

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**


**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLER VE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ
İZOZİMLERİNİN *TINEA VERSICOLOR*, *TINEA INGUINALIS*, *TINEA
PEDIS*, *TINEA CORPORIS* VE CANDİDAL İNTERTRİGO
İNFEKSİYONLARINDAKİ EKSPRESYONLARI**


Murat KILIÇ

OCAK 2010

Biyoloji Anabilim Dalı Murat KILIÇ tarafından hazırlanan ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLER VE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ İZOZİMLERİNİN *TINEA VERSICOLOR*, *TINEA INGUINALIS*, *TINEA PEDIS*, *TINEA CORPORIS* VE CANDIDAL INTERTRIGO İNFEKSİYONLARINDAKİ EKSPRESYONLARI adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.


Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.


Yrd. Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan :Prof. Dr. Elşad HÜSEYİN

Üye (Danışman) :Yrd.Doç.Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Üye :Doç. Dr. Perihan GÜLER





07/01/2010

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.


Doç. Dr. Burak BIRGÖREN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLER VE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ
İZOZİMLERİNİN *TINEA VERSICOLOR*, *TINEA INGUINALIS*, *TINEA PEDIS*,
TINEA CORPORIS VE CANDIDAL INTERTRIGO İNFEKSİYONLARINDAKİ
EKSPRESYONLARI

KILIÇ, Murat

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Ocak 2010, 58 sayfa

Bu çalışmada, derinin *Tinea versicolor*, *Tinea inguinalis*, *Tinea pedis*, *Tinea corporis* ve Candidal intertrigo infeksiyonlarına karşı human beta defensin (hBD)-1,2,3 ve LL-37 antimikrobiyal peptidlerinin ve antioksidan enzimler olan glutatyon-S-transferaz Mü ve Teta izozimlerinin ekspresyonları araştırıldı.

Bu amaçla, Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği'ne 2008–2009 yılları arasında dermatolojik şikâyetlerle başvuran, yaş ortalamaları $35,94 \pm 14,76$ olan 27 erkek ve 26 kadın olmak üzere toplam 53 kişi çalışma grubu olarak belirlendi. Klinisyen tarafından teşhisleri konulan 8 *T. inguinalis*'li, 3 *T. corporis*'li, 15 *T. versicolor*'lu, 15 *T. pedis*'li ve 3 *C. albicans*'lı toplam 44 kişi hasta grubu, hiçbir teşhis almayan 9 kişi ise kontrol grubu olarak belirlendi. Daha sonra hasta ve kontrol grubu olarak belirlenen kişilerin derilerinden

alınan örnekler immunohistokimyasal boyama yöntemiyle, glutatyon-S-transferaz izozimleri olan GSTT1, GSTM4 ile antimikrobiyal peptidler olan hBD-1, hBD-2, hBD-3 ve LL-37 antikoları kullanılarak boyandı.

Hasta gruplarla, sağlıklı kontrol grupları arasında bu proteinlerin ekspresyonlarının farklı olduğu ($p<0,05$), hastalıklı bireylerin dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının dağılımlarının farklılıklar gösterdiği ($p<0,05$) ve glutatyon-S-transferaz izozimleri ve antimikrobiyal peptidlerin kendi aralarında ve birbirleriyle ilişkili olduğu ($p<0,05$) bulundu.

Antimikrobiyal peptidlerin ve antioksidan enzimler olan glutatyon-S-transferazların insan derisinde fungal hastalıklara karşı immun savunmada rol oynayabileceği bu çalışmada gösterilmiş oldu.

Anahtar Kelimeler: Dermatofitozis, Candidal İntertrigo, Antimikrobiyal Peptidler, Glutatyon-S-Transferaz İzozimleri

ABSTRACT

EXPRESSIONS OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES and GLUTATHIONE-S-TRANSFERASES in *TINEA VERSICOLOR*, *TINEA INGUINALIS*, *TINEA PEDIS*, *TINEA CORPORIS* and CANDIDAL INTERTRIGO INFECTIONS

KILIÇ, Murat

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

January 2010, 58 pages

In this study, the expressions of human beta defensin 1, 2, 3, and LL-37 antimicrobial peptides and glutathione-S-transferase mu and theta isoenzymes in *Tinea versicolor*, *Tinea inguinalis*, *Tinea pedis*, *Tinea corporis* and *Candidal intertrigo* infections were investigated.

The 53 patients from the Ankara Keçiören Education and Research Hospital Dermatology Clinic between 2008 and 2009 (27 men and 26 women; median age 35,94±14,76) with infections were included in the study. The 8 for *T. inguinalis*, 3 for *T. corporis*, 15 for *T. versicolor*, 15 for *T. pedis*, 3 for *C. albicans*, and 9 for healthy subjects as control were included. The expressions of the glutathione-S-transferase isoenzymes GSTM4 and GSTT1, and the antimicrobial peptides hBD-1,

hBD-2, hBD-3 and LL-37 in the infected and control tissues were examined by immunohistochemical staining.

Significant differences were found a) in these protein expressions in patients and control groups ($p < 0,05$), b) in these protein distributions in tissues from patients ($p < 0,05$). Moreover, a relationship was found between glutathione-S-transferase isoenzymes and antimicrobial peptides ($p < 0,05$).

In this study, the role of glutathione-S-transferase isoenzymes as antioxidant enzymes and antimicrobial peptides in immune defense against skin fungal disease was shown.

Key Words: Dermatophytosis, Candidal Intertrigo, Antimicrobial Peptides,
Glutathione-S-transferase isoenzymes.

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerinin yanı sıra maddi ve manevi desteğini benden hiç esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamın deneysel kısmında, doku kazanımı için bana yardımcı olan Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği'nde görev yapan Sayın Dr. Ayşe Serap KARADAĞ'a, immunohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan, Ankara Sanatoryum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda görev yapan Sayın Dr. Ebru ARABACI'ya ve tezimin istatistiksel analizler kısmında bana yardımcı olan Kırıkkale Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Latif ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bilimsel desteklerinin yanı sıra maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Eğitim Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Sezgin ÇELİK'e de ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Ve tüm eğitim ve öğretim hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans öğrenimim süresince her anlamda desteğini esirgemeyen sevgili annem Ayşe KILIÇ'a da sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Antimikrobiyal Peptidler.....	1
1.1.2. Çalışmaya Konu Olan Antimikrobiyal Peptidler.....	3
1.1.2.1. Defensinler.....	3
1.1.2.2. Katelisidinler.....	6
1.2. Glutasyon-S-transferazlar (GST).....	8
1.2.1. Glutasyon-S-Transferazlar'ın Sınıflandırılması.....	8
1.2.2. Çalışmaya Konu Olan GST İzozimleri.....	9
1.2.2.1. GST Mu.....	9
1.2.2.2. GST Teta.....	9
1.3. Dermatofitler ve Candidal İntertrigo.....	9
1.3.1. Dermatofitler.....	9
1.3.1.1. Çalışmaya Konu olan Dermatofitler.....	10
1.3.1.1.1. <i>Tinea versicolor</i>	11
1.3.1.1.2. <i>Tinea inguinalis</i>	11
1.3.1.1.3. <i>Tinea pedis</i>	12
1.3.1.1.4. <i>Tinea corporis</i>	13
1.3.2. Candidal intertrigo.....	13
2. MATERYAL VE YÖNTEM	16
2.1. Materyal.....	16
2.1.1. Kullanılan Kimyasallar.....	16
2.1.1.1 Solüsyonların Hazırlanması.....	16
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	17
2.2. Kullanılan Yöntemler.....	17
2.2.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi.....	17

2.2.2. İmmunohistokimya Prosedürü.....	20
2.3. İstatistiksel Analiz.....	20
3. BULGULAR.....	22
3.1. Antimikrobiyal Peptidler ve Glutasyon-S-Transferaz İzozimlerinin Dokulardaki Dağılımı.....	22
3.1.1. <i>Tinea inguinalis</i> 'li Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları.....	22
3.1.2. <i>Tinea corporis</i> 'li Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları.....	24
3.1.3. <i>Tinea versicolor</i> 'lu Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları.....	24
3.1.4. <i>Tinea pedis</i> 'li Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları.....	26
3.1.5. <i>Candida albicans</i> 'lı Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları.....	27
3.1.6. Kontrol Grubunun Dokularındaki Peptid Dağılımları.....	28
3.2. İstatistiksel Bulgular.....	30
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	44
KAYNAKLAR.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

SEKİL

Sayfa

1.1. <i>T. pedis</i> ile infekte olan ayak (N.S.A. isimli hastadan).....	12
1.2. <i>Tinea corporis</i> ile infekte olan boyun bölgesi (K.D. isimli hastadan).....	13
1.3. <i>Candida albicans</i> ile infekte olan boyun bölgesi (R.O. isimli hastadan).....	14
3.1. <i>T. inguinalis</i> ile infekte olan dokunun hafif şiddette hBD-1 ekspresyonu (H.G.isimli hastadan).....	23
3.2. <i>T. inguinalis</i> ile infekte olan dokunun şiddetli LL-37 ekspresyonu (C.L. isimli hastadan).....	23
3.3. <i>T. versicolor</i> ile infekte olan dokunun orta şiddette GSTT1 ekspresyonu (T.C. isimli hastadan)	25
3.4. <i>T. pedis</i> ile infekte olan dokunun negatif HBD-3 ekspresyonu (M.I. isimli hastadan).....	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Antimikrobiyal peptidlerin görevleri.....	2
1.2. Alfa ve Beta defensinlerin özellikleri.....	4
1.3. β -defensinlerin buldukları yerler ve işlevleri.....	5
2.1. Hasta ve kontrol gruplarının klinik bilgileri.....	18
3.1. Antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-transferaz izozimlerinin hastalıklı ve kontrol grubundaki dokularda dağılımı.....	29
3.2. <i>Tinea inguinalis</i> 'li hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	31
3.3. <i>Tinea corporis</i> 'li hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	32
3.4. <i>Tinea versicolor</i> 'lu hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	33
3.5. <i>Tinea pedis</i> 'li hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	34
3.6. <i>Candida albicans</i> 'lı hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	35
3.7. <i>Tinea inguinalis</i> 'li hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	36
3.8. <i>Tinea corporis</i> 'li hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	37
3.9. <i>Tinea pedis</i> 'li hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	38
3.10. <i>Tinea versicolor</i> 'lu hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	39
3.11. <i>Candida albicans</i> 'lı hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	40
3.12. <i>Tinea inguinalis</i> 'li hastalarda antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-transferaz izozimleri arasındaki korelasyon.....	41

3.13. <i>Tinea versicolor</i> 'lu hastalarda antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-transferaz izozimleri arasındaki korelasyon.....	42
3.14. <i>Tinea pedis</i> 'li hastalarda antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-transferaz izozimleri arasındaki korelasyon.....	43

1. GİRİŞ

1.1. Antimikrobiyal Peptidler

Bütün canlılar, mikroorganizmalara karşı kendilerini korumak amacıyla, doğal bağışıklık sistemlerinin bir parçası olarak çeşitli antimikrobik etkili peptidler üretip; bu peptidlerle, immun sistemde meydana gelecek olan enfeksiyonlara karşı özel bir immun yanıt oluşturarak mikroorganizmaları etkisiz hale getirirler (1-3). Antimikrobiyal peptidler, özellikle mukozayla kaplı yüzeylerde bulunan epitel hücreler ve fagositik hücreler tarafından, düşük enerjiyle seri bir şekilde sentezlenmekte ve kolaylıkla büyük miktarlarda saklanabilmektedir. Depo edildiği yerlerde hazır bekleyen bu peptidler, enfeksiyondan kısa bir süre sonra yüksek miktarlara ulaşarak ve birbirleri ile ya da lizozim, laktoferrin gibi konağa ait diğer doğal savunma faktörleriyle ve çeşitli antibiyotiklerle de sinerjist etki meydana getirerek birçok mikroorganizma türünün üremesini hızla inhibe etmektedir (3-7).

Antimikrobiyal peptidler oldukça homolog genler tarafından, her peptid için bir gen olacak şekilde kodlanmaktadır. Genlerde kodlanan antimikrobiyal peptidlerin ilk translasyon ürünleri prepeptidler olup; bu prepeptidler endoplazmik retikulumu hedef alan bir N-terminal sinyal dizisi, bir pro segmenti ve antimikrobik aktivite gösteren kısım olan bir C-terminal katyonik peptid olmak üzere üç kısımdan ibarettir. Genellikle anyonik yüklü olan Pro segmentinin biyolojik fonksiyonları arasında, C-terminalinin doğru bir şekilde katlanması, hücrelerarası geçişin düzenlenmesi ve olgun peptidlerin aktivitelerinin inhibe edilmesi yer almaktadır. Prepeptidler hücre içindeki sürecin ileri safhalarında ya da hücre dışına salgılandıktan sonra parçalanırlar. Antimikrobiyal peptidler ya propeptid ya da olgun C-terminal peptid şeklinde depo edilirler (8-10). Ribozomlarda sentezlenen bu

peptidler küçük, katyonik, amfifilik, moleküler ağırlığı ≤ 5 kDa olan, 12-52 aminoasit içeren, geniş spektrumlu mikrobisidal aktiviteye sahip moleküllerdir (1,2,10,11). Bu peptidler antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra farklı işlevlerde de görev alırlar (12,13)(Çizelge 1.1).

Çizelge: 1.1. Antimikrobiyal peptidlerin görevleri(10)

Antimikrobiyal Etki Spektrumları	Gram (+) bakteriler
	Gram (-) bakteriler
	Mantarlar
	Parazitler (Tripanozom, Plazmodyum gibi)
	Bazı zarflı virüsler
Etkili Oldukları Diğer İşlevler	Antikanser etki
	İnflamasyon
	Yara iyileşmesi
	Sitokin ve adezyon molekülleri salınımı
	Homeostaz
	Kemotaksis
	Mast hücrelerinden histamin salınımı
	Apoptoz
	Proteazlar ve inhibitörleri arasındaki dengenin korunması

Antimikrobiyal peptidler, mikroorganizmaların membranları ile etkileşime girerek onlara karşı antifungal veya antibakteriyal etki göstermektedirler. Mikroorganizmaların membranlarıyla girdikleri bu etkileşimlerle, hücrenin dengesini bozarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Ancak, spesifik membran proteinlerinin veya oksidatif stres proteinlerinin sentezinin durdurulması, DNA sentezinin

durdurulması, DNA ile etkileşim, hidrojen peroksit oluşumu, ökaryotik hücrelerde apoptozu tetikleme veya bakteriyal hedeflerde otolizi tetikleme gibi farklı etki mekanizmaları da öne sürülmektedir (13).

Yapısal özelliklerine göre antimikrobiyal peptidleri, defensinler, katelisidinler, histatinler, cathepsin G, azurocidin, kimaz, laktoferrin, cryptdin ilişkili sekans peptidleri, belirli kemokinler, bakterisidal permeabilite arttıran protein, lizozimler, grup HA fosfolipaz A₂, ubiucidin, ribozomal protein L30-L39 ve S19, histonlar H1.5 ve H2B ve eozinofilik katyonik proteinler olarak gruplandırmak mümkündür (10,12,14,15).

1.1.2. Çalışmaya Konu Olan Antimikrobiyal Peptidler

1.1.2.1. Defensinler

Defensin grubu peptidler, memelilerde en önemli antimikrobiyal peptid gruplarının içinde yer alırlar (16,17). Defensinler katyonik, 30-40 aminoasitten oluşan, arjinince zengin, β -tabakalı katlantı gösteren, moleküler ağırlıkları 3,5-6 kDa arasında olan ve altı sistein rezidüsünün oluşturduğu üç disülfid köprüsü içeren moleküllerdir (13-15,18-20). Bilinen tüm insan defensin genleri 8. kromozomda telomer bölgesine yakın p22-23.1 bölgesinde bulunmaktadır (19). Defensinler, sistein rezidülerine ve disülfid bağlarının yerleşimine göre alfa (α), beta (β) ve teta (θ) defensinler olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar (17,19). Defensin alt gruplarının özellikleri Çizelge 1.2.'de verilmiştir (12,13,15,16,19-23). Teta defensinler insanlarda tanımlanmamıştır (14).

Çizelge 1.3. β -defensinlerin buldukları yerler ve işlevleri

β-defensinlerin Bulunduğu Yerler			
hBD*-1	hBD*-2	hBD*-3	hBD*-4,5,6
Nötrofil ve Diğer Lökositler	Nötrofil ve Diğer Lökositler	Deri	Epididim
Plazma	Plazma	Tonsiller	Plazma
İdrar	İdrar	Nötrofil ve Diğer Lökositler	İdrar
Hemofiltrat	Bağırsak	Plazma	Mide Antrumu
Akciğer	Akciğer	İdrar	Nötrofiller
Meme Bezleri	Ürogenital Sistem	Akciğer	Tiroid
Tükrük Bezleri	Pankreas	Bağırsak	Akciğer
Deri	Deri	Timus	Uterus
Timus	Kemik İliği	Uterus	Böbrek Epilteli
İnce Bağırsak	Böbrek	Böbrek	
Testis	Mide	Kalp	
Vajina	Timus	İskelet Kası	
Dişi Genital Sistem	Karaciğer		
Plasenta			
Anne sütü			
Böbrek			
Pankreas			
Prostat			
β-defensinlerin İşlevleri			
Bakteri, fungus, klamidya ve zarflı virüslere karşı antimikrobiyal etki			
T hafıza hücreleri, immatür dendritik hücreler ve nötrofillerin kemotaksisi			
İmmatür dendritik hücrelerin matürasyonu			
Mast hücre kemotaksisi ve degranülasyonu			
*: human beta defensin			

β -defensinlerden hBD-1 ve hBD-2 esas olarak Gram negatif bakterilere karşı mikrobisidal etki gösterir, Gram pozitiflere olan etkileri daha azdır. hBD-3 ise, geniş spektrumlu bir antimikrobiyal peptid olup, birçok patojen bakteriye ve *Candida albicans* gibi mikozlara karşı etkilidir (13).

1.1.2.2. Katelisinler

İlk olarak, değişik türlerin myeloid hücrelerinden izole edilen katelisinler, yapılan birçok çalışmadan sonra epitel hücrelerinde tanımlanmıştır (27). Son zamanlarda katelisinler, solunum yolları ile birlikte, gastrointestinal yolda, deri ve testislerde, doğal katil hücrelerinde, T ve B lenfositlerde ve makrofajlarda da tanımlanmıştır (27,28). İnsan solunum yollarında bulunan katelisinler, bu bölgedeki epitelyum hücreleri, lenfositler, nötrofiller ve makrofajlardan kaynaklanır. Farklı vücut sıvılarında da bulunabilen katelisinler, serumda, solunum yolu yüzey sıvısında, enfeksiyon ve enflamasyon sırasındaki yara sıvısında yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir (27). Katelisin ekspresyonu, bazı kronik enflamatuvar hastalıklardan farklı şekillerde etkilenir (29). Psöriyazis’de, katelisin seviyeleri yükselirken, atopik dermatitiste katelisin ekspresyonu yetersizdir (30,31).

İnsan katyonik antibakteriyal proteini olarak bilinen tek insan katelisin proteini hCAP-18’dir. Bu proteinin moleküler ağırlığı 18 kDa olup, N-terminal yada conserved amino-terminal ve C-terminal olmak üzere 2 farklı zincirden oluşur. hCAP-18’in olgun antimikrobiyal peptidi C-terminal zinciridir ve LL-37 olarak bilinir (27,29).

LL-37’nin olgun antimikrobiyal peptid olarak adlandırılmasının sebebi, peptidin 2 lösin ile başlayan 37 aminoasitten oluşmasıdır (32). LL-37, hızlı ve geniş spektrumlu öldürme aktivitesine sahiptir ve bu nedenle herhangi bir patojenite durumunda, en erken tespit edilen memeli antimikrobiyal peptidlerinden biridir (33). Bu etkinliğin önceleri sadece C-terminal zincirinden yani LL-37’den kaynaklandığı düşünülse de, N-terminal zincirin de bu etkinliğe katkıda bulunduğu sonraki çalışmalarda gösterilmiştir (29).

Çizelge 1.2. Alfa ve Beta defensinlerin özellikleri

	α-defensinler	β-defensinler
Aminoasit sayısı	29-35	35
Moleküler ağırlık	35kDa	4-6 kDa
Disülfid bağlarının yerleşimi	1-6,2-4,3-5	1-5,2-4,3-6
Gen sayısı	11	28

Defensinler de katyonik ve amfifilik özelliklidirler ve bundan dolayı diğer antimikrobiyal peptidler gibi mikroorganizmaların membranlarındaki negatif yüklü moleküllere etki ederler (18,24). Bu negatif yüklü moleküller, Gram negatif bakterilerde lipopolisakkaritler (LPS), Gram pozitiflerde polisakkaritler ve lipoteikoik asit (LTA) ve her iki tür bakterilerin iç membranında bulunan fosfolipitlerdir (22). Defensinler, antibakteriyal etkilerini μM düzeyde gösterirler (18). Bu etkileri ortamda fizyolojik konsantrasyondaki tuz varlığında azalmaktadır. Bu nedenle defensinlerin in vivo antimikrobiyal etkileri, iyon yoğunluğunun düşük olduğu fagosit vakuelleri ile deri ve mukozal epitel yüzeylerinde gerçekleşmektedir (16).

Defensinlerin bilinen beş grubu vardır ve bu gruplarda toplam 28 β -defensin geni tanımlanmıştır (15,22). Çizelge 1.3'te, β -defensinlerin yerleşimleri ve görevleri gösterilmiştir (12,13,20,22,25,26).

Araştırmacılar insan katelin benzeri proteinin, lizozomal sistein proteinaz katepsin L (LSPK-L)'nin etkisini baskıladığını bildirmişlerdir. LSPK-L, enflamatuvar hücrelerde mevcuttur ve elastinolitik ve kollegenolitik aktiviteleri nedeniyle enflamatuvar lezyonlarda doku yaralanmasına katkıda bulunabilir. Katelin benzeri protein, hücreleri konak ve mikrobiyal sistein proteinazların istenmeyen proteolizisinden korur ve istilacı patojenlerin inhibisyonunda ya da doğrudan öldürülmesinde önemli rol oynar (29). Epitel hücreleri ve dolaşımdaki nötrofiller katelisinlerin temel kaynağıdır ve myeloid kemik iliği hücreleri katelisinlerin primer ekspresyon alanıdır. Katelisinler myelositte ve nötrofil olgunlaşmasının metamyelosit safhasında sentezlenirler ve daha sonra spesifik granüllere giderler. Katelisinler pre-propeptidler olarak sentezlenirler (27). Katelisin peptidi inaktif propeptid molekülleri olarak depolanır, stimülasyon ile aktif peptidlere dönüşür (27,34). Depo formun aktif peptidlere dönüşmesinin, aktive olmuş nötrofillerde granüllerin ekzositozunu takiben gerçekleştiği gösterilmiştir. Bir başka deyişle depo formun aktif peptid haline gelmesinin, aktive olmuş nötrofiller içindeki fagositik vakuollerde ya da ekstrasellüler alan içine degranülasyon esnasında meydana geldiği düşünülmektedir (34). Tam uzunluktaki katelisin (hCAP-18)'in proteinaz 3 ile proteolitik parçalanmasını takiben antimikrobiyal etkinliği olan LL-37 ve antimikrobiyal ve sistein proteinaz inhibitör aktiviteli katelin benzeri zincir aktif hale gelir (27,29). Tam uzunluktaki katelisinin proteolitik olarak 2 aktif antimikrobiyal ajana parçalanması mikrobiyal öldürme işleminde kritik bir adımdır (28,29).

1.2. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

Glutasyon-S-transferazların yapıları hakkındaki ilk bilgiler, 1961'de fare karaciğerinde yapılan çalışmalar sonucu glutasyon (GSH) konjugasyonunun gözlenmesine dayanır (35-37). GST' ler ~26 kDa ağırlığında iki alt üniteden oluşan dimerik yapıya sahiptirler. İzoelektrik noktaları pH 4-5' te olduğundan dolayı hidrofobik, 50 kDa ağırlığında bir proteini oluştururlar. Heterodimer formları oluşturmaları durumu ise GST' lerin çeşitliliğini arttırır.

Memeli dokularında eksprese olan GST, Faz II enzimler grubuna dahil edilen geniş bir gen ailesidir; bu gen ailesine üye GST enzimleri karsinogenik olan endojen ve ekzojen ajanlara karşı, hücrede savunma mekanizmasının önemli bir bölümünü oluştururlar. Dokuların oksidatif hasardan korunması ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynamaları GST' lerin ayrıca görevlerindedir (38,39).

1.2.1. Glutasyon-S-Transferazlar'ın Sınıflandırılması

İnsan sitozolik GST' lerin birçok formu bulunduğundan ayrı olarak sınıflandırılmışlardır (40). Bu sınıflandırma, GST' lerin substrat spesifliklerine, immünolojik özelliklerine, özellikle N-terminal dizileri olmak üzere aminoasit dizilerinin benzerliklerine ve izoelektrik noktalarına göre yapılmıştır. Yapılan sınıflandırmaya göre GST' ler sitozolik, alfa (GST α , GSTA), mü (GST μ , GSTM), pi (GST π , GSTP) teta (GST θ , GSTT), kappa (GST κ , GSTK), zeta (GSTZ), sigma (GST σ , GSTS) ve bir de primer yapısı suda çözünebilir membrana bağlı mikrozomal bir enzim sınıfı vardır (41,42).

1.2.2. Çalışmaya Konu Olan GST İzozimleri

1.2.2.1. GST MÜ

İnsanlarda M1' den M5' e kadar 5 mu sınıfı GST geni tanımlanmıştır (43,44). Dokularda en yaygın olan GSTM1, kemik, beyin, akciğer, germ hücreleri, kalp, böbrek, over, paratroit, prostat, testis, uterus gibi organlarda; GSTM2 daha çok iskelet kasında; GSTM3 kaslarla birlikte beyin, akciğer ve testislerde; GSTM4 insan lenfoblastoid hücre soylarında ve GSTM5 ise beyinde eksprese edilirler (45).

1.2.2.2. GST TETA

İnsanlarda GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere teta sınıfı GST' lerin iki izoenzimi vardır (46). Kalp, beyin, kolon, böbrek, over, snovial mebran, paratroid, prostat, uterus, timus ve testis gibi doku ve organlarda eksprese olurlar (47,48).

1.3. Dermatofitler ve Candidal İntertrigo

1.3.1. Dermatofitler

Etkeni, Trichophyton'lar, Microsporum'lar ve Epidermophyton cinslerinden oluşan dermatofitler, Ascomycetes sınıfında yer alırlar.

Dermatofitler insanda deri, kıl ve tırnaklarda yerleşerek dermatofitozis (dermatophytosis) denen enfeksiyonlara yol açarlar. Bu enfeksiyonların bazılarına her yerde, bazılarına ise lokal bölgelerde rastlanılır.

Dermatofitlerin yayılışına onların insancıl (antropofilik), hayvancıl (zoofilik) ve toprakçıl (jeofilik) olmaları etkilidir. Antropofilik dermatofitler, genellikle her bölgede bulunduğu halde, jeofilik dermatofitler ve bir dereceye kadar zoofilik dermatofitler belirli bölgelerde yerleşmeler gösterirler.

İnsanlar, genellikle yine enfeksiyonlu diğer insanlardan, memeli hayvanlardan ve nadiren de kanatlı hayvanlardan enfekte olurlar. Özellikle enfeksiyonlu insanlar başlıca dermatofitoz kaynaklarıdır (49,50).

Dermatofitlerin deriden atılmasında hücrel immun yanıt da rol oynamaktadır. İmmun yanıtın en önemli elemanı T lenfositleridir. Çalışmalar dermatofitozlarda iyileşme için T lenfosit aktivasyonunun çok önemli bir nokta olduğunu göstermiştir. Epidermal langerhans hücreleri de immun yanıt da rol oynamaktadır. Bu hücrelerin insan lenfositleri ile yapılan karışım kültürlerinde antijen sunucu hücreler gibi hareket ettikleri saptanmıştır. T lenfositlerinin hangi mekanizma ile iyileşme sürecini etkiledikleri ise iyi anlaşılamamıştır (51,52).

1.3.1.1. Çalışmaya Konu olan Dermatofitler

Dermatofitozlar, tutulan bölgeye, etken olan dermatofite ve konağın immun yanıtına göre değişik klinik bulgular gösterirler. Antropofilik dermatofitler stratum korneum, kıl, tırnak keratini içinde kalmakta ve ağır dermoepidermal yangısal reaksiyonlara neden olmamaktadırlar. Bunların enfeksiyonlarında inflamasyon az oranda görülmekte, kronikleşmeye ise sıklıkla rastlanmaktadır. Bunun sonucu hastada allerji gelişir. Oluşan allerji ile birlikte hastanın fungusu karşı direnç geliştirmesi de söz konusudur. Bu enfeksiyonlar kendiliğinden iyileşmeye eğilimli olup reinfeksiyona karşı da yerel bir direnç gösterebilirler (51,53). Dermatofitozlar tutulan bölgeye göre adlandırılırlar.

1.3.1.1.1. *Tinea versicolor*

Pityriasis versicolor olarak da bilinen *T. versicolor* enfeksiyonları yaz aylarında yayılma insidansı artan ve kış aylarında azalan bir enfeksiyon çeşidi olup, özellikle gençlerde, erkeklerde kadınlara oranla daha fazla görülmektedir. Hastalığın oluşumunda ağır kronik hastalıklar, gebelik, kortikosteroid tedavileri önemli rol oynar.

Daha çok saçsız veya kılsız deriyi tutan enfeksiyonun lezyonları, mercimek büyüklüğünden başlayıp el ayası büyüklüğüne ya da daha fazla büyüklüklere ulaşabilir. Rastlanma sıklığının sırasına göre kahverengi, sütlü kahverengi, sarı ve beyaz renklerde olan *T. versicolor*, vücudun elbiseyle kaplı olan bölgelerinde lokalize olurlar. Bunun nedeni, elbiseyle kaplı olan bölgelerdeki havanın CO₂ miktarının, açık bulunan bölgelerden daha çok olmasıdır (49,50) .

1.3.1.1.2. *Tinea inguinalis*

Kasık, pubik bölge ve kalçaların dermatofitozu olan, tüm dünyada ve erkeklerde daha sık rastlanan bu enfeksiyon, özellikle 18-25 ile 40-50 yaşlarda en yüksek prevalansı göstermektedir. Lezyon genelde uyluğun ön yüzünde nadiren de skrotumda papul ve püstül geliştirerek yerleşir. Şişmanlık, çok terleme, dar giysiler, suspansuvar gibi atletik destekler ve ıslak mayo, enfeksiyonu kolaylaştırıcı faktörlerdir. Başkalarının giysilerini kullanma ve cinsel ilişkiyle de geçebilen *Tinea inguinalis* çok bulaşıcı olup sıklıkla otoinokulasyon sonucu gelişmektedir. Okul, hastane, kışla ve spor salonlarında küçük epidemiler görülebilir (49-51,54-56).

1.3.1.1.3. *Tinea pedis*

Dermatofitozların en yaygın formu olarak bilinen *Tinea pedis*, yayılış bölgelerinin dağılımlarına göre en çok ayaklarda görülmektedir (Şekil 1.1.)



Şekil 1.1. *Tinea pedis* ile infekte olan ayak (N.S.A. isimli hastadan)

Enfeksiyon, 20-50'li yaş gruplarında, yatılı okullar, kıışlalar, spor salonları gibi toplu yaşanan yerlerde ve ayrıca yaz aylarında kadınlara oranla daha fazla kapalı ayakkabı giymelerinden dolayı, erkeklerde daha sık görülebilmektedir. Özellikle sıcak havalarda kapalı ve sıkı ayakkabılar ile sentetik çorapların giyimi, aşırı terleme gibi faktörlerin yanında enfeksiyona, ortak kullanılan duş, hamam, banyo, otel ve hatta ev odalarında yerlere dökülen infekte epitel döküntülerine çıplak ayakla basmak suretiyle de maruz kalımlabilmektedir (54).

1.3.1.1.4. *Tinea corporis*

Hastalık en fazla alın, yanaklar, boyun, el, sırt, karın ve bacaklarda görülmekte olup kadın ve erkeklerde tüm yaş gruplarında görülebilmektedir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. *Tinea corporis* ile infekte olan boyun bölgesi

(K.D. isimli hastadan)

Lezyonları 4 mm. ile 2-3 cm. çapında olup, en çok yuvarlak daha az olarak oval, bazen de biçimsiz plaklı şekiller göstermektedir. Bu plaklar keskin kenarlı ve ilk günlerde her tarafı eritemli-skuvamlı iken birkaç gün sonra ortaları normal deri görünümü alır. Çevrede şiddetli bir eritem-skuvam devam eder. Kenarları bir bistüri ile kazınırsa nokta şeklinde sulanan yerlerde veziküllerin bulunduğu ortaya çıkar. Plaklar ortadan çevreye doğru genişler (49,50).

1.3.1. Candidal intertrigo

Kandidiyazis olarak da bilinen bu hastalığın etmeni *Candida albicans*'tır. Saccharomyces sınıfında yer alan bu patojen, boğaz, üst solunum yolları,

gastrointestinal kanal ve vajinanın normal flora üyesidir. Ancak her hangi bir nedenle buldukları bölgelerde miktarlar artarsa veya normal floralarının dışına çıkarlarsa endojen tipte hastalık oluştururlar (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. *Candida albicans* ile infekte olan boyun bölgesi (R.O. isimli hastadan)

Candida albicans'ın sebep olduğu bu hastalık ağız, vajina, deri, tırnaklar, bronş veya akciğerlerde lezyonlar oluşturabilen, daha az olarak da septisemi, menenjit, ve endokardite sebep olabilen akut veya subakut bir hastalıktır. Candidanın saprotrof durumdan patojen duruma geçmesinde endojen ve eksojen faktörler neden olmaktadır. Bunlar; yaş, genel enfeksiyonlar, şişmanlık ve şeker hastalığı gibi metabolik hastalıklar, fazla terleme, dolaşım bozukluğu rahatsızlıkları, gastrointestinal hastalıklar gibi etmenler endojen kökenli olup; travmalar, havanın nemindeki artışlar, ortamın asit ve bazlılığının deriye etkileri, mantarın virulansı ve patojenitesi gibi etmenler de eksojen kökenli faktörler şeklinde sıralanabilir.

Kandidiyazis, gebelik, lösemi, fazla antibiyotik kullanımı, alkolizm, hücrel immüitenin baskılandığı durumlarda en sık görülen fırsatçı bir enfeksiyondur. İnfeksiyona zemin hazırlayan faktörler sonucunda *C. albicans*'ın kolonizasyonu artar ve çeşitli enfeksiyonlar gelişebilir (49,50).

Marissa vd. 2005 yaptıkları çalışmada antimikrobiyal peptidlerin deride immun savunmada önemli rollerinin olduğunu göstermişler; Jensens' vd. 2005, Lu vd. 2006, Gambichler vd. 2007 yaptıkları çalışmalarda *Tinea corporis*, *Candida albicans* ve Atopic dermatitis enfeksiyonlarında antimikrobiyal peptidlerin bu enfeksiyonlardaki etkilerini araştırmışlardır (57-60).

Baz vd., 2004 yaptıkları çalışmada kontakt dermatitli hastalarda GSTT1 ve GSTM1 izozimlerinin bu hastalıktaki rolünü göstermiş, Kerb vd. 1997 yaptıkları çalışmada ise UV ışınlarına karşı derinin kendini korumada GSTT1 ve GSTM1 izozimlerinin önemini vurgulamışlardır (61,62).

Bu çalışmanın amacı; derinin *T. versicolor*, *T. inguinalis*, *T. pedis*, *T. corporis* ve *C. albicans* enfeksiyonlarına karşı human beta defensin 1,2,3 ve LL-37 antimikrobiyal peptidlerinin ve antioksidan enzimler olan glutatyon-S-transferaz Mü ve Teta izozimlerinin ekspresyonlarını ve bu proteinlerin bu hastalıklardaki etkinliğini araştırmaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar

- Primer Antikor (hBD-1, hBD-2, hBD-3, LL-37, GSTM4, GSTT1)
- Sekonder Antikor (Biotinylated secondary antikor), (Dako)
- TBS buffer (Thermo, USA)
- %30' luk H₂O₂ Solusyonu (Sigma)
- Ksilol (Merck)
- Etanol (Merck, Almanya)
- Metanol (Merck, Almanya)
- Sodyum sitrat (Sigma)
- Sitrik asit (Sigma)
- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal Goat Serum)(Dako)
- ABC HRP(Avidin Biotin Complex Horse Radish Peroxidase), (Dako)
- Hematoksilen (Shandon)
- DAB (Diamino benzidin) (Dako)

2.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanması

- H₂O₂ Blokajı Solüsyonunun Hazırlanışı: 30 ml %30'luk H₂O₂ üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.
- Antijen Retrieval Solüsyonunun Hazırlanışı (0,01 M, pH: 6.0): 2,101 gr sitrik asit (A) 100ml distile suda; 0,1 M 14,7 gr sodyum sitrat (B) 500ml distile suda çözüldü. 9 ml A solüsyonundan, 41 ml B solüsyonundan alınarak 500 ml'ye distile su ile tamamlandı.

- 0,005 M Tris Tamponunun Hazırlanışı: 60,55 gr tris base, 85,20 gr NaCl 500 ml distile suda çözülür. 370 ml 1 M HCl eklenerek pH: 7,6'ya getirilip 1lt'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100ml distile suyla dilüe edilerek kullanılır.)

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Etüv
- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı
- pH metre
- Vortex
- Rotatör
- Düdüklü tencere
- Isıtıcı
- Hassas Terazi
- Araştırma mikroskobu (kameralı)

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmada, Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği'ne 2008-2009 yılları arasında dermatolojik şikâyetlerle başvuran, yaş ortalamaları $35,94 \pm 14,76$ olan 27 erkek ve 26 kadın olmak üzere toplam 53 kişi çalışma grubu olarak belirlendi. Klinisyen tarafından teşhisleri konulan 8 *Tinea inguinalis*'li, 3 *Tinea corporis*'li, 15 *Tinea versicolor*'lu, 15 *Tinea pedis*'li ve 3

Candida albicans'lı toplam 44 kişi hasta grubu, hiçbir teşhis almayan 9 kişi ise kontrol grubu olarak belirlendi (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Hasta ve Kontrol gruplarının klinik bilgileri

HASTA ADI	CİNSİYET	YAŞ	TEŞHİS
R.K.	E	20	<i>T. inguinalis</i>
A.K.	E	42	<i>T. inguinalis</i>
H.G.	E	36	<i>T. inguinalis</i>
O.M.	E	20	<i>T. inguinalis</i>
Ş.G.	E	43	<i>T. inguinalis</i>
C.L.	E	17	<i>T. inguinalis</i>
H.Ç.	E	27	<i>T. inguinalis</i>
A.D.	K	50	<i>T. inguinalis</i>
S.Y.	E	20	<i>T. corporis</i>
K.D.	E	32	<i>T. corporis</i>
A.A.	K	82	<i>T. corporis</i>
O.D.	E	42	<i>T. versicolor</i>
F.S.	K	45	<i>T. versicolor</i>
K.T.G.	K	19	<i>T. versicolor</i>
T.G.	E	18	<i>T. versicolor</i>
Y.S.	E	20	<i>T. versicolor</i>
K.Y.	E	29	<i>T. versicolor</i>
T.C.	E	33	<i>T. versicolor</i>
A.E.	E	23	<i>T. versicolor</i>
O.Y.	E	58	<i>T. versicolor</i>
H.Y.	E	56	<i>T. versicolor</i>
A.I.	E	45	<i>T. versicolor</i>
I.O.	E	28	<i>T. versicolor</i>
N.S.	K	29	<i>T. versicolor</i>
E.A.	K	18	<i>T. versicolor</i>
B.Y.	E	35	<i>T. versicolor</i>
F.Y.	K	37	<i>T. pedis</i>
G.S.	K	17	<i>T. pedis</i>
İ.A.	E	24	<i>T. pedis</i>
M.İ.	E	35	<i>T. pedis</i>
S.S.	K	40	<i>T. pedis</i>
R.D.	E	28	<i>T. pedis</i>
M.K.	K	30	<i>T. pedis</i>
C.U.	K	25	<i>T. pedis</i>
A.B.	K	33	<i>T. pedis</i>
N.G.	K	24	<i>T. pedis</i>
S.K.	E	57	<i>T. pedis</i>
N.S.A.	K	51	<i>T. pedis</i>
O.A.	E	44	<i>T. pedis</i>
H.GU.	K	35	<i>T. pedis</i>
A.KA.	K	43	<i>T. pedis</i>

R.O.	K	27	<i>C. albicans</i>
Ş.Ç.	K	73	<i>C. albicans</i>
H.Ş.	K	42	<i>C. albicans</i>
E.K.	K	49	KONTROL
F.SA.	K	68	KONTROL
F.D.	K	26	KONTROL
A.AK.	K	37	KONTROL
H.YI.	E	50	KONTROL
N.U.	K	45	KONTROL
N.D.	K	20	KONTROL
Y.A.	E	30	KONTROL
A.S.	K	28	KONTROL

Klinisyen tarafından teşhisleri konulan hasta ve kontrol gruplarından punch biyopsi yöntemiyle yaklaşık 4mm çapında doku örnekleri alınıp patoloji laboratuvarında parafin bloklama işlemleri gerçekleştirildi (58). Hazırlanan parafin bloklardan her bir doku için poly-L-lysin kaplı lamlara mikrotom vasıtasıyla 6 adet kesit alındı.

Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immünohistokimya (IHC) yöntemi ile GSTM4 (1:50), GSTT1(1:100), hBD-1 (1:100), hBD-2 (1:100), hBD-3 (1:100) ve LL-37 (1:100) antiserumları (antikorları) ile bölüm 2.2.2.'de ayrıntılı olarak açıklanan prosedüre göre boyandı. IHC uygulanan preparatlar, araştırma mikroskopunda boyanma şiddetine ve boyanma yüzdelere bakılarak patolojla birlikte değerlendirmeleri yapıldı ve fotoğrafları çekildi. Değerlendirme boyanma şiddeti için; boyanma olmaması durumu (0), zayıf boyanma (1+), orta şiddette boyanma (2+), şiddetli boyanma (3+) olacak şekilde; boyanma yüzdesi için hücrelerin; %0 için boyanma yok, %0-10 için (1+), %10-50 için (2+) ve >%50 için (3+) olacak şekilde yapıldı.

2.2.2. İmmunohistokimya Prosedürü

Dokular, deparafinizasyon için etüvde 70°C'de 1 saat, ısınmış ksilolde 10 dakika bekletildi. Etüvden çıkarılan preparatlar soğuması için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi ve ardından alçalan alkol serilerinden 1 er dakika geçirildi. Distile suda 1-2 dakika bekletilen preparatlar endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için 10 dakika H₂O₂ blokajında bekletildi. Çeşme suyunda 5 dakika yıkanan preparatlar TBS buffer'a batırılıp çıkarıldıktan sonra Antijen Retrieval Solüsyonu içerisinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı. Nonspesifik boyanmanın engellenmesi amacıyla Protein Blocking Solüsyonunda 10 dakika bekletilen preparatlara 1 saat süreyle hazırlanan antikorlar uygulandı. Aralarda TBS buffer'la 3 kere yıkanmak şartıyla örneklerle sırasıyla, 10 dakika sekonder antikor ardından streptavidin-proksidaz kompleksi uygulandı. Tekrar 3 kere TBS buffer'la yıkanan preparatlar 10 dakika DAB da tutulduktan sonra 1 dakika distile suda yıkandı. 2 dakika hemotoksilende bekletilen preparatlar yükselen alkol serilerinden 1 er dakika geçirilerek ksilolde 5 dakika bekletildi. Son olarak entellan ile preparatlar kapatıldı (71).

2.2.3. İstatistiksel Analiz

Yapılan bu çalışmada, her bir proteinin ekspresyonu boyama şiddeti ve yüzdesine göre, her bir hastalık ve kontrol grubu için ayrı ayrı istatistiksel olarak değerlendirildi. Buna göre, varyansların homojenliğini görmek için Levene's Testi yapıldı. Daha sonra ortalamalar arasında farklılıkların olup olmadığını anlamak için t-Testi uygulandı. Farklılıkların olduğu durumlarda Multiple Comparisons Testi

uygulanıp varyansların homojenliğinde Tukey, varyansların homojen olmadığı durumlarda ise Tamhane T2 Testleri uygulanarak farklılıkların hangi değişkenler arasında olduğu tespit edildi. Ayrıca hastalık durumlarında proteinlerin birbirleri arasındaki ilişkileri inceleyebilmek için de Pearson Correlation Testi uygulandı (72).

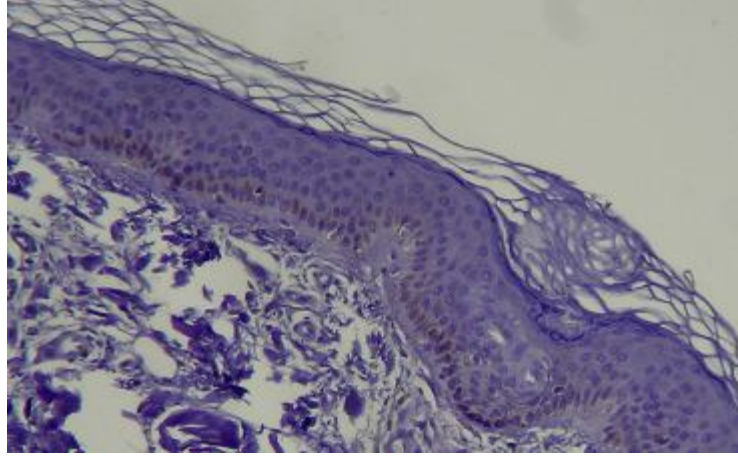
3. BULGULAR

3.1. Antimikrobiyal Peptidler ve Glutasyon-S-Transferaz İzozimlerinin Dokulardaki Dağılımı

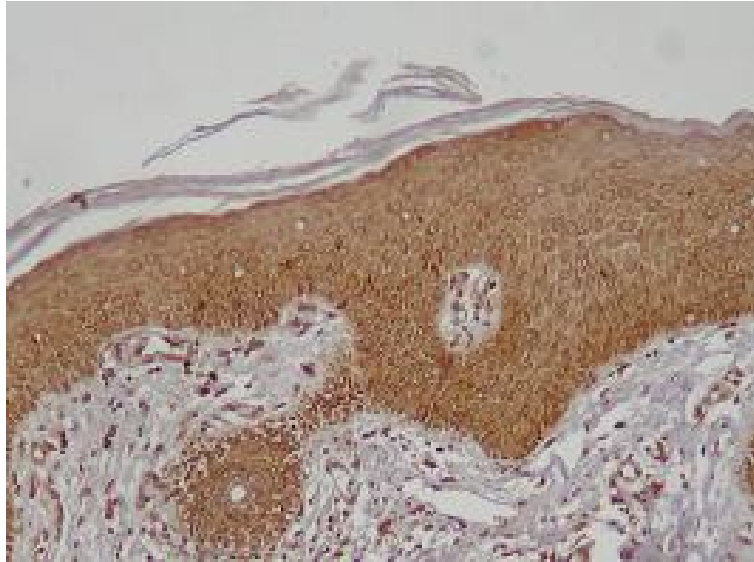
3.1.1. *Tinea inguinalis*'li Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları

Bu patojenle infekte olan dokulara bakıldığında; glutasyon-S-Transferaz izozimleri olan, GSTT1'in, toplam 8 hastadan 3 (%37,5)'ünde +1 şiddetinde eksprese edildiği, 4 (%50) hastada +3 şiddetinde eksprese edildiği ve 1 (%12,5) hastada hiç eksprese edilmediği görülmüştür. GSTM4'ün 4 (%50) hastada +1 şiddetinde, 4 (%50) hastada da +2 şiddetinde eksprese edildiği görülmüştür.

Antimikrobiyal peptidlerden hBD-1'in 4 (%50) hastada +1 şiddetinde (Şekil 3.1), 2 (%25) hastada +2 şiddetinde eksprese edildiği, 2 (%25) hastada ise hiç eksprese edilmediği görülmüştür. hBD-2'nin 6 (%75) hastada +1 eksprese edildiği, 2 (%25) hastada ise ekspresyonun olmadığı görülmüştür. hBD-3'ün 3 (%37,5) hastada +1 şiddetinde, 3 (%37,5) hastada +2 şiddetinde eksprese olduğu, 2 (%25) hastanın ise bu peptidi eksprese etmediği görülmüştür. LL-37'nin 1 (%12,5) hastada +2 ve 7 (%87,5) hastada +3 şiddetinde eksprese olduğu görülmüştür (Şekil 3.2) (Çizelge 3.1.).



Şekil 3.1. *T. inguinalis* ile infekte olan dokunun (H.G. isimli hastadan) hafif şiddette hBD-1 ekspresyonu



Şekil 3.2. *T. inguinalis* ile infekte olan dokunun (C.L. isimli hastadan) şiddetli LL-37 ekspresyonu

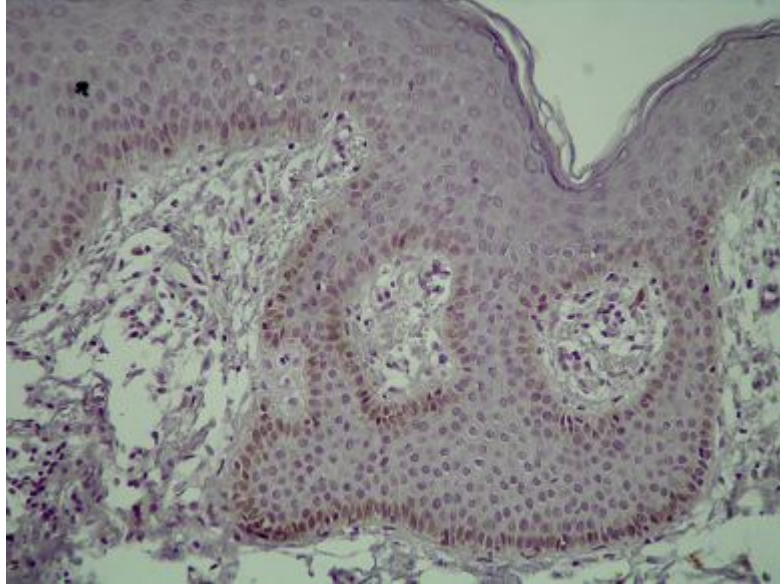
3.1.2. *Tinea corporis*'li Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları

Bu patojenle infekte olan 3 hastanın dokularına bakıldığında; glutatyon-S-transferaz izozimleri olan, GSTT1'in tüm hastalarda (%100) +3 şiddetinde, GSTM4'ün ise +1 şiddetinde eksprese oldukları görülmüştür.

Antimikrobiyal Peptidlerden hBD-1'in 2 (%66,7) hastada eksprese edilmediği, 1 (%33,3) hastanın ise +1 şiddetinde bu peptidi eksprese ettiği görülmüştür. hBD-2'nin hiçbir hastada eksprese olmadığı görülürken, hBD3'ün 1 (%33,3) hastada +1, 1 (%33,3) hastada +2 şiddetlerinde eksprese edildiği, 1 (%33,3) hastada ise eksprese olmadığı görülmüştür. LL-37'nin ise 2 (%66,7) hastada +1 ve 1 hastada +3 (%33,3) şiddetinde eksprese olduğu görülmüştür (Çizelge 3.1.).

3.1.3. *Tinea versicolor*'lu Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları

Bu patojenle infekte olan 15 hastanın dokularına bakıldığında; glutatyon-S-transferaz izozimleri olan, GSTT1'in, toplam 1 (%6,7)'ünde +1 şiddetinde eksprese edildiği, 5 (%33,3) hastada +2 şiddetinde (Şekil 3.3), 9 (%60) hastada +3 şiddetinde eksprese edildiği görülmüştür. GSTM4'ün 9 (%60) hastada +1 şiddetinde, 6 (%40) hastada da +2 şiddetinde eksprese edildiği görülmüştür.



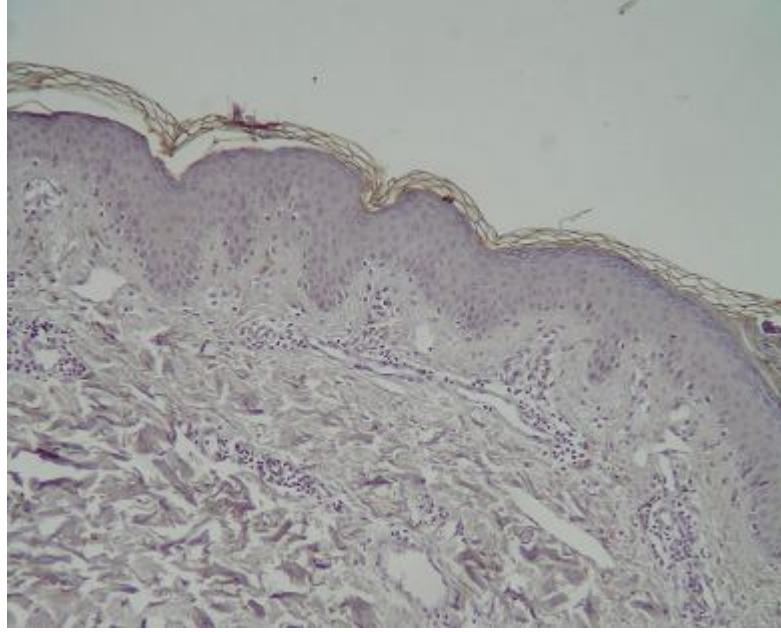
Şekil 3.3. *T. versicolor* ile infekte olan dokunun (T.C. isimli hastadan) orta şiddette GSTT1 ekspresyonu

Antimikrobiyal Peptidlerden hBD-1'in 7 (%46,7) hastada +1 şiddetinde, 2 (%13,3) hastada +2 şiddetinde eksprese olduğu görülürken, 6 (%40) hastada eksprese olmadığı görülmüştür. hBD-2'nin 6 (%40) hastada +1 şiddetinde eksprese olduğu görülürken 9 (%60) hastada hiç eksprese olmadığı görülmüştür. hBD-3'ün 8 (%53,3) hastada +1 şiddetinde, 2 (%13,3) hastada +2 şiddetinde, 1 (%6,7) hastada +3 şiddetinde eksprese olduğu, 4 (%26,7) hastada da ekspresyonun gözlenmediği görülmüştür. LL-37'nin 3 (%20) hastada +1 şiddetinde, 6 (%40) hastada +2 şiddetinde, 5 hastada (%33,3) +3 şiddetinde eksprese olduğu, 1 (%6,7) hastada da ekspresyonun olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.1.).

3.1.4. *Tinea pedis*'li Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları

Bu patojenle infekte olan 15 hastanın dokularına bakıldığında; glutatyon-S-transferaz izozimleri olan, GSTT1'in 13 (%86,7) hastada +3 şiddetinde eksprese olduğu görülürken 2 (%13,3) hastada ekspresyonun olmadığı görülmüştür. GSTM4'ün 11 (%73,3) hastada +1 şiddetinde, 1 (%6,7) hastada +2 şiddetinde eksprese olduğu, 3 (%20) hastada ise eksprese olmadığı görülmüştür.

Antimikrobiyal Peptidlerden hBD-1'in 10 (%66,7) hastada +1 şiddetinde, 2 (%13,3) hastada +2 şiddetinde eksprese olduğu görülürken, 3 (%20) hastada eksprese olmadığı görülmüştür. hBD-2'nin 3 (%20) hastada +1 şiddetinde, 1 (%6,7) hastanın +2 şiddetinde eksprese olduğu görülürken 11 (%73,3) hastada hiç eksprese olmadığı görülmüştür. hBD-3'ün 6 (%40) hastada +1 şiddetinde, 1 (%6,7) hastada +2 şiddetinde eksprese olduğu, 7 (%246,7) hastada da ekspresyonun gözlenmediği görülmüştür (Şekil 3.4). LL-37'nin 1 (%6,7) hastada +1 şiddetinde, 11 (%73,3) hastada +2 şiddetinde, 2 hastada (%13,3) +3 şiddetinde eksprese olduğu, 1 (%6,7) hastada da ekspresyonun olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.1.).



Şekil 3.4. *T. pedis* ile infekte olan dokunun (M.I. isimli hastadan) negatif hBD-3 ekspresyonu

3.1.5. *Candida albicans*'lı Hastaların Dokularındaki Peptid Dağılımları

Bu patojenle infekte olan 3 hastanın dokularına bakıldığında; glutatyon-S-transferaz izozimleri olan, GSTT1'in tüm hastalarda (%100) +3 şiddetinde GSTM4'ün ise +1 şiddetinde eksprese oldukları görülmüştür.

Antimikrobiyal Peptidlerden hBD-1'in 1 (%33,3) hastada eksprese edilmediği, 2 (%66,7) hastanın ise +1 şiddetinde bu peptidi eksprese ettiği görülmüştür. hBD-2'nin hiçbir hastada eksprese olmadığı görülürken, hBD3'ün 2 (%66,7) hastada +1 şiddetinde eksprese olduğu görülürken , 1 (%33,3) hastada ise eksprese olmadığı görülmüştür. LL-37'nin ise 1 (%33,3) hastada +1 şiddetinde, 1 hastada +2 (%33,3) şiddetinde ve 1 (%33,3) hastada +3 şiddetinde eksprese olduğu görülmüştür (Çizelge 3.1.).

3.1.6. Kontrol Grubunun Dokularındaki Peptid Dağılımları

Dermatolojik şikâyetlerle kliniğe başvuran ancak herhangi bir klinik tanının konmadığı toplam 9 kontrol grubunun glutatyon-S-transferaz izozimleri'nden GSTT1'ine bakıldığında 7 (%77,7) kişinin dokularında bu peptidin +1 şiddetinde, 2 (%13,3) kişinin +2 şiddetinde eksprese edildiği görülmüştür. GSTM4'ün 6 (%66,7) kişide +2 şiddetinde, 3 (%33,3) kişide +3 şiddetinde eksprese olduğu görülmüştür.

Antimikrobiyal Peptidlerden hBD-1'in 4 (%44,4) kişide +1 şiddetinde, 4 (%44,4) kişide +2 şiddetinde, 1 (%11,1) kişide +3 şiddetinde eksprese edildiği görülmüştür. hBD-2'nin 6 (%66,7) kişide +1 şiddetinde, 2 (%22,2) kişide +2 şiddetinde eksprese olduğu, 1 (%11,1) kişide ekspresyonun olmadığı görülmüştür. hBD3'ün 5 (%55,6) kişide +1 şiddetinde eksprese olduğu görülürken, 4 (%44,4) kişide +2 şiddetinde eksprese olduğu görülmüştür. LL-37'nin ise 2 (%22,2) kişide +1 şiddetinde, 5 hastada +2 (%55,6) şiddetinde ve 2 (%22,4) hastada +3 şiddetinde eksprese olduğu görülmüştür (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-Transferaz İzozimlerinin Hastalıklı ve Kontrol Grubundaki Dokularda Dağılımı

BOYAMA ŞİDDETİ							
ADI SOYADI	KLİNİK TANI	GSTT1	GSTM4	HβD-1	HβD-2	HβD-3	LL-37
R.K.	<i>Tinea inguinalis</i>	+1	+1	+2	+1	+1	+3
A.K.	<i>Tinea inguinalis</i>	0	+2	+2	+1	+2	+3
H.G.	<i>Tinea inguinalis</i>	+1	+2	+1	+1	+1	+3
O.M.	<i>Tinea inguinalis</i>	+1	+1	+1	+1	+2	+3
Ş.G.	<i>Tinea inguinalis</i>	+3	+1	0	0	0	+3
C.L.	<i>Tinea inguinalis</i>	+3	+2	+1	+1	+2	+3
H.Ç.	<i>Tinea inguinalis</i>	+3	+1	+1	+1	+1	+2
A.D.	<i>Tinea inguinalis</i>	+3	+2	0	0	0	+3
S.Y.	<i>Tinea corporis</i>	+3	+1	0	0	+2	+2
K.D.	<i>Tinea corporis</i>	+3	+1	0	0	0	+1
A.A.	<i>Tinea corporis</i>	+3	+1	+1	0	+1	+3
O.D.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+1	0	0	0	+1
F.S.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+1	+1	0	+1	+2
K.T.G.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+2	0	0	0	+1
T.G.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+1	0	0	+1	0
Y.S.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+2	+1	+1	+3	+3
K.Y.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+2	0	0	+1	+3
T.C.	<i>Tinea versicolor</i>	+2	+1	+1	0	+1	+3
A.E.	<i>Tinea versicolor</i>	+2	+1	+2	0	+1	+3
O.Y.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+2	+1	+1	+2	+1
H.Y.	<i>Tinea versicolor</i>	+2	+2	0	0	0	+2
A.I.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+1	+2	+1	+1	+3
I.O.	<i>Tinea versicolor</i>	+3	+1	+1	+1	+1	+2
N.S.	<i>Tinea versicolor</i>	+2	+1	+1	+1	+2	+2
E.A.	<i>Tinea versicolor</i>	+2	+1	0	0	0	+2
B.Y.	<i>Tinea versicolor</i>	+1	+2	+1	+1	+1	+2
F.Y.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+1	0	0	+2
G.S.	<i>Tinea pedis</i>	+3	0	0	0	+1	+2
İ.A.	<i>Tinea pedis</i>	0	+1	+1	0	+1	+2
M.İ.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	0	+1	0	+2
S.S.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	0	0	0	+2
R.D.	<i>Tinea pedis</i>	0	+1	+1	0	0	+2
M.K.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+1	0	+1	+2
C.U.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+1	0	+1	+2
A.B.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+2	+1	+1	0	+2
N.G.	<i>Tinea pedis</i>	+3	0	+1	+1	+1	+3
S.K.	<i>Tinea pedis</i>	+3	0	+1	0	+1	+2
N.SA.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+2	+2	+2	+1
O.A.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+1	0	0	0
H.GU.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+2	0	0	+2
A.KA.	<i>Tinea pedis</i>	+3	+1	+1	0	0	+3
R.O.	<i>Candida albicans</i>	+3	+1	0	0	+1	+1
Ş.Ç.	<i>Candida albicans</i>	+3	+1	+1	0	+1	+2
H.Ş.	<i>Candida albicans</i>	+3	+1	+1	0	0	+3

E.K.	KONTROL	+2	+2	+2	+2	+2	+2
F.SA.	KONTROL	+1	+2	+1	+1	+2	+2
F.D.	KONTROL	+1	+3	+2	+1	+2	+2
A.AK.	KONTROL	+1	+3	+1	0	+1	+1
H.YI.	KONTROL	+1	+2	+1	+1	+1	+2
N.U.	KONTROL	+2	+3	+3	+1	+2	+3
N.D.	KONTROL	+1	+2	+2	+1	+1	+1
Y.A.	KONTROL	+1	+2	+1	+2	+1	+2
A.S.	KONTROL	+1	+2	+2	+1	+1	+3

3.2. İstatistiksel Bulgular

Hastalıklı ve sağlıklı bireylerde protein ekspresyonlarının ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları görmek için T- Test yapıldı. Buna göre;

Tinea inguinalis'li hastalarda, GSTM4 izoziminin sağlıklı bireylerde, bu enfeksiyona maruz kalan hastalardan daha fazla ($p=0,005<0,05$), LL-37'nin ise bu enfeksiyona maruz kalan hastalarda, sağlıklı bireylere göre daha fazla ($p=0,006<0,05$) eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. *Tinea inguinalis*'li hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
GSTT1	Equal variances assumed	31,366	,000	1,476	15	,161	,653	,442	-,290	1,596
	Equal variances not assumed			1,405	8,552	,195	,653	,465	-,407	1,712
GSTM4	Equal variances assumed	,882	,362	-3,321	15	,005	-,833	,251	-1,368	-,299
	Equal variances not assumed			-3,307	14,466	,005	-,833	,252	-1,372	-,295
HBD1	Equal variances assumed	,192	,668	-1,879	15	,080	-,667	,355	-1,423	,090
	Equal variances not assumed			-1,871	14,466	,082	-,667	,356	-1,429	,095
HBD2	Equal variances assumed	,014	,908	-1,374	15	,190	-,361	,263	-,921	,199
	Equal variances not assumed			-1,396	14,739	,183	-,361	,259	-,913	,191
HBD3	Equal variances assumed	1,150	,300	-,956	15	,354	-,319	,334	-1,032	,393
	Equal variances not assumed			-,930	11,571	,371	-,319	,343	-1,071	,432
LL37	Equal variances assumed	1,192	,292	3,159	15	,006	,875	,277	,285	1,465
	Equal variances not assumed			3,280	12,044	,007	,875	,267	,294	1,456

Tinea corporis'li hastalarda, GSTT1 izoziminin bu enfeksiyona maruz kalan hastalarda, sağlıklı bireylere göre daha fazla ($p=0,000<0,05$), GSTM4 izoziminin ve hBD-1 ile hBD-2 proteinlerinin sağlıklı bireylerde, bu enfeksiyona maruz kalan kişilerde oranla daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,000$; $0,015$; $0,011<0,05$) (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. *Tinea corporis*'li hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması

		Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
GSTT1	Equal variances assumed	5,600	,040	6,761	10	,000	1,778	,263	1,192	2,364
	Equal variances not assumed			12,095	8,000	,000	1,778	,147	1,439	2,117
GSTM4	Equal variances assumed	20,000	,001	-4,472	10	,001	-1,333	,298	-1,998	-,669
	Equal variances not assumed			-8,000	8,000	,000	-1,333	,167	-1,718	-,949
HBD1	Equal variances assumed	,541	,479	-2,928	10	,015	-1,333	,455	-2,348	-,319
	Equal variances not assumed			-3,266	4,235	,028	-1,333	,408	-2,442	-,224
HBD2	Equal variances assumed	2,366	,155	-3,101	10	,011	-1,111	,358	-1,910	-,313
	Equal variances not assumed			-5,547	8,000	,001	-1,111	,200	-1,573	-,649
HBD3	Equal variances assumed	,968	,348	-1,026	10	,329	-,444	,433	-1,410	,521
	Equal variances not assumed			-,736	2,382	,527	-,444	,603	-2,680	1,791
LL37	Equal variances assumed	,385	,549	,000	10	1,000	,000	,516	-1,151	1,151
	Equal variances not assumed			,000	2,703	1,000	,000	,624	-2,114	2,114

Tinea versicolor'lu hastalarda, GSTT1 izoziminin bu enfeksiyona maruz kalan hastalarda, sağlıklı bireylere göre daha fazla ($p=0,000<0,05$), GSTM4 izoziminin ve hBD-1 ile hBD-2 proteinlerinin sağlıklı bireylerde, bu enfeksiyona maruz kalan kişilerde oranla daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,000; 0,005; 0,005<0,05$) (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. *Tinea versicolor*'lu hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
GSTT1	Equal variances assumed	3,766	,065	5,402	22	,000	1,311	,243	,808	1,814
	Equal variances not assumed			5,929	21,435	,000	1,311	,221	,852	1,770
GSTM4	Equal variances assumed	,427	,520	-4,387	22	,000	-,933	,213	-1,375	-,492
	Equal variances not assumed			-4,404	17,182	,000	-,933	,212	-1,380	-,487
HBD1	Equal variances assumed	,002	,968	-3,140	22	,005	-,933	,297	-1,550	-,317
	Equal variances not assumed			-3,136	16,919	,006	-,933	,298	-1,561	-,305
HBD2	Equal variances assumed	,548	,467	-3,105	22	,005	-,711	,229	-1,186	-,236
	Equal variances not assumed			-2,972	14,757	,010	-,711	,239	-1,222	-,200
HBD3	Equal variances assumed	,034	,856	-1,414	22	,171	-,444	,314	-1,096	,207
	Equal variances not assumed			-1,586	21,917	,127	-,444	,280	-1,026	,137
LL37	Equal variances assumed	,809	,378	,000	22	1,000	,000	,360	-,746	,746
	Equal variances not assumed			,000	20,517	1,000	,000	,336	-,699	,699

Tinea pedis'li hastalarda GSTT1 izoziminin bu enfeksiyona maruz kalan hastalarda, sağlıklı bireylere göre daha fazla ($p=0,001<0,05$), GSTM4 izoziminin ve hBD-1, hBD-2 ile hBD-3 proteinlerinin sağlıklı bireylerde, bu enfeksiyona maruz kalan kişilere oranla daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,000$; $0,012$; $0,003$; $0,002<0,05$) (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. *Tinea pedis*'li hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
GSTT1	Equal variances assumed	1,686	,208	3,700	22	,001	1,378	,372	,606	2,150
	Equal variances not assumed			4,449	20,320	,000	1,378	,310	,732	2,023
GSTM4	Equal variances assumed	,550	,466	-6,814	22	,000	-1,467	,215	-1,913	-1,020
	Equal variances not assumed			-6,872	17,436	,000	-1,467	,213	-1,916	-1,017
HBD1	Equal variances assumed	1,616	,217	-2,729	22	,012	-,733	,269	-1,291	-,176
	Equal variances not assumed			-2,608	14,695	,020	-,733	,281	-1,334	-,133
HBD2	Equal variances assumed	,034	,856	-3,359	22	,003	-,844	,251	-1,366	-,323
	Equal variances not assumed			-3,348	16,816	,004	-,844	,252	-1,377	-,312
HBD3	Equal variances assumed	,769	,390	-3,593	22	,002	-,911	,254	-1,437	-,385
	Equal variances not assumed			-3,778	19,634	,001	-,911	,241	-1,415	-,407
LL37	Equal variances assumed	,069	,796	-,224	22	,825	-,067	,297	-,683	,550
	Equal variances not assumed			-,224	16,919	,825	-,067	,298	-,695	,561

Candida albicans'li hastalarda GSTT1 izoziminin bu enfeksiyona maruz kalan hastalarda, sağlıklı bireylere göre daha fazla ($p=0,000<0,05$), GSTM4 izoziminin ve hBD-2 proteininin sağlıklı bireylerde, bu enfeksiyona maruz kalan kişilerde oranla daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$; $0,011<0,05$) (Çizelge 3.6.)

Çizelge 3.6. *Candida albicans*'lı hastaların dokularındaki protein ekspresyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
GSTT1	Equal variances assumed	5,600	,040	6,761	10	,000	1,778	,263	1,192	2,364
	Equal variances not assumed			12,095	8,000				,000	1,778
GSTM4	Equal variances assumed	20,000	,001	-4,472	10	,001	-1,333	,298	-1,998	-,669
	Equal variances not assumed			-8,000	8,000				,000	-1,333
HBD1	Equal variances assumed	,541	,479	-2,196	10	,053	-1,000	,455	-2,015	,015
	Equal variances not assumed			-2,449	4,235				,067	-1,000
HBD2	Equal variances assumed	2,366	,155	-3,101	10	,011	-1,111	,358	-1,910	-,313
	Equal variances not assumed			-5,547	8,000				,001	-1,111
HBD3	Equal variances assumed	,541	,479	-2,171	10	,055	-,778	,358	-1,576	,021
	Equal variances not assumed			-2,064	3,204				,125	-,778
LL37	Equal variances assumed	,385	,549	,000	10	1,000	,000	,516	-1,151	1,151
	Equal variances not assumed			,000	2,703				1,000	,000

İstatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görüldüğü için Multiple Comparisons testleri uygulandı. Bunlardan *Tinea inguinalis* ile enfekte olan hastaların varyansları homojen olmadığı için Tamhane T2 Testi, diğer enfeksiyonlara maruz kalan hastaların varyansları homojen olduğu için Tukey Testi uygulandı. Buna göre;

Tinea inguinalis'li hastalarda antimikrobiyal peptidlerin ve glutatyon-S-transferaz izozimlerine bakıldığında LL-37'nin GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3'den fazla eksprese edildiği ($p=0,001$, $0,001$, $0,000$, $0,005<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 3.7.) .

Çizelge 3.7. *Tinea inguinalis*'li hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması

Multiple Comparisons

Dependent Variable: *T.inguinalis*
Tamhane

(I) factor	(J) factor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTT1	GSTM4	,375	,479	1,000	-1,48	2,23
	HSD1	,875	,515	,844	-1,02	2,77
	HSD2	1,125	,470	,463	-,73	2,98
	HSD3	,750	,530	,951	-1,17	2,67
	LL37	-1,000	,458	,605	-2,87	,87
GSTM4	GSTT1	-,375	,479	1,000	-2,23	1,48
	HSD1	,500	,327	,915	-,68	1,68
	HSD2	,750	,250	,136	-,13	1,63
	HSD3	,375	,350	,996	-,90	1,65
	LL37	-1,375*	,227	,001	-2,20	-,55
HBD1	GSTT1	-,875	,515	,844	-2,77	1,02
	GSTM4	-,500	,327	,915	-1,68	,68
	HSD2	,250	,313	1,000	-,90	1,40
	HSD3	-,125	,398	1,000	-1,53	1,28
	LL37	-1,875*	,295	,001	-3,00	-,75
HBD2	GSTT1	-1,125	,470	,463	-2,98	,73
	GSTM4	-,750	,250	,136	-1,63	,13
	HSD1	-,250	,313	1,000	-1,40	,90
	HSD3	-,375	,337	,994	-1,63	,88
	LL37	-2,125*	,206	,000	-2,86	-1,39
HBD3	GSTT1	-,750	,530	,951	-2,67	1,17
	GSTM4	-,375	,350	,996	-1,65	,90
	HSD1	,125	,398	1,000	-1,28	1,53
	HSD2	,375	,337	,994	-,88	1,63
	LL37	-1,750*	,320	,005	-2,99	-,51
LL37	GSTT1	1,000	,458	,605	-,87	2,87
	GSTM4	1,375*	,227	,001	,55	2,20
	HSD1	1,875*	,295	,001	,75	3,00
	HSD2	2,125*	,206	,000	1,39	2,86
	HSD3	1,750*	,320	,005	,51	2,99

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tinea corporis'li hastalarda GSTT1'in GSTM4, hBD1, hBD2, hBD3'den fazla eksprese edildiği (p=0,019, 0,002, 0,001, 0,019<0,05); LL-37'nin ise hBD-2'den fazla eksprese edildiği (p=0,019<0,5) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. *Tinea corporis*'li hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması

Multiple Comparisons

Dependent Variable: *T. corporis*
Tukey HSD

(I) factor	(J) factor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTT1	GSTM4	2,000*	,509	,019	,29	3,71
	HSD1	2,667*	,509	,002	,96	4,38
	HSD2	3,000*	,509	,001	1,29	4,71
	HSD3	2,000*	,509	,019	,29	3,71
	LL37	1,000	,509	,413	-,71	2,71
GSTM4	GSTT1	-2,000*	,509	,019	-3,71	-,29
	HSD1	,667	,509	,775	-1,04	2,38
	HSD2	1,000	,509	,413	-,71	2,71
	HSD3	,000	,509	1,000	-1,71	1,71
	LL37	-1,000	,509	,413	-2,71	,71
HBD1	GSTT1	-2,667*	,509	,002	-4,38	-,96
	GSTM4	-,667	,509	,775	-2,38	1,04
	HSD2	,333	,509	,984	-1,38	2,04
	HSD3	-,667	,509	,775	-2,38	1,04
	LL37	-1,667	,509	,058	-3,38	,04
HBD2	GSTT1	-3,000*	,509	,001	-4,71	-1,29
	GSTM4	-1,000	,509	,413	-2,71	,71
	HSD1	-,333	,509	,984	-2,04	1,38
	HSD3	-1,000	,509	,413	-2,71	,71
	LL37	-2,000*	,509	,019	-3,71	-,29
HBD3	GSTT1	-2,000*	,509	,019	-3,71	-,29
	GSTM4	,000	,509	1,000	-1,71	1,71
	HSD1	,667	,509	,775	-1,04	2,38
	HSD2	1,000	,509	,413	-,71	2,71
	LL37	-1,000	,509	,413	-2,71	,71
LL37	GSTT1	-1,000	,509	,413	-2,71	,71
	GSTM4	1,000	,509	,413	-,71	2,71
	HSD1	1,667	,509	,058	-,04	3,38
	HSD2	2,000*	,509	,019	,29	3,71
	HSD3	1,000	,509	,413	-,71	2,71

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tinea pedis'li hastalarda GSTT1'in GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3den fazla eksprese edildiği (p=0,000, 0,000, 0,000, 0,000<0,05), LL-37'nin GSTM4, hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'den fazla eksprese edildiği (p=0,001, 0,003, 0,000, 0,000<0,05) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. *Tinea pedis*'li hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması

Multiple Comparisons

Dependent Variable: *T.pedis*
Tukey HSD

(I) Factor	(J) Factor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GST1	GSTM4	1,733 *	,258	,000	,98	2,49
	HBD1	1,667 *	,258	,000	,91	2,42
	HBD2	2,333 *	,258	,000	1,58	3,09
	HBD3	2,067 *	,258	,000	1,31	2,82
	LL-37	,667	,258	,112	-,09	1,42
GSTM4	GSTT1	-1,733 *	,258	,000	-2,49	-,98
	HBD1	-,067	,258	1,000	-,82	,69
	HBD2	,600	,258	,195	-,15	1,35
	HBD3	,333	,258	,788	-,42	1,09
	LL37	-1,067 *	,258	,001	-1,82	-,31
HBD1	GSTT1	-1,667 *	,258	,000	-2,42	-,91
	GSTM4	,067	,258	1,000	-,69	,82
	HBD2	,667	,258	,112	-,09	1,42
	HBD3	,400	,258	,632	-,35	1,15
	LL37	-1,000 *	,258	,003	-1,75	-,25
HBD2	GSTT1	-2,333 *	,258	,000	-3,09	-1,58
	GSTM4	-,600	,258	,195	-1,35	,15
	HBD1	-,667	,258	,112	-1,42	,09
	HBD3	-,267	,258	,905	-1,02	,49
	LL37	-1,667 *	,258	,000	-2,42	-,91
HBD3	GSTT1	-2,067 *	,258	,000	-2,82	-1,31
	GSTM4	-,333	,258	,788	-1,09	,42
	HBD1	-,400	,258	,632	-1,15	,35
	HBD2	,267	,258	,905	-,49	1,02
	LL37	-1,400 *	,258	,000	-2,15	-,65
LL37	GSTT1	-,667	,258	,112	-1,42	,09
	GSTM4	1,067 *	,258	,001	,31	1,82
	HBD1	1,000 *	,258	,003	,25	1,75
	HBD2	1,667 *	,258	,000	,91	2,42
	HBD3	1,400 *	,258	,000	,65	2,15

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tinea versicolor'lu hastalarda GSTT1'in GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3den fazla eksprese edildiği (p=0,000, 0,000, 0,000, 0,000<0,05); GSTM4'ün hBD-2'den fazla eksprese edildiği (p=0,003<0,05); LL-37'nin hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'den fazla eksprese edildiği (p=0,000, 0,000, 0,003<0,05) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.10. *Tinea versicolor*'lu hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması

Multiple Comparisons

Dependent Variable: *T.versicolor*

Tukey HSD

(I) factor	(J) factor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTT1	GSTM4	1,133*	,258	,000	,38	1,89
	HSD1	1,800*	,258	,000	1,05	2,55
	HSD2	2,133*	,258	,000	1,38	2,89
	HSD3	1,533*	,258	,000	,78	2,29
	LL37	,533	,258	,314	-,22	1,29
GSTM4	GSTT1	-1,133*	,258	,000	-1,89	-,38
	HSD1	,667	,258	,112	-,09	1,42
	HSD2	1,000*	,258	,003	,25	1,75
	HSD3	,400	,258	,632	-,35	1,15
	LL37	-,600	,258	,195	-1,35	,15
HSD1	GSTT1	-1,800*	,258	,000	-2,55	-1,05
	GSTM4	-,667	,258	,112	-1,42	,09
	HSD2	,333	,258	,788	-,42	1,09
	HSD3	-,267	,258	,905	-1,02	,49
	LL37	-1,267*	,258	,000	-2,02	-,51
HSD2	GSTT1	-2,133*	,258	,000	-2,89	-1,38
	GSTM4	-1,000*	,258	,003	-1,75	-,25
	HSD1	-,333	,258	,788	-1,09	,42
	HSD3	-,600	,258	,195	-1,35	,15
	LL37	-1,600*	,258	,000	-2,35	-,85
HSD3	GSTT1	-1,533*	,258	,000	-2,29	-,78
	GSTM4	-,400	,258	,632	-1,15	,35
	HSD1	,267	,258	,905	-,49	1,02
	HSD2	,600	,258	,195	-,15	1,35
	LL37	-1,000*	,258	,003	-1,75	-,25
LL37	GSTT1	-,533	,258	,314	-1,29	,22
	GSTM4	,600	,258	,195	-,15	1,35
	HSD1	1,267*	,258	,000	,51	2,02
	HSD2	1,600*	,258	,000	,85	2,35
	HSD3	1,000*	,258	,003	,25	1,75

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Candida albicans'lı hastalarda GST1'in GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3den fazla eksprese edildiği (p=0,006, 0,002, 0,000, 0,002<0,05), LL-37'nin hBD-2'den fazla eksprese edildiği (p=0,006<0,05) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 3.11.).

Çizelge 3.11. *Candida albicans*'lı hastaların dokularındaki proteinlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması

Multiple Comparisons

Dependent Variable: *C. albicans*
Tukey HSD

(I) factor	(J) factor	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTT1	GSTM4	2,000 *	,430	,006	,55	3,45
	HBD1	2,333 *	,430	,002	,89	3,78
	HBD2	3,000 *	,430	,000	1,55	4,45
	HBD3	2,333 *	,430	,002	,89	3,78
	LL37	1,000	,430	,257	-,45	2,45
GSTM4	GSTT1	-2,000 *	,430	,006	-3,45	-,55
	HBD1	,333	,430	,967	-1,11	1,78
	HBD2	1,000	,430	,257	-,45	2,45
	HBD3	,333	,430	,967	-1,11	1,78
	LL37	-1,000	,430	,257	-2,45	,45
HBD1	GSTT1	-2,333 *	,430	,002	-3,78	-,89
	GSTM4	-,333	,430	,967	-1,78	1,11
	HBD2	,667	,430	,643	-,78	2,11
	HBD3	,000	,430	1,000	-1,45	1,45
	LL37	-1,333	,430	,077	-2,78	,11
HBD2	GSTT1	-3,000 *	,430	,000	-4,45	-1,55
	GSTM4	-1,000	,430	,257	-2,45	,45
	HBD1	-,667	,430	,643	-2,11	,78
	HBD3	-,667	,430	,643	-2,11	,78
	LL37	-2,000 *	,430	,006	-3,45	-,55
HBD3	GSTT1	-2,333 *	,430	,002	-3,78	-,89
	GSTM4	-,333	,430	,967	-1,78	1,11
	HBD1	,000	,430	1,000	-1,45	1,45
	HBD2	,667	,430	,643	-,78	2,11
	LL37	-1,333	,430	,077	-2,78	,11
LL37	GSTT1	-1,000	,430	,257	-2,45	,45
	GSTM4	1,000	,430	,257	-,45	2,45
	HBD1	1,333	,430	,077	-,11	2,78
	HBD2	2,000 *	,430	,006	,55	3,45
	HBD3	1,333	,430	,077	-,11	2,78

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Hastalık durumlarında antimikrobiyal peptilerin ve glutatyon-S-transferaz izozimlerinin birbirleri arasındaki ilişkileri incelemek için Pearson Correlation Testi uygulandı. Buna göre;

Tinea inguinalis'li hastalarda GSTT1 ile hBD-1 arasında negatif ($r = -0,758$; $p = 0,029 < 0,05$), hBD-1 ile hBD-2 ($p = 0,013 < 0,05$) ve hBD-2 ile hBD-3 ($0,010 < 0,05$)

arasında pozitif korelasyon ($r = +0,816, +0,832$) olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.12.).

Çizelge 3.12. *Tinea inguinalis*'li hastalarda antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-Transferaz izozimleri arasındaki korelasyon

		GSTT1	GSTM4	HBD1	HBD2	HBD3	LL37
GSTT1	Pearson Correlation	1	-,107	-,758*	-,557	-,532	-,365
	Sig. (2-tailed)		,801	,029	,151	,175	,374
	N	8	8	8	8	8	8
GSTM4	Pearson Correlation	-,107	1	,000	,000	,160	,378
	Sig. (2-tailed)	,801		1,000	1,000	,705	,356
	N	8	8	8	8	8	8
HBD1	Pearson Correlation	-,758*	,000	1	,816*	,679	,000
	Sig. (2-tailed)	,029	1,000		,013	,064	1,000
	N	8	8	8	8	8	8
HBD2	Pearson Correlation	-,557	,000	,816*	1	,832*	-,218
	Sig. (2-tailed)	,151	1,000	,013		,010	,604
	N	8	8	8	8	8	8
HBD3	Pearson Correlation	-,532	,160	,679	,832*	1	,061
	Sig. (2-tailed)	,175	,705	,064	,010		,887
	N	8	8	8	8	8	8
LL37	Pearson Correlation	-,365	,378	,000	-,218	,061	1
	Sig. (2-tailed)	,374	,356	1,000	,604	,887	
	N	8	8	8	8	8	8

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Tinea versicolor'lu hastalarda hBD-1 ile hBD-2 ve LL-37 arasında pozitif korelasyon ($p=0,047, 0,034<0,05$) ($r = +0,520, +0,548$); hBD-2 ile hBD-3 arasında ($p=0,007<0,05$) ($r = +0,667$) pozitif korelasyon olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.13.).

Çizelge 3.13. *Tinea versicolor*'lu hastalarda antimikrobiyal peptidler ve glutatyon-S-Transferaz izozimleri arasındaki korelasyon

		GSTT1	GSTM4	HBD1	HBD2	HBD3	LL37
GSTT1	Pearson Correlation	1	-,044	-,137	-,044	,132	-,241
	Sig. (2-tailed)		,876	,625	,876	,639	,387
	N	15	15	15	15	15	15
GSTM4	Pearson Correlation	-,044	1	-,280	,167	,167	,000
	Sig. (2-tailed)	,876		,312	,553	,553	1,000
	N	15	15	15	15	15	15
HBD1	Pearson Correlation	-,137	-,280	1	,520*	,480	,548*
	Sig. (2-tailed)	,625	,312		,047	,070	,034
	N	15	15	15	15	15	15
HBD2	Pearson Correlation	-,044	,167	,520*	1	,667**	,152
	Sig. (2-tailed)	,876	,553	,047		,007	,588
	N	15	15	15	15	15	15
HBD3	Pearson Correlation	,132	,167	,480	,667**	1	,274
	Sig. (2-tailed)	,639	,553	,070	,007		,323
	N	15	15	15	15	15	15
LL37	Pearson Correlation	-,241	,000	,548*	,152	,274	1
	Sig. (2-tailed)	,387	1,000	,034	,588	,323	
	N	15	15	15	15	15	15

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Son olarak *Tinea pedis*'li hastalarda ise hBD-2 ile hBD-3 arasında ($p=0,038<0,05$) ($r =+0,539$) pozitif korelasyon olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.14.).

Çizelge 3.14. *Tinea pedis*'li hastalarda antimikrobiyal peptidler ve glutatyon S-transferaz izozimleri arasındaki korelasyon

		Correlations					
		GSTT1	GSTM4	HBD1	HBD2	HBD3	LL37
GSTT1	Pearson Correlation	1	-,105	-,046	,182	,021	-,038
	Sig. (2-tailed)		,710	,872	,515	,940	,892
	N	15	15	15	15	15	15
GSTM4	Pearson Correlation	-,105	1	,202	,124	-,418	-,223
	Sig. (2-tailed)	,710		,470	,659	,121	,425
	N	15	15	15	15	15	15
HBD1	Pearson Correlation	-,046	,202	1	,459	,288	-,182
	Sig. (2-tailed)	,872	,470		,085	,297	,515
	N	15	15	15	15	15	15
HBD2	Pearson Correlation	,182	,124	,459	1	,539*	-,125
	Sig. (2-tailed)	,515	,659	,085		,038	,656
	N	15	15	15	15	15	15
HBD3	Pearson Correlation	,021	-,418	,288	,539*	1	-,074
	Sig. (2-tailed)	,940	,121	,297	,038		,793
	N	15	15	15	15	15	15
LL37	Pearson Correlation	-,038	-,223	-,182	-,125	-,074	1
	Sig. (2-tailed)	,892	,425	,515	,656	,793	
	N	15	15	15	15	15	15

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Dermatofitler, insan ve hayvanlarda deri, saç, tırnak gibi keratinize olmuş dokuları işgal eden birbirine benzer yapıdaki halkasal formlu mantarlar olup, dermatofitozis denen hastalığa neden olurlar (63,64). Geleneksel olarak dermatofitlerin sebep olduğu enfeksiyonlar vücudun enfekte ettiği anatomik bölgenin latince ismine göre adlandırılırlar. Örneğin *Tinea capitis* (baş mantarları), *Tinea pedis* (ayak mantarları). Tek bir mantar türü ile birçok anatomik bölge enfekte olabildiği gibi, farklı türlerde klinik olarak benzer lezyonlar oluşturabilir (65).

Yapılan bu çalışmada da, klinikte alınan biopsiler sonucu örnekler önce patojenin türüne göre dermatofitoz ve candidal intertrigo olarak gruplandırıldı, ardından dermatofitozlar örneğin alındığı anatomik bölgeye göre isimlendirildi.

Marissa vd., 2005 yaptıkları çalışmalarda antimikrobiyal peptidlerin derinin patojenlere karşı oluşturduğu immun yanıtta önemli rollerde bulduklarını vurgulamışlardır (57). Human beta defensinler ve katelisidinler de antimikrobiyal peptid ailesinin önemli üyelerinden olup derinin mantar enfeksiyonlarında önemli düzeyde görev alırlar (59,66,67).

Jensen vd., 2005 yaptığı çalışmada *Tinea corporis*'le enfekte olan hastaların dokularında hBD-2 antimikrobiyal peptidinin ekspresyonunun şiddetli olduğu gösterilmiştir (58). Gambichler vd., 2007 Atopic Dermatit gibi derinin fungal hastalıklarında yapmış oldukları çalışmada enfekte dokularda hBD-2 ve hBD-3 antimikrobiyal peptidlerinin sağlıklı dokulara göre enfekte dokularda daha fazla eksprese olduğunu, hBD-1 antimikrobiyal peptidinin ise sağlıklı bireylerin dokularında, patojene maruz kalmış dokulardan daha fazla eksprese olduğunu göstermişlerdir (59).

Bizde yaptığımız bu çalışmada, hastalık gruplarına göre antimikrobiyal peptidlerinin ekspresyonlarını sağlıklı bireylerin dokularındaki ekspresyonla karşılaştırdık. Buna göre *Tinea inguinalis*'li hastaların dokularında LL-37 proteininin sağlam bireylere göre daha fazla eksprese olduğu ($p= 0,005<0,05$); *Tinea corporis*'li ($p= 0,015; 0,011<0,05$) ve *Tinea versicolor*'lu ($p= 0,005; 0,005<0,05$) hastalarda hBD-1 ve hBD-2 proteinlerinin ekspresyonunun sağlıklı bireylere göre daha az olduğu; *Tinea pedis*'li hastaların dokularında hBD-1, hBD-2 ve hBD-3 proteinlerinin ekspresyonlarının sağlıklı bireylere göre daha az olduğu görüldü.

Lu vd., 2006 *Candida albicans* enfeksiyonlu hastalarda yapmış olduğu çalışmada antimikrobiyal peptidlerin rolüne değinmiş ve bu patojenin hiflerinin hBD-2 antimikrobiyal peptidinin ekspresyonunun engellediğini yaptığı çalışmada vurgulamıştır (60). Yapılan bu çalışmada hBD-2 antimikrobiyal peptidinin ekspresyonunun hastalıklı bireylerin dokularında, sağlıklı bireylerinkine göre daha az olduğu gösterilmiş oldu ($p=0,011<0,05$).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, GST gen polimorfizimlerinin çeşitli hastalıklara için bir risk faktörü olup olmadığı açıklanmaya çalışılmaktadır. Glutasyonun deride en yoğun bulunan antioksidan molekül olduğu ve ayrıca oksidatif strese karşı majör hücrel antioksidan görevini üstlendiğini yapılan birçok çalışma bizlere göstermiştir (68-70). Baz vd. 2004 yaptığı çalışmada kontakt dermatitli hastalarda GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizimlerinin sağlıklı bireylere göre daha sık olduğunu göstermişlerdir (61). Kerb v.d. 1997 yaptıkları çalışmada UV ışınlarına karşı deride GSTM1 ve GSTT1 antioksidan enzimlerinin ekspresyonlarının arttığını göstermişlerdir (62).

Yapılan bu çalışmalar deride glutasyon-S-transferaz izozimlerini gösterir ancak literatürde dermatofit ve candida ile infekte deride glutasyon veya glutasyon-S-

transferaz izozimlerinin aktivitesine ilişkin çalışmalara pek sık rastlanılmamaktadır. Yaptığımız bu çalışmada Dermatofitoz ve Candidal intertrigonal hastalıklarında deride GST izozimlerinin ekspresyonunu göstermiş olduk. Buna göre, *Tinea inguinalis*'li hastaların dokularında GSTM4'n ekspresyonunun sağlıklı bireylere göre daha az ($p=0,005<0,05$) olduğu görüldü. *Tinea corporis*, *Tinea versicolor* ve *Tinea pedis*'li hastalarda GSTT1 izoziminin hasta gruplarında sağlıklı bireylere göre daha fazla eksprese olduğu ($p= 0,000; 0,000; 0,001<0,05$); *Tinea versicolor*, *T. corporis* ve *Tinea pedis*'li hastalarda GSTM4 izoziminin ise sağlıklı bireylere oranla daha az eksprese olduğu ($p=0,000; 0,000; 0,000<0,05$) görüldü. *Candida albicans*'la infekte olan hastaların dokularında yine GSTT1 izoziminin ekspresyonunun hasta gruplarında fazla olduğu ($p=0,000<0,05$), GSTM4 izoziminin ise sağlıklı bireylerde fazla ekspre edildiği ($p=0,001<0,05$) görüldü.

Belen vd. 2006; Gambichler vd., 2007 yaptıkları çalışmalarda antimikrobiyal peptidlerin derideki ekspresyonlarını gösterirken gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time- PCR) tekniklerini kullanmışlardır (59,67). Bu teknik dokularda istenilen proteinlerin mRNA ekspresyonunun miktarını belirlemede etkili bir tekniktir. Ancak önemli olan istenilen proteinlerin özellikle hastalık durumlarında vücudun immun sisteminde rol oynayan proteinlerin veya antioksidan olarak işlevleri olan proteinlerin dokularda eksprese edilip edilmediğidir. Proteinlerin üretilmesinde, o proteinleri oluşturan genlerin varlığını göstermekten ziyade o genlerin proteini üretilip üretilmediğini göstermek daha önemlidir. Proteinlerin eksprese olup olmadığını görmek için immunohistokimya ve western blot metotları uzun yıllar kullanılan ve hala günümüzde kullanılmaya devam eden bir metotlardır.

Gambichler vd., 2007 yaptıkları çalışmada RT-PCR tekniği ve İmmunohistokimya tekniklerini kullanmışlar ve hasta bireylerin dokularında RT-

PCR ile özellikle hBD-1 antimikrobiyal peptidinin mRNA ekspresyonlarını göstermelerine rağmen immunohistokimya tekniğiyle bu proteinin hasta dokularında üretilmediğini sonucuna varmışlardır (59). Yapılan bu çalışmada metot olarak immunohistokimya tekniğini kullanıldı. Bu teknikle hastalık durumlarında ve sağlıklı durumlarda istenilen proteinlerin dokulardaki dağılımlarına rahatlıkla inceleyebildik.

Antimikrobiyal peptidlerin ve glutatyon-S-transferaz izozimlerinin hastalıklı dokularda kendi içlerinde ve aralarındaki dağılımlarına bakıldığında aralarında farklılıklar olduğu yapılan bu çalışmada gösterilmiş oldu. Buna göre; *Tinea inguinalis*'le infekte olan hastaların dokularında LL-37'nin GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3'den fazla eksprese edildiği (p=0,001, 0,001, 0,000, 0,005<0,05); *Tinea corporis*'li hastalarda GSTT1'in GSTM4, hBD1, hBD2, hBD3'den fazla eksprese edildiği (p=0,019, 0,002, 0,001, 0,019<0,05); LL-37'nin ise hBD-2'den fazla eksprese edildiği (p=0,019<0,5); *Tinea pedis*'li hastalarda GSTT1'in GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3den fazla eksprese edildiği (p=0,000, 0,000, 0,000, 0,000<0,05), LL-37'nin GSTM4, hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'den fazla eksprese edildiği (p=0,001, 0,003, 0,000, 0,000<0,05); *Tinea versicolor*'lu hastalarda GSTT1'in GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3den fazla eksprese edildiği (p=0,000, 0,000, 0,000, 0,000<0,05); GSTM4'ün hBD-2'den fazla eksprese edildiği (p=0,003<0,05); LL-37'nin hBD-1, hBD-2 ve hBD-3'den fazla eksprese edildiği (p=0,000, 0,000, 0,003<0,05); *Candida albicans*'lı hastalarda GST1'in GSTM4, hBD-1, hBD-2, hBD-3den fazla eksprese edildiği (p=0,006, 0,002, 0,000, 0,002<0,05), LL-37'nin hBD-2'den fazla eksprese edildiği (p=0,006<0,05) istatistiksel olarak belirlendi.

Bu sonuçlara göre, hasta gruplarında varyansların eşit dağılmadığı durumlarda GST izozimleri ve antimikrobiyal peptidlerin aralarında ve kendi içlerinde bir ilişkinin olduğu belirlendi. Buna göre, *Tinea inguinalis*'li hastalarda

GSTT1 ile hBD-1 arasında negatif ($r = -0,758$; $p=0,029<0,05$), hBD-1 ile hBD-2 ($p=0,013<0,05$) ve hBD-2 ile hBD-3 ($p=0,010<0,05$) arasında pozitif korelasyon ($r=+0,816$, $+0,832$) olduğu; *Tinea versicolor*'lu hastalarda hBD-1 ile hBD-2 ve LL-37 arasında pozitif korelasyon ($p=0,047;0,034<0,05$), ($r=+0,520;+0,548$); hBD-2 ile hBD-3 arasında ($p=0,007<0,05$) ($r=+0,667$) pozitif korelasyon olduğu; *Tinea pedis*'li hastalarda ise hBD-2 ile hBD-3 arasında ($p= 0,038<0,05$) ($r = +0,539$) pozitif korelasyon olduğu belirlendi. *T. corporis* ve *C. albicans* ile infekte olan hastaların sayısının az olması ve immonohistokimyasal sonuçlarının eşit dağılım göstermesinden dolayı, bu hasta gruplarına korelasyon testi yapılamamıştır. Ancak hasta sayılarının ileriki çalışmalarda arttırılarak çalışıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçların çıkabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, özetle bu çalışmada antimikrobiyal peptidlerin hastalıklı ve sağlıklı bireylerin dokularındaki farklı ekspresyonları bu hastalıklara hassasiyette bu peptidlerin önemli rollerinin olduğunu ortaya koymuştur ve bu hastalıklarda patojenlere karşı bireyin immun savunmasında antimikrobiyal peptidlerin direkt olarak rol oynadığı görülmüştür. İstatistiksel verilere dayanarak bu peptidlerin fazla eksprese edildiği durumlarda hastalığa yakalanma riskinin düştüğü söylenebilir.

Hasta bireylerin dokularında GSTT1 ve GSTM4 izozimlerinin ekspresyonlarındaki farklılıklar da, antioksidan enzimlerin derinin fungal hastalıklarda önemli roller üstlendiğini göstermiştir. Glutasyon-S-transferazlar vücudun çeşitli bölgelerinde ve deride çeşitli ksenobiyotiklere, toksik maddelere ve oksidatif strese karşı antioksidan olarak görev yapan enzimlerdir. Ancak literatürde derinin fungal hastalıklarında antioksidan enzim ailesi olan glutasyon-S-transferaz izozimlerinin rolüne ilişkin bilgilere rastlanılmamaktadır. Yapılan bu çalışma derinin

fungaI hastalıklarında glutatyon-S-transferaz izozimlerinde rolünün olabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Hancock, RE., Diamond, G., The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defenses. *Trends. Microbiol.*, (8): 402-410, 2000
- Rinaldi, AC., Antimicrobial peptides from amphibian skin: an expanding scenario. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, (6): 799-804, 2002
- S. Döşler, Antimikrobik Etkili Katyonik Peptidlerin Mikroorganizmalar Üzerine Tek Başlarına ve Kombinasyon Halindeki Etkilerinin Araştırılması Doktora Tezi, İstanbul Üni., İstanbul, 2005
- Stolzenberg, ED., Anderson, GM., Ackermann, MR., Whitlock, RH., Zasloff, M., Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (94) 8686-8690, 1997
- Travis, SM., Singh, PK., Welsh, MJ., Antimicrobial peptides and proteins in the innate defense of the airway surface. *Curr. Opin. Immunol.* (13) 89-95, 2001
- Giacometti, A., Cirioni, O., Del Prete, MS., Paggi, AM., D'Errico, MM., Scalise, G., Combination studies between polycationic peptides and clinically used antibiotics against gram-positive and gram-negative bacteria, *Peptides*, (21) 1155-1160, 2001
- Patrzykat, A., Zhang, L., Mendoza, V., Iwama, GK., Hancock, RE., Synergy of histone-derived peptides of coho salmon with lysozyme and flounder pleurocidin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, (45) 1337-1342, 2001
- Nicolas, P., Vanhoye, D., Amiche, M., Molecular strategies in biological evolution of antimicrobial peptides. *Peptides*: (24) 1669-1680, 2003

- Bals, R., Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir Res.* (1) 141-150, 2000
- Ö.B. Soylu, Çocuklarda H. pylori Enfeksiyonunda mide dokusunda a-defensin Ekspresyonu. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üni., İzmir, 2006
- Bevins, CL., Martin-Porter, E., Ganz, T., Defensins and innate host defence of the gastrointestinal tract. *Gut:* (45) 911-5, 1999
- Oppenheim, JJ., Biragyn, A., Kwak, LW., Yang, D., Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann Rheum Dis.:* (62) 17-21, 2003
- De Smet, K., Contreras, R., Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnol. Lett.* (27)1337-47, 2005
- Eckmann, L., Defence molecules in intestinal innate immunity against bacterial infections. *Curr Opin Gastroenterol;* (21)147-151, 2005
- Muller, CA., Autenrieth, IB., Peschel, A., Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell. Mol. Life. Sci.* (62) 1297-307, 2005
- Froy, O., Regulation of mammalian defensin expression by Toll-like receptor dependent and independent signalling pathways. *Cell. Microbiol.* (7): 1387-97, 2005
- Bevins, CL., Paneth cell defensins: key effector molecules of innate immunity. *Biochem .Soc. Trans.* (34) 263-66, 2006
- Dommett, R., Zilbauer, M., George, JT., Bajaj-Elliott, M., Innate immune defence in the human gastrointestinal tract. *Mol Immunol;* (42): 903-12, 2005
- Fellermann, K., Stange, EF., Defensins- innate immunity at the epithelial frontier. *Eur J Gastroenterol Hepatol;* (13): 771-6, 2001

- Schneider, JJ., Unholzer, A., Schaller, M., Schafer-Korting, M. ve ark. Human defensins. *J Mol Med*; (83): 587-595, 2005
- Tosi, MF,. Innate immune responses to infection. *J Allergy Clin Immunol*; (116): 241-9 2005
- Yoshio, H., Lagercrantz, H., Gudmundsson, GH., Agerberth, B.. First line of defense in early human life. *Semin Perinatol*, (28): 304-11 2004
- Diamond, G., Bevins, CL.. Beta-defensins: Endogenous antibiotics of the innate host defense response. *Clin Immunol Immunopathol*, (88): 221-5, 1998
- Shai, Y., Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. *Biochim Biophys Acta*; (1462): 55-70, 1999
- Harder, J., Bartels, J., Christophers, E., Schroder JM. Isolation and characterization of human beta defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem*, (276): 5707-13, 2001
- Bensch, KW., Raida, M., Magert, HJ., Schulz-Knappe, P. hBD-1: a novel beta-defensin from human plasma. *FEBS Lett.*; (368): 331-5, 1995
- Bals, R., Wilson, JM., Cathelicidins--a family of multifunctional antimicrobial peptides. *Cell Mol Life Sci.*, (60): 711- 20, 2003
- Steinstraesser, L., Oezdogan, Y., Wang, SC., Steinau, HU. Host defense peptides in burns. *Burns.*, (30):619-27, 2004
- Zaiou, M., Nizet, V., Gallo, RL. Antimicrobial and protease inhibitory functions of the human cathelicidin (hCAP18/ LL-37) prosequence. *J. Invest. Dermatol.* (120): 810-6, 2003

- Frohm, M., Agerberth, B., Ahangari, G., The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL-37 is induced in human keratinocytes during inflammatory disorders. *J Biol Chem.* (272):15258-63, 1997
- Ong, PY., Ohtake, T., Brandt, C., et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med.* (347): 1151-60, 2002
- Agerberth, B., Gunne, H., Odeberg, J., Kogner, P., Boman, HG., Gudmundsson, GH., FALL-39, a putative human peptide antibiotic, is cysteine-free and expressed in bone marrow and testis. *Proc Natl Acad Sci USA.*(92): 195-9, 1995
- Gennaro, R., Zanetti, M., Structural features and biological activities of the cathelicidin-derived antimicrobial peptides. *Biopolymers.* (55):31-49, 2000
- Dale, BA., Fredericks, LP., Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. *Curr Issues Mol Biol.* (7):119-33, 2005
- R.Özel, Prostat Kanserli Olgularda Glutatyon S- Transferaz P1 Geninin ILE105VAL Polimorfizminin ve Promoter Bölge Hipermetilasyonunun Araştırılması, yüksek Lisans Tezi, Ege Üni., İzmir, 2006
- Booth, J., Boyland, E., Sims, P. An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione. *Biochem J.* (79) (3):516–524, 1961
- Colot, V., Rossignol, J.-L. Eukaryotic DNA methylation as an evolutionary device. *BioEssays.* (21): 402-411, 1999
- Lipiski, BA., Garcia, RL., Brawer, MK., Prostatic intraepithelial neoplasia: significance and management. *Semin Urol Oncol.* (14):149-155, 1996

- Listowsky, I., Abramovitz, M., Homma, H., Niitsu, Y. Intracellular Binding and transport of hormones and xenobiotics by glutathione-S-transferases. *Drug Metab Rev.* (19):305–18, 1988
- Mannervik, B., Awasthi, YC., Board, PG., Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem J.* (282): 305–306, 1992
- A. Özaydın, Glutatyon S-Transferaz GSTT1 ve GSTM1 polimorfizimlerinin Glutatyonla ilişkili Detoksifikasyon Sistemlerine Etkisi, Doktora Tezi, İstanbul Üni., İstanbul, 2000
- Morgenstern, R., Lundqvist, G., Andersson, G., Balk, L., De Pierre, J.W. The distribution of microsomal glutathione transferase among different organelles, different organs, and different organisms. *Biochem. Pharmacol.* (33): 3609-3614, 1984
- Pearson, WR., Vorachek, WR., Xu, S., Berger, R., Hart, I., Vannais, D., Petterson, D.. Identification of class mu glutathione S-transferase genes GSTM1-GSTM5 on chromosome 1p13. *Am. J. Human Genet.* (53): 220-233, 1993
- Zhong, S., Wolf, CR., Spurr, NK. Chromosomal assignment and linkage analysis of the human glutathione S-transferase mu gene using intron specific polymerase chain reaction. *Hum. Genet.* (90): 435-441, 1993
- Strange, RC., Fryer, AA., Matheroo, B., Zhao, L., Brome, J., Campbell, D., Jones, P., Cervello-Pastor, I., Singh R., The glutathione S-transferases: comparison of isoenzyme expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem biophys Acta.* (1139):222-228, 1992

- Coggan M, Whitbread L, Whittington A, Board P., Structure and organization of the human theta-class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *Biochem J.* 1998; 334(3): 617-623
- Pemble, S., Schroder, KR., Spencer, SR., Meyer, DJ., Hallier, E., Bolt, HM., Ketterer, B., Taylor, JB. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphisim. *Biochem. J.* (300): 271-276, 1994
- Mainwaring, GW., Williams, SM., Foster, JR., Tugwood, J., Gren, T., The distrubition of theta-class glutathione S-transferases in the liver and lung of Mouse, rat, and human. *Biochem. J.* (318): 297-303, 1996
- M. Kılıç, İnsanlarda Tespit Edilen Mantar Türleri. Araştırma Projesi, Ahi Evran Üni., Kırşehir, 2007
- Erbakan, N., Yüzeysel Mantar Hastalıkları. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 1985
- Hay, RJ., Dermatophytosis and other superficial mycoses. In: Mandell, GL., Douglas, RG. Bennet, JE., vd. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 4th Ed, Churchill Livingstone, New York, 1995
- Dahi, MV. Dermatophytosis and the immun response, *J Am Acad Dermatol*, (31): 34-41, 1994
- Weitzman, I., Kane, J., Summerbell, RC., *Trichophyton, Microsporium, Epidermophyton* and Agents of Superficial Mycoses in Murray, PR., Baron, EJ., Pfaller, MA. Tenover, FC., Tenover, FC., Tenover, RH.. Eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th-Ed. ASM pres, Washington, DC, 1995
- Rezabek, GH., Friedman, AD., Superficial fungal infections of the skin. *Drugs.* (43): 674-82, 1992

- Berktaş, M., Güngör, S., Balcı, İ., Gaziantep yöresinde saçsız derinin mantar enfeksiyonlarında etiyolojik ajanlar, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,; (4):148-157, 1993
- Yavuzdemir, Ş. Dermatofitoz klinik tanılı olgulardan izole edilen etkenler, Mikrobiyol. Bült., (27):100-106, 1993
- Marissa, H.B., Antoanella B., Victor N., Richard L., Gallo Cutaneous Defense Mechanisms by Antimicrobial Peptides J Invest Dermatol (125):9 – 13, 2005
- Jensen, J.M., Stephan P., Tatsuya A., Schroder, J-M, Kleine, M., Neumann, C., Proksch, E., Brasc, J., Barrier Function, Epidermal Differentiation, and Human beta-Defensin 2 Expression in Tinea Corporis Journal of Investigative Dermatology (127): 1720–1727, 2007
- Gambichler, T., Skrygan, M., Appelhans, Tomi, C. N. S., Reinacher, A. Schick, P., Altmeyer A. Kreuter Expression of human beta defensins in patients with mycosis fungoides Arch Dermatol Res. (299):221–224, 2007
- Lu, Q., Jayatilake, JA., Samaranayake, LP., Jin, L. Hyphal invasion of Candida albicans inhibits the expression of human beta-defensins in experimental oral candidiasis. J Invest Dermatol (126): 2049–56 2006
- Baz, K., Tamer, L., Yazıcı, A.C., Ateş, N.A., Demirseren, D.D., Ercan, B., Atik, U. Alerjik Kontakt Dermatit ve Glutatyon S transferaz Polimorfizmi İlişkisi. T. Klin. Derm. (14): 25-30, 2004
- Kerb, R., Brockmöller, J., Reum, T., Roots I., Deficiency of GSTT1 and GSTM1 as Heritable Factors of Increased Cutaneous UV sensitivity. J. Invest. Derm. (108): 229-232, 1997

- Dei Cas, E., Vernes, A., Parasitic adaptation of pathogenic fungi to mammalian hosts. *Crit. Rev. Microbiol.* (13): 173–218, 1986
- King, R. D., H. A. Khan, Foye J.C., Greenberg J.H, Jones H.E. Transferrin, iron, and dermatophytes. I. Serum dermatophyte inhibitory component definitively identified as unsaturated transferrin. *J. Clin. Med.* (86):204–212, 1975
- Kwon-Chung, K.J., Bennett, J. E., *Medical mycology*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1992
- Gys J. de Jongh, Patrick, L.J. Zeeuwen, M., Kucharekova, M vd. High Expression Levels of Keratinocyte Antimicrobial Proteins in Psoriasis Compared with Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol* (125):1163 –1173, 2005
- Belen, L.-G., Phillip H. A., Lee, L., Richard L. Gallo, Expression and potential function of cathelicidin antimicrobial peptides in dermatophytosis and *Tinea versicolor* *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (57): 877–882, 2006
- Strange, RC., Spiteri, MA., Ramachandron, S., Fryer, AA. GST Family of Enzymes. *Mutant. Res.* 482 (1-2): 21-26, 2001
- Hayes, JD., McLeallan, LI., Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic. Res.* (31): 273-300, 1999
- Mannervik, B., Awasthi YC., Board, PG., Nomenclature for human Glutathione S-transferase. *Biochem. J.* (282): 305-306, 1992
- Oğuztüzün, S., İşcan, M., Özhavzalı, M., Sak, S.D., Comparison of breast GST isoenzyme expression in normal and neoplastic breast tissue:

correlation with clinical and prognostic factors. Turk J Biol. (33): 89-100, 2009

Coakes, S.J., SPSS: analysis without anguish: version 12.0 for windows. First published, John Willey and Sons Australia Ltd. Sydney and Melbourne, 2005