değişikliğe neden olmaktadır. Bu değişiklik bağlanma kapasitesinin azalmasına ya da tamamen kaybına neden olmaktadır (113). Oluşan mutasyonlar en azından bir aminoasit kopması (delesyon), insersiyon ya da elongasyon şeklinde olabilir. Örneğin 3. pozisyonda bulunan ve oksidatif hasara en duyarlı amino asitlerden biri olan histidin ile ilgili bir bozulma 'bağlanma bölgesi 5' in sterik olarak çalışmasını engelleyebilir veya vital bağlanma etkileşimlerini bozabilir (53,111,113). Bar-Or ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 3. pozisyondaki histidinin güçlü bir bağlantı için yeterli olmadığını; N-asetilasyonun, 2. pozisyondaki alaninin prolin (metal şelatörü fonksiyonu vardır) ile yer değiştirmesinin ve N-terminal ucunda aspartik asit delesyonunun kobalt bağlanmasını engellediğini göstermişlerdir (111).

Şekil 10 : İskemi modifiye albumin testinin işleyiş mekanizması



Bununla birlikte İMA oluşumunun gelişim mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır, ancak iskemi sonucu gelişen reaktif oksijen türlerinin albüminin metal bağlayan bölgelerinde konformasyonel değişikliğe neden olduğu öne sürülmektedir (111,114).

İMA her ne kadar ilk olarak kardiyak bir belirteç olarak ortaya çıkmışsa da, dokuya spesifik değildir, kardiyak iskemi harici oksidatif stres ilişkili durumlarda da yükseldiğini gösteren bulgular mevcuttur (111,113,115-119). Bu nedenle İMA'nın bir oksidatif stres belirteci olarak kullanılması önerilmektedir ve bu yönde yapılmış

alışmalar mevcuttur (115,119-122).

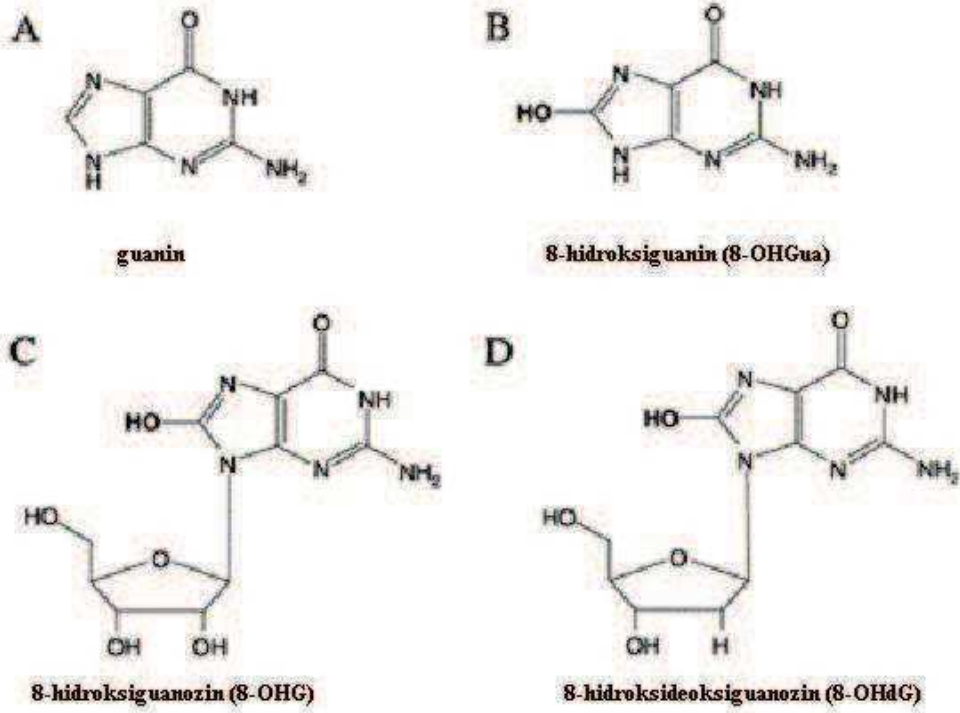
Serbest oksijen radikalleri, endotelial ve ekstrasellüler hipoksi ve asidozun İMA düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu bağlamda İMA artışının oksidatif stres ile ilişkili olabileceği de ileri sürölmektedir (115,120).

8 Hidroksideoksi Guanozin, İMA gibi bir oksidatif stres belirtecidir ve DNA'daki hasarlanma üzerinden oksidatif stres hakkında bilgi verir.

8 Hidroksideoksi Guanozin

8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), ROS'un DNA'da yaptığı yaklaşık 23 tane oksidatif baz hasar ürününden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinenidir. Diğer DNA baz hasar ürünlerinin ise daha az mutajenik olduğu tahmin edilmektedir. İlk olarak Kasai ve Nishimura tarafından 1984 yılında, oksidatif DNA hasarının bir belirteci olarak tespit edilmiştir (123) . şekil 7'de guanin'den modifiye baz olan 8-OHdG'nin oluşumu gösterilmiştir.

Şekil 11: Guanin'den modifiye baz olan 8-OHdG'nin oluşumu



Guanin DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bileşiktir ve Cu^{+2} iyonları en çok G-C'ce zengin bölgelerde bulunduğu için, en fazla oksidatif hasara maruz kalan baz guanindir. Bu nedenle de ROS'un başlıca hedefidir. DNA replikasyonu sırasında GC'den AT'ye dönüşümüne neden olarak mutasyona eğilimi artırır. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (5,123).

ROS üretiminin artmasına sebep olan tüm etkenler, 8-OHdG oluşumuna yani oksidatif DNA hasarına katkıda bulunur. Oksijen radikali üreten ajanlar; (sigara dumanı, asbestos, x-ışınları, okside olmuş doymamış yağ asitleri), gama ışını, sigara dumanındaki polifenoller, paraquat, kainik asit, dietilbutilesterol, benzen, fecapenene, furocoumarin hydroperoxide, H_2O_2 + UV ve Ni bileşikleri gibi maddeler tarafından,

deoxyguanosin'den (dG) 8-OHdG oluşumu invitro olarak gösterilmiştir. Ayrıca kanserojen maddelerin verilmesinden sonra hayvan dokularında 8-OHdG düzeyinin arttığına dair bir çok araştırma mevcuttur . Normalde memeli hücrelerinde, günde ortalama 10^{-4} - 10^{-5} kadar 8-OHdG rezidüsü oluşur. Oluşan hasar, vücuttaki onarım sistemi tarafından tamir edilir (96,124).

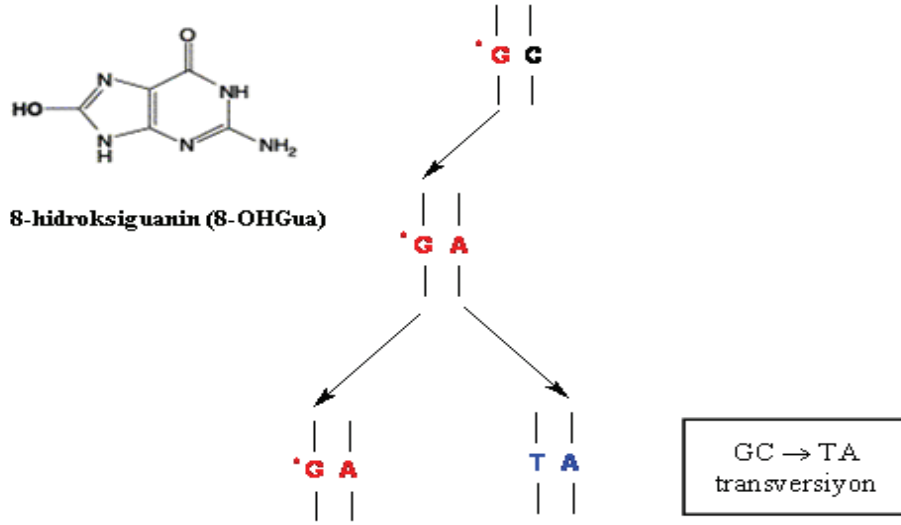
8-OHdG içeren DNA'nın, in vitro DNA sentezi sırasında bir kalıp olarak kullanıldığı zaman yanlış okumaya ve GC-TA mutajenezine yol açtığı gösterilmiştir (125).

Ayrıca \cdot OH radikalinin C-8'e katılması ile oluşan katılma ürünü radikali (C8- \cdot OH) (Şekil 13), bir elektron ve proton kaybederek 8-OH-Gua (8-hidroksiguanin)'e okside olur veya bir elektron ve bir proton alarak indirgendikten sonra imidazol halkasının açılması ile 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidoprimidin (FAPyGuanin)'e dönüşür. Düşük O_2 konsantrasyonlarında 8-OH-Guanin/FAPyGuanin oranı azalır (123,126).

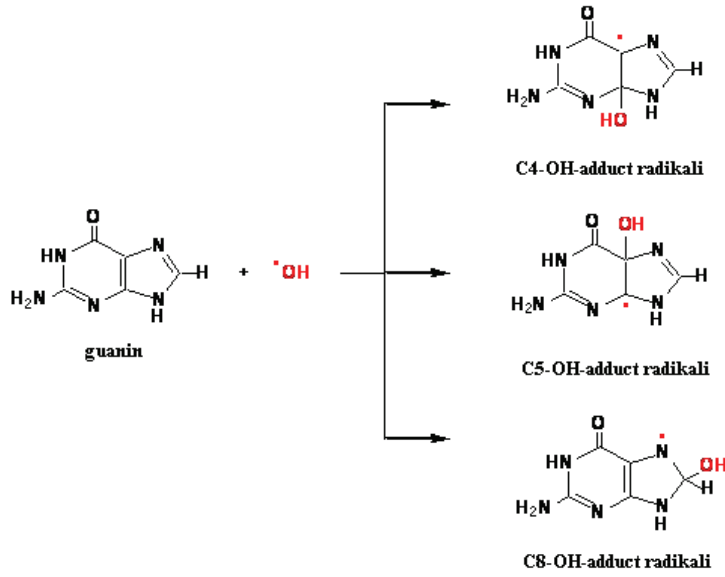
Oksidatif DNA baz modifikasyonları, doğrudan ROS/RNS etkisi ile veya DNA replikasyonu ya da DNA hasarının onarımı sırasında oluşarak mutasyona yol açabilirler.

Timin glikol oluşumu DNA replikasyonunu kuvvetli bir şekilde bloke edebildiği gibi önemli bir oranda yine doğrudan adenin ile hidrojen bağı yaparak GC → TA transversiyon mutasyonuna neden olur (127). Şekil 12 de hasarlı bazın yanlış eşleşmesi gösterilmiştir.

Şekil 12: Hasarlı bazın yanlış eşleşmesi



Şekil 13: Hidroksil radikalının guanin ile reaksiyonu



8-OH-Ade (8-hidroksiadenin), büyük oranda timin ile eşleşirken düşük oranda guanin ile yanlış eşleşme yapabilir. Pürin halkasının açılması ile oluşan FAPyG, FAPyA lezyonları DNA replikasyonunu bloke ederek mutajenik etki göstermektedirler (128).

Oksidatif hasarın neden olduğu mutasyonlar, genin konformasyonu ve baz dizilimi, onarım etkinliği, geni replike eden DNA polimerazın türü ve polimerazların doğru kopyalamasını etkileyebilecek olan çevre DNA'nın konformasyonu gibi birçok faktörlerden etkilenmektedir.

Isı şok proteinleri aynı İMA ve 8(OH)dG gibi oksidatif hasar belirteçidir. Hücre oksidatif hasara maruz kaldığında cevap olarak miktarı artan proteinlerdir

Isı Şok Proteinleri

İlk kez 1962 yılında tanımlanan Isı şok proteinleri , hücrelerin yüksek ısıya (42-46°C) maruz kalmasıyla üretimi artan bir protein grubudur (129).

Isı şok proteini artışına ısı dışında yol açan başka faktörler de vardır. Bunlar infeksiyon, inflamasyon, etanol, arsenik, eser metaller ve ultraviyole ışık gibi birçok toksin, açlık, hipoksi, nitrojensizlik (bitkilerde) ve dehidratasyondur. Bu nedenle ısı şok proteinlerine “stres proteinleri” de denmekte ve stres cevabının bir komponenti olarak da görülmektedirler (129-131).

Hücre bir stres etkeni ile karşılaştığı zaman hücre iskeletinde, sitoplazmik yapılarda, hücre yüzey morfolojisinde, hücresel redoks durumunda, DNA sentezinde, protein metabolizmasında ve protein stabilitesinde modifikasyonlar meydana gelmektedir. Stres moleküler hasar meydana getirir ve stres durumunda genellikle anormal katlanmış proteinler açığa çıkmaktadır. Bu proteinler hücre içerisinde agregatlar oluştururlar, bu da ardışık stres yanıtının açığa çıkmasına neden olmaktadır (132).

Isı şok proteinleri ısı şoku tarafından indüklenen ve hücrede çok iyi korunan bir protein ailesi olarak keşfedilmiştir (133). Stres proteinleri de denilen HSP'ler ısı gibi fiziksel ajanlar, çeşitli farmasötikleri ya da çevresel kirleticileri kapsayan kimyasal ajanlar, virüsler, bakteriler ve ökaryotik parazitler gibi patojenlerin oluşturduğu moleküler hasara karşı hücresel yanıt olarak sentezlenmektedir (134).

Hücrede HSP'ler; yeni sentezlenen proteinlerin katlanmasının düzenlenmesi, nükleer bütünlüğün ve matriks materyalinin korunması, yapısı bozulmuş proteinlerin onarılması, hasar görmüş proteinlerin eliminasyonları, proteinlerin organel düzeyinden lokalizasyonu, organelle alınması ya da organelden atılması gibi çok sayıda göreve sahiptir. Bir diğer işlevi geri dönüşümsüz hasara uğramış polipeptidlerin proteolizine yardım etmektir. HSP'lerin bir kısmının kendi başlarına proteaz aktivitesi gösterdikleri ya da yıkılması gereken polipeptidlerin proteazlarla etkileşmelerine yardım ettikleri belirlenmiştir (135).

Isı şok proteinleri moleküler ağırlıklarına göre; HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 ve düşük moleküler ağırlıklı HSP (Ubiquitin ve HSP27) aileleri olmak üzere 6 gruba ayrılırlar. Bu aile üyelerinden bazıları hücrede sürekli olarak sentezlenirken, bazılarının stres koşullarında sentezleri artmaktadır. Diğer aile üyeleri ise yalnızca stres etkisi sonucunda sentezlenmektedir (136). Büyük moleküler ağırlıklı HSP'ler ATP bağımlı şaperonlardır, kendi konformasyonlarının düzenlenmesi ve ATP bağlanması için ko-şaperonlara gereksinim duyarlar. HSP27 gibi küçük şaperonlar ATP bağımlı değildirler (137). HSP sentezi transkripsiyonel düzeyde ısı şok faktörleri (HSF) tarafından düzenlenir. Çok sayıda HSF belirlenmesine karşın, HSF-1 kısa süreli HSP indüksiyonunda ana düzenleyici olarak görev yapmaktadır (138).

Hücrede meydana gelen hasar paradoksal olarak birbirine zıt iki yanıt mekanizmasının tetiklenmesine neden olmaktadır. Apoptosis yaygın enflamasyonu önlemek üzere hasar gören hücrelerin uzaklaştırılmasına neden olurken, ısı şoku ya da stres yanıtı hücreyi hayatta tutmak üzere hasar gören yapıların kurtarılmasını sağlamaktadır. Stresin biyolojik sonuçları üzerinde baskın etkilere sahip olan bu iki süreç arasındaki etkileşimler hücrenin geleceğini belirlemektedir (139). HSP'ler farklı apoptotik proteinler ile etkileşerek apoptozisin kritik kontrol noktalarında düzenleyici etki yapmaktadırlar (133). Apoptozisin düzenlenmesinde oldukça kompleks rollere sahip olan HSP'ler öncelikle hücrel koruyucu özelliklerinden dolayı apoptotik yanıtı inhibe etmektedirler. Bunun yanında apoptozisin başlaması ve ilerlemesinde önemli görevler alan sinyal proteinlerinin şaperonları olarak görev almakta ya da doğrudan

apoptozisin ilerlemesine neden olmaktadır (137).

Isı şok proteinleri kaspaz aktivasyonunu engelleyerek apoptozisi bloke edebilirler. HSP27, HSP70, HSP60 ve HSP90'ın aşırı sentezlenmesi apoptozisi inhibe edebilir. Farklı hücre modellerinde HSP'lerin yanlış katlanmış proteinlerin birikmesini engellediği ve serbest radikaller ile DNA hasarına neden olan hücresel stres durumlarında apoptozisi inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bunun aksine HSP27, HSP70, HSP60 ve HSP90'ın yeterli düzeyde sentezlenmemesi hücrelerin apoptotik uyarılara duyarlılığını artırır (138).

HSP 27 küçük ısı şok proteinleri ailesinin bir üyesidir. Daha çok hücre büyümesi ve farklılaşmasında rol aldığı düşünülmektedir (139).

Hücre kültürlerinde HSP27'nin sitokalsin D ya da staurosporin etkisinde hücre iskeletinin bozulmasını ve mitokondriden sitokrom c salınımını engellediği belirlenmiştir (140). HSP27 aynı zamanda mitokondriden Diablo/Smac (second mitochondria-derived activator of caspases) salınımını da inhibe edebilir (141). SMAC bir mitokondriyal proteindir. Apoptozisi inhibe eden IAP (Inhibitor of Apoptosis Protein) inhibisyonu yaparak sitokrom c bağımlı apoptozisi uyarmaktadır(142). HSP27'nin mitokondriden sitosole sitokrom c salınımını engelleyerek kaspaz aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (143). İnsan monositlerinde apoptozis sırasında HSP27'nin aktif kaspaz-3'ü bloke ettiği belirtilmiştir (144). HSP27 aynı zamanda hücrede serbest radikal miktarını azaltarak ve okside proteinlerin toksik etkilerini nötralize ederek antioksidant savunmayı artırır (145).

Psoriatik deride HSP 27, 60, 70 gibi HSP' ler ve ligandlarının CD91 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Bu proteinler ve ligandları değişik yollardan immun yanıtı indükleyebilir; NF- κ B' yı tetikleyerek, DC' leri uyararak, ve DC' lerde IL-12 ekspresyonunu arttırarak etki ederler (19).

3.GEREÇ YÖNTEM

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında gerçekleştirilmiştir.

3.1 Kullanılan Gereçler

3.1.1Hasta Grupları

Çalışmaya katılan gönüllüler Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Uygulama Hastanesine başvuran 39 psöriasis hastası ve bu hastalar ile benzer demografik özellikler gösteren 39 sağlıklı bireyden oluşmaktadır.Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi İnsan Etik Kurulunun izni ile yapılmıştır.

Çalışmaya alınan hastalar kendi içinde üç gruba ayrılmıştır.

Grup1:Pasi skoru 10'a kadar olan hastalar

Grup 2:Pasi skoru 10-20 arasında olan hastalar

Grup 3:Pasi skoru 20 ve üzerinde olan hastalar

Çalışmaya alınan hastalardan venöz yoldan biyokimya tüpüne kan alındı. Örnekler oda sıcaklığında pıhtılaştıktan sonra 3000 g de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Elde edilen serum porsiyonlara ayrılarak örneklerin çalışılma tarihine kadar -20 derecede saklandı.

3.1.2 Kullanılan Aletler

Santrifüj (Nüve 1800)

Derin dondurucu(Arçelik)

ELİSA Okuyucu (ELx808LBS Absorbance Plate Reader)

Spektrofotometre (Hitachi U-2900 Double Beam)

Otomatik pipetler(Eppendorf)

3.1.3 Kullanılan Kimyasallar

İskemi Modifiye Albumin Ölçümü için Sigma marka DL-dithiothreitol ve Sigma marka COCL₂.6H₂O (kobaltklorür) kullanıldı.

8-Hidroksideoksiguanozin ölçümü için ticari Enzo Kit(Enzo DNA Damage EIA KIT, Farmingdale, USA) kullanılmıştır. Enzo DNA Damage EIA Kiti, 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerinin serum, idrar ve tükürük örneklerinde kantitatif ölçümü için uygundur.

Heat shock protein 27 ölçümleri için ticari Enzo Kit(Enzo HSP27(Human) EIA KIT, Farmingdale, USA) kullanılmıştır. Enzo HSP27(Human) EIA Kiti, HSP27 düzeylerinin insan serum, plazma, hücre lizati ve doku ekstraktı örneklerinde kantitatif ölçümü için uygundur.

3.1.4 Uygulanılan Yöntemler

ELİSA (Enzim Linked İmmunoSorbent Assay)

ELISA yöntemi, 1960'lı yıllarda Radioimmunoassay yöntemlerine alternatif olarak geliştirilmiştir (146,147). Radioimmunoassay yöntemini radyoaktif madde ile işaretlemeyi gerektirir ve ciddi bir atık sorununu beraberinde getirir. Oysa ELISA yönteminde işaretleme enzimlerle yapılır ve atık problemi yoktur, kullanılan reaktiflerin yarı ömürleri uzundur (146).

ELISA yöntemi, özgül antijen-antikor bağlanmasını göstermek amacıyla enzimle işaretli konjugat ve enzim substratı kullanılarak renklendirilmesi esasına

dayanmaktadır. Yöntem; antijen, antikor ve haptenlerin saptanmasında kullanılan kantitatif bir tekniktir.

ELISA'nın son zamanlarda yaygın olarak kullanılması, monoklonal antikorların yaygınlığına ve hem otoimmün hem de infeksiyöz hastalıklar için birtakım rekombinant spesifik antijenlerin geliştirilmiş olmasına bağlanmaktadır.

ELISA'da kullanılan reaktiflerin uzun ömürlü olmaları, atık maddeleri ile ilgili radyasyon tehlikesi olmaması, basit testler olması, otomatize edilebilmesi ve ticari plak okuyucuları ile bir dakikada değerlendirilebilmeleri bugün laboratuarda kullanılan birçok tekniğe olan üstünlükleridir. ELISA'nın laboratuarda çok fazla örnekle çalışma imkanı verdiği gibi analizlerin kısa sürede sonuçlanması gibi üstünlükleri de vardır. Hepatit, AIDS, kızamık gibi hastalıkların, hormonlar, kanser markerleri, hematolojik ve bakteriyolojik determinantların tanısında ve birçok klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır.

Genel olarak 6 farklı ELISA protokolünden bahsedilebilir (148). Yarışmacı olan (kompetitif) ve olmayan ELISA testleri vardır. Yarışmacı ELISA genellikle antijen varlığını göstermek için kullanılır. Aranan antijene özgül antikor katı faza bağlanmıştır. Enzimle işaretli antijen ve test edilecek antijen (klinik örnek) katı fazdaki antikora aynı zamanda eklenir ve her iki antijenin de antikordaki bağlanma bölgeleri için yarışması amacıyla inkübe edilir. İnkübasyondan sonra yıkanarak bağlanmamış antijenler uzaklaştırılır ve enzim substratı konarak inkübe edilir. Bağlanmış enzim substratla reaksiyona girerek renk oluşturur, spektrofotometrede absorbans okunur. Substratın hidroliz miktarı, örnekteki antijen miktarı ile ters orantılıdır. Yani sonuçta renk değişikliği olmazsa bu klinik örnekte antijen varlığını gösterir (148-151).

Tablo 7:ELİSA Protokolleri

<u>Elisa Protokolleri</u>	<u>Kullanımları</u>	<u>Gerekli Kimyasallar</u>	<u>Yorumlar</u>
İndirekt	Antikor aramada	Antijen saf veya yarı saf;antikor içeren test solüsyonu;immunize örneklerde ıgG yi bağlayan enzim konjugatı	Önceden varolan spesifik antikorların kullanımına gerek duyulmaz; relatif olarak fazla miktarda antijen gerektirir.
Direkt Kompetitif	Antijen aramada;çözünür antijeni saptama	Antijen saf veya yarı saf; antijen içeren test solüsyonu;spesifik antijen için enzim-antikor konjugatı	Sadece iki basamaktan oluşan bu hızlı test; antijenik çapraz reaksiyonu ölçmede çok başarılı
Antikor Yöntemi	Sandviç Antijen çözünür saptamada	aramada; antijeni Antikor yakalama(capture) (saf veya yarı spesifik antikor); antijen içeren test solüsyonu, antijen için spesifik enzim-antikor konjugatı	En hassas antijen testi; relatif olarak fazla miktarda saf veya yarı saf antikor gerektirir.
Çift Antikor Yöntemi	Sandviç Antikor arama	Antikor yakalama(capture) (immunize örneklerde ıg için spesifik); antijen içeren test solüsyonu, antijen için spesifik enzim-antikor konjugatı	Saflaştırılmış antijen gerektirmez;beş basamaklı relatif olarak uzun bir testtir.
Direkt Yöntem	HücreSEL Antijen eksprese eden hücrelerin aranmasında;hücreSEL antijen ekspresyonunun ölçülmesi	İlgili antijeni eksprese eden hücreler; hücreSEL antijeniçin spesifik enzim-antikor konjugatı	Fazla miktarda taramalarda hassas bir testtir.heterojen hücre gruplarında hassas değildir.

İndirekt Yöntem	Hücresele karşı oluşan antijenlere antikorların aranmasında	Hücresele karşı oluşan antijenlere antikorların aranmasında	İmmünizasyonda kullanılan hücreler, antikor içeren test solüsyonları; immünize örneklerde Ig bağlayan enzim konjugatı	Düşük eksprese hücresele antijenler için spesifik antikorları saptamayabilir.	miktarda edilen antijenler için antikorları
-----------------	---	---	---	---	---

ELISA Bileşenleri

Bütün ELISA testleri kompleks, birden fazla içeriği olan sistemlerden oluştuğundan ve bu içeriklerin duyarlı ve kesin sonuçlar alınmasını direkt etkilemelerinden dolayı, test parametrelerinin ve içeriklerinin dikkatlice seçilmesi gerekmektedir.

i.Katı faz

İmmünreaktiflerin antijen ya da antikorun bağlandığı katı faz, daha sonra oluşacak olan antijen-antikor reaksiyonlarının kendine bağlı kalmasını sağlar. Katı faza bağlanmayı etkileyen faktörler şunlardır; katı fazın yapısı, antijenin fiziksel özellikleri, izoelektrik noktası, kimyasal yapısı, immünreajenlerin konsantrasyonu ve saflığı, kaplama için gerekli ısı ve inkübasyon periyodu, kaplama solüsyonunun iyonik gücü ve pH'dır.

ii.Konjugat

Yönteme bağlı olarak ELISA, enzimle işaretli antijen veya antikor içermelidir. Konjugat kullanılırken antikorun enzimle işaretlenmesi kolay olduğu için daha sıklıkla antikor kullanılır. Klinik immünoloji laboratuvarlarında en yaygın olarak kullanılan enzimler alkalin fosfataz ve horseradish peroksidaz'dır. Bunun dışında β galaktosidaz, glukoz oksidaz, üreaz, karbonik anhidraz, lizozim, glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzim olarak kullanılabilir.

iii.Substrat

Substrat, enzimle reaksiyona giren ve böylece renk değişikliğine uğrayan maddedir. Kullanılan enzime bağlı olarak kullanılan substrat, floresan, radyoaktif, kemilüminesans, kromojenik karakterli olabilir. Substrat enzime spesifiktir. Öncelikle substrattan ölçülebilir ve çözüdür bir reaksiyon ürünü oluşmalıdır. Bu ürün renkli olup gözle ya da spektrofotometre ile tespit edilebilir. En yaygın kullanılan substratlar O-fenilendiamin (OPD), 5-aminosalisilik asit, Azido-benzo-thiazolidin-sülfat (ABTS), 3-3', 5-5' Tetrametilbenzidin (TMB), alfa-naftol ve toluidin'dir.

ELISA Protokolleri

Antijen ve antikor bağlanması özgül olduğu için örnekte aranılan antijen ya da antikorların varlığı, miktarı ve cinsi kendileri için özgül olan antijen ya da antikorlar kullanılarak saptanabilir. Değişik şekilde tanımlanan ELISA yöntemleri bulunmaktadır (147-151).

Direkt ELISA

Direkt ELISA non kompetatif yöntemin en basit formudur. Antijen katı faza pasif absorsiyon ile bağlandıktan sonra enzimle işaretli antikor eklenir. Bağlı olan ve olmayan reaktifler birbirinden yıkama işlemi ile fiziksel olarak ayrılmaktadır. Yıkama safhasının ardından substrat eklenerek renk değişimi izlenir. Bu yöntem ölçülecek her antijen için enzimle işaretli spesifik antikor gerektirir. Bu da birçok farklı antijenin saptanması gereken durumlarda sorun oluşturur (148-150).

İndirekt ELISA

İndirekt yöntem antikor saptanmasında ve ölçümünde kullanılan en basit yöntemdir.

En önemli avantajı direkt yöntemde olduğu gibi her antijen için enzimle işaretli spesifik antikor gerektirmemesidir. Tek bir işaretli antiglobulin ile çok sayıda farklı antijen test edilebilir. İndirekt yöntemden insan ve hayvan infeksiyonlarında, antikor ölçümünde geniş anlamda yararlanılmaktadır (152).

İndirekt yöntemde antijen aramaya yönelik testlerde çeşitli modifikasyonlar vardır.

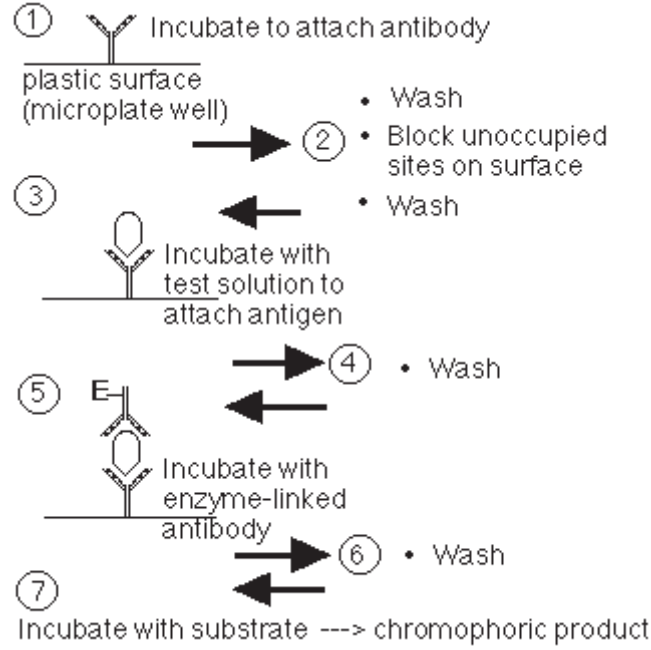
i.Sandviç Yöntem

ELISA yöntemlerinden en çok kullanılan sandviç yöntemidir. Katı faz antijene karşı oluşmuş antikor ile kaplanır. İncelenecek örnek eklenir. İnkübasyon sırasında örnekte, katı fazdaki antikora spesifik antijen varsa solid faza bağlanır ve yıkanır. Daha sonra antijene spesifik antikorlar eklenir. Serbest antikorlar yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra 2. antikorun hazırlandığı türe spesifik enzimle işaretli antikorlar eklenir. Son olarak enzim substratı eklenerek renk değişimi izlenir. Oluşan rengin şiddeti antijen miktarı ile doğru orantılıdır (148-152).

ii.Kompetitif ELISA

ELISA testinde, antijen varlığını gösterebilmek için aranan antijene özgül antikor katı faza bağlanmıştır. Enzimle işaretli antijen ve antijen içerdiği düşünülen klinik örnek katı faza bağlı antikora aynı anda eklenir ve her iki antijenin antikordaki bağlanma bölgeleri için yarışması amacıyla inkübe edilir. Eğer enzimle işaretli antijen katı fazdaki antikora bağlanmışsa yıkama işleminden sonra eklenen substrat hidrolize olarak renk değişikliğine yol açar. Ancak klinik örnekte aranılan antijen mevcutsa katı fazdaki özgül antikora bu antijen bağlanacağından pozitif sonuç renk değişikliğinin olmaması ile ortaya çıkar. Bu tip yöntemler yüksek konsantrasyondaki antijenlerin ölçümünde ve ayrıca antikorlar için tek bir bağlanma bölgesi bulunan hormonların tespitinde kullanılır. Kolay, hızlı ve inkübasyon sayısı azalmış bir testtir. Nonkompetatif yöntem ile kıyaslandığında, kompetatif yöntem daha spesiftir (148-152).

Şekil 14: ELİSA protokolü örneği



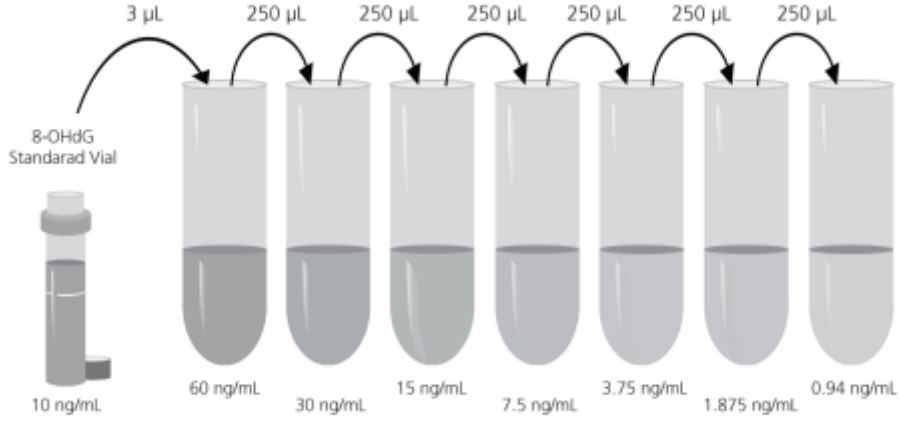
Serumda 8-OHdG Miktarının Ölçümü

Bir oksidatif hasar biyomarkerı olan 8-OHdG'nin serumdaki miktarını ölçmek için çalışmamızda Enzo Kit (Enzo DNA Damage EIA KIT, Farmingdale, USA) kullanılmıştır. Yarışmalı tipte bir ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kiti olan Enzo DNA Damage EIA Kiti, 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerinin serum, idrar ve tükürük örneklerinde kantitatif ölçümü için uygundur. ELISA çalışması Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce -20°C de saklanan örnekler oda ısısına gelene kadar bekletilmiştir.

1-Öncelikle kuyucuklar, 20X yıkama solüsyonu, örnek dilüent antibody diluent, HRP konjugat dilüent, TMB substrat solüsyonu ve stop solüsyonu oda ısısına getirilmiştir.

2-Örnek dilüenti ile standartlar aşağıda gösterildiği şekilde hazırlanmıştır.



Şekil 15: 8-hidroksi deoksi guanozin ELISA standartlarının hazırlanması

7 tane propilen tüp sırası ile 60ng/mL, 30ng/mL, 15ng/mL, 7.5ng/mL, 3.75ng/mL, 1.875ng/mL, 0.94ng/mL olarak etiketlendi. Daha sonra birinci tüpe 500 µL, diğer 6 tüpe ise 250 µL örnek dilüenti konuldu. Kit içinde bulunan 8-OHdG Standard stok solüsyonundan (10µg/mL) 3 µL 1. tüpe eklendi. Nazikçe karıştırılarak 1. tüpten alınan 250 µL karışım 2. tüpe eklendi. Sonrasında yine nazikçe karıştırılarak 2. tüpten alınan 250 µL karışım 3. tüpe eklendi. Bu işlem son tüpe kadar tekrarlandı.

3- Örnek dilüenti ile örnekler 1:20 (v/v) dilüe edildi.

4- Hazırlanan standartlardan ve dilüe edilmiş örneklerden 50 µL daha önceden ticari olarak 8-OHdG ile kaplanmış kuyucuklara yüklendi.

5-Birincil antikor olan Anti-8-OHdG 'den(Önceden 5 mL antibody dilüent içine 20 µL konularak dilüe edilmişti) kör hariç tüm kuyucuklara 50 µL yüklendi. Kuyucukların üstü plate koruyucu ile örtülerek oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre zarfında standart veya örnekdeki 8-OHdG, kuyucuklarda bağlı bulunan 8-OHdG ile 8-OHdG monoklonal antikor bağlanma bölgesi için rekabet etmektedir. Dolayısıyla, örnek solusyonundaki yüksek 8-OHdG konsantrasyonu antikorun, plakada bulunan 8-OHdG'ye bağlanma verimliliğini azaltacaktır.

6- Kuyucuklar 6 kez yıkama solüsyonu(100ml 20X yıkama solüsyonu 1900ml distile su ile dilue edildi) ile yıkanarak örnekteki 8-OHdG'ye bağlanmış antikörlerin kuyucuklardan uzaklaşması sağlandı. Kuyucuklarda bulunan 8-OHdG'ye bağlı olan antikörler ise kuyucuklarda kaldı.

7-Horse Radish Peroksidaz ile işaretli ikincil antikor olan Anti-Mouse Ig G: HRP konjugat(HRP konjugat diluentin 11mL si içinde 22µL konularak dilüe edilmişti) kör hariç tüm kuyucuklara 100 µL yüklendi.

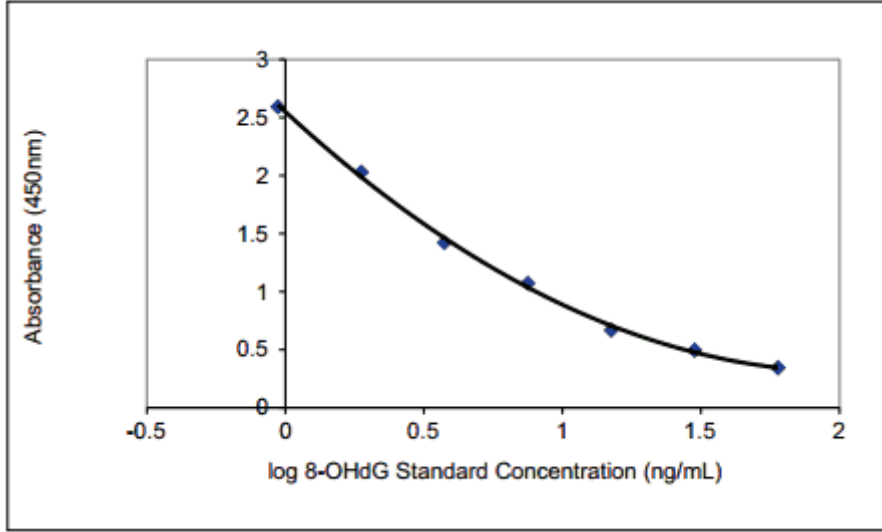
8- Kuyucukların üstü plate koruyucu ile örtüldü, oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakılarak plakada kalan monoklonal antikörlere bağlanması sağlandı. Ardından kuyucuklar 6 kez yıkama solüsyonu ile yıkanarak bağlanmamış enzim işaretli ikinci antikörleri uzaklaştırıldı.

9- 100µL TMB Substrat tüm kuyucuklara yüklendi.15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. TMB substrat kuyucuklarda bulunan bağlı antikor miktarı ile doğru orantılı olarak renk oluşumuna sebep olmaktadır (HRP enzimi hidrojen peroksiti parçalar ve açığa çıkan oksijen substratı -- 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin -- okside ederek renk değişimine sebep olur).

10- Her bir kuyucuğa 100µL Stop Solüsyon 2 yüklenerek enzim aktivitesi durduruldu.

11-Mikroplate okuyucuda 450 nm'de yarım saat içerisinde okutuldu.Örnekteki 8-OHdG konsantrasyonunun tespiti için, hazırlanmış "kalibrasyon eğrisi" kullanıldı. Sonuçlar mililitrede nanogram (ng/mL) olarak ifade edildi.

Şekil 16: 8-hidroksi deoksi guanozin kalibrasyon eğrisi



Tablo 8: 8-hidroksi deoksi guanozin ELİSA standartlarının konsantrasyonları ve 450 nm deki absorbansları

Standard No.	[8-OHdG Standard] (ng/mL)	A _{450nm}
1	60	0.343
2	30	0.495
3	15	0.668
4	7.5	1.072
5	3.75	1.423
6	1.88	2.029
7	0.94	2.592

Serumda Isı Şok Proteini HSP 27 Miktarının Ölçümü

Bir hücre stres belirteci olan ısı şok proteini HSP 27'nin serumdaki miktarını ölçmek için çalışmamızda Enzo Kit (Enzo HSP27(Human) EIA KIT, Farmingdale, USA) kullanılmıştır. Yarışmasız (sandviç) tipte bir ELISA (Enzyme-linked

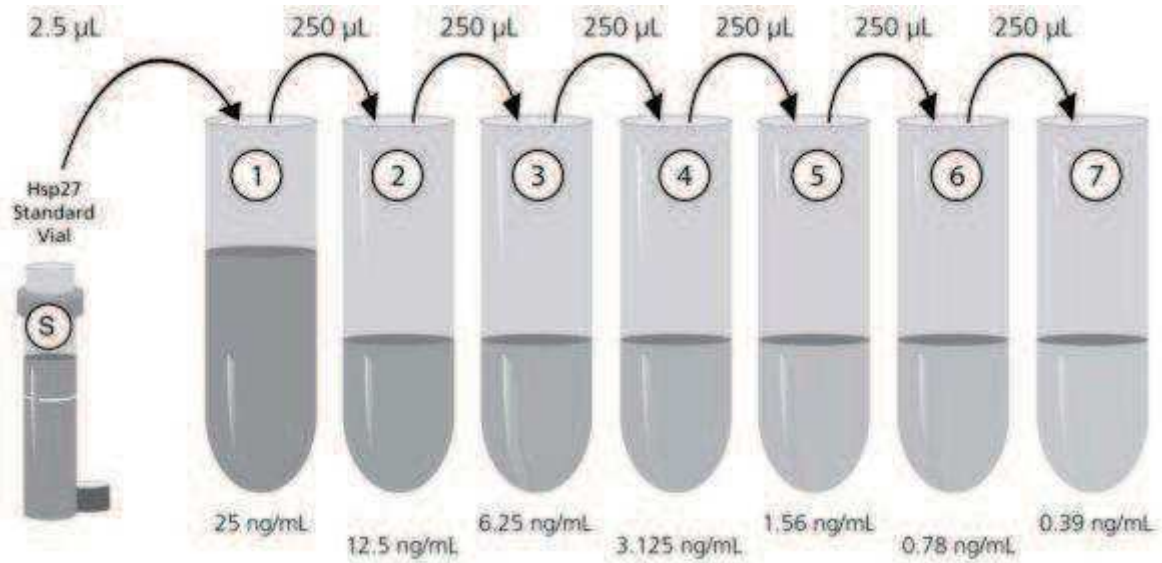
immunosorbent assay) kiti olan Enzo HSP27 (Human) EIA Kiti, HSP27 düzeylerinin insan serum, plazma, hücre lizati ve doku ekstraktı örneklerinde kantitatif ölçümü için uygundur. ELISA çalışması Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce -20°C de saklanan örnekler oda ısısına gelene kadar bekletildi.

1-Öncelikle kuyucuklar, 20X yıkama solüsyonu, örnek dilüent, antibody diluent, HRP konjugat dilüent, TMB substrat solüsyonu ve stop solüsyonu oda ısısına getirildi.

2-Örnek dilüenti ve rekombinant Hsp27 standardı ile standartlar aşağıda gösterildiği şekilde hazırlandı.

Şekil 17: Hsp27 Standartlarının hazırlanması



7 tane propilen tüp sırası ile 25 ng/mL, 12.5 ng/mL, 6.25 ng/mL, 3.125 ng/mL, 1.56 ng/mL, 0.78 ng/mL, 0.39 ng/mL olarak etiketlendi. Daha sonra birinci tüpe 500 µL, diğer 6 tüpe ise 250 µL örnek dilüenti konuldu. Kit içinde bulunan 8-OHdG Standard stok solüsyonundan 2.5 µL 1. tüpe eklendi. Nazikçe karıştırılarak 1. tüpten alınan 250 µL karışım 2. tüpe eklendi. Sonrasında yine nazikçe karıştırılarak 2. tüpten alınan 250 µL karışım 3. tüpe eklendi. Bu işlem son tüpe kadar tekrarlandı.

3- Örnek dilüenti ile örnekler 1:20 (v/v) dilüe edildi.

4- Hazırlanan standartlardan ve dilüe edilmiş örneklerden 100 µL daha önceden ticari olarak yüksek miktarda anti-Hsp27 ile kaplanmış kuyucuklara yüklendi. Kuyucukların üstü plate koruyucu ile örtülerek oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre zarfında standartlarda ve örneklerde bulunan Hsp-27'nin tümü kuyucuklarda bağlı bulunan anti-Hsp-27 ile bağlanmaktadır.

5-Kuyucuklar 6 kez yıkama solüsyonu (100 ml 20X yıkama solüsyonu 1900 ml distile su ile dilüe edildi) ile yıkanarak antijen-antikor kompleksi dışındaki maddelerin kuyucuklardan uzaklaşması sağlandı. Kuyucuklarda bulunan anti-Hsp27'ye bağlı olan antijenler ise kuyucuklarda kaldı.

6-100 µL anti-Hsp27 (1:1500 oranında dilüsyon yapmak için 22µL Anti-Hsp27 , 11mL Antibody Diluent içine kondu) kör hariç tüm kuyucuklara pipetlendi ve kuyucukların üstü plate koruyucu ile kapatılarak oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre zarfında anti-Hsp27 bir sandviç oluşturacak şekilde antijene bağlanmaktadır.

7- Kuyucuklar 6 kez yıkama solüsyonu ile yıkanarak ortamdaki fazlalık anti-Hsp27 uzaklaştırılır.

8- Her bir kuyucuğa 100µL HRP konjugat pipetlenerek plate koruyucu ile kapatılır ve oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakılır. Bu süre zarfında oluşan antikor-antijen-antikor kompleksi enzimle işaretlenmektedir.

9- Kuyucuklar 6 kez yıkama solüsyonu ile yıkanarak ortamdaki bağlanmamış enzim

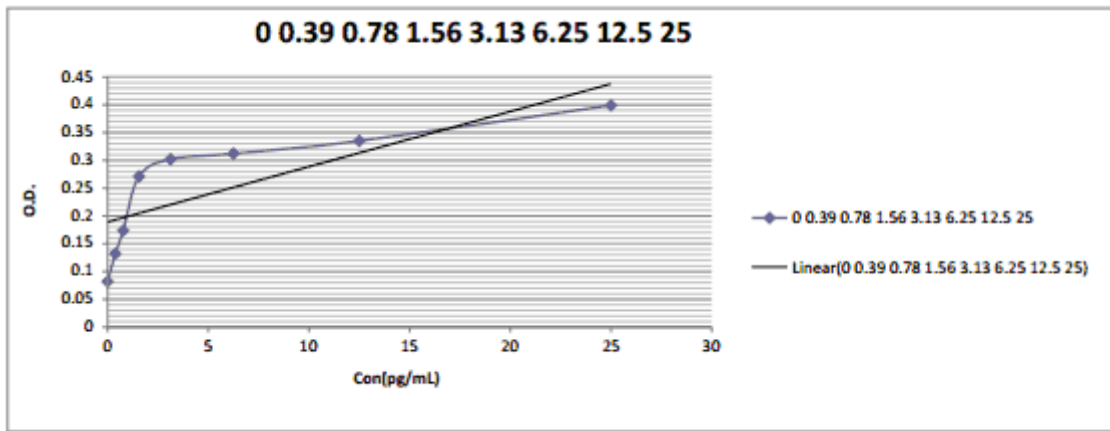
uzaklaştırılır.

10-100µL TMB Substrat tüm kuyucuklara yüklendi.15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. TMB substrat kuyucuklarda bulunan bağlı antikor miktarı ile doğru orantılı olarak renk oluşumuna sebep olmaktadır (HRP enzimi hidrojen peroksiti parçalar ve açığa çıkan oksijen substratı -- 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin -- okside ederek renk değişimine sebep olur).

11-- Her bir kuyucuğa 100µL Stop Solüsyon 2 yüklenerek enzim aktivitesi durduruldu.

12-Mikroplate okuyucuda 450 nm'de yarım saat içerisinde okutuldu.Örnekteki Hsp27 konsantrasyonunun tespiti için, hazırlanmış "kalibrasyon eğrisi" kullanıldı. Sonuçlar mililitrede nanogram (ng/mL) olarak ifade edildi.

Şekil 18: Hsp27 kalibrasyon eğrisi



Tablo 9: Hsp27 ELİSA standartlarının konsantrasyonları ve 450 nm'deki absorpsiyon değerleri

Standard No.	[HSP27 Standard] (ng/mL)	A_{450nm} 1
1	25	0.399
2	12.5	0.335
3	6.25	0.312
4	3.125	0.302
5	1.56	0.271
6	0.78	0.174
7	0.39	0.132

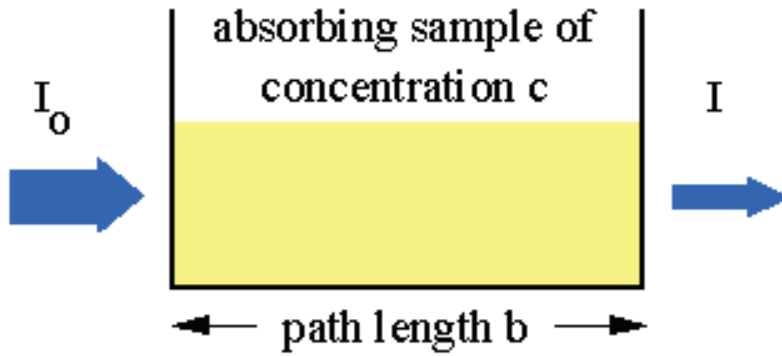
Kolorimetrik Yöntem ve İMA Ölçümü

Kolorimetrik Yöntem test materyalinin UV absorpsiyonunun ölçülmesi veya bir belirteç ile reaksiyon sonucu oluşan renkli bir bileşiğin görünür alanda spektral olarak belirlenmesi esasına dayanır.

Işık, insan gözüyle görülebilir dalga boylarındaki elektromanyetik radyasyon enerjisidir. Dalga boyu, iki dalga piki arasındaki mesafedir ki genellikle nanometre (nm), bazen angström (Å) ve milimikron (mμ) olarak ifade edilir. Güneş ışığı veya bir tungsten lambadan saçılan ışık, insan gözünün beyaz olarak tanımladığı, farklı dalga boylarındaki ışık enerjilerinin bir karışımıdır.

Bir madde elektromagnetik dalga spektrumunda 380-750 nm uzunluğundaki görünür ışınların hepsini geçiriyor veya yansıtıyorsa beyaz görünür; hepsini soğuruyorsa (absorbluyorsa) siyah görünür. Görünür spektrumda mavi rengi soğuran bir madde sarı renkli, sarı rengi soğuran bir madde mavi renkli görünür. Yeşil rengi soğuran bir madde kırmızı renkli, kırmızı rengi soğuran bir madde yeşil renkli görünür. Madde tarafından tutulan ışınların rengi ile maddenin görünür rengini oluşturan ışınların rengi, tamamlayıcı renkler olarak adlandırılır.

İçerisinde organik moleküller bulunan bir çözeltilerden UV-görünür bölge ışınları geçerse, çözelti bu ışınların bir kısmını seçimli olarak soğurur (absorpsiyon), diğerlerini ise çok az soğurur veya olduğu gibi geçirir (transmisyon). Bir kuvvet içine konmuş renkli bir çözeltilerden çıkan ışık şiddeti (I), çözeltilere giren ışık şiddetinden (I_0) daha küçüktür.



Şekil 19 :Örnek içinden geçen ışık ışınının absorpsiyonunu ve etki eden faktörler

Çözeltilerden çıkan ışık şiddetinin çözeltilere giren ışık şiddetine oranı (I/I_0), transmittans (T) olarak tanımlanır.

Transmittans, genellikle %Transmittans (% T) olarak ifade edilir. Transmittansın tersinin logaritması Absorbans (Optik dansite, A) olarak tanımlanır ki bu, çözeltilerin içinden geçen ışığın ne kadarının absorbe edildiğinin ifadesidir.

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}$$

Bir çözeltilerde çözünmüş olan maddenin miktarı veya konsantrasyonu ile %Transmittans (% T) arasında doğrusal olmayan bir ilişki olduğu halde Absorbans (A)

arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Absorbans (A), yüzde transmittans (%T) ve çözültideki maddelerin konsantrasyonu (c) arasındaki ilişkiyi Lambert-Beer yasası ifade eder: İçinde çözülti bulunan bir küvetten geçen ışığın transmittansı (I/I_0), ışık yolu veya küvet çapının (l) artmasıyla azalır; ayrıca dilüe çözültinin absorbansı (A), çözültinin konsantrasyonu (c) ile doğru orantılıdır. ϵ absorpsiyon katsayısı (ekstinksiyon katsayısı) olarak gösterildiğinde Lambert-Beer yasasının matematiksel ifadesi şu şekilde olur.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot l$$

Çözülti içindeki madde miktarını çözültinin renginden faydalanarak ölçme işlemine kolorimetri, bu tip ölçümde kullanılan cihazlara da kolorimetre denir. Kolorimetrik ölçümde, konsantrasyonu ölçülecek çözültinin rengi değişik konsantrasyonlardaki standartların rengiyle karşılaştırılarak değerlendirilir.

Çözülti içindeki madde miktarını çözültiden geçen veya çözültinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçme işlemine fotometri, bu tip ölçümde kullanılan cihazlara da fotometre denir. Fotometrik ölçümde, renksiz çözültilerin konsantrasyonu da ölçülebilir.

Analiz edilen örnek üzerine ışık demetinin bir kısmını filtreler kullanarak ayıran ve gönderen aletler kolorimetre veya fotometre olarak adlandırılırken, yarıklar ya da prizmalar aracılığı ile bu seçiciliği yapan aletler spektrofotometre olarak adlandırılırlar.

Spektrofotometrelerde konsantrasyonu bilinen bir standart çözültinin absorpladığı ışık miktarı (absorbans, optik dansite) ile konsantrasyonu bilinmeyen çözültinin absorpladığı ışık miktarı karşılaştırılır.

Spektrofotometrelerde kullanılacak ışık, çözültinin kuvvetli absorpladığı dalga boyunda seçilir; örneğin kırmızı renkli sıvı için yeşil dalga, mavi renkli sıvı için sarı dalga boyunda ışık seçilir.

Spektrofotometrelerde çözeltilerdeki madde için uygun seçilen dalga boyundaki ışığın örneğe ve standarda (bilinen konsantrasyondaki çözelti) ait absorbanları veya optik dansiteleri (A,OD) karşılaştırılıp matematiksel işlemler yapılarak örnekteki maddenin konsantrasyonu bulunur.

Çeşitli konsantrasyonlardaki standart çözeltilerin, belirli uygun bir dalga boyunda ışık için absorban değerleri bir köre (absorbansı sıfır kabul edilen) karşı karşıya ölçülüp bir grafik kağıdına konsantrasyonlara karşı işaretlenerek standart grafiği çizilir. Örneğin absorbanı da aynı köre (absorbansı sıfır kabul edilen) karşı karşıya ölçülür ve ölçülen absorbanı karşı gelen konsantrasyon standart grafikten bulunur (153).

Çalışmamızda kolorimetrik yöntem serum İskemi Modifiye Albumin düzeylerini ölçmek için kullanılmıştır. Örnekler Bar-Or ve arkadaşlarının tanımladığı metotla çalışılmıştır (103). Bu metotda 200 µL serum %0.1 (w/v) 'lik 50 µL cobalt chloridine çözeltisine eklenir. 10 dakika nazikçe karıştırılarak albumin kobalt bağlanma reaksiyonunun yeterli düzeyde gerçekleşmesi beklenir. Ardından 50 µL dithiothreitol (DDT) (1.5 mg/mL H₂O) renklendirici ajan olarak eklenir. 2 dakikalık bekleme sürecinin ardından 1.0 mL 0.9% NaCl reaksiyonu sonlandırmak için eklenir. Daha sonra renk değişimi 470 nm de spektrofotometrik olarak ölçülür. Örnek körü olarak DDT eklenmemiş örnek körü kullanılır. Ölçüm sonuçları Absorbans ünitesi olarak (AbsU) rapor edilir (103).

PASİ Skorlama

PASİ hem en yaygın kullanılan hem de gold standart olarak kabul edilen ve bilimsel çalışmalarda kullanılması önerilen skorlama sistemidir (37,83).

PASİ, dört vücut bölgesindeki (baş [b], gövde [g], üst ekstremité [u], alt ekstremité [a]), eritem (E), indürasyon(I) ve deskuamasyon (D) derecesinin belirlenmesi ile hesaplanır. PASİ hesaplanırken şu formül kullanılır:

$$0.1x(Eb+Ib+Db)xAb + 0.2x(Eu+Iu+Du)xAu + 0.3x(Eg+Ig+Dg)xAg$$

$$+0.4x(Ea+Ia+Da)xAa.$$

Formülde 'A' için verilecek değer psoriasis lezyonlarının yaygınlığı %10'un altında ise 1, %10-29 ise 2, %30-49 ise 3, %50-69 ise 4, %70-89 ise 5, %90-100 ise 6 olarak belirlenir. Eritem (E), indürasyon (I) ve deskuamasyon (D) için verilecek değerler semptom yoksa 0, hafif ise 1, orta ise 2, belirgin ise 3, şiddetli ise 4 olarak belirlenir (29).

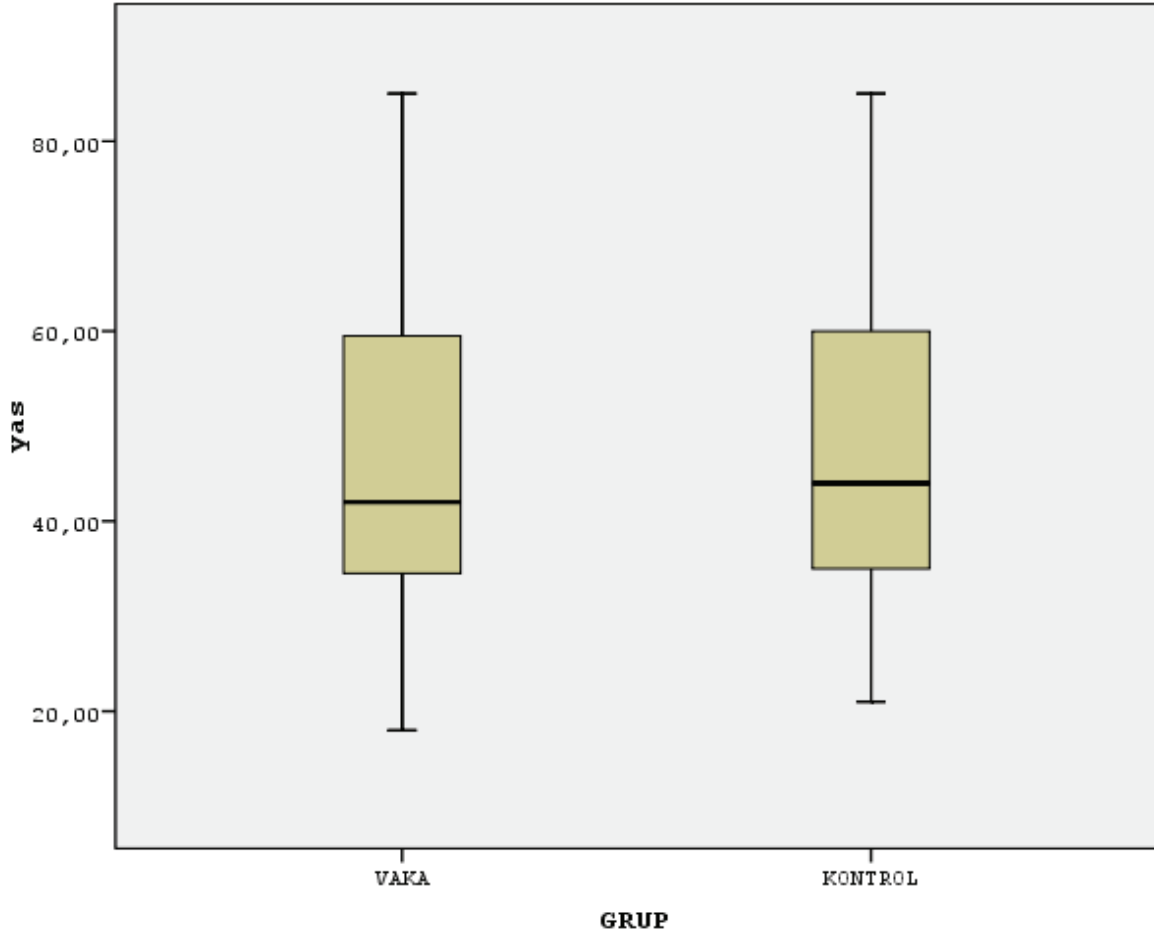
4.İSTATİSTİK

Araştırmanın verileri SPSS 19,0 istatistik programı kullanılmıştır. Yaş, 8(OH)dG, HSP 27, İMA verilerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerler kullanılmıştır. Öncelikle cinsiyet ile vaka ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmalarda kullanılmak üzere normal dağılıma uygunluk testi (Kolmogorov-Smirnov testi) yapılmıştır. Normal dağılıma uyan değişkenlerin karşılaştırılmasında parametrik testler, uymayan değişkenlerin karşılaştırılmasında ise non parametrik testler kullanılmıştır. Sigara, cinsiyet gibi kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ belirlenmiştir.

5.BULGULAR

Çalışmaya 39 psöriasis vakası ve 39 kontrol alınmıştır. Vaka grubunun yaş ortalaması $46,2 \pm 16,3$, kontrol grubunun yaş ortalaması $46 \pm 16,1$ 'dir (Şekil 20).

Şekil 20:Vaka ve kontrol grubunda yaş dağılımı



Vaka grubunun %53,8'i kadın, %46,2'si erkektir. Kontrol grubunun %61,5'i kadın, %38,5'i erkektir.

Tablo 10: Çalışmada kullanılan veriler

KATILIMCI	PAŞİ	İMA	8(OH)d G	HSP27	CİNSİYE T	YAŞ	SİGARA
F.Ö.	8,4	875	21,092	5,28	K	25	Evet
Ç.İ.O	7,0	762	24,381	163,04	E	33	Hayır
H.G.G	7,2	872	30,530	3,9	K	18	Evet
N.Ş.	5,2	828	22,220	6,08	K	46	Evet
R.D.	4,4	912	22,459	93,76	K	35	Evet
H.D.	5,4	769	17,938	3,9	K	64	Hayır
V.Ö.Ç.	4,8	805	24,476	4,12	E	33	Hayır
N.İ.	1,6	922	19,019	5,96	K	76	Evet
C.G.	2,1	1031	23,095	3,78	K	39	Evet
S.K.B.	6,8	850	37,512	4,82	E	61	Evet
İ.O.	2,4	879	25,785	1,72	E	32	Evet
O.B.	7,2	982	24,975	2,86	K	49	Hayır
M.K.	1,6	716	34,381	4,36	E	85	Evet
B.E.	17,5	926	35,772	4,94	K	37	Hayır
M.A.	10,2	897	26,217	5,96	E	59	Hayır
R.Ş.	10,7	998	25,672	4,12	K	68	Evet
T.D.	14,0	823	35,289	3,68	E	37	Evet
N.D.	13,2	874	21,659	2,52	K	39	Evet
A.S.U.	17,0	887	43,310	5,84	K	29	Evet
H.E.	11,2	795	23,753	4,7	E	39	Hayır
F.Ö.	14,4	940	23,497	3,9	E	30	Hayır
Ö.Ç.	17,4	934	27,597	324,22	E	67	Evet
G.K.	14,4	949	26,014	35,28	K	42	Evet
T.Ş.	18,6	1038	20,696	5,16	E	42	Evet
A.K.	10,2	845	18,030	5,74	K	45	Hayır
N.Ü.	14,4	856	22,555	2,4	E	41	Evet
O.B.	20,0	875	19,661	2,52	E	65	Hayır
A.Y.	26,9	888	25,390	3,56	K	34	Evet
T.C.	20,5	875	27,971	6,66	E	40	Hayır
F.S.G.	34,2	880	28,066	7,68	K	46	Evet
A.S.	20,4	760	31,825	5,5	K	52	Hayır
M.A.	33,3	900	33,502	5,16	E	68	Evet
E.Y.	31,4	1025	21,774	4,94	E	38	Evet
A.C.	35,4	1044	22,435	7,46	E	81	Evet
Ü.G.	20,0	901	23,625	3,56	K	60	Hayır
N.Ç.	20,0	845	15,737	201,08	K	49	Evet
H.Z.	43,2	705	22,220	4,94	K	46	Hayır
R.I.	35,7	1067	19,257	265,62	K	32	Evet
T.O.	26,1	745	27,628	4,36	E	23	Hayır
P.S.		847	22,848	3,56	K	25	Evet
M.U.		750	22,676	3,22	E	72	Hayır
L.A.		935	22,196	2,52	K	46	Hayır
H.A.		957	17,416	3,32	E	35	Evet
A.T.		880	27,628	2,3	K	33	Hayır
H.H.Ç.		921	27,752	3,44	K	61	Evet
Z.Ş.		1059	22,411	4,02	E	49	Evet
T.B.		840	30,251	5,04	K	39	Hayır

G.K.	963	19,909	3,68	K	42	Evet
S.G.	723	24,435	3,22	K	36	Hayır
K.D.	1021	22,149	2,98	K	39	Evet
M.O.	911	20,181	3,56	E	67	Hayır
Z.Ö.	935	28,320	4,12	K	45	Evet
M.Y.M.	864	22,604	4,12	E	65	Evet
İ.Ö.	900	28,968	5,84	E	40	Evet
N.A.	751	26,188	4,26	K	46	Hayır
M.M.	801	30,812	3,44	K	55	Hayır
İ.B.	1079	34,749	3,1	E	68	Evet
G.C.	841	20,330	3,78	E	38	Hayır
S.Ö.	690	15,752	3,9	E	23	Hayır
F.B.	926	25,399	3,56	K	60	Hayır
F.T.	712	24,275	5,4	K	32	Evet
E.A.	1007	23,676	3,68	K	46	Evet
S.G.	936	20,522	6,2	K	42	Hayır
M.Ö.	1005	21,294	4,24	E	85	Evet
F.D.	1135	17,810	6,54	K	49	Evet
E.Ç.	997	16,053	5,5	K	23	Hayır
B.S.	974	18,670	4,48	K	27	Hayır
İ.G.	952	30,044	4,02	E	53	Evet
F.T.	843	20,893	3,1	K	60	Evet
D.A.K	859	23,960	4,7	E	35	Evet
N.G.	874	25,670	7,8	K	44	Hayır
F.T.	975	19,620	4,94	K	27	Evet
D.G.	703	23,295	3,78	K	21	Hayır
N.Ç.	876	18,290	5,4	K	31	Evet
E.E.	810	31,751	4,7	K	35	Hayır
Ş.A.	867	56,632	3,68	K	75	Evet
İ.Kİ	761	34,300	6,2	E	60	Evet
R.Y.	820	30,635	4,58	E	67	Hayır

Tablo 11:Hasta Grubunda PASİ Skorunun ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı, Çanakkale 2013

Pasi	Ort.±S.S	Ortanca(min-maks)
Hasta grubu	15,7±10,8	14,4(1,6-43,2)

p:Kruskal-Wallis Varyans Analizi

S.S.:Standart sapma

Hasta grubu seçilirken hastaların pasi skorlarının dağılımının mümkün olduğunca eşit olmasına dikkat edildi. En düşük pasi skoru 1,6 , en yüksek pasi skoru 43,2; ortanca değeri ise 14,7 idi. Ortalama pasi skoru 15,7; standart sapma ise 10,8 idi. Hastaların normal dağılıma uygunluğu Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile sınıandı ve dağılımın normal olduğu saptandı (Tablo 11).

Tablo 12:Hasta Grubunda Pasi Skoruna göre Pasi Skorunun ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı, Çanakkale 2013

Pasi	Ort.±S.S	Ortanca(min-max)
0-10	4,9±2,3	5,2(1,6-8,4)
10-20	14±2,9	14,4(10-18,6)
>20	28,2±7,8	26,9(20-43,2)
P	0,0001	

p:Kruskal-Wallis Varyans Analizi
S.S.:Standart sapma

Hasta grubu pasi skorunun değişkenler üzerine etkisini incelemek açısından pasi skoruna göre 3 gruba ayrıldı. PASİ skoru 0-10 arasında olanlar, PASİ skoru 10-20 arasında olanlar ve PASİ skoru 20'den büyük olanlar bu üç grubu oluşturmaktadır. Bu üç grubun da kendi içinde normal dağılıma uyup uymadığı Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile sınıandı ve her üç grubunda normal dağılıma uygun olduğu görüldü (Tablo 12).

Tablo 13:Hasta ve Kontrol Gruplarında 8 hidroksi deoksi guanozin ortalama ve ortanca değerlerinin dağılımı, Çanakkale,2013

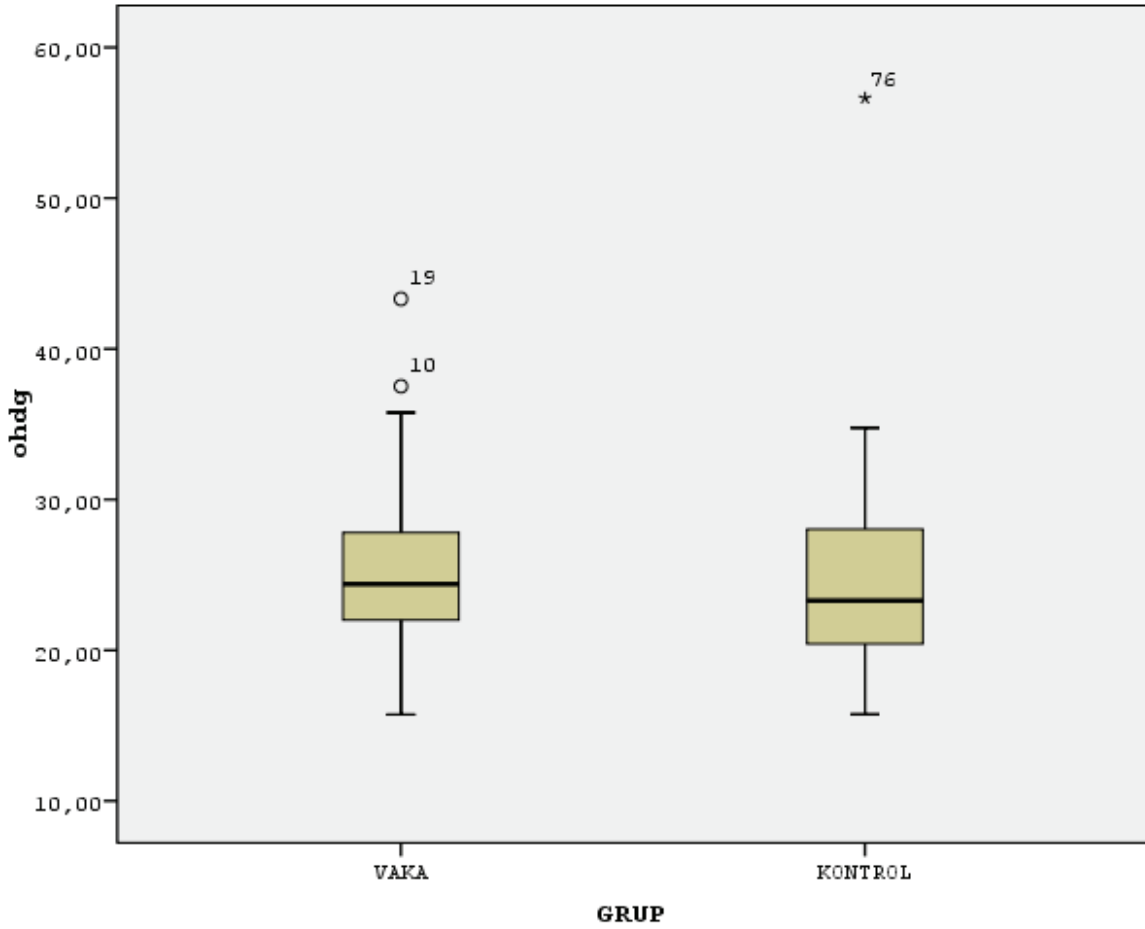
8 ohdg	Ortalama±S.S.	Ortanca(min-max)
Hasta grubu	25,5±5,9	24,3(15,7-43,3)
Kontrol grubu	24,8±7,1	23,2(15,7-56,6)
P	0,424	

S.S.:Standart sapma

p: Mann-Whitney U testi

Hasta grubunda 8(OH)dG değerleri minimum 15,7 ng/mL , maksimum 43,3 ng/mL; ortanca değeri ise 24,3 ng/mL idi. Ortalama 8(OH)dG düzeyi 25,5 ng/mL standart sapma ise 5,9 ng/mL idi. Kontrol grubunda 8(OH)dG değerleri minimum 15,7 ng/mL, maksimum 56,6 ng/mL; ortanca değeri ise 23,2 ng/mL idi. Ortalama 8(OH)dG düzeyi 24,8 ng/mL standart sapma ise 7,1 ng/mL idi.Mann-Whitney U testi ile yapılan değerlendirmede p değeri 0,424 olarak saptandı. $p>0,05$ olduğundan hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak 8(OH)dG düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadığı görüldü (Tablo 13).

Şekil 21:Vaka ve kontrol grubu 8(OH)dG düzeyleri



Tablo 14: Hasta ve Kontrol Gruplarında HSP 27 ortalama ve ortanca değerlerinin dağılımı, Çanakkale,2013

HSP 27	Ort.±S.D	Ortanca(min-max)
Hasta grubu	31,7±75,0	4,9(1,7-324,2)
Kontrol grubu	4,2±1,1	4,0(2,3-7,8)
P	0,01	

S.S.:Standart sapma

p: Mann-Whitney U testi

Hasta grubunda HSP 27 değerleri minimum 1,7 ng/mL, maksimum 324,2 ng/mL; ortanca değeri ise 4,9 ng/mL idi. Ortalama HSP 27 düzeyi 31,7 ng/mL standart sapma ise 75 ng/mL idi. Kontrol grubunda HSP 27 değerleri minimum 2,3 ng/mL, maksimum 7,8 ng/mL; ortanca değeri ise 4 ng/mL idi. Ortalama HSP 27 düzeyi 4,2 ng/mL, standart sapma ise 1,1 ng/mL idi. Mann-Whitney U testi ile yapılan değerlendirmede p değeri 0,01 olarak saptandı. $p < 0,05$ olduğundan hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak Heat Shock Protein 27 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunduğu görüldü (Tablo 14).

Tablo 15: Hasta ve Kontrol Gruplarında İMA ortalama ve ortanca değerlerinin dağılımı, Çanakkale 2013

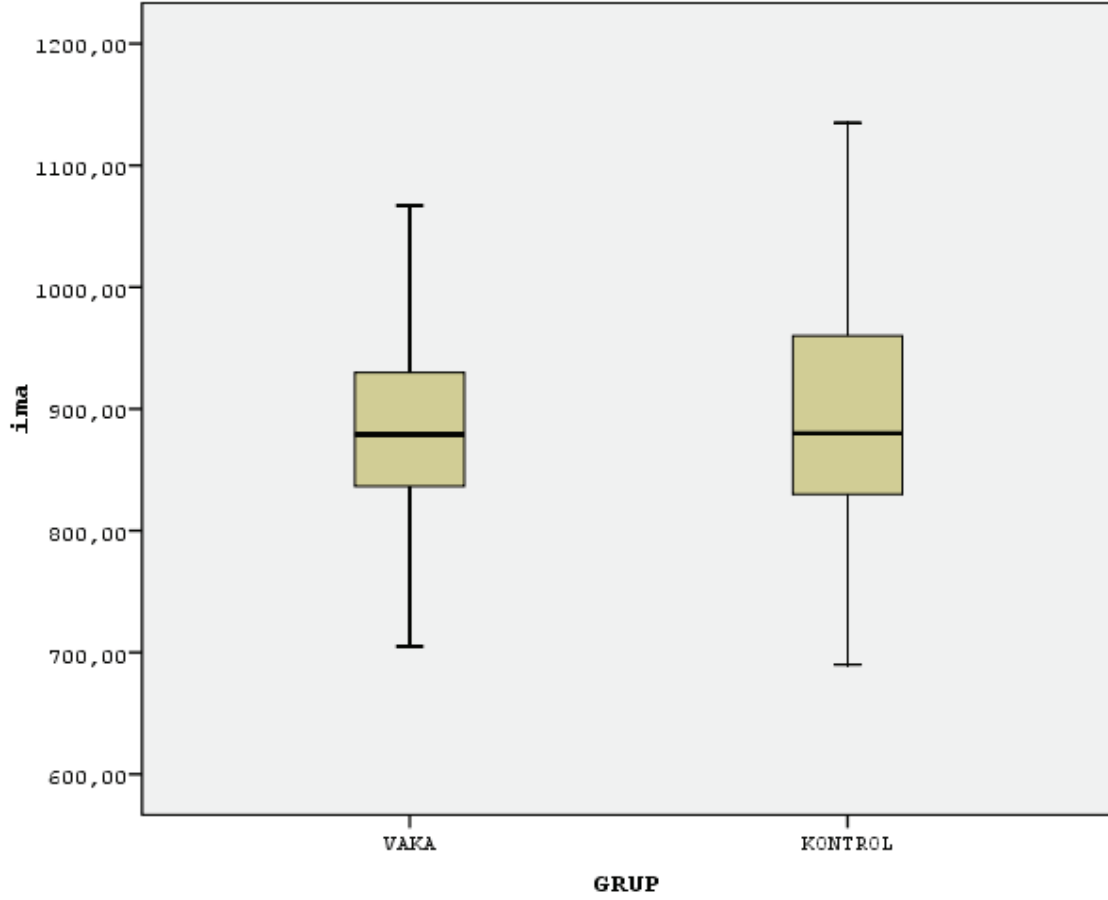
İMA	Ort.±S.D	Ortanca(min-max)
Hasta grubu	0,883±0,90	0,879(0,705-1,067)
Kontrol grubu	0,889±0,107	0,880(0,690-1,135)
P		0,798

S.S.:Standart sapma

p: İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi

Hasta grubunda İMA değerleri minimum 0,705 AbsU, maksimum 1,067 AbsU; ortanca değeri ise 0,879 AbsU idi. Ortalama İMA düzeyi 0,883 AbsU, standart sapma ise 0,090 AbsU idi. Kontrol grubunda İMA değerleri minimum 0,690 AbsU, maksimum 1,135 AbsU; ortanca değeri ise 0,880 AbsU idi. Ortalama İMA düzeyi 0,889 AbsU standart sapma ise 0,107 AbsU idi. İki Ortalama arasındaki Farkın Anlamlılık Testi ile yapılan değerlendirmede p değeri 0,798 olarak saptandı. $p > 0,05$ olduğundan hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak İskemi Modifiye Albümin düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığı görüldü (Tablo 15).

Şekil 22: Vaka ve kontrol gruplarında İMA değerleri



Tablo 16: Hasta Grubunda Pasi skoruna göre 8(OH)dG ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı, Çanakkale 2013

Pasi	8(OH)dG	
	Ort.±S.S	Ortanca(min-max)
0-10	25,2±5,7	24,3(17,9-37,5)
10-20	26,9±7,1	25,6(18-43,3)
>20	24,5±5,1	23,6(15,7-33,5)
P	0,722	

p:Kruskal-Wallis Varyans Analizi

S.S.:Standart sapma

Hasta grubu içinde Pasi skoru 0-10 arasında olanlarda 8(OH)dG düzeyleri minimum 17,9 ng/mL, maksimum 37,5 ng/mL; ortanca değeri ise 24,3 ng/mL idi. Ortalama 8(OH)dG düzeyi 25,2 ng/mL, standart sapma ise 5,7 ng/mL idi. Pasi skoru 10-20 arasında olanlarda 8(OH)dG düzeyleri minimum 1 ng/mL , maksimum 43,3 ng/mL; ortanca değeri ise 25,6 ng/mL idi. Ortalama 8(OH)dG düzeyi 26,9 ng/mL, standart sapma ise 7,1 ng/mL idi. Pasi skoru 20'den yüksek olanlarda ise 8(OH)dG düzeyleri minimum 15,7 ng/mL, maksimum 33,5 ng/mL; ortanca değeri 23,6 ng/mL idi. Ortalama 8(OH)dG düzeyi 24,5 ng/mL, standart sapma ise 5,1 ng/mL idi. Yapılan Kruskal-Wallis Varyans Analizinde p değeri 0,722 olarak saptandı. p değeri 0,05'ten büyük olduğundan Pasi skoru açısından gruplandırılan hastalar arasında 8(OH)dG düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı (Tablo 16).

Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 17: Hasta Grubunda Pasi skoruna göre HSP 27 ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı, Çanakkale 2013

Pasi	Hsp27	
	Ort.±S.D	Ortanca(min-max)
0-10	23,53±48,66	4,8(1,72-163)
10-20	31,4±88,39	4,9(2,40-324)
>20	40,23±7,8	26,9(20-43,2)
P	0,732	

p:Kruskal-Wallis Varyans Analizi

S.S.:Standart sapma

Hasta grubu içinde Pasi skoru 0-10 arasında olanlarda HSP 27 düzeyleri minimum 1,72 ng/mL, maksimum 163 ng/mL; ortanca değeri ise 4,8 ng/mL idi. Ortalama HSP 27 düzeyi 23,53 ng/mL, standart sapma ise 48,66 ng/mL idi. Pasi skoru 10-20 arasında olanlarda HSP 27 düzeyleri minimum 2,40 ng/mL, maksimum 324 ng/mL; ortanca değeri ise 4,9 ng/mL idi. Ortalama HSP 27 düzeyi 31,4 ng/mL, standart sapma ise 88,39 ng/mL idi. Pasi skoru 20'den yüksek olanlarda ise HSP 27 düzeyleri minimum 20 ng/mL, maksimum 43,2 ng/mL; ortanca değeri 26,9 ng/mL idi. Ortalama HSP 27 düzeyi 40,23 ng/mL, standart sapma ise 7,8 ng/mL idi. Yapılan Kruskal-Wallis Varyans Analizinde p değeri 0,732 olarak saptandı. p değeri 0,05'ten büyük olduğundan Pasi skoru açısından gruplandırılan hastalar arasında HSP 27 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı (Tablo 17).

Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 18: Hasta Grubunda Pasi skoruna göre İMA ortanca ve ortalama değerlerinin dağılımı, Çanakkale 2013

	İMA	
	Ort.±S.S	Ortanca(min-max)
Pasi 0-10	861,7±88,5	872(716-1031)
Pasi 10-20	904,7±68,8	897(795-1038)
Pasi >20	885,3±111	880(705-1067)
P		0,429

p:Kruskal-Wallis Varyans Analizi

S.S.:Standart sapma

Hasta grubu içinde Pasi skoru 0-10 arasında olanlarda İMA düzeyleri minimum 0,716 AbsU, maksimum 1,031 AbsU; ortanca değeri ise 0,872 AbsU idi. Ortalama İMA düzeyi 0,861 AbsU, standart sapma ise 0,088 AbsU idi. Pasi skoru 10-20 arasında olanlarda İMA düzeyleri minimum 0,795 AbsU, maksimum 1,038 AbsU; ortanca değeri ise 0,897 AbsU idi. Ortalama İMA düzeyi 0,904 AbsU, standart sapma ise 0,068 AbsU idi. Pasi skoru 20'den yüksek olanlarda ise İMA düzeyleri minimum 0,705 AbsU, maksimum 1,067 AbsU; ortanca değeri 0,880 AbsU idi. Ortalama İMA düzeyi 0,885 AbsU, standart sapma ise 0,111 AbsU idi. Yapılan Kruskal-Wallis Varyans Analizinde p değeri 0,429 olarak saptandı. $p > 0,05$ olduğundan PASİ skoru ile İskemi Modifiye Albümin düzeyleri arasında istatistiksel olarak açısından anlamlı bir ilişki olmadığı görüldü (Tablo 18).

İMA, 8(OH)dG ve HSP 27 düzeyleri nonparametrik bir test olan Pearson korelasyon analizi ile incelendiğinde istatistiksel olarak bir ilişki saptanmadı.

Tablo 19 : 8(OH)dG ve HSP27 Düzeyleri arasındaki ilişki

Pearson		
Korelasyon		
Analizi		
	8(OH)dG	
	p	0,110
HSP27	r	-0,338
	n	78

8(OH)dG ve HSP27 düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde $p > 0,05$ olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Tablo 20: 8(OH)dG ve İMA Düzeyleri arasındaki ilişki

Pearson		
Korelasyon Analizi	8(OH)dG	
	p	-0,166
İMA	r	0,148
	n	78

8(OH)dG ve İMA düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde p değeri $> 0,05$ olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Tablo 21 : İMA ve HSP27 Düzeyleri arasındaki ilişki

Pearson		
Korelasyon Analizi	İMA	
	p	0,092
HSP27	r	0,421
	n	78

İMA ve HSP27 düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde p değeri $> 0,05$ olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Tablo 22: Hasta ve Kontrol Grubunda Sigara içen ve içmeyenlerin sayı ve yüzdeleri, Çanakkale 2013

Grup	Sigara					
	Evet		Hayır		Toplam	
	sayı	yüzde	Sayı	yüzde	sayı	Yüzde
Vaka	23	59	16	41	39	100
Kontrol	21	53,8	18	46,2	39	100
Toplam	44	56,4	34	43,6	78	100
P	0,648					

P:Ki-Kare testi

Vaka grubunda sigara içenlerin sayısı 23, kontrol grubunda ise 21 idi. İçmeyenlerin sayısı vaka grubunda 16, kontrol grubunda ise 18 idi. Yapılan Ki-Kare testinde p değeri 0,648 olarak bulundu. p değeri 0,05'ten büyük olduğu için vaka ve kontrol grubu arasında sigara kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü (Tablo 19).

Tablo 23: Tüm katılımcılarda sigara içme durumuna göre İMA ortalama ve ortanca değerleri, Çanakkale 2013

Sigara İçme Durumu	İMA	
	Ortalama.±S.S	Ortanca(min-maks)
Sigara içen	0,921± 0,094	0,906(0,712-1,135)
Sigara içmeyen	0,841±0,086	0,843(0,690-0,997)
P	0,0001	

S.S.:Standart sapma

p: İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi

Kontrol ve hasta grubu bütün olarak ele alındığında sigara içenlerin ve içmeyenlerin İMA düzeyleri İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik testi ile analiz edildi. Sigara içenlerin İMA değeri minimum 0,712 AbsU, maksimum 1,135 AbsU idi. Ortalama İMA değeri 0,901 AbsU, standart sapma ise 0,094 AbsU idi. Sigara içmeyenlerin İMA değeri minimum 0,690 AbsU, maksimum 0,997 AbsU idi. Ortalama İMA değeri 0,843 AbsU, standart sapma ise 0,086 AbsU idi. Yapılan İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testine göre p değeri 0,0001 olarak saptandı. $p < 0,05$ olduğundan iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 20).

Tablo 24: Hastaların Hastaneye başvuru sırasında kullandıkları ilaçların PASİ ye göre dağılımı

PASİ	Antiinflamatuvar	Topikal D Vitamini	Topikal Steroid	Hücre siklus inhibitörü
0-10	8	7	7	7
10-20	6	4	6	4
>20	3	6	10	4

Hastaların hastanemize başvuru sırasında kullandıkları ilaçlara bakıldığında PASİ skoru düşük olan hastaların daha agresif bir ilaç tedavisi aldıkları görülmektedir. Çalışmamıza katılan hastalar arasında sistemik hücre siklusu inhibitörü ve sistemik steroid kullanımının rölatif olarak hastalığın şiddetini düşük olarak gösterdiği, topikal steroid ve D vitamini tedavisi alan hastaların daha yüksek PASİ skoru ile hastanemize başvurduğu görülmektedir.

6.TARTIŞMA

Psoriasis dünyada toplumda sık görülen, sebebi tam olarak ortaya konamamış, kronik inflamatuvar bir hastalıktır (1). Psoriasisde inflamatuvar süreçlerin var olduğu bilinen bir gerçektir (10,18,19).

Oksidatif Stres pek çok hastalığın patogenezinde rol almaktadır (Tablo 3) ve psoriasis ile olan ilişkisi son zamanlarda üzerinde sıklıkla durulan bir konudur (154-158).

Yaptığımız çalışmada hastaların PASİ skorları ile oksidatif stres belirteci olarak ele aldığımız İMA, 8(OH)dG ve HSP27 düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmamızda her üç parametre ile PASİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır.

Dipali ve arkadaşlarının 2010 yılında yeni tanı almış 90 hasta (30 hafif-30 orta-30 şiddetli vaka) ve 30 sağlıklı gönüllü ile yaptıkları çalışmada PASİ skorlaması ile hastaların oksidatif stres durumu arasında bir ilişki olup olmadığı, serum MDA, nitrik oksit ve yıkım ürünleri, süperoksit dismutaz, katalaz enzimleri ve total antioksidan statusun ölçülmesiyle incelenmiştir. Belirgin karaciğer, böbrek rahatsızlığı, sigara ve alkol kullanımı, kardiyovasküler rahatsızlık, anemi ve diabet hastalığını dışlama kriteri olarak koymuşlardır. Son 4 hafta içinde topikal tedavi almış, 3 ay içinde sistemik tedavi ya da fototerapi almış hastaları da çalışmaya dahil etmemişlerdir. Hastalarda MDA düzeylerini sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek saptamışlardır. Hasta bireylerde antioksidan savunma mekanizmalarının da sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Plazma total antioksidan statusu ile MDA arasında negatif korelasyon olduğunu saptamışlardır (159).

Bizim çalışmamızda ise oksidatif stres düzeylerinin PASİ skoru ile olan ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hastalar ve sağlıklı bireyler eşleştirilmiştir. Karaciğer, böbrek rahatsızlığı, alkol kullanımı, kardiyovasküler rahatsızlık, anemi ve diabet gibi hastalıklar dışlama kriteri olarak temel alınmamış ve çalışmaya dahil edilen hastalar tedavi almakta olan hastalar arasından seçilmiştir.

Emre ve arkadaşları Mart 2013 te 54 plak tipte psoriasis hastası (28 sigara içiyor - 26 sı sigara içmiyor) ve 62 sağlıklı gönüllü (16 sı sigara içiyor - 46 sı sigara içmiyor) ile yaptıkları çalışmada serum total oksidan status, total antioksidan kapasite ve arilesteraz düzeylerini ölçmüşler ve tüm katılımcılarda oksidatif stres indeksini (OSİ) hesaplamışlardır. PASİ skorunun sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Hem sigara içen, hemde sigara içmeyen hastalarda total oksidan statusu ve OSİ değerlerini sağlıklı bireylere göre yükselmiş, total antioksidan kapasiteyi ise azalmış olarak bulmuşlardır. Total oksidan status, total antioksidan kapasite düzeyleri, OSİ değerleri ve arilesteraz aktivitesi sigara içen ve içmeyenlerde benzer bulunmuştur. PASİ skoru ve total oksidan status, total antioksidan kapasite düzeyleri, OSİ değerleri arasında bir korelasyon olmadığını göstermişlerdir (8).

Sigara dumanının içeriğinde bulunan karbon monoksit ve ağır metaller gibi çeşitli bileşenler nedeni ile güçlü bir oksidatif stres kaynağı olduğu daha önce yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir (160,161).

Çalışmamızda hastalar ve kontrol grubu arasında güçlü bir oksidatif stres nedeni olan sigara kullanımını sorguladığımızda iki grup arasında sigara kullanımı açısından bir fark olmadığı belirlenmiştir. İMA değerleri açısından tüm katılımcılar değerlendirildiğinde ise sigara içen ve içmeyenlerin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır (Tablo 21-22).

Özdemir ve arkadaşlarının 2012 yılında 26 psoriasis hastası ve 26 sağlıklı birey ile yaptığı çalışmada psöriasisli hastalarda İMA düzeyleri sağlıklı bireylere oranla daha yüksek bulunmuştur. Hasta seçiminde dışlama kriterleri olarak kalp hastalığı, diabet, hipertansiyon, hiperlipidemi, iskemik hastalık ve 4 hafta içinde sistemik ya da topikal tedavi, 2 yıl içinde acitretin kullanımı durumu da dışlama kriterleri olarak alınmıştır. Psöriasisli hastalarda ortalama İMA düzeyleri 0.55 ± 0.04 , sağlıklı bireylerde ise 0.38 ± 0.04 olarak saptanmıştır. Hastaların İMA düzeylerinin istatistiksel olarak sağlıklı bireylerden yüksek bulunduğu çalışmada ($p < 0,001$), PASİ skoru ile İMA düzeyleri arasında bir korelasyon olmadığı gösterilmiştir. Kadın ve erkek hastalarda da İMA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark

bulamamışlardır (Kadın:0,57±0,41 AbsU, Erkek:0,55±0,50 AbsU (p=0,25)). Biz çalışmamızda kadınlarda ortalama İMA düzeylerini 0,896±0,015 AbsU , erkeklerde 0,873± 0,015 olarak saptadık.Yapılan istatistiksel analizde (iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi) p değeri > 0,05 olduğundan Özdemir ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak kadın ve erkekte İMA değerleri arasında anlamlı fark olmadığını (p=0,341) saptadık. Özdemir ve arkadaşları psoriasis hastalarında oksidatif stres biyobelirteçlerinin, antioksidan tedavi alan ve almayan hastalarda çalışılmasının gelecekte hastalığın yönetimi açısından faydalı olabileceğini söylemişlerdir (162).

Bizim çalışmamız 39 psoriasis hastası ve 39 sağlıklı bireyin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Hastalar ve sağlıklı bireyler demografik özellikleri yönünden eşleştirilmiştir. Psöriasis hastaları dengeli bir biçimde hafif orta ve ağır psöriasis vakalarından meydana gelecek şekilde ayrılmıştır. Hastalar tedavi almakta olan hastalar olup, antiinflamatuvar, topikal ve sistemik steroid, topikal hücre siklusu inhibitörleri, topikal D vitamini kullanmakta idiler. Bizim çalışmamızda psoriasisli hasta grubunda ortalama İMA düzeyleri 0,883 ± 0,90 AbsU, kontrol grubunda İMA değerleri 0,889 ± 0,107 AbsU olarak saptanmıştır. Çalışmamızda İMA değerleri için iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca Özdemir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde İMA düzeyleri psoriasis vakalarının şiddetine göre değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Hastaların kullandığı ilaçların oksidatif stresi baskılayıcı yani antioksidan özellikte olduğu düşünüldüğünde bizim çalışmamızın Özdemir ve arkadaşlarının önerisini kısmen de olsa gerçekleştirmekte olduğu görülmektedir.

Stres durumlarında endojen steroidlerin salındığı ve steroidlerin oksidatif strese karşı koruyucu etkilerinin olduğu bilinen bir gerçektir. Glukokortikoidlerin yaptığı IL-12, IFN-γ ve TNF-α inhibisyonuyla antijen sunucu hücreler ve TH1 lenfosit baskılanması, buna karşın TH2 aktivasyonu ile IL-4, IL-10 ve IL-13 artışıyla selektif immun supresyon durumu ortaya çıkmaktadır. Sonuçta TH1 ilişkili hücresel immunité azalır ve TH2-ilişkili humoral immunitéye kayma olur. Bu TH2 değişikliği, doku hasarlama potansiyeline sahip TH1/proinflamatuvar sitokinlerin fazla salınımından koruyucu özelliğe sahip olur (163). Hücre siklus inhibitörlerinden metotreksatin

oksidatif stresi artırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır (164). Psöriasis hastalarında Kılıç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 8 haftalık tedavi süreci öncesi ve sonrası değerlendirilen TAS, TOS, PON (paraoksanaz enzim) değerleri ve OSİ indeksinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını saptamışlardır (157). Buna ek olarak metotreksatın yaptığı antiinflamatuvar etki sonucu oksidatif stresi azaltması da beklenen bir durumdur. Metotreksatın yaptığı oksidatif stresin yine metotreksatın antiinflamatuvar etkisiyle engellenmiş olabileceği, tedavi öncesi ve sonrası oksidatif stres düzeylerinde bu nedenle bir fark görülmeyebileceğini öne sürmüşlerdir (157). Bu verilere bağlı olarak çalışmamıza dahil olan hastaların kullandıkları ilaçların antioksidan savunma mekanizmasını güçlendirdiği ve bir oksidatif stres belirteci olarak İMA düzeylerinin bu sebeple sağlıklı bireyler ile benzer çıktığı kanaatini taşımaktayız.

Psöriasis hastalarında iskemi modifiye albumin ile ilgili literatürde Özdemir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan başka bir kaynak bulunmadığından bu konu ile ilgili daha geniş hasta grupları üstünde ayrıntılı çalışmalara daha ihtiyaç olduğu görülmektedir.

8 hidroksi deoksi guanozin oksidatif DNA hasarının saptanmasında en sık kullanılan belirteçlerdendir. Bizim çalışmamızda Psöriatik bireylerde oksidatif stres ve olası DNA hasarı ve bunun PASİ ile olan ilişkisinin saptanması amacı ile 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerinin ELİSA yöntemi ile incelemesi planlanmıştır. Literatür araştırmalarında psöriasis hastalarında 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerinin tespit edilmiş olduğu az sayıda yayın olduğu dikkati çekmektedir.

Bunlardan ilki 2000 yılında Goldstein ve arkadaşlarının yapmış olduğu daha çok ilaç yan etkilerini ve birbirlerine üstünlüklerini saptamak amacı ile yapılmış olan bir çalışmadır. Çalışmada topikal kortikosteroid, UV-B, Psoralen UV-A tedavilerinin idrar 8 hidroksi deoksi guanozin düzeyleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır(165).

Bu konuda yapılan ikinci çalışma Nakai ve arkadaşları tarafından Aralık 2009'da JEADV dergisinde yayımlanan Japonya'da yapılan 29 psöriasis hastası, 21 atopik dermatit hastası ve 20 sağlıklı bireyi kapsayan; psoriasisli ve atopik dermatitli hastalarda oksidatif stres düzeyini ölçmeyi amaçlayan bir çalışmadır. Nakai ve

arkadaşları yaptıkları çalışma sonucunda psoriasisli hastaların idrar 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır (166).

Wiwanitkit tarafından Şubat 2010'da JEADV dergisinde yayınlanan editöre mektupta Nakai ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmayla ilgili olarak; 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerinin yüksek oluşunun hastalara ait araştırılmamış başka nedenlerden kaynaklanıyor olabileceği, deneklerin seçimi nedeni (anormal dağılım vb.) ile istatistiksel olarak bazı anormal verilerin ortaya çıkabileceği ve makalede kalite kontrol sonuçlarına ilişkin verilerin yayımlanmadığına dair eleştiri getirilmiştir (167).

Bizim çalışmamızda yer alan psöriasis hastaları dengeli bir biçimde hafif (13 hasta) orta (13 hasta) ve ağır (13 hasta) psöriasis vakalarından oluşmakta olup hastalar ve sağlıklı bireyler demografik özellikleri yönünden eşleştirilmiştir. Çalışmamızda hastalarda ortalama serum 8 hidroksi deoksi guanozin düzeyi $25,5 \pm 5,9$; sağlıklı bireylerde ise ortalama $24,8 \pm 7,1$ olarak saptanmıştır. Çalışmamızda 8OHdG düzeylerinin iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği görülmüştür.

8(OH)dG düzeyleri her zaman DNA'daki guanin rezidüsünün oksidatif hasarının göstergesi değildir. 8(OH)dG düzeyi hücrenin redoks durumundan etkilenir ve reaktif türler bunu açığa çıkartır. DNA, $\bullet\text{OH}$, ONOO^- , NO_2Cl ve HOCl gibi reaktif türlerden etkilenir ve pek çok ürün meydana gelir. Son üç türün ana ürünü 8(OH)dG değildir(168-169). ONOO^- ve HOCl , DNA'da önceden oluşmuş 8(OH)dG 'yi yok edebilir. Çünkü hidroksile guaninler, guaninin kendisinden daha kolay okside olabilirler.Bütün bunlara rağmen tersini gösteren çalışmalarda vardır. 8(OH)dG seviyelerinde değişme olmaksızın oksidatif DNA hasarı meydana gelebilir hatta hasar artarken 8(OH)dG seviyeleri düşebilir(168-169). Örneğin C vitamini verilen sağlıklı gönüllülerin lenfosit DNA'larında 8(OH)dG seviyeleri azalırken 8 hidroksiadenin seviyeleri artmıştır (170).

8-OHdG düzeyi DNA'daki oluşum ve onarım arasındaki dengeyi de gösterir. 8-OHdG düzeyi sadece oksidatif DNA hasarında değil aynı zamanda tamir kapasitesinin azaldığı durumlarda da artar (171). Psöriasisli hastalarda 8-OHdG düzeylerinin anlamlı olarak yüksek bulunması Psöriasisde DNA tamir mekanizmalarının da oldukça etkili olabileceği ve 8-OHdG düzeyleri ile birlikte DNA tamir mekanizmalarının da birlikte değerlendirilmesinin bu sorulara açıklık getireceği görülmektedir.

Nükleer DNA'daki oksidatif stres organ spesifik ve yaşa bağlıdır(172). Hücrede bir günde 200 kadar guanin modifikasyonu olur(173). Ancak normal şartlarda bu lezyonlar hızlı bir şekilde tamir edilir. Oksidatif guanozin modifikasyonu ile tamir mekanizması arasındaki dengenin yaşla beraber bozulmasına bağlı olarak 8-OHdG birikebilir. Bazı araştırmalar yaşla ilişkili olarak baz hasarının arttığını bulurken(174) diğerleri 8-OHdG seviyelerinde değişim bulamamış veya azalma tespit etmiştir(173).

Bundan başka değişik organlarda farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bir veya birkaç organda 8-OHdG hasarı artarken diğerlerinde tamir mekanizması daha aktiftir ve DNA modifikasyonu izlenmemiştir(175). Yaşam tarzı ve vücut yapısı idrar 8-OHdG seviyelerini çeşitli şekillerde etkiler. Sigara, kilo, çalışma şartları ve egzersiz ile 8-OHdG seviyeleri arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Sigara kullanan kişilerde kullanmayan ve/veya ara sıra kullananlara göre oksidatif hasar daha fazladır. Zor çalışma şartlarında (aşırı fizik gücü gerektiren ve gece gündüz vardiyalı işlerde çalışanlarda) ve mental stres altındaki kişilerde de 8-OHdG seviyeleri yüksektir. Buna karşılık orta derecede spor yapanlarda (<5 saat/hafta) egzersiz yapmayanlar ve ağır egzersiz yapanlara göre oksidatif hasar daha azdır. yüksek vücut kitle indeksine (BMI) sahip kişilerde zayıf insanlara göre daha düşük 8-OHdG seviyeleri bulunmuştur(176-177).

Çalışmamıza alınan hastalar kendi içinde hafif, orta, ağır olarak sınıflandırıldığında ortalama 8 hidroksi deoksi guanozin düzeyleri sırası ile $25,2 \pm 5,7$; $26,9 \pm 7,1$; $24,5 \pm 5,1$ olarak bulunmuştur. Çalışmamızda 8 hidroksi deoksi guanozin

düzeyleri ile hastalığın şiddeti (PASİ) arasında bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Çalışmamız literatürde PASİ skorunun 8 hidroksi deoksi guanozin düzeylerine etkisinin incelenmesi bakımından ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

HSP 27 küçük ısı şok proteinleri ailesinin bir üyesidir (139). Psoriatik deride HSP 27, 60, 70 gibi HSP' ler ve ligandları CD91 ekspresyonu artışı gösterilmiştir. Bu proteinler ve ligandları değişik yollardan immun yanıtı indükleyebilir; NF- κ B' yi tetikleyerek, DC' leri uyararak, ve DC' lerde IL-12 ekspresyonunu arttırarak etki ederler (19). HSP27 aynı zamanda hücrede serbest radikal miktarını azaltarak ve okside proteinlerin toksik etkilerini nötralize ederek antioksidan savunmayı arttırmaktadır (178).

Gondour ve arkadaşları 1994 yılında ilk kez insan derisinde HSP27 'yi göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmada normal deri (Meme, sünnet derisi, ve alt ekstremite),aktinik keratozis, süperfisiyal bazal hücreli karsinom, seboreik keratozis ve psoriatik deri örneklerinde epidermisin suprabasal katmanlarında güçlü sitoplazmik boyanma saptamışlardır (167). Kutanöz skuamöz hücreli karsinomda ise zayıf boyanma saptamışlardır (167).

Trautinger ve arkadaşlarının 1995 yılında yayımlanan immunohistokimyasal yöntemle yaptıkları çalışmada normal, inflamatuvar ve neoplastik 62 biyopsi metaryali Hsp 27 açısından incelenmiş, çalışmaları sonucunda hiperproliferatif lezyonlarda ve inflamatuvar durumlarda benzer bir patern gösterdiği saptanmıştır.Hsp 27'nin normal epidermiste diferansiyasyon ilişkili durumlarda ve epidermisin hiperproliferatif hastalıklarında arttığı ortaya konmuştur. Hsp 27'nin epidermis diferansiyasyonunun bir belirteci olabileceği öne sürülmüştür(139).

Boehncke ve arkadaşları 1994 yılında yaptıkları çalışmada HSP 27 ve HSP ailesinin bir üyesi olan HSP70 i normal ve inflame deride incelemişlerdir. 10 psoriasis hastası, üç nikel alerjisi olan hasta ve beş sağlıklı gönüllü üzerinde immunohistokimyasal olarak çalışmışlar ve psöriatik ciltte en yoğun ekspresyonu saptamışlardır. HSP 27 nin tüm epidermis içinde homojen olarak dağıldığını , oysa HSP 70 'in basalde yoğunlaştığını göstermişlerdir.Diğer HSP ailesi üyelerinin ise

daha az yoğunlukta ve daha düzensiz bir patern izlediğini saptamışlardır (179).

Literatürde psoriasisde HSP27 düzeylerinin arttığını gösteren bu çalışmalara benzer immunohistokimyasal çalışmalar mevcut bulunmaktadır (139,180). Ancak serum Hsp 27 düzeyleri psoriasis hastalarında hiç tespit edilmemiştir. Bu nedenle bizim yaptığımız çalışmada, psoriasisde serum HSP27 düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Çalışmamızda 39 psoriasis hastası hafif ,orta ve ağır olarak dengeli bir biçimde ayrılmış ve 39 sağlıklı birey ile demografik özellikler yönünden eşleştirilmiştir. Hastalarda ortalama serum Hsp 27 düzeyi $31,7 \pm 75,0$; sağlıklı bireylerde ise ortalama $4,2 \pm 1,1$ olarak saptadık. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu farkın özellikle birkaç hastanın aşırı yüksek sonucundan kaynaklanmakta olduğu da gözlenmiştir (Tablo 14).

Çalışmamızda Hsp 27 nin antioksidan özelliklerinin yanısıra, hastaların antioksidan ve antiinflamatuvar tedavi alıyor oluşu, HSP 27 düzeylerinin normal sınırlarda çıkmasında bir etken olabilir. Yaptığımız çalışma literatürde, psöriasisde materyal olarak serum kullanan ilk çalışmadır. Bu durum düşünüldüğünde HSP 27 nin immunohistokimyasal ve serum çalışmalarının karşılaştırılması olarak yapılması gerektiği kanaatini taşımaktayız.

Bacchetti ve arkadaşları mayıs 2013'te yayınlanan çalışmalarında antiinflamatuvar (etanercept) kullanımının psöriasis hastalarında oksidatif stres düzeyini nasıl etkilediğini incelemişlerdir. C-Reaktif Protein ve lipid peroksidasyon ürünlerinde düşüş, serum antioksidan kapasitesinde ise yükseliş saptadıklarını bildirmişlerdir (158). Bizim çalışmamıza katılan hastaların hastaneye başvuru sırasında kullandıkları ilaçlar incelendiğinde antiinflamatuvar, sistemik ve topikal steroid, hücre siklus inhibitörlerinden oluşan yoğun bir kemoterapi aldıkları saptanmıştır (Tablo 23). Hastaların kullandıkları ilaçlar ve PASİ skorları göz önüne alındığında PASİ skoru düşük olan 1. grupta bulunan hastaların aslında agresif tedavi almakta olan lezyonları baskılanmış hastalar olduğu ortaya çıkmaktadır. Birinci grupta bulunan hastaların 7 si (7/13) hücre siklusu inhibitörü almakta iken , diğer gruplarda 4'er kişi (4/13) hücre siklusu inhibitörü almaktadır. Yine 1. grupta antiinflamatuvar ilaç kullanımı daha yaygındır. Üç grup hasta PASİ skorları açısından incelendiğinde, PASİ 3 grubundaki hastaların en yüksek ortalama HSP 27

düzeylerine sahip olduğu görülmüştür. Bu grup hastaların kullandıkları ilaç sayısının da az olduğu dikkati çekmektedir. HSP 27'nin yüksek düzeyleri olası apoptosis mekanizmasının engellenmesi yoluyla lezyonların şiddeti üzerinde etkili olmuş olabilir. HSP 27'nin yükselmiş düzeyleri hücreyi ileri oksidatif hasara karşı koruma özelliğinden dolayı, lezyonların ekspresyonunu baskılamış olabilir. Hastaların genelinde ilaç kullanımı var olup, daha önce de bahsedildiği gibi bu durum hastaların oksidatif stres düzeylerini baskılayıp antioksidan sistemi güçlendiriyor olabilir.

Oksidatif hasar durumunu değerlendirmek için yeni bir oksidatif stress belirteci olarak iskemi modifiye albumin , Oksidatif DNA Hasar belirteci olarak 8-(OH)dG ve HSP 27 düzeylerini ölçtüğümüzde kontrol grubu ile hastalar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. (Tablo 13-14-15). Bu durum Bacchetti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın verilerini destekler niteliktedir (158).

Çalışmamızda hastaların ve sağlıklı bireylerin oksidatif hasar belirteci olarak ele aldığımız HSP27, 8-(OH)dG, İMA düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmaması aldıkları tedavinin lezyonları tam olarak ortadan kaldırmaya bile oksidatif hasarın önüne geçtiğini ve bu hastalarda tedavinin önemini ortaya koymaktadır.

Vücutta oksidatif hasar seviyesinin yükselmesi çeşitli nedenlerle olabilir:

1- Reaktif tür oluşumunun artması ile antioksidan savunmada değişiklik olmaması;

2- Reaktif tür oluşumunda değişiklik olmaması ancak antioksidan savunmada azalma;

3- Hücre düzeyinde oksidatif hasar tamirinde hata olması ve hasarın artması;

4- Bu kombinasyonlardan herhangi biri.

Hasta ve kontrol grupları arasında oksidatif hasar bakımından bir fark saptanmamış olması çelişki varlığı olarak yorumlanmamalıdır. Çünkü birçok hastalıkta olduğu gibi psöriasis gibi hastalıklarda da prooksidan/antioksidan dengenin antioksidanlar lehine kaymasına bağlı olarak artan oksidatif DNA hasarının onarımının bunda etkili olduğu düşünülebilir. DNA tamir enzimlerinin aktivitelerinde artma olması ve sonuçta serum veya idrarda tespit edilememesi doğaldır. DNA

hasar belirteçlerinden biri olan 8-OHdG hem psöriatik dokuda hem de serumda çalışılarak hasar miktarı karşılaştırılabilir, hasar ve onarım seviyesi arasındaki ilişki tespit edilebilir. Bununla beraber, hasta sayısının artırılması ve doku değerlendirmesi ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Bundan sonraki çalışmalar bizi bu hasta gruplarında DNA onarım enzimlerinin işleyişi hakkında araştırmaya sevk edecektir.

Antioksidan savunma sistemleri ve tamir aktiviteleri birlikte yükselerek reaktif oksijen radikalleri ve dolayısıyla oluşan oksidatif stres ve DNA hasarı ile başetmeye çalışabilir. Bizim çalışmamıza katılan hastalarda da antioksidan savunmayı güçlü kılan etmenler mevcuttur. Daha önce de ayrıntılı bahsedildiği gibi hastalar antiinflamatuvar tedavi almaktadırlar. Antiinflamatuvar tedavi her ne kadar psoriasis presipite etse de antioksidan etkisi de vardır. Çanakkalenin güneşli bir iklime sahip bir kıyı kenti olma özelliği hastalarda D vitamini sentezi açısından pozitif bir etmendir. Diet açısından değerlendirildiğinde uskumru, sardalye gibi n-3 yağ asitlerinden zengin balıklarla beslenmenin psoriasis tedavisinde kullanışlı olabileceğini öne süren yayınlar da mevcuttur(15). Keza Çanakkale halkının beslenmesinde deniz mahsülleri önemli yer tutmaktadır. Bölge balıkçılığında sardalye gibi poli-ansatüre yağ asitleri açısından zengin balıkların önemli yer tutması bu durumun hastaların antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini düşündürmektedir. Balık yağının tedaviye eklenmesinin oksidatif şiddeti engellediği düşünüldüğünde bu tarz beslenmenin hastaların oksidatif stres düzeyini azalttığını düşündüğümüz etmenler arasında önemli bir yer oluşturacağı kanaatini taşımaktayız(15).

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde kronik inflamatuvar sistemik bir hastalık olarak kabul edilen psoriasisın diğer hastalıklarla birliktelikleri araştırılmaktadır. Son yıllarda yapılmış olan pek çok çalışmada psoriazis ile artmış oksidatif stresten bahsedilmektedir. Bu bilgilerin ışığında psöriasisli hastalarda hastalığın şiddeti ile oksidatif stres düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırmak için 39 psoriasis hastası ve demografik olarak bu hastalarla eşleştirilmiş 39 sağlıklı birey üzerinde çalışılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulgular, psoriazisli hastalarla sağlıklı bireyler arasında oksidatif stres belirteçleri olarak kabul edilen İskemi Modifiye Albumin, 8 hidroksideoksiguanozin arasında anlamlı bir fark olmadığını; hem oksidatif stres belirteci hemde hücre büyüme ve farklılaşmasının göstergesi olan Hsp 27 düzeylerinde anlamlı bir fark olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle Pasi skoru yüksek olan yani yaygın lezyonları olan hastalarda Hsp 27 yüksekliği dikkat çekicidir. HSP 27nin yüksek düzeyleri olası apopitosis mekanizmasının engellenmesi yoluyla lezyonların şiddeti üzerinde etkili olmuş olabilir. Bu konuda yapılmış çalışmalar olmakla birlikte apopitosis network ile lezyon şiddetlerinin ilişkisini değerlendirecek yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmakta olduğu görülmektedir.

Psoriaziste genetik,çevresel farklılıkların önemi dikkate alınırca oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarı ile ilgili olarak daha net sonuçlara varabilmek için ve daha etkin tedavi metodları geliştirebilmek için ülke çapında daha geniş hasta gruplarını içeren hastalarda Antioksidan Status ve DNA tamir mekanizmalarının da incelendiği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

8.KAYNAKLAR

1. MEIER M., SHETH P.B. (2009).Clinical spectrum and severity of psoriasis. *Curr Probl Dermatol.* 38:1-20.
- 2.FELDMAN, S.R., KRUEGER, G.G.(2005).Psoriasis assessment tools in clinical trials. *Ann Rheum Dis.* 64(Suppl II):ii65–ii68
- 3-OZDEMİR, M., KİYİCİ, A., BALEVİ, A., MEVLİTOĞLU, I., PERU, C.(2012) Assessment of ischaemia-modified albumin level in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol.* 37(6):610-4.
- 4-YOKUS, B., ÇAKİR, D.U., AKDAĞ, Z., METE, N., SERT, C. (2005). Oxidative DNA Damage in Rats Exposed to Extremely Low Frequency Electro Magnetic Fields. *Free Radical Research.* 39(3): 317-323
- 5-YOKUŞ, B., ÇAKİR, D.U. (2002). In vivo oksidatif DNA hasarı biyomarkeri-8-Hydroxy-2-deoxyguanosine. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.*22(5):535-543
- 6-BASAVARAJ, K.H., VASU, D.P., RAO, K.S. (2012)Studies on serum 8-hydroxy guanosine (8-OHdG) as reliable biomarker for psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012 Jan 14: 22243408
- 7-JONAK, C., KLOSNER,G., TRAUTINGER, F.(2006) *Internal Journal of Cosmetic Science .* 28:233-241
- 8-EMRE, S., METİN, A., DEMİR SEREN, D.D., KILIÇ, S., İŞİKOĞLU, S., EREL, O.(2012)The relationship between oxidative stress, smoking and the clinical severity of psoriasis. *J. Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012 Sep 25. doi: 10.1111/j.1468-3083.2012.04700.x.

- 9-KORMEİLİ, T., LOEWE, N.J., YAMAUCHI, P.S.(2004). Psoriasis: immunopathogenesis and evolving immunomodulators and systemic therapies; U.S. experiences. *Br J Dermatol* . 151: 3-15
- 10-KRUEGER, J., BOWCOCK, A.(2005) Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. *Ann Rheum Dis*. 64(2): 30-36
- 11-BOWCOCK, A.M., BARKER, J.N.(2003) Genetics of psoriasis: The potential impact on new therapies. *J Am Acad Dermatol*. 49: 51-6.
- 12-GUDJONSSON, J.E., JOHNSTON, A., SÍGMUNDSDOTTIR, H., VALDÍMARSSON, H.(2004). Immunopathogenic mechanisms in psoriasis. *Clin Exp Immunol*. 135: 1-8.
- 13- GUPTA, A.K., BATRA, R., BLUHM, R., BOEKHOUT, T., DAWSON, T.L.(2004). Skin disease associated with *Malassezia* species. *J Am Acad Dermatol*. 51: 785-798.
- 14-VEALE, D.J., RITCHLIN, C., FITZGERALD, O.(2005). Immunopathology of psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 64: 262-9.
- 15- WOLTERS, M.(2005). Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence *British Journal of Dermatology*. 153(4): 706–714.
- 16-RAWN, J.D. (1989). *Biochemistry*. Carolina Biological Supply Company. USA
- 17-VINCENT, J.L. (2009) Relevance of albumin in modern critical care medicine. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 23(2):183-91.
- 18- GALADARİ, I., SHARİF, M.O., GALADARİ, H.(2005). Psoriasis: a fresh look. *Clin Dermatol*. 23: 491-502.
- 19- BOS, J.D., RİE, M.A., TEUNISSEN, M.B.M., PISKİN, G.(2005). Psoriasis: dysregulation of innate immunity. *Br J Dermatol*. 152: 1098-1107.

18- TIILIKAINEN, A., LASSUS, A., KARVINEN, J., VARTIAINEN, P., JULIN M.(1980). Psoriasis and HLA-Cw6. *Br J Dermatol.* 102:179-84.

20- TOMFOHRDE, J., SILVERMAN, A., BARNES, R., FERNANDEZ-VINA, M.A., YOUNG, M., LORY, D.(1994) Gene for familial psoriasis susceptibility mapped to the distal end of human chromosome 17q. *Science* . 264: 1141-5.

22- NAIR, R.P., HENSELER, T., JENISCH, S., STUART, P., BICHAKJIAN, C.K., LENK, W.(1997). Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genomewide scan. *Hum Mol Genet* 6:1349-56.

23- MATTHEWS, D., FRY, L POWLES, A., WEBER, J., MCCARTHY, M., FISHER, E., DAVIES, K., WILLIAMSON, R., Evidence that a locus for familial psoriasis maps to chromosome 4q. *Department of Biochemistry and Molecular Genetics, Imperial College School of Medicine at St Mary's, Paddington, London, UK.*

24-CAPON, F., NOVELLI, G., SEMPRINI, S., CLEMENTI, M., NUDO, M., VULTAGGIO, P., MAZZANTI, C., GOBELLO, T., BOTTA, A., FABRIZI, G., DALLAPICCOLA, B. Searching for psoriasis susceptibility genes in Italy: genome scan and evidence for a new locus on chromosome 1. *The Journal of Investigative Dermatology.*

25-BHALERAO, J., BOWCOCK, A.(1998). The genetics of psoriasis a complex disorder of the skin and immune system. *Human Molecular Genetics.* 7-10:1537-1545.

26-PUZENAT, E., BRONSARD, V., PREY, S., GOURRAUD, P.A., ARACTINGI, S., BAGOT, M., CRIBIER, B., JOLY, P., JULLIEN, D., LE MAITRE, M., PAUL, C., RICHARD-LALLEMAND, M.A., ORTONNE, J.P., AUBIN, F.(2010). What are the best outcome measures for assessing plaque severity? A systematic review of the literature. *European Academy of Dermatology and Venereology.* 24:10-16

27-NALDÌ, L., SVENSSON, A., DIÉPGEN, T.(2003) Randomized clinical trials for psoriasis 1977-2000: the EDEN survey. *J Invest Dermatol* . 120:738–741

28-MECOCCI, P., PLIDORI, M.C., INGEGNÌ, T., CHERUBINI, A., CHIONNE, F., CECCHETTI, R., SENIN, U. (1998).Oksidative damage to DNA in lymphocytes from AD patients. *Neurology*.51:1014-1017

29- LANGLEY, R.G., ELLIS, C.N.(2004) Evaluating psoriasis with psoriasis area and severity index, psoriasis global assessment and lattice system physician's global assessment. *J Am Acad Dermatol* . 51: 563-9

30-SIMONE, F., ADRIENNE, M.G., OSAMU, H., AFSHIN, S.(2010). Cellular Stress Responses: Cell Survival and Cell Death. *International Journal of Cell Biology*. Volume 2010: 23

31- FITTIPALDI, S., DIMAURO, I., MERCATELLI, N., CAPOROSSI, D.(2013). Role of exercise-induced reactive oxygen species in the modulation of Heat Shock Protein response. *Free Radic Res*. 2013 Aug 20.

32-SAMALI, A. (2007). Apoptosis: a mapped path to cell death. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 11(6):1212-1213

33-ACWORTH, I.N., BAILEY, B.(1997). Reactive Oxygen Species. *In: The handbook of oxidative metabolism*. Massachusetts: ESA Inc. p. 1-1 to 4-4

34- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE J.M.C.(1999). Free Radicals in Biology and Medicine.3rd edn. Oxford: Oxford Science Publications.

35-CADENAS, E.(1989). Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann Rev Biochem*. 58: 79-110

- 36- REİTER, R., *FASEB, J.*(1995). Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *The FASEB Journal.* 9: 526-533.
- 37-ABUJA, P.M., ALBERTİNİ, R.(2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 306: 1-17
- 39-SHİGENAGA, M.K., GİMENO, C.J., AMES, B.N. (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoksiguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 86:9697-9701.
- 41-ASLAN, R., ŞEKEROĞLU, M. R., BAYIROĞLU, F.(1995) Serbest Radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *Sağlık.Bil. Derg* 2:137-142
- 42-KEHRE, J.P., SMİTH, J.V.(1994). Free radicals in biology: Sources, reactivities and roles in etiology of human diseases. *Natural Antioxidants In Human Health and Disease. San Diego: Academic Pres,* 1994:25-62.
- 43-SOUTHORN, P.A.(1988). Free radicals in medicine. *Chemical nature and biological reactions. Mayo Clin. Proc.* 53:381-389
- 44-BYUNG, P.Y.(1994) Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiological Reviews* . 74 (1):139-172
- 45- GUTTERİDGE, J.M.C. (1995). Lipid Peroxidation and Antioxidants As Biomarkers of Tissue Damage. *Clinical Chemistry.* 41(12): 1819-1828
- 46-HALLİWEL, B., GUTTERİDGE, J.M. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford:Oxford University Pres,* 1999.
- 47-HALLİWEL, B., CHİRİCO, S.(1993). Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin. Nutr.* 57:715-725.

- 48-YAGI, K.(1987) .Lipid Peroxides and Human Diseases. *Chem. and Phy of Lipids*. 45:337-351.
- 49-SLATER, T. F (1984) Overview of Methods Used for Detecting Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*. 105:283-293.
- 50-UYSAL, M.(1998). Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengelyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 11:336-341.
- 51-HELLER, J., SOGNI, P., BARRIER, E., TAZI, K.A., CHAUVELOT-MOACHON, L., GUIMONT, M.C., BORIES, P.N., POIREL, O., MOERAU, R., LEBREC, D. (2000). Effect of lipopolysaccharide on TNF-alpha production, hepatic NOS-2 activity, and hepatic toxicity in rats with cirrhosis. *J Hepatol*. 33:376-381.
- 52-YU, B.P. (1994). Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994: 74139-162
- 53-HALLIWELL, B.,GUTTERIDGE, J.M.C. (2005). Free radicals in biology and medicine. 3.ed. *Oxford Science Publications Pres Inc., London*.
- 54-SHACTER, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev*. 32:307-326.
- 55- STADMAN, E.R., LEVINE, R.L.(2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*. 25:207-218
- 55- EVANS, P., LYRAS, L., HALLIWEL, B. (1999). Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Methods Enzymol*. 300: 145-156.
- 56- LEVINE, R.L.(2002) Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med*. 32: 790-796.
- 57- AKATAY, U., TELCI, A., KAYALI, R., TEKELI, F., AKAY, T., SIVAS, A. (2003). Relation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skeletal muscle, *Clin. Biochem*. 36 (1): 51-55.

- 58- WITKO-SARSAT, V., FRIEDLANDER, M., CAPEILLERE-BLANDIN, C., NGUYEN-KHOA, T., NGUYEN, AT., ZINGRAFF, J., JUNGERS, P., DESCAMPS-LATSCHA, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 49 (5): 1304-1313.
- 59- CHESEMANN, KH., SLATER, TF. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bulletin.* 49 (5): 481-493.
- 60- BÜYÜKGÜZEL, E.(2013). Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler Mekanizması. *Karaelmas Science and Engineering Journal.* 3 (1): 40-51
- 61- REQUENA, J.R., LEVINE, RL., STADMAN, E.R. (2003). Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Amino Acids.* 25 (3): 221-226.
- 62- UCHIDA, K., KAWAKISHI, S.(1986). Selective oxidation of imidazole ring in histidine residues by the ascorbic acid-copper ion system. *Biochem Biophys Res Commun.* 138 (2): 659-665.
- 63- KAYALI, R., ÇAKATAY, U. (2004). Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 35 (2): 83-89.
- 64- STADTMAN, E.R., LEVINE, R.L. 2000. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci.* 899: 191-208.
- 65-LEVINE, R.L., WILLIAMS, J.A., STADTMAN, E.R., SHACTER, E.(1994). Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 233:346-357.
- 66-164-COOPER, C.E., VOLLAARD, N.B.J., CHOUEİRİ, T., WILSON, M.T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 30: 280-284.
- 67-BURÇAK, G., ANDİCAN, G.(2004). Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa J Med.* 35;159-169

- 68-SIĆIĆ, M.G. (1994). DNA markers of oxidative processes in vivo: relevance to carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Carcinogenesis*. 54:1918-1923
- 69-ASAMI, S., MANABE, H., MIYAKE, J., TSURUDOME, Y., HIRANO, T., YAMAGUCHI, R., ITOH, H., KASAI, H.(1997).Cigarette induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in central site of the human lung. *Carcinogenesis*. 18:1763-1766
- 70-FUNG, H., KOW, Y.W., HOUTTEN, B.V., MOSSMAN, B.T.(1997). Patterns of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in DNA and indications of oxidative stress in rat and human pleural mesothelial cells after exposure to crocidolite asbestos. *Carcinogenesis*. 18:825-832
- 71-WINYARD, P.G., PERRETT, D., BLAKE, D.R., HARRIS, G. CHIPMAN, J.K. (1990). Measurement of DNA oxidation products. *Analytical Proceedings*. 27:224-227
- 72-KWAM, E., TYRRELL, R.M. (1997). Artificial background and induced levels of oxidative base damage in DNA from human cells. *Carcinogenesis*. 18:2281-2283
- 73- BYUNG, P.Y.(1994). Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiological Reviews*. 74 (1):139-172.
- 74-NAKAZAWA, H., GENKA, J., FUJISHIMA, M. (1996). Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J Physiol*. 46:15-32.
- 75-HALLIWEL, B.(1996). Oxidative stress, nutrition and health: Experimental strategies for optimisation of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Res*. 25:57-74.
- 76- MARTÍNEZ, C.M.(1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. 77: 147-161.
- 77- MCCORD, J.M., FRIDOWICH, I. (1969). Superoxide Dismutase, An Enzymic Function of Erythrocyte. *J. Biol. Chem*. 244:6049-55

- 78- MARKLUND, S.L., HOLME, E., HEILNER, L.(1982). Superoxid Dismutase In Extrasellular Fluids. *Clin. Chem. Acta.* 125:41-51.
- 79-MADDIPATI, K. R., MARNET, L.J. (1987). Characterization of The Major Hydroperoxide Hydroperoxide Reducing Activity of Human Plasma: Purification and Properties of A Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase. *J. Biol. Chem.* 262: 17398-403
- 80-GUTTERIDGE, J.M.C, PETERSON, S.K, SEGAL, A.W, HALLIWEL, B. (1981). Inhibition of Lipid Peroxidation By, The Iron Binding Protein Lactoferrin. *Biochem. J.* 199: 259-61
- 81- STOCKS, J., GUTTERIDGE, J.M.C, SHARP, R.J, DORMANDLY, T.L.(1974). The Inhibition of Lipid Lipid Autoxidation By Human Serum and Its Relationship To Serum Proteins and Alpha-Tochoperol. *Clin.Sci. Mol. Med.* 47:223-33
- 82-VOET, D., VOET, J.G. PRATT, C.W. (2002). Fundamentals of biochemistry. John Wiley & Sons Inc., United States of America.
- 83- PERCIVAL, M.(1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights.* 10: 1-4.
- 84- PORTUGAL, M., BARAK, V., GINSBURG, I., KOHEN, R. (2007). Interplay among oxidants, antioxidants and cytokines in skin disorders: Present status and future considerations. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 61: 412-22.
- 85- BRIGANTI, S., PICARDO M.(2003). Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *JEADV.* 17: 663-669.
- 86-ZHOU, Q., MROWIETZ, U., ROSTAMI-YAZDI, M.(2009). Oxidative stress in the pathogenesis of psoriasis. *Free Radical Biology and Medicine.* 47: 891-905.
- 87- KHAN, R., SATYAM, A., GUPTA, S., SHARMA, V.K., SHARMA, A.(2009). Circulatory levels of antioxidants and lipid peroxidation in Indian patients with generalized and localized vitiligo. *Arch Dermatol Res.* 301: 731-737.

- 88-DUBERTRET, L., MROWIETZ, U., RANKI, A. (2006). European patient perspectives on the impact of psoriasis: the EUROPSO patient membership survey. *Br J Dermatol.* 155:729-36.
- 89- CHRISTOPHERS, E.(2007). Comorbidities in psoriasis. *Clin Dermatol.* 25:529-
- 90- HOEDE, N., MORCHES, B., HOLZMANN, H.(1974). Psoriasis, a systemic disease. *Internist (Berl)* . 1584:186-91.
- 91- NICKOLOFF, B.J., XIN, H., NESTLE, F.O., QIN, J.Z.(2007). The cytokine and chemokine network in psoriasis. *Clin. Dermatol.* 25:568–573
- 92-TROUBA, K.J., HAMADEH, H.K., AMIN, R.P., GERMOLEC, D.R.(2002).Oxidative stress and its role in skin disease. *Antioxid. Redox Signaling* 4:665–673.
- 93-SARAN, M., BORS, W. (1991).Direct and indirect measurements of oxygen radicals. *Klin. Wochenschr.* 69:957-964.
- 94- MERCAN, U. (2004).Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 15(1-2):91-96.
- 95-ARMSTRONG, D., BROWNE, R.(1994). The Analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes, and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. *Adv Exp Med Biol.* 366;43-58.
- 96-KOHNEN, R., NYSKA, A.(2002).Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 30(6):620-650
- 98- VALAVANIDIS, A., VLACHOGIANNI, J., FIOTAKIS, C. (2009).8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ sci Health C.* 27;:20-139.
- 99- CEBALLOS, P.I., TRIVIER, J.M., NICOLE, A. (1992). Age- Correlated Modification Of Copper – Zinc Superoxide Dismutase and Glutathione Related Enzyme Activities in Human Erythrocytes. *Clinical Chemistry*, 38-66

- 100-BAR-OR, D., CURTIS, G., RAO, N., BAMPOS, N., LAU, E.(2001) Characterization of the Co²⁺ and Ni²⁺ binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin, *European Journal of Biochemistry*. 268(1): 42–48
- 101- BAR-OR, D., LAU, E., WINKLER, J.(2000) A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report, *The Journal of Emergency Medicine* Volume 19(4):311-315
- 102- MARGARSON, M.P., SONİ, N. (1998) Serum albumin: touchstone or totem? *Anaesthesia*.. 53(8):789-803
- 103-SONİ, N.,MARGARSON, M. Albumin. Where are we now? (2004). *Current Anaesthesia and Critical Care*. 15:61-68.
- 104- NICHOLSON, J.P., WOLMARANS, M.R., PARK, G.R. (2000) The role of albumin in critical illness. *Br J Anaesth*. 85(4):599-610.
- 105-VINCENT, J.L. (2009) Relevance of albumin in modern critical care medicine. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 23(2):183-91.
- 106-UHİNG, M.R. (2004) The albumin controversy. *Clin Perinatol*. 31(3):475-88.
- 107-BURTİS, C.A., ASHWOOD, E.R. (1999).Tietz, Textbook of Clinical Chemistry 3rd edition, Philadelphia, Pa, WB Saunders Co,
- 108-PETERS, T. *All About Albumin ;Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*. (1995)
- 109- VALLNER, J. *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66 ; 447-465
- 110- ÇOLAK, T., BAMAÇ, B., ÇOLAK, S., DUMAN, C., BAYAZIT , ÖZTÜRK, S., MERİÇ, B., ÖZBEK, A., YILDIZ, F.(2010) The Influence of a Single Bout of Wrestling Exercise on Serum Levels of Ischemia-Modified Albumin. *Journal of Exercise Science & Fitness* . 8 : 67-72.

- 111- BAR-OR, D., CURTIS, G., RAO, N., BAMPOS, N., LAU, E.(2001) Characterization of the Co²⁺ and Ni²⁺ binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin, *European Journal of Biochemistry*. 268(1): 42–48
- 112- BAR-OR, D., LAU, E., WINKLER, J.(2000) A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report, *The Journal of Emergency Medicine* Volume 19(4):311-315
- 114- GİDENNE, S., CEPPA, F., FONTAN, E., PERRIER, F., BURNAT, P. (2004). Analytical performance of the Albumin Cobalt Binding (ACB) test on the Cobas MIRA Plus analyzer. *Clin Chem Lab Med*. 42:455–61.
- 115- APPLE, F.S., WU, A.H., MAİR, J., RAVKİLDE, J., PANTEGHİNİ, M., TATE, J.(2005) Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem*. 51:810–24
- 116-ELLİDAĞ, H.Y., EREN, E., AYDIN,O., AKGÖL, E., YALÇINKAYA, S., SEZER, C., YILMAZ, N. (2013). Ischemia modified albumin levels and oxidative stress in patients with bladder cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 14(5):2759-2763
- 117-ZUWALA-JAGIELLO, J.,WARWAS, M., PAZGAN-SÍMON, M.(2012). Ischemia-modified albumin (IMA) is increased in patients with chronic hepatitis C infection and related to markers of oxidative stress and inflammation. *Acta Biochim Pol*. 59(4):661-667.
- 118-STACHWÍCZ-STENCEL, T., SYNAKIEWÍCZ, A. OWCZARZAK, A., SLIWÍNSKA, A., LYSIAK-SZYDŁOWSKA, W., BALCERSKA, A. (2012). Association between Intestinal and antioxidant barriers in children with cancer. *Acta Biochim Pol*. 59(2):237-242.

119-BORDIERE, D., ALLANORE, Y., MEUNE, C., DEWAUX, J.Y., EKINDJIAN, O.G., KAHAN, A. (2004). High ischemia-modified albumin concentration reflects oxidative stress but not myocardial involvement in systemic sclerosis. *Clin Chem.* 50(11):2190-2193.

120- DUARTE, M.M., ROCHA, J.B., MORESCO, R.N., DUARTE, T., DA CRUZ, I.B., LORO, V.L., SCHETINGER, M.R.(2009) Association Between Ischemia-Modified Albumin, Lipids and Inflammation Biomarkers in Patients with Hypercholesterolemia. *Clinical Biochemistry* 42 :666-71.

121-ÖZDEMİR, M., KIYICI, A., BALEVİ, A., MEVLİTOĞLU, I., PERU, C.(2012). Assessment of ischaemia-modified albumin level in patients with psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology.* 37(6):610–614

122-AWADALLAH, S , AL ARRAYED, K., BAHARETH, E., SAEED, Z.(2013). Total antioxidant capacity and ischemia modified albumin in beta thalassemia. *Clin Lab.* 59(5-6):687-691.

123-KASAI, H., NISHIMURA, S.(1984). Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic acid res.* 12(4):2137-45.

124-HELBOCK, H.J., BECKMAN, K.B., AMES, B.N. (1999). 8-hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol.* 300: 156-166.

125- KASAI, H. (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation. Research.* 387:147-163.

126- KASAI, H., NISHIMURA, S. (1984). Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by polphenols in the presence of hydrogen peroxide and ferric ion. *Gann.* 75: 565-566.

- 127- CHENG, K.C., CAHILL, D.S., KASAI, H., NISHIMURA, S., LOEB, L.A. (1991). 8-hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, cause G→T and A→C substitutions. *Journal of Biological Chemistry*. 267:166-172.
- 128- TCHOU, J., KASAI, H., SHIBUTANI, S., CHUNG, M.H., LAVAL, J., GROLLMAN, A.P., NISHIMURA S. (1991). 8-oxoguanine (8-hydroxyguanine) DNA glycosylase and its substrate specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 88(11): 4690-4694.
- 129-AUFRICHT, C.(2005). Heat-shock protein 70: molecular supertool? *Pediatr Nephrol*. 20: 707–713
- 130- MORIMOTO, R.I., SANTORO, M.G.(1998). Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat Biotechnol*. 16: 833–838.
- 131- PETROF, E., CIANCIO, M., CHANG, E.B.(2004). Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Chin J Dig Dis*. 5: 45–50
- 132-VERBEKE, P., FONAGER, J., CLARK B.F.C., RATTAN, S.I.S., (2001). Heat shock response and ageing: mechanisms and applications. *Cell Biology International*. 25: 845-857.
- 133- PARCELLIER, A., GURBUXANI, S., SCHMITT, E., SOLARY, E., GARRIDO, C., (2003). Heat shock proteins, cellular chaperones that modulate mitochondrial cell death pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 304: 505-512.
- 134- HIGHTOWER, L.E., RYAN, J.A., 1997. Are stress proteins part of a cell's solution to toxicity or are they part of the problem? *Hepatology*, 25: 1279-1281.

- 135- FEDER, M.E., HOFMANN, G.E., 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annual Review of Physiology*, 61: 243-282.
- 136- SAMALI, A., ORRENIUS, S., 1998. Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. *Cell Stress and Chaperones*, 3: 228-236.
- 137- SREEDHAR, A.S., CSERMELY, P., 2004. Heat shock proteins in the regulation of apoptosis: new strategies in tumor therapy. A comprehensive review. *Pharmacology and Therapeutics*, 101: 227-257.
- 138- LANNEAU, D., BRUNET, M., FRISAN, E., SOLARY, E., FONTENAY, M., GARRIDO, C., 2008. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12: 743-761.
- 139- TRAUTINGER, F., KINDAS-MÜGGE, I., DEKRAUT, B., KNOBLER, R.M., METZE, D. (1995). Expression of the 27-kDa heat shock protein in human epidermis and in epidermal neoplasms: an immunohistological study. *British Journal of Dermatology* 133(2):194–202
- 140- PAUL, C., MANERO, F., GONIN, S., KRETZ-REMY, C., VIROT, S., ARRIGO, A.P., 2002. Hsp27 as a negative regulator of cytochrome c release. *Molecular and Cellular Biology*, 22: 816-834.
- 141- CHAUHAN, D., LI, G., HIDESHIMA, T., PODAR, K., MITSADES, C., MITSIADES, N., CATLEY, L., TAI, Y.T., HAYASHI, T., SHRINGARPURE, R., BURGER, R., MUNSHI, N., OHTAKE, Y., SAXENA, S., ANDERSON, K.C., 2003. Hsp27 inhibits release of mitochondrial protein Smac in multiple myeloma cells and confers dexamethasone resistance. *Blood*, 102: 3379-3386.
- 142- VUČIĆ, D., DESHAYES, K., ACKERLY, H., PISABARRO, M.T., KADKHODAYAN, S., FAIRBROTHER, W.J., DIXIT, V.M. (2002). SMAC negatively regulates the anti-apoptotic activity of melanoma inhibitor of apoptosis (ML-IAP). *J. Biol. Chem.* 277 (14): 12275–12279

- 143- BRUEY, J.M., DUCASSE, C., BONNIAUD, P., RAVAGNAN, L., SUSIN, S.A., DIAZ-LATOUD, C., GURBUXANI, S., ARRIGO, A.P., KROEMER, G., SOLARY, E., GARRIDO, C., 2000. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nature Cell Biology*, 2: 645-652.
- 144- VOSS, O.H., BATRA, S., KOLATTUKUDY, S.J., GONZALEZ-MEJIA, M.E., SMITH, J.B., DOSEFF, A.I., 2007. Binding of caspase-3 prodomain to heat 90 shock protein 27 regulates monocyte apoptosis by inhibiting caspase-3 proteolytic activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 282: 25088-99.
- 145- ROGALLA, T., EHRNSPERGER, M., PREVILLET, X., KOTLYAROV, A., LUTSCH, G., DUCASSE, C., PAUL, C., WIESKE, M., ARRIGO, A.P., BUCHNER, J., GAESTEL, M., 1999. Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor alpha by phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 18947–18956.
- 146- YALOW, R., BERSON, S. (1960). Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.* 39 (7): 1157–75.
- 147- LEQUIN, R.M. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) *Clinical Chemistry* (2005) 51 (12): 2415-2418
- 148- COLIGAN, J.E., KRUISBEEK, A.M., MARGULIES, D.H., SHEVACH, E.M., STROBER, W. Antibody Detection and Preparation. *Current Protocols in Immunology*. Vol 1., 1994: 2.1.1-2.1.4.
- 149- BARON, J.E., PETERSON, L.R., FINEGOLD, S.M. Nontraditional Methods for Identification and detection of pathogens or their products. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th ed. Missouri: Mosby-Year Book, 1994:125-7.
- 150- HENDRY, D.I. Identification of viral isolates by enzyme immunoassay. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington: American Society for Microbiology, 1992: 2: 8.1.1-8.1.9.

151-GÜLMEZOĞLU, E., ERGÜVEN, S. İmmünoloji. Ankara: Hacettepe –Taş kitapçılık, 1994: 287-9.

152- BİLGEHAN, H.(1995). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, İkinci baskı. İzmir:Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 1995: 224-8.

153- MEHMETOĞLU, İ.(2007) Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı.Nobel tıp kitapçevleri.Dördüncü baskı sf: 50-62.

154- ROCHA-PEREIRA, P., SANTOS-SILVA, A., REBELO, I.(2001). Dislipidemia and oxidative stress in mild and in severe psoriasis as a risk for cardiovascular disease. *Clin Chim Acta* . 303: 33-9

155-TOKER, A., KADI, M., YILDIRIM, A.K.(2009). Serum lipid profile paraoxonase and arylesterase activities in psoriasis. *Cell Biochem Funct* . 27 : 176-180.

156-DİPALİ, P., KADAM, K., ADİNATH, N. Role of Oxidative Stress in Various Stages of Psoriasis.(2010). *Indian J Biochem.* 25:388-392

157- KILIÇ, S., EMRE, S., METİN, A., İŞİKOĞLU, S., EREL. O. (2013) Effect of the systemic use of methotrexate on the oxidative stress and paraoxonase enzyme in psoriasis patients. *Arch Dermatol Res.* 305: 495-500

158-BACCHETTİ, T., CAMPANATİ, A., FERRETTİ, G., SİMONETTİ, O., LIBERATİ, G., OFFİDANİ, AM. (2013) . Oxidative stress and psoriasis: the effect of antitumour necrosis factor- α inhibitor treatment. *Br J Dermatol.* 168(5):984-9

159-DİPALİ, P., KADAM, K., ADİNATH, N. Role of Oxidative Stress in Various Stages of Psoriasis.(2010). *Indian J Biochem.* 25:388-392

- 160- BOTELHO, .F.M., GASCHLER, G.J., KIANPOUR, C.C.J., ZAVITZ, N.J., TRIMBLE, J.K., NIKOTA, C.M.T., BAUER, M.R. (2010). Innate immun processes are sufficient for driving cigarette smoke induced inflammation in mice. *Am.J.Respir.Cell Mol. Biol.* 42:394-403
- 161-D'HULST, A.I., VERMAELEN, K.Y., BRUSELLE, G.G., JOOS, G.F., PAUWELS, R.A.(2005). Time course of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in mice. (2005). *Eur.Respir.J.* 26:204-213
- 162- ÖZDEMİR, M., KIYICI, A., BALEVİ, A., MEVLİTOĞLU, I., PERU, C.(2012). Assessment of ischaemia-modified albumin level in patients with psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology.* 37(6):610–614
- 163-TÜRSEN, Ü. (2011) Stres, Hormonlar ve Deri. *Dermatoz* 2(2) : 308-319.
- 164- DALAKLIOĞLU, S., GENÇ,G.E., AKSOY, N.H., AKÇİT, F., GÜMÜŞLÜ, S. (2013) Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Hum Exp Toxicol.* 32(6):662-71.
- 165-GOLDSTEİN, A.E., LEBWOHL, M., WEİ, H.(2000).Comparison of Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in Patients Treated With Topical Corticosteroids, UV-B, and Psoralen UV-A Therapies. *Arch Dermatol.* 136(6):808-810
- 166-NAKAİ, K.,YONEDA, K., MUNEHİRO, A., FUJİTA, N., YOKOİ, I., MORİUE, J., MORİUE, T., KOSAKA, H., KUBOTA, Y.(2009) Urinary biomarker of oxidative stress in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 23:1405-1408.
- 167-WİWANİTKİT, V.(2010). Urinary 8-OHdG level in psoriasis and atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 24:856-863
- 168- DOUKİ, H., CADET, J.(1996). Peroxynitrite mediated oxidation of purine bases of nucleosides and isolated DNA. *Free Radical Res* 24: 369-380

- 169- WHITEMAN, M., SPENCER, J.P.E., JENNER, A., HALLIWELL, B. (1999) Hypochlorous acid-induced DNA base modification: potentiation by nitrite. *Biochem Biophys Res Commun* 257: 572-576
- 170-. PODMORE, I.D., GRIFFITHS, H.R., HERBERT, K.E., MISTRY, N., MISTRY, P, LUNEC, J. (1998) Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*. 392: 559
- 171-HALLIWELL B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogenesis. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutation Res* 1999; 443: 37-52
- 172-NAKAE D, AKAI H, KISHIDA H, KUSUOKA O, TSUTSUMI M, KONISHI Y. Age and organ dependent spontaneous generation of nuclear 8- hydroxyguanosine in male fischer 344 rats. *Lab Invest* 200; 80: 249-261
- 173- LOFT S, FISCHER-NIELSEN A, JEDING IB. 8- hydroxydeoxyguanosine as a urinary marker of oxidative DNA damage. *J Toxicol Environ Health* 1993; 40: 391-404
- 174-WARD WF, QI W, VAN REMMEN H, ZACKERT WE, ROBERTS JL, 2nd Rishardson A. Effects of age and caloric restriction on lipid peroxidation: Measurement of oxidative stress by F2-isoprostane levels. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 845-847
- 175- SINGH KK. Mitochondria damage checkpoint, aging and cancer. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1067: 182-190
- 176-KASAI H, IWAMOTO-TANAKA N, MIYAMOTO T, KAWANAMI K, KAWANAMI S, KIDO R, IKEDA M. Life style and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage: effects of exercise, working conditions, meat intake, body mass index, and smoking. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 9-15
- 177- MIZOUE T, KASAI H, KUBO T, TOKUNAGA S. Leanness, smoking and enhance oxidative DNA damage. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 582-585

178- ROGALLA, T., EHRNSPERGER, M., PREVILLE, X., KOTLYAROV, A., LUTSCH, G., DUCASSE, C., PAUL, C., WIESKE, M., ARRIGO, A.P., BUCHNER, J., GAESTEL, M., 1999. Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor alpha by phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 18947–18956.

179-GANDOUR, E.R., MCCLAREN, M., ISSEROFF, R.R. (1994). Immunolocalization of low-molecular-weight stress protein HSP 27 in normal skin and common cutaneous lesions. *Am J Dermatopathol*. 16:504-509

180-BOEHNCKE, W.H., DAHLKE, A., ZOLLNER, T.M., STERRY, W. (1994). Differential expression of heat shock protein 70 (HSP70) and heat shock cognate protein 70 (HSC70) in human epidermis. *Arch Dermatol Res*. 287(1):68-71