

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİDDETLİ AKNELİ HASTALARDA OKSİDATİF STRES İLE  
İLGİLİ PLAZMA MİR-21, MİR-31 VE MİR-200  
SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

BETÜL ÇALIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Fatma Hümevra YERLİKAYA AYDEMİR

KONYA 2018

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİDDETLİ AKNELİ HASTALARDA OKSİDATİF STRES İLE  
İLGİLİ PLAZMA MİR-21, MİR-31 VE MİR-200  
SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

BETÜL ÇALIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Fatma Hümeıra YERLİKAYA AYDEMİR

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 181318003 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2018

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi '**Betül ÇALIŞ**' ın "**Şiddetli Akneli Hastalarda Oksidatif Stres ile İlgili Plazma miR-21, miR-31 ve miR-200 Seviyelerinin Araştırılması**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya, Türkiye/ 25 Eylül 2018

Tez Danışmanı

Doç. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR  
N.E.Ü. Meram Tıp Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Mehmet AKÖZ  
N.E.Ü. Meram Tıp Tıbbi Biyokimya A.D

Jüri Üyesi

Doç.Dr. Abdullah SIVRİKAYA  
S.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 12/09/2018 tarih ve 19/14 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “*The investigation of Plasma miR-21, miR-31 and miR-200 Levels Associated with Oxidative Stress in Severe Acne Patients*” by “*Betül ÇALIŞ*” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of *Master of Science* in the Department of “**Tıbbi Biyokimya**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan

Konya, Turkey / 25 September 2018

  
Principal Advisor

Doç. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

N.E.Ü. Meram Tıp Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Signature

Examination Committee Member

Prof. Dr. Mehmet AKÖZ

N.E.Ü. Meram Tıp Tıbbi Biyokimya A.D

Examination Committee Member

Doç. Dr. Abdullah SİVRİKAYA

S.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Science

## **BEYANAT**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

25 Eylül 2018

Betül ÇALIŞ



# TURNİTİN

03.09.2018

Turnitin

[Gözetim](#)  
[Öğrenciler](#)  
[Not Defteri](#)  
[Kütüphaneler](#)  
[Takvim](#)  
[Tartışma](#)  
[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu ikonunu seçin. Tıklanabilir durumda olmayan bir ikon Benzerlik Raporunun henüz oluşturulmadığını gösterir.

## ŞİDDETLİ AKNELİ HASTALARDA OKSİDATİF STRES İLE İLG...

Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

Dosyayı Gönder Çevrimiçi Derecelendirme Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

[Sil](#) [İndir](#) [Şuraya taşı...](#)

<input type="checkbox"/>	Yazar	Başlık	Benzerlik	web	yayın	student papers	Puanla	cevap	Dosya	Ödev Numarası	Tarih
<input type="checkbox"/>	Betül Çalış	Tez	%18 %18	16%	10%	10%	--	--	ödev indir	996286189	03-Eyl-2018

## ÖNSÖZ

Tez çalışmam sırasında önerileri ve yardımlarıyla tezimin şekillenmesini sağlayan, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım olan saygıdeğer hocam Doç. Dr. Fatma Hümeıra YERLİKAYA AYDEMİR'e,

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'ndaki Araş. Gör. Dr. Selami Aykut TEMİZ ve Doç. Dr. Arzu ATASEVEN hocama ve çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Laboratuvarı tüm asistan ve çalışanlarına özellikle kan alma ekibine,

Çalışmalarımnda beni her zaman destekleyen ve tez çalışmamda da bana desteğini esirgemeyen Sayın Müdür Yardımcım Sosyal Bilgiler Öğretmeni Süleyman BADILLI'ya ve her zaman en büyük destekçim olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

BETÜL ÇALIŞ

KONYA 2018

## İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i> .....	i
<i>Tez Onay Sayfası</i> .....	ii
<i>Tez Beyan Sayfası</i> .....	iv
<i>Turnitin</i> .....	v
<i>Önsöz</i> .....	vi
<i>İçindekiler</i> .....	vii
<i>Kısaltmalar</i> .....	x
<i>Şekiller Listesi</i> .....	xiii
<i>Grafikler Listesi</i> .....	xiv
<i>Tablolar Listesi</i> .....	xv
<i>Özet</i> .....	xvi
<i>Abstract</i> .....	xvii
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
<i>2.1. Akne Tarihiçesi</i> .....	2
<i>2.1.1. Epidemiyoloji</i> .....	2
<i>2.1.2. Yaş ve Cinsiyet</i> .....	2
<i>2.1.3. Pilosebase Birim Anatomisi ve Fizyolojisi</i> .....	3
<i>2.1.4. Etyopatogenez</i> .....	3
<i>2.1.4.1. Komedogenez</i> .....	4
<i>2.1.4.2. Sebacebez Hiperplazisi ve Artmış Sebum Üretimi</i> .....	4
<i>2.1.4.3. Propriobacterium Acnes Hiperkolonizasyonu</i> .....	5
<i>2.1.4.4. İnflamasyon</i> .....	5
<i>2.1.4.5. Kalıtım</i> .....	6
<i>2.1.4.6. Oksidatif Stres</i> .....	6
<i>2.1.4.7. Beslenme</i> .....	6
<i>2.2. Serbest Radikaller</i> .....	7



2.2.1. Serbest Radikal Kaynakları.....	8
2.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	8
2.3.1. Süperoksit Radikalleri ( $O_2^{\cdot-}$ ).....	8
2.3.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ).....	9
2.3.3. Hidroksil Radikalleri (OH).....	9
2.4. Antioksidanlar.....	9
2.5. Oksidatif Stres Nedir.....	10
2.5.1. Oksidatif Stresin Hücresel Yapılar Üzerine Etkileri.....	11
2.5.2. Oksidanların Kaynakları.....	11
2.5.3. Oksidanların Zararları.....	11
2.5.4. Oksidan Maddelerin Oluşumunun Engellenmesi.....	12
2.5.5. Oksidatif Stres Nasıl Azaltılır.....	12
2.5.5.1. Serbest Radikalleri Azaltmak İçin.....	12
2.5.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	13
2.5.7. Oksidatif Stres Nasıl Ölçülür.....	13
2.6. MikroRNA.....	13
2.6.1. MikroRNA'ların Yapısı ve Keşfi.....	13
2.6.2. MikroRNA'ların Oluşumu.....	14
2.6.3. MikroRNA'ların Fonksiyonu.....	16
2.7. Oksidatif Streste MikroRNA'ların Rolü.....	16
2.7.1. miR-200 Ailesi.....	17
2.7.2. miR-21.....	18
2.7.3. miR-31.....	19
2.8. Akneli Hastalarda Oksidatif Stres.....	20

2.8.1. <i>Sebum, İnflamasyon ve Oksidatif Stres</i> .....	23
2.8.2. <i>P.acnes, İnflamasyon ve Oksidatif Stres</i> .....	24
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>24</b>
3.1. <i>Gereç</i> .....	24
3.1.1. <i>Vakaların Oluşturulması</i> .....	24
3.1.2. <i>Kullanılan Kimyasallar</i> .....	25
3.1.3. <i>Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları</i> .....	26
3.2. <i>Yöntem</i> .....	27
3.2.1. <i>Plazma Eldesi ve miRNA Analizi</i> .....	27
3.2.2. <i>miRNA İzolasyonu</i> .....	27
3.2.3. <i>miRNA'lerden cDNA Eldesi</i> .....	28
3.2.4. <i>Real Time PCR</i> .....	30
3.2.5. <i>MDA Ölçümü</i> .....	33
3.2.6. <i>Glutasyon (GSH) Ölçümü</i> .....	33
3.3. <i>İstatiksel Analiz</i> .....	34
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>34</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>43</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>51</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>57</b>

## **KISALTMALAR**

AGE:	Glikasyon son ürünü
Ago2:	Argonaute 2
BCNU:	1,3 bis (2-kloroetil)-1-nitrozüre
BMP4:	Kemik morfogenetik proteini 4
COX-2:	Siklooksijenaz 2
EC:	Endotel hücre
EMP-1:	Epitelyal membran protein 1
EMT:	Epitelyal Mezenkimal Geçiş
EOC:	Epitelyal yumurtalık kanseri
ETS:	Elektron transfer sistemi
FIH:	HIF'yi inhibe eden faktör
GSH:	Glutatyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Hidrojen peroksit
HF:	Saç folikülü
HIF1 $\alpha$ :	Hipoksi ile tetiklenen faktör 1 alfa
HRP:	Horseradish peroksidaz
HUVEC:	İnsan göbek damarı endotel hücresi
IGF-1:	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IL-12:	İnterlökin 12
IL-1 $\alpha$ :	İnterlökin 1 alfa
IL-1 $\beta$ :	İnterlökin 1 beta

IL-8:	İnterlökin 8
KF:	Keloid faktör
LPO:	Lipid peroksit
MDA:	Malondialdehit
miRNA:	MikroRNA
mTORC:	Mammalian target of rapamycin complex
NF-kB:	Nükleer faktör kappa
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> :	Süperoksit radikali
O <sub>2</sub> :	dioksijen
OH. :	Hidroksil radikali
ORF:	Open reading frame
P.acnes:	Propionibacterium Acnes
PGE2:	Prostaglandin E2
PMNL:	Polimorfonükleer lökositleri
RISC:	RNA-İnduced silencing complex
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR:	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SiRNA:	Short interfering RNA
SOD2:	Süperoksit dismutaz 2
STK-40:	Serin/treonin kinaz 40
TGF-β:	Tümör büyüme faktörü beta
TIAM1:	T hücre lenfoma invazyonu ve metastazı 1
TIMP3:	Doku inhibitörü metalloproteinaz 3

TLR: Toll like reseptör

TLR-2: Toll like reseptör 2

UV: Ultraviyole



## ŞEKİLLER

Şekil 1: Sağlıklı Hücre ve Serbest Radikal.....	7
Şekil 2: Antioksidanlar.....	10
Şekil 3: Oksidatif Stresin Sebep Olduğu Hastalıklar.....	11
Şekil 4: miRNA Oluşum Basamakları.....	15



## GRAFİKLER

<b>Grafik 1:</b> miR-200a'nın Amplifikasyon Eğrisi.....	32
<b>Grafik 2:</b> mir-21'in Amplifikasyon Eğrisi.....	32
<b>Grafik 3:</b> miR-31'in Amplifikasyon Eğrisi.....	32
<b>Grafik 4:</b> Snord44'ün Amplifikasyon Eğrisi.....	33
<b>Grafik 5:</b> miR-200a'nın Standart Sapma Göstergesi.....	37
<b>Grafik 6:</b> miR-21'in Standart Sapma Göstergesi.....	38
<b>Grafik 7:</b> miR-31'in Standart Sapma Göstergesi.....	38
<b>Grafik 8:</b> MDA'nın Standart Sapma Göstergesi.....	39
<b>Grafik 9:</b> GSH'in Standart Sapma Göstergesi.....	40

## TABLULAR

<b>Tablo 1:</b> Poly (A) mix içeriği.....	28
<b>Tablo 2:</b> Poly (A)'nın bağlanması için gereken süre.....	29
<b>Tablo 3:</b> cDNA mix 1'in içeriği.....	29
<b>Tablo 4:</b> cDNA mix 2'nin içeriği.....	30
<b>Tablo 5:</b> Bright Green Mastermix ve snord44 Primer Mastermix İçeriği.....	31
<b>Tablo 6:</b> Real Time PCR Isı Protokolü.....	31
<b>Tablo 7:</b> Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.....	35
<b>Tablo 8:</b> Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait bazı biyokimya parametrelerinin düzeyleri.....	36
<b>Tablo 9:</b> Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna miRNA parametre düzeyleri.....	37
<b>Tablo 10:</b> Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait oksidatif stres parametre düzeyleri.....	39
<b>Tablo 11:</b> Akne vulgarisli hastalarda oksidatif stres parametrelerinin plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 ile korelasyonu.....	41
<b>Tablo 12:</b> Kontrol grubunda oksidatif stres parametrelerinin plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 ile korelasyonu.....	42



## ÖZET

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şiddetli Akneli Hastalarda Oksidatif Stres ile İlgili Plazma miR-21, miR-31 ve miR-200 Seviyelerinin Araştırılması

Betül ÇALIŞ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA 2018

**Amaç:** Yapılan çalışmalarda akne'nin oksidatif stresle ilişkili olduğu bulguları mevcuttur. Akne hastalarında reaktif oksijen türleri daha fazla oluşmaktadır ve oluşturduğu irritasyon ile foliküler duvarda hasar yaratarak inflamasyona katkıda bulunmaktadır. miR-21, miR-31 ve miR-200'ün onkojenik, yaşlanma ve oksidatif stres gibi birçok olayda önemli rolleri bulunmaktadır. Bu yüzden çalışmamızda şiddetli akneli ve aknesiz kadınlarda oksidatif strese rolü olduğu düşünülen plazma miR-21, miR-31 ve miR-200 seviyelerinin ve MDA, glutasyon gibi oksidatif stres markırlarının nasıl değiştiğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışma, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Cildiye Polikliniğine başvuran 18-60 yaş aralığında şiddetli akneli 57 kadın ile gönüllü 40 aknesiz sağlıklı kadın üzerinde (kontrol grubu) gerçekleştirilmiştir. Katılımcılardan alınan kan örneklerinde miRNA ölçümleri RT-PCR yöntemi ile oksidatif stres parametreleri ise ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür.

**Bulgular:** Çalışmamızda akne vulgarisli hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında plazma miR-21 düzeyi istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bunun yanı sıra plazma miR-200a ve miR-31 düzeyleri ise yüksek bulunmuş fakat istatistiki açıdan anlamlılık ifade etmemiştir. Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametre düzeyleri karşılaştırıldığında plazma MDA düzeyleri ( $p<0.05$ ) akne vulgarisli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek, glutasyon düzeyleri ( $p<0.01$ ) ise istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur. Spearman korelasyon testi sonucuna göre hem akneli hastalarda hemde kontrol grubunda plazma miR-200a, miR-21, miR-31 birbirleri arasında pozitif korelasyon göstermiş ( $p<0.001$ ) ve akneli hastalarda bu üç miRNA ile MDA düzeyleri arasında da anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Sonuç olarak çalışmamızın aknenin etyopatogenezinin daha iyi anlaşılmasına ileri katkı sağladığını ve bununla beraber tedaviye miRNA bakış açısı ile yeni yaklaşımlar sunabileceğini düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Akne vulgaris; miRNA; oksidatif stres.

## ABSTRACT

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The investigation of Plasma miR-21, miR-31 and miR-200 Levels Associated with Oxidative Stress in Severe Acne Patients

Betül ÇALIŞ

Department of Medical Biochemistry

MASTER'S THESIS / KONYA 2018

**Objective:** Studies have shown that acne is associated with oxidative stress. Reactive oxygen species are more common in acne patients and contribute to inflammation by creating irritation and damaging follicular wall. miR-21, miR-31 and miR-200 have important roles in many cases such as oncogenic, aging and oxidative stress. Therefore, our study aimed to show how plasma miR-21, miR-31 and miR-200 levels and oxidative stress markers such as MDA, glutathione change in oxidative stress in women with severe acne and without acne.

**Material and Method:** This study was carried out on 57 women with severe acne and 40 healthy volunteers women without acnes at the age range of 18-60 who applied to Konya Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Hospital Dermatology Polyclinic. In the blood samples taken from the participants, miRNA measurements by RT-PCR method were measured oxidative stress parameters by ELISA method.

**Result:** In our study, plasma miR-21 level was found statistically significantly higher when we compared acne vulgaris patients and control group ( $p<0.05$ ). In addition, plasma miR-200a and miR-31 levels were found to be high but not statistically significant. Plasma MDA levels ( $p<0.05$ ) were found to be significantly higher in patients with acne vulgaris than in the control group, whereas glutathione levels ( $p<0.01$ ) were statistically significantly lower in patients with acne vulgaris compared to the control group. Spearman correlation test showed that plasma miR-200a, miR-21, miR-31 showed a positive correlation between each other ( $p<0.001$ ) in both acne patients and control group and there was a significant positive correlation between these three miRNAs and MDA levels in acne patients ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** In conclusion, we think that our study contributes to a better understanding of etiopathogenesis of acne and that it can offer new approaches with the viewpoint of treatment miRNA.

**Key words:** Acne vulgaris; miRNA; Oxidative stress.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akne vulgaris (akne), pilosebace birimin polimorfik görünümlü yinelenen ve alevlenmelerle seyreden kronik bir inflamatuvar hastalıdır. Akne, her ne kadar ölümcül bir hastalık olmasa da, vücut imajının önemli olduğu genç yaşlarda görüldüğü için kişinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir. Akne patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, hastalıkta temelde dört faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Bu faktörler; komedogenez, artmış sebace bez hiperplazisi ve sebum üretimi, *Propionibacterium acnes*'in hiperkolonizasyonu ve inflamasyondur.

Akne hastalığının oksidatif stresle ilişkili olduğunu gösteren çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Akne hastalarında daha fazla oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), oluşturdukları irritasyon ile foliküler duvarda hasar yaratarak inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Bir çalışmada aktif nötrofillerden salgılanan ROS'ların normal dokuda kimyasal hasara sebep olduğu ve hücre membran lipidlerine saldırdığı gösterilmiştir. Akne hastalarında serum lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit seviyesi daha yüksek, bir antioksidan olan glutatyon seviyesi ise daha düşük olduğu gösterilmiştir. Kanda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan düzeylerinin akne hastalarında daha düşük olduğu gösterilmiştir. Nötrofillerden salgılanan süperoksit radikal, hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikali ürünlerin zararlı etkilerini inhibe eden linoleik asitin akne hastalarında daha düşük olduğu gözlenmiştir.

MikroRNAlar (miRNAlar) küçük, protein kodlamayan 21-24 nükleotid uzunluğunda RNA molekülleridir. Bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak gelişim, farklılaşma, çoğalma, hücre ölümü gibi süreçlerde rol oynarlar. Genel olarak translasyonun baskılanmasına veya mRNA'nın yıkılmasına neden olurlar. miR-21, miR-31 ve miR-200'ün onkogenik fonksiyonlarda, yaşlanma ve oksidatif stres gibi daha birçok olayda önemli rolleri bulunur. miR-21 aterosklerotik plaklarda artarak düzenlenir, mitokondriyal oksidatif savunmada önemli bir protein olan süperoksit dismutaz-2 (SOD2)'nin işlevini düşürür. Böylece bu durum ROS oluşumuna neden olur. ROS zararlı moleküllerdir ve inflamatuvar deri hastalıklarının çoğunda kritik roller oynamaktadır. Sivilce patogenezinde yer alan propionibacterium acnes, nötrofillerin birikmesine yol açan bazı kemotaktik faktörlerin salınmasına neden olur ve bu durum, fagositoz sonucunda lizozom

enzimleri gibi bazı enflamatuvar faktörlerin bırakılmasından sonra foliküler epitele zarar verir. ROS, inflamatuvar dokudaki aktif nötrofilden salınır. Bu oksidanlar DNA'ya veya membran lipidlerine saldırır ve sağlıklı doku da dahil olmak üzere kendilerine kimyasal hasar verirler.

Bu yüzden çalışmamızda şiddetli akneli bayanlardan rutin tetkikler sırasında alınan kanlar ile farklı yaş gruplarında oksidatif strese rolü olduğu düşünülen plazma miR-21, miR-31 ve miR-200 seviyelerinin ve malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) gibi oksidatif stres markırlarının nasıl değiştiğinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### *2.1. Akne tarihçesi*

Akne, yazının bulunduğu dönemlerden bu yana bahsi geçen bir hastalıktır. Antik Mısır'da eski tıp bilgileri içeren kaynaklara göre akneden inflamatuvar şişlik ve çıban olarak bahsedilmiştir. Tedavide bal ve hayvansal kökenli karışımların etkili olabileceği öne sürülmüştür. Aynı zamanda sülfür içeren mineral banyolarının da tedavi amaçlı kullanılabilceği bildirilmiştir (Bozkurt, 2015). Akne terimini ilk olarak Bizans İmparatoru Justinian'ın doktoru Aetius Amidenus kullanmıştır. Akneye günümüze kadar kullanılagelen zirve, uç anlamını vermiştir (Bologna ve ark., 2012).

#### *2.1.1. Epidemiyoloji*

Akne, dünya nüfusunun %9,4'ünü etkileyen bir hastalık olarak bilinmektedir. Akne hastalığı, 1990-2010 yıllarını kapsayan bir araştırmaya göre dünyada sıklık açısından sekizinci sıradadır. Hastalık sıklığının tüm dünyada aynı ölçüde olduğu gözlemlenmiştir. Akne tüm ırklarda görülmekle birlikte beyaz ırkta siyah ırka nazaran daha etkili bir şekilde görülmektedir (Bozkurt, 2015).

#### *2.1.2. Yaş ve Cinsiyet*

Akne, esas olarak ergenlik döneminde görülen bir hastalıktır. Genellikle 8-12 yaşlarında başlar ve en yoğun yaşandığı dönem 16-20 yaş aralığıdır. Bunun yanı sıra yeni doğanda, çocukluk çağında nadir de olsa görülmektedir. Akne hastalığı görülen gençlerin %85'i 12-24 yaş aralığındadır. 25 yaşından sonra akne görülen hastaların

oranı ise %20-40 arasında değişmektedir (Bozkurt, 2015). Yapılan bir çalışmada kadınların %12'si ile erkeklerin %3'ünde akne hastalığının 44 yaşına kadar devam ettiği gözlenmiştir (Abe ve ark., 1981). Akne, yapılan araştırmalara göre kadın ve erkekte eşit oranda görülmektedir. Kızlarda puberte öncesi dönemde görülürken, erkeklerde daha çok puberte sonrası dönemde görülmektedir (Kilkenny ve ark., 1998; Aksu ve ark., 2012).

### 2.1.3. Pilosebace birim anatomisi ve fizyolojisi

Kıl folikülü ve etrafındaki yağlı bez birlikte pilosebace birim olarak adlandırılır ve 10-70 µm çapındadır. Pilosebace birimler puberte ve androjenlerin etkisiyle vücutta sebaceöz bölgelerde sebace foliküllere dönüşürler. Akne sebace foliküller alın, yanak, burun, sırt ve gövdede yoğun olarak görülür (Bozkurt, 2015).

Sebace bez, kıl foliküllerinin etrafını saran çok katlı kübik epitel hücrelerinden oluşan keseciklerdir. Sebace bez hücreleri sebum üretimini sağlar ve ürettikleri sebumu duktuslar aracılığıyla öncelikle kıl folikülüne ve sonrasında kıl folikülünden deri yüzeyine aktarır. Holokrin bez sınıfında yer alan sebace bezde üretilen sebum içeriği her memelide farklı orandadır. İnsan sebumu %12 skualen, %26 balmumu esteri, %41 trigliserit ve %16 serbest yağ asidi içerir (Thody ve Shuster, 1989). Sebum deriye hidrofobik koruma sağlarken, vücudun ısı dengesinin korunmasına da yardımcı olur (Ottaviani ve ark., 2010).

### 2.1.4. Etyopatogenez

Akne multifaktöriyel bir hastalıktır ve akne oluşumunun hala bilinmeyen birçok yanı vardır. Akne hastalığının gelişim ve oluşumunda 4 temel faktörün rol aldığı bilinmektedir. Bunlar artmış sebum üretimi ve sebace bez hiperplazisi, komedogenez, inflamasyon ve *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) hiperkolonizasyonudur. Bu oluşum ve gelişimdeki dört faktörün birbirleriyle olan ilişkisi ve sıralaması halen net bir şekilde bilinmemektedir. Bunların yanı sıra oksidatif stres, kalıtım, beslenme gibi durumlarda hastalığın tetikleyicileri olarak değerlendirilmektedir (Bozkurt, 2015).

#### 2.1.4.1. Komedogenez

Komedogenez, foliküler infundibulumun aşırı karnifikasyonu ile anormal farklılaşmayı ifade etmektedir. İnfundibular keratinosit hücrelerinin artması ve adezyondaki artış foliküler kanalları tıkar. Folikül, sebum ve keratinöz içeriğin oluşmasıyla genişleyerek kistik bir durum meydana gelir (Bozkurt, 2015). Tıkanan komedonda sebum ve keratinöz içerikte artış gerçekleşir. Bu durum foliküler duvarın genişleyerek yırtılmasını kolaylaştırır ve inflamasyonun başlamasına ya da var olan inflamasyonun artışına neden olur. Akne hastalığında komedogenezin mi yoksa inflamasyonun mu önce gerçekleştiği bilgisi kesinleştirilememiştir (Bolognia ve ark., 2012). Aknede komedojenik etkili olan interlökin 1 alfa (IL-1 $\alpha$ ) varlığının görülmesi, hastalığın baştan itibaren inflamatuvar durumla ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Jeremy ve ark., 2003).

#### 2.1.4.2. Sebace bez hiperplazisi ve artmış sebum üretimi

Akne hastalığının oluşumunda en önemli noktalardan biri artmış sebum üretimi ve sebace bez hiperplazisidir. Sebace bez artışı adrenal ve gonadal kaynaklı androjenler belirler. Hipofiz bezi bu iki kaynağın düzenleyicisi olarak görev alır (Bozkurt, 2015). Sebace bezlerin androjene karşı duyarlılığı yüksek iken östrojene karşı duyarlılığı düşüktür (Toyoda ve ark., 2001). Şiddetli akne hastalarında androjen seviyesinin yüksek olduğu çalışmalar vardır. Sebum farklı yollarla etki gösterir. Bunlardan en önemlisi de *P.acnes* için anerobik üreme ortamı oluşturmasıdır (Bozkurt, 2015). Sebumun foliküler kanala geçmesiyle *P.acnes*'in lipaz enzimi aracılığıyla trigliseridlerin serbest yağ asitlerine dönüşümü artar ve bunun yanı sıra inflamasyon meydana gelir (Das ve Reynolds, 2014). Tıkanmış komedonda, sebum ve keratin birikimi artar, bu da folikül duvarını gerginleştirir. Artan gerginliğe bağlı olarak folikül duvarının yırtılması kolaylaşır ve inflamasyon oluşumuna sebep olur (Bolognia ve ark., 2012).

Yapılan araştırmalarda akne lezyonu şiddeti ile sebum sekresyon düzeyi arasında doğru bir orantı olduğu gözlenmiştir. Akne patogenezinde sebum üretiminin yanında sebum içeriğindeki değişiminde etkili olduğu düşünülmektedir (Bozkurt, 2015).

#### 2.1.4.3. *Propionibacterium Acnes* Hiperkolonizasyonu

*P.acnes*, deride sebace bezlerin olduğu bölgelerde yerleşen, gram pozitif hareketsiz bir flora bakterisidir. *P.acnes*'in eni 0,4 µm ile 0,7 µm, boyu ise 3 µm ile 5 µm arasındadır. Sitoplazması ribozomca zengin iken hücre duvarı peptidoglikanca zengindir. Anaerobik ortamlarda ve sebum ile dolu komedonlarda daha çabuk üremektedir. *P.acnes*'in akne patogenezinde rolü olduğu bilinsede inflamasyon oluşumunu sağlayıcı ya da artırıcı etkisi olduğu net bir şekilde bilinmemektedir. Flora elemanı olması ve akneli hastaların pilosebase birimlerinde kolonize olduğunun kanıtlanamaması bu durumun nedeni olarak kabul edilmektedir. Pilosebase birimde *p.acnes* miktarı, hastalarda sağlıklı kişilere göre daha yüksek bulunmuştur. *P.acne* folikül duvarına hasar vererek inflamasyona sebep olan proteinaz, hyalürinidaz ve nörominidaz gibi enzimler ile derinin geçirgenliğini bozarak inflamatuvar sürece neden olduğu düşünülmektedir (Bozkurt, 2015).

#### 2.1.4.4. İnflamasyon

Aknede en önemli noktalardan bir diğeri de inflamasyondur fakat bunu başlatıcı etken net olarak bilinmemektedir. Aknedeki inflamasyonda makrofajlar, nötrofiller, T lenfositler, keratinositler, sebosit hücreleri, doğal immün tepki ve edinsel immün tepki rol almaktadır. Akne patogenezinde, Toll like reseptör (TLR), kemokin, komplemanlar, antimikrobiyal peptidler ve sitokinlerin doğal immün yanıtta rol oynadığı düşünülmektedir (Bozkurt, 2015).

*P.acnes*, Toll like reseptör 2 (TLR-2)'nin aktivasyonu yoluyla hem mikrokomedojenik hem de enflamatuvar akne lezyonlarında doğuştan gelen immün reaksiyonu tetikleyebilir. TLR'ler istilacı mikroorganizmalara karşı savunma gösteren bağışıklık sisteminin bileşenidir. *P.acnes*'in proinflamatuvar sitokin salınımını ve antimikrobiyal peptidlerin ekspresyonunu tetiklediği gözlenmiştir. *P.acnes* kolonizasyonu, interlökin 12 (IL-12) ve interlökin 8 (IL-8) üretimiyle sonuçlanan monosit TLR2'nin aktivasyonuna neden olmaktadır. TLR'lerin aktivasyonu yoluyla, *P.acnes* insan epidermal keratinositlerinde  $\beta$ -defensin-2 ve IL-8 ekspresyonunu indüklemektedir.  $\beta$ -defensinleri (defensin-1, defensin-2, defensin-3), mikrobiyal enfeksiyona yanıt olarak deride üretilen antimikrobiyal peptid ailesidir. Klinik olarak inflamatuvar akne oluşumunda yer alırlar (Emil ve Tangheiti, 2013).

Defensinler erken akne oluşumunda rol alırlar. Sağlıklı cildin sebace bezlerinde konstitütif  $\beta$ -defensin, mRNA ve protein ekspresyonu vardır. Buradaki defensinler, pilosebace ünitenin mikrobik invazyondan korunmasında rol oynamaktadır. Özellikle akne vulgaris lezyonlarının çoğunda  $\beta$ -defensin-1 ve  $\beta$ -defensin-2'nin belirgin bir şekilde arttığı görülmüştür (Emil ve Tanghetti, 2013).

#### 2.1.4.5. Kalıtım

Akne, kalıtım gösteren bir hastalık olarak düşünülmektedir. Anne ya da babasında akne geçmişi olanlarda erken yaşlarda görülebildiği gibi bu durumun tedavi aşamasını da etkilediği, tedaviye geç yanıt alındığı bilinmektedir. İlerleyen yaşlarda akne hastalığı görülen kişilerde güçlü bir aile öyküsü bulunmaktadır. XXY genotipine sahip kişilerde aknenin daha şiddetli geçirildiği bilinmektedir (Bozkurt, 2015).

#### 2.1.4.6. Oksidatif stres

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile aknenin oksidatif stres ile olan ilişkisinin arttığı gözlenmektedir. ROS, akneli kişilerde daha çok oluşmaktadır. Oluşan bu ROS'ların foliküler duvarda hasar ve irritasyona sebebiyet vermesi sonucu inflamasyon oluşumu meydana gelmektedir (Bozkurt, 2015). Akne hastalarında oksidatif strese bağlı olarak MDA seviyesi yüksek iken glutatyon seviyesinin düşük olduğu gözlenmiştir (Sahib ve ark., 2013).

#### 2.1.4.7. Beslenme

Kan şekerini yükselten karbonhidratlı gıdaların; insülin, artmış serum glikoz ve karaciğer kaynaklı insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) vasıtasıyla hücre büyümesi ve gelişmesini artırarak akne gelişimini tetiklediği bildirilmektedir. Aynı zamanda lipid sentezinden sorumlu nükleer mTORC'u (mammalian target of rapamycin complex) harekete geçirerek akne oluşumunu artırmaktadır (Cordain ve ark., 2002).

Bilhassa süt ve fermente edilmiş süt ürünleri insülini ve IGF-1 seviyesini artırarak zengin lüsin içeriğiyle mTORC'u aktive ederek akne gelişimine neden olduğu belirtilmektedir. Gıdaların akne oluşumunu artırdığı durumlara örnek olacak çalışmalar mevcuttur. Sporcular tarafından kas yapıcı ve kilo aldırıcı olarak



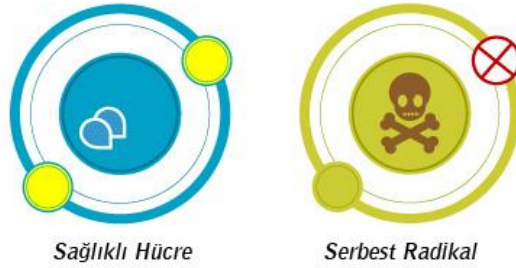
kullanılan whey protein tozlarının tedaviye dirençli akne artışlarına sebep olduğu gözlenmiştir. Kwon ve ark. yaptığı bir çalışmada, hastaları 10 hafta boyunca düşük glisemik indeksli yiyecekler ile beslemiş ve bunun sonucunda hastalarda inflamatuvar ve inflamatuvar olmayan akne sayısında azalma gözlemiştir. Azalma oranı inflamatuvarlı hastada %27,6 iken inflamatuvarlı olmayan hastalarda %29,1 olarak ölçülmüştür (Kwon ve ark., 2012).

Güney Kore’de 783 hasta ve 502 kontrol grubunun oluşturduğu bir çalışma neticesinde balık ve sebze ile beslenen kişilerde, noodle gibi kan şekerini yükseltici karbonhidratlar, tavuk eti, domuz eti ile beslenenlere göre daha az akne gözlenmiş ve serum IGF-1 düzeylerinin düşük olduğu tespit edilmiştir (Bozkurt, 2015).

## 2.2. Serbest Radikaller

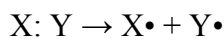
Serbest radikaller, kimyasal olarak en dış katmanda bir elektron kaybetmiştir. Serbest radikallerin yapısında, çoğunlukla oksijen yer almaktadır. ROS’lar küçük ve oldukça reaktif moleküllerdir. Serbest radikaller kararsız yapıdadırlar ve kararlı hale geçmek için hücrelere saldırarak hasar oluştururlar (<http://gida.gumushane.edu.tr> 7 Mayıs 2014).

Şekil 1: Sağlıklı Hücre ve Serbest Radikal

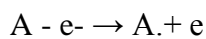


Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler.

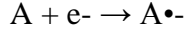
a) Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birinin ortamda kalması ve homolitik bölünmesi sonucu ile:



b) Normal bir molekülün bir elektron kaybına uğraması ile:



c) Normal bir moleküle bir elektron eklenmesi ile:



Üretilen bu radikaller membran lipitlerine, hücre içi proteinlere, nükleik asitlere etki ederek bu makromoleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açarak hücre hasar meydana getirir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

### 2.2.1. Serbest Radikal Kaynakları

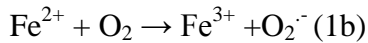
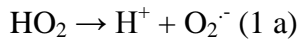
- ✓ Aşırı alkol tüketimi
- ✓ Sigara kullanımı
- ✓ Elektromanyetik radyasyon
- ✓ Güneş ışınları(UV)
- ✓ Kronik inflamasyonlar
- ✓ Aşırı demir yüklemesi
- ✓ Aşırı fiziksel egzersiz
- ✓ Yaşlanma
- ✓ Doğum kontrol hapları (<http://www.oksante.com.tr> 2012).

### 2.3. Reaktif Oksijen Türleri

Atmosferde bulunan oksijen, moleküler oksijen ( $O_2$ ) ya da dioksijen olarak adlandırılır ve normal oksijenin bir kısmı başlıca mitokondri olmak üzere hücre kompartımanlardaki metabolizma sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine dönüşür. Başlıca reaktif oksijen türleri; süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dir. Bunlardan ilk ikisi serbest radikal, hidrojen peroksit ise prooksidan'dır (Navarro ve Boveris, 2004).

#### 2.3.1. Süperoksit Radikalleri ( $O_2^{\bullet-}$ )

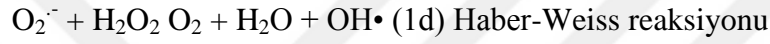
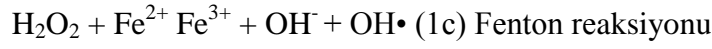
Oksijen kullanan hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşurlar. Özellikle elektronca zengin iç mitokondri zarında ve ksantin oksidaz gibi flavoenzimlerce endojen olarak oluşturulur (1a).



Ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (1b) (Valko ve ark., 2005).

### 2.3.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

Serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamındadır ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar. Hücresel kompartımanlarda bulunan ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim iki elektronun oksijene verilmesi ile doğrudan hidrojen peroksit oluşturulur.  $Fe^{2+}$  veya diğer geçiş metallerinin (Fenton reaksiyonu) ve süper oksit radikalının ( $O_2^{\cdot -}$ ) varlığında (Haber-Weiss reaksiyonu) en güçlü radikal olan hidroksil radikalini ( $OH\cdot$ ) meydana getirir (Moncada ve ark., 1991; Jomova ve Valko, 2011).



Hidrojen peroksit, süperoksit radikalinden farklı olarak yağda çözündüğünden oluştuğu yerden uzakta olan ve  $Fe^{2+}$  içeren hücresel membranlarda da hasar oluşturabilir.

### 2.3.3. Hidroksil Radikalleri ( $OH\cdot$ )

Son derece reaktif radikallerdir ve yarılanma ömrü 10 ile 9 saniye arası olup oldukça kısadır. ROS'ların en güçlüsüdür (Ayala ve ark., 2014). Hidroksil radikali, geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşur (1c ve 1d). Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller oluşturur ve hücrede hasara sebep olur (Yin ve ark., 2011).

### 2.4. Antioksidanlar

Serbest radikal oluşumunun temelinde oksijen olduğu için, gerçekte bir oksidasyon (oksidan) faaliyetidir. Vücudumuz, bu faaliyete karşı “antioksidan” larla cevap vermektedir. Antioksidanlar oksidatif stresin olumsuz etkilerine karşı kullanılır. Doğal antioksidanlar ve ilaçlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Doğal antioksidanlar, organizmadaki bazı enzimler, makro ve mikro moleküllerden oluşur. Çeşitli reaksiyonlarda rol oynayan süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, hidroperoksidaz, sitokrom C oksidaz gibi enzimler antioksidan özellik gösterir. Ayrıca seruloplazmin, transferrin, ferritin, hemoglobin, myoglobin gibi protein yapısındaki makromoleküller ve E Vitamini, C Vitamini, tiol içeren

bileşikler, glikoz, bilirubin gibi mikromoleküllerin de antioksidan özellikte olduğu ve oksidatif stres oluşturan durumlarda vücutta bu maddelerin sentez ve salınımının arttığı bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar sonucu pineal bezden salgılanan bir hormon olan melatoninin de kuvvetli antioksidan özellik gösterdiği gözlenmiştir (Yavuzer, 1983; Fuji ve ark., 1984; Wisp ve ark., 1986; Niki, 1991; Özdemir, 1993; Sayan ve ark., 2000).

Oksidatif stres sonucu oluşan oksidan maddelerin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla sitokinler, barbitüratlar, demir şelatörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri ve mannitol gibi ajanların kullanımı oldukça yaygındır (Yavuzer, 1983; Fuji ve ark., 1984; Niki, 1991; Erbaş, 1993).

Şekil 2: Antioksidanlar



### 2.5. Oksidatif Stres Nedir?

Antioksidanların miktarı oluşan serbest radikalleri dengeleyemez ve serbest radikal seviyesi, antioksidan seviyesine göre artar ise serbest radikaller hücrelerde oksidatif hasarlara yol açar ve bu duruma oksidatif stres denir. Bu durum vücudun paslanması olarak da bilinir (<http://gida.gumushane.edu.tr> 7 Mayıs 2014).

**Şekil 3:** Oksidatif Stresin Sebepleri ve Oluşturduğu Hastalıklar.



### 2.5.1. Oksidatif Stresin Hücresel Yapılar Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin hücre içerisinde artışı veya antioksidanların patolojik süreçler sonucunda azalmasına bağlı olarak oksidatif denge bozulur. ROS miktarındaki bu artış sonucu hücre membranlarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana gelerek hücre zedelenmesine neden olur (Sies, 1991).

### 2.5.2. Oksidanların Kaynakları

Fizyolojik şartlarda gerçekleşen pek çok hücrel aktivite oksidan oluşumuna neden olur. Normal biyolojik işlemlerden mitokondrideki  $O_2$ 'li solunum sırasında elektron transfer sistemi (ETS)'nde, katabolik ve anabolik reaksiyonlar sırasında, endoplazmik retikulumda sitokrom P450 sisteminde meydana gelen elektron kaçakları sonucunda oksidanlar oluşur (Cochrone, 1991; Yavuzer, 1993).

Sigara dumanı, kirli hava, ozon, nitrojen dioksit, benzen, kükürt dioksit gibi ksenobiyotikler oksidan miktarını artırır (Reilly ve ark., 1996). Alkol, uyuşturucu ve benzeri alışkanlık yapıcı maddeler de homeostazi bozmaları nedeniyle oksidan oluşumunu artırır (Özdemir, 1993). Ayrıca organizmada serbest Fe ve Cu gibi minerallerin normalin üstünde olması da oksidan oluşumunu artırır (Reilly ve ark. 1996).

### 2.5.3. Oksidanların Zararları

Gerek iç gerekse dış etkenlerin uyarılması ile oksidan maddelerin normal düzeyin üzerine çıkması organizmanın zarar görmesine yol açar (Michael ve Taylor, 1988; Özdemir, 1993; Jacobson ve ark., 1993; Steinberg, 1991). Organizmada

herhangi bir nedenle aşırı miktarda üretilen oksidan maddeler, nükleik asitler, lipitler, proteinler, enzimler ve karbonhidratlarla etkileşerek, hücre hasarı ve ölümü ile sonuçlanan etkilere sebep olurlar (Halliwell ve Chirico, 1993).

#### 2.5.4. Oksidan Maddelerin Oluşumunun Engellenmesi

Burada gerçekleştirilecek ilk aşama oksidatif stres yaratıcı etkenlerin ortadan kaldırılmasıdır. Doku hasarı ile oksidan oluşumuna yol açan biyokimyasal reaksiyonların engellenmesi ve oksidan madde salgılayan hücrelerin inaktive edilmesi de etkili bir yöntemdir. Oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak, oksidan maddeleri inaktif hale getirebilen maddeler vardır. Vitaminler, flavanoidler, mannitol böyle bir etkiye sahiptir. Hemoglobun, seruloplazmin ve ağır minerallerde oksidan maddeleri kendilerine bağlayarak, oksidan zincirleri kırabilirler (Fuji ve ark., 1984; Michael ve Taylor, 1988; Bast ve ark., 1991; Steinberg, 1991; Özdemir, 1993; Vigue ve ark., 1993).

#### 2.5.5. Oksidatif Stres Nasıl Azaltılır?

Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif stresten en az etkilenmek için izlemeniz gereken iki yol vardır. İlk yol antioksidan alımını arttırmak. Böylece vücudunuz ona zarar veren serbest radikal moleküllerinden daha fazla etkisizleştirilebilir. İkinci yol ise serbest radikal moleküllerinin oluşumunu azaltmak (<http://www.fitekran.com.tr>).

##### 2.5.5.1. Serbest Radikalleri Azaltmak İçin

- ✓ Şeker ve yağ tüketimi azaltılmalı. İşlenmemiş gıdalar tercih edilmeli.
- ✓ Alkol alımı azaltılmalı.
- ✓ Bol sıvı tüketilmeli.
- ✓ Endüstriyel kirlilikten kaçınılmalı. Yoğun otoyollardan, fabrikalardan ve benzeri kirleticilerden mümkün olduğunca uzakta yaşamaya çalışmalı.
- ✓ Uyku düzenli olmalı. Uykusuzluğun oksidatif stresi tetiklediği hakkında bulgular mevcut.
- ✓ Uzun süre UV ( ultraviyole-güneş ışığında bulunan bir ışık dalga boyu) ışıktan uzak durulmalı.
- ✓ Fiziksel ve zihinsel stresten uzak kalmaya çalışılmalı.
- ✓ Sigara kullanımı varsa kullanılmamalı ve azaltılmaya çalışılmalıdır (<http://www.fitekran.com.tr>).

### 2.5.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Vücudumuzdaki tüm hücrelerin oksijene ihtiyacı vardır. Oksijen yaşamın temelidir. Ayrıca oksijen, hücrelerimizde yandığında serbest radikal adı verilen zararlı maddeleri açığa çıkarır. Bu serbest radikaller hücrelerimize zarar verir. Ultraviyole ışınlar, radyasyon, tarım ilaçları, yanmış gıdalar, katkı maddeleri, sigara, alkol, egzoz dumanı ve stres gibi çevresel faktörler de vücudumuzda serbest radikal oluşumunu artırır. Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres sonucu vücudumuzda meydana gelen hücre hasarı; kanser, kalp damar hastalıkları, artrit, DNA hasarı, bağışıklık sistemi yetmezliği ve erken yaşlanma gibi birtakım sağlık sorunlarına yol açar (<http://www.hastane.com.tr> 24 Mayıs 2010).

### 2.5.7. Oksidatif Stres Nasıl Ölçülür?

Kanda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ölçümü ile oksidatif stres düzeyi ölçülebilir. Kanda hidrojen peroksit düzeyinin 2,25 mmol/L'nin üzerinde olması oksidatif stres düzeyinin yüksek olduğunu gösterir (<http://www.hastane.com.tr> 24 Mayıs 2010).

#### Oksidatif Stres Kimlerde Görülür?

- ✓ Hormon replasman tedavisi alanlar
- ✓ Sigara ve alkol kullananlar
- ✓ Yaşlılar
- ✓ Kronik hastalığı olanlar
- ✓ Yoğun stresli hayatı olanlar
- ✓ Hazır gıda tüketimi fazla olan kişiler
- ✓ Obezler
- ✓ Hamileler (<http://www.hastane.com.tr> 24 Mayıs 2010).

## 2.6. MikroRNA

### 2.6.1. MikroRNA'ların Yapısı ve Keşfi

İyi tanımlanmış iki küçük RNA tipi bulunmaktadır; *MikroRNA(miRNA)*'lar ve *short interfering RNA (siRNA)*'lar. miRNA ve siRNA'lar biyokimyasal ve fonksiyonel olarak ayırt edilemedikleri için başlangıç noktalarına göre ayrılırlar. miRNA'lar dsRNA'ların saç tokası şekilli prekürsörlerinden elde edilirken, siRNA'lar uzun dsRNA'lardan oluşur. İlk keşfedilen küçük RNA miRNA'dır (Narry,

2005). miRNA yaklaşık olarak 21-23 nükleotit uzunluğunda tek iplikli RNA molekülü türüdür, gen ifadesinin düzenlenmesi konusunda rol oynar. Kodlanmayan RNA' lardandır, yani DNA'dan transkripsiyonu yapılan ama proteine çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanırlar.

İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Günümüzde ise insan genomunda 1000'in üzerinde miRNA tanımlanmıştır (Narry, 2005; Shenouda ve Alahari, 2009; Saydam ve ark., 2011).

İlk miRNA, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ta lin-4 olarak adlandırılan genin hiçbir proteini kodlamamasına karşın 22 nükleotit uzunluğunda küçük bir RNA transkribe edildiği rapor edilmiştir (Lee ve ark., 1993; Shenouda ve Alahari, 2009; Saydam ve ark., 2011). Bulunan bu genetik materyal için miRNA terimi ilk defa 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (Lee ve ark., 1993; Ruvkun, 2001).

2000 yılında Reinhart ve arkadaşları tarafından yine *C.elegans*'da 22 nükleotit uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir miRNA keşfedilmiştir (Pasquinelli ve ark., 2000; Reinhart ve ark., 2000). İlerleyen yıllarda let-4 ve let-7 ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilip miRNA olarak isimlendirilmiştir (Lagos-Quintana ve ark., 2001; Saydam ve ark., 2011).

#### 2.6.2. MikroRNA'ların Oluşumu

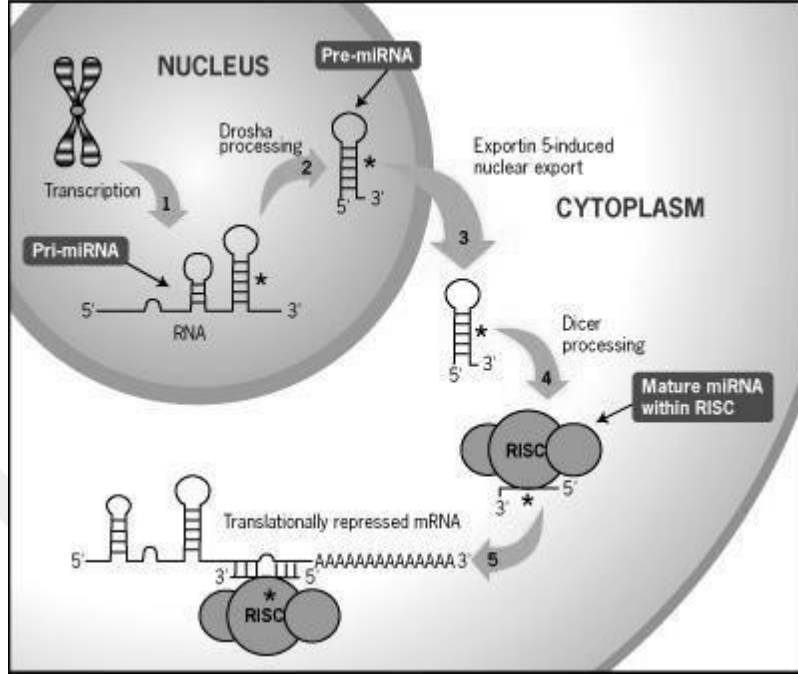
miRNA'lar birbirini izleyen üç basamakta gerçekleşir. İlk basamakta miRNA genlerinden primer miRNA'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci basamakta primimiRNA'lar prekürsör miRNA'lara nükleus içinde dönüştürülür. Son basamakta ise olgun miRNA'ların sitoplâzma içinde oluşumu gerçekleşir (Kwak ve ark., 2010; Saydam ve ark., 2011).

miRNA'lar, RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. *Pri-miRNA* (500-3000 baz), "*cap*" ve "*poli A*" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır. Çekirdekte pri-miRNA, *RNAaz III* enzim ailesinin bir endonükleazı olan *Drosha* ve kofaktörü *Pasha* (veya *DGCR8*), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda olan *premiRNA*'ya dönüştürülür (Lee ve ark., 2003). Bir



nükleaz olan *Drosha* ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan *Pasha*'nin oluşturduğu bu komplekse mikro işlemci kompleks adı verilir (Esquela-Kerscher ve Slack, 2006; Saydam ve ark., 2011).

Şekil 4: miRNA Oluşum Basamakları



Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan *Exportin 5* ve nükleer bir protein olan *RAN-GTP*'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Sonrasında, premiRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden *Dicer* adlı *endonükleaz* ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA'ya çevrilir (Zhang ve ark., 2002; Lund ve ark., 2004; Saydam ve ark., 2011). *Dicer*, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi *RNA-induced silencing complex (RISC)* oluşumunu başlatır. *Dicer*, *pre-miRNA*'nın sap-ilmliğini kestikten sonra miRNA dubleksinden, RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan *argonaute*'un etkisiyle 5'ucu daha kararlı olanı seçilip sadece biri miRNA RISC kompleksine katılır. Bu iplik, kılavuz iplik olarak adlandırılırken diğer iplik anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır. Yolcu iplik RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MiRNA'lar, RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya *argonaute* proteinleri yardımıyla mRNA'nin yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olarak fonksiyon görürler (Bernstein ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2002; Lund ve ark., 2004; Gregory ve ark., 2005; Saydam ve ark., 2011).

### 2.6.3. MikroRNA'ların Fonksiyonu

miRNA'lar fonksiyonlarını kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliği sayesinde gerçekleştirirler. miRNA'nın yapıya eklenmesi ile oluşan RISC kompleksi baz eşleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanarak ilgili genin protein translasyonunun inhibisyonuna veya mRNA'nın yıkılmasına neden olur (Shenouda ve Alahari, 2009; Saydam ve ark., 2011).

miRNA, hedef mRNA'nın 3'ucundaki translasyona uğramayan bölgesi ya da hedef mRNA'nın open reading frame (ORF) bölgesine bağlanır. Bu bağlanma pozisyonu miRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl bağlandığına bağlıdır. 3'UTR bölgesine bağlanma kusurlu, tam olmayan eksik bağlanmayı içerir ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır. ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam bağlanmayı gösterir ve Argonaute2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır. Ayrıca miRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflendiği bilinmektedir (Pillai, 2005; Sun ve ark., 2010; Saydam ve ark., 2011).

### 2.7. Oksidatif Streste Mikrorna'ların Rolü

miRNA'lar öldürücü potansiyele sahip olan ajanlara karşı hücrel tepki geliştirirler. Bazı genlerin yanı sıra memeli genlerinin çoğunun düzenlenmesinden sorumludurlar. Öte yandan miRNA'lar protein ekspresyonu ve hücre içi birçok işlevden sorumlu olan, küçük kodlanmamış RNA'lar olarak tanımlanırlar. Elektromanyetik dalgalar (X ve gama ışınları, ultraviyole ışınları) ve hidrojen peroksit gibi çeşitli fiziksel veya kimyasal ajanlar miRNA'ların işlevlerini etkiler.

Dolayısıyla oksidatif hasara karşı duyarlı olan miRNA'ların işlevlerini yerine getirmelerini engelleyici fiziksel ve kimyasal ajanların bilinmesi önemlidir.

Öte yandan, hücrede oksidatif hasara neden olan dış sitotoksik ajanlara karşı hücre içi yanıtların ilk programlanmasında miRNA'ların önemli roller üstlenebileceği düşünülmektedir.

Oksidatif stresin hipertansiyon, diyabetik vaskülopati, hiperkolesterolemi ve ateroskleroz gibi farklı damar hastalıklarında rol oynadığı ortaya konmuştur. Gerçekten de, artmış ROS üretimi endotel ve vasküler yumuşak kas hücre fonksiyonlarını bozduğu, kardiyovasküler hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Özellikle oksidatif stres bağımlı endotel disfonksiyonu, kardiyovasküler komplikasyonlar, diyabet ve obezitede mir-200 aile üyeleri önemli rol oynar. Buna

ek olarak, ROS üretimi ve duyarlılığı modülasyonu nedeniyle, mir-210 gibi farklı miRNA'ların, mitokondriyal metabolizmasında anahtar rol oynadığı ortaya konmuştur (<http://www.emo.org.tr> 8-9 Kasım 2013).

### 2.7.1. MiR-200 Ailesi

Bu miRNA ailesi beş üyeden oluşur. Bunlar miR-200c, miR-141, miR200a, miR200b ve miR-429'dur. Tümör hücrelerinin epitelyal mezenşimal geçişindeki rolü üzerinde geniş bir şekilde çalışılmıştır (Brabletz ve Brabletz, 2010). Vasküler hücre yanıtında, oksidatif stresteki miR-200 ailesinin rolü karakteristik özellikler gösterir.

Özellikle, miR-200c ve miR-141, farklı zaman aralıklarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz bırakıldığında insan göbek damarı endotel hücresinde (HUVEC) en fazla düzenlenen miRNA'lardır. HUVEC'de miR-200c iyi ifade edilirken başka bir ailenin miRNA'ları zorlukla saptanır. miR-200c muhtemelen endotel hücre (EC)'deki oksidatif stres kaynaklı biyolojik tepkilerin ana efektörüdür (Magenta ve ark., 2011). Spesifik olarak oksitlenmiş indirgenmiş glutatyonun dönüşümünü bloke eden bir glutatyon redüktaz inhibitörü olan alkilleyici ajan 1,3-bis (2-kloroetil) -1-nitrozüre (BCNU) de miR-200c ifadesini artırabilmektedir. HUVEC'deki miR-200c aşırı ifadesi, hücre büyümesini durdurma, apoptoz ve hücre yaşlanmaya neden olur (Zaccagnini ve ark., 2004).

Oksidatif stres bağımlı yaşlanmada insan fibroblastlarında ve insan trabeküler ağ hücrelerinde miR-200c'nin yükseldiği görülmüştür (Li ve ark., 2009). Ayrıca farklı çalışmalarda oksidatif stres varlığında miR-200 aile üyelerinin serumda seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir. Böylece oksidatif stres ve miR-200 ailesi arasında bir bağlantı olduğu ortaya konmuştur (Wang ve ark., 2010).

İnsan yumurtalığı adenokarsinomada, yüksek miR-200a seviyelerinin ve düşük p38 $\alpha$  konsantrasyonlarının görüntülenmesi aslında oksidatif stresin sebep olduğu bir durumdur (Mateescu ve ark., 2011). Farmakolojik ya da genetik olarak P38 $\alpha$  inaktivasyonu, ROS birikimini ve antioksidan savunmalarını başlatır (Dolado ve ark., 2007; Naidu ve ark., 2009). miR-200'ler arasındaki etkileşim ve oksidatif stres tepkisi insan yumurtalık karsinogenezini ve prognozunu etkileyebilir, mir-200a oksidatif stres tarafından indüklenir (Magenta ve ark., 2011).

miR-210 birçok mitokondriyal bileşeni hedefler. mirR-210 seviyelerinin manipülasyonu mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif strese neden olur. Bununla birlikte, hipoksi altında ROS üretimi üzerinde miR-210 etkileri için farklı veriler elde

edilmiştir. Kanser hücrelerindeki hipoksi ROS düzeylerini artırır, bu da miR-210'u bloke ederek gerçekleştirilir. miR-210 oksidatif strese karşı koruyucu etkiye sahiptir. miR-210 mitokondriyal ROS üretimini azaltır (Favaro ve ark., 2010).

miR-210, normal insan fibroblastlarındaki yaşlanma süreci de dahil olmak üzere bir dizi miRNA ekspresyonunu artırır (Faraonio ve ark., 2012). miR-210'un aşırı ekspresyonu, çift sarmallı DNA kopmaları ve ROS birikimine sebep olur. Bu nedenle, normalde miR-210 ekspresyonu, oksidatif stres ile ilişkili hücresel yaşlanmadan sorumludur. Buna karşılık düzensizleşen miR-210 seviyeleri ileriye dönük bir şekilde yaşlılık programının yürütülmesinde, değişmiş hücre döngüsü ve oksidatif stresi sürdürmek için katkıda bulunabilir.

### 2.7.2. *MİR-21*

MikroRNA-21 (miR-21), meme, pankreas, akciğer, gastrik, prostat, kolon, baş-boyun ve özofagus (yemek borusu) kanserleri dahil olmak üzere hemen hemen tüm epitelyal hücre kaynaklı solid tümörlerde artış gösteren çok özel bir miRNA'dır. Ayrıca lösemi, lenfoma ve multipl miyeloma gibi hematolojik malignitelerde de arttığı bildirilmiştir. miR-21, beyin tümörü, kemik kanseri ve testis kanserinde aşırı eksprese edilir. Bu nedenle miR-21 epitelyal hücrelerden, bağ dokularından, hematopoyetik hücrelerden, germ hücrelerinden ya da sinir hücrelerinden türetilmiş tüm insan kanserlerinin tüm sınıflarında aşırı eksprese olduğu bulunan tek miRNA ya da tek gen olarak görünmektedir (Lindsey ve ark., 2011). miR-21 her yerde bir onkojen'dir ve bazı makaleler mir-21'in kardiyovasküler hastalıklarda ve inflamasyonda çok önemli bir rol oynadığını bildirmiştir. Ek olarak mir-21, çeşitli hücre tiplerinde antiapoptotik ve antiproliferatif bir molekül olarak kabul edilir (Qianjin ve ark., 2015).

miR-21, hücre çoğalmasını ve göçünü hızlandırarak, kanserlerin çoğunda apoptozu inhibe ederek bir onkogen olarak hareket eder. Oksidatif stres tarafından üretilen ROS apoptoza aracılık etmek için sinyal molekülleri olarak hareket ederler. miR-21'in yeniden düzenlenmesi, ROS'ta bir azalma ile sonuçlanırken, miR-21'in inhibisyonu ROS seviyesini arttırmıştır, bu da miR-21'in oksidatif strese karşı direnç oluşturabileceğini göstermektedir (Hao ve ark., 2017).

Çalışmalar, miR-21'in epidermis ve kıl folikülünde yüksek oranda eksprese olduğunu göstermiştir. miR-21'in aşırı ekspresyonu, keratinosit göçünü artırırken, miR-21 azalışı, yeniden epitelizeasyon sürecinde kayda değer bir gecikmeye yol

açmıştır. Bu, miR-21'in keratinosit migrasyonu ve yeniden epitelizasyon için çok önemli olduğunu düşündürmektedir. Doku inhibitörü metalloproteinaz 3 (TIMP3) ve T hücre lenfoma invazyonu ve metastazı 1 (TIAM1), miR-21'in doğrudan hedef genleri olarak tanımlanmıştır ve bu genlerin keratinosit migrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Amro ve ark., 2018).

### 2.7.3. MiR-31

miR-31, ekspresyon örneği, saç uzaması, deri karsinogenezi ile ilişkisi, cilt yaşlanması ve birçok inflamatuvar bozuklukta anormal büyüme gibi derideki olaylar üzerindeki etkisi nedeniyle terapötik müdahaleler için potansiyel birincil aday olarak tanımlanmaktadır (Andl, 2015).

Patolojik koşullarda miR-31 esas olarak kanserde incelenmiştir ve tümör metastazı ve büyümesinin kritik ve pleiotropik bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, cilt hastalıklarındaki rolü net olarak bilinmemektedir. miR-31 ekspresyonu keratinositlerle sınırlı olmadığı için, diğer hücre tiplerindeki düzensizlikte psoriatik deri iltihabına katkıda bulunabilir (Ning ve ark., 2013).

Diğer taraftan miR-31, HIF'yi inhibe eden faktör (FIH)'ü hedefler. Bu da, hipoksi ile tetiklenen faktör 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) transkripsiyon aktivitesini etkileyen FIH'nin protein ekspresyonu kaybına yol açar. Hem hipoksi hem de HIF1 $\alpha$  aktivasyonunun kendisi, otofajiyi ve mitofajiyi indüklemek için yeterli olduğu bilinmektedir (Stephanos ve ark., 2010).

Son zamanlarda miR-31'in oral skuamöz hücreli kanserli hastaların serumunda arttığı ve tümörlü parçanın kesip çıkarılması üzerine önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir, bu da kanser tedavisinin seyrini izlemek için bir belirteç olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir (Stephanos ve ark., 2010).

İnsan derisi yaralarında miR-31'in, bozulmamış deri ile karşılaştırıldığında proliferatif faz boyunca inflamatuvar yara-kenarı keratinositlerde kademeli olarak artış gösterdiği görülmüştür. miR-31, epitelyal membran protein 1'i (EMP-1) susturmak suretiyle keratinosit proliferasyonunu ve göçünü desteklemektedir. Bu da yara iyileşmesinin düzenlenmesinde pozitif bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Ning ve ark., 2016).

Epidermal kök hücrelerin epigenetik regülasyonundaki kusurlar da, kötü huylu olmayan cilt hastalıklarının gelişimine katkıda bulunur. Gen baskılanması olan hastalarda bazı karakteristik kutanöz özellikler mevcuttur. Gen baskısına ek olarak, diğer epigenetik değişiklikler de cilt hastalıklarının patogenezi ile ilgilidir. Örneğin, miR-31'in aşırı ifadesi inflamatuvar mediatörlerin ve lökosit kemotaksisinin deriye üretimini düzenleyerek psoriasis lezyonlarında deri iltihabına katkıda bulunur. Sedef hastalığı, spesifik bir mikroRNA ekspresyon profili ile karakterize edilebilir ve miR-31, psoriasis epidermiste baskın olan tümör büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) tarafından sedefli deride yüksek ölçüde düzenlenmiş miRNA'lardır. Doğrudan serin / treonin kinaz 40'ı (STK40) hedefler ve NF- $\kappa$ B sinyalini inaktive eder. miR-31'in inhibisyonu NF- $\kappa$ B sinyalleşmesini aktive eder ve interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-8 ve epitelyal kökenli türetilmiş nötrofil aktive edici peptit 78 gibi birçok enflamatuvar sitokin veya kemokinlerin ekspresyonunu destekler (Qi ve ark., 2013).

### 2.8. Akneli hastalarda oksidatif stres

Akne vulgaris, en sık görülen dermatolojik bir hastalıktır. Çok faktörlü bir patogeneze ve halen bilinmeyen bir etiyolojiye sahiptir. Geleneksel olarak, aşırı sebum üretimi, foliküler epitelyal hiperkeratoz ve foliküler epitel rüptürü ile karakterizedir. Bakteriyel kolonizasyon da patolojide rol oynamaktadır (Otto ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalar, ROS ve lipid peroksit (LPO) gibi oksidatif stres bileşenlerinin, akne vulgarisin patogenezinin ve progresyonunun bazı kısımlarında yer alabileceğini bildirmiştir (Otto ve ark., 2016). ROS oluşumu sırasında, oksijen eşlenmemiş bir elektron kazanır ve böylece serbest radikal oluşturur. Daha sonra bu serbest radikal peroksitler gibi diğer ROS'ları üretir. Bu da lipid peroksidasyonunu ve inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını içerebilen oksidatif hasara yol açar. Cilt, hem endojen hem de eksojen kaynaklardan üretilen ROS kaynaklı oksidatif strese kronik olarak maruz kaldığı için ortaya çıkan oksidatif hasara özellikle duyarlıdır.

Derideki ROS'un endojen kaynakları, oto-oksidasyon ve enzimatik oksidasyonu içerir. Oto-oksidasyon üç aşamalı bir işlemi içerir: Birincisi, bir serbest radikal, bir doymamış yağ asitlerinin bir metilen grubundan bir hidrojen atomunu çıkararak, ROS'un nihai üretimini başlatır. Bu başlangıç aşaması olarak bilinir. Daha

sonra, yağ-asit-lipid-peroksil radikalinin, özellikle ağır metallerin (yani, çinko, bakır, vb.) varlığında, başka bir lipit molekülünden hidrojeni çıkarabildiği ve böylece bir otokatalitik zincire neden olabildiği yayılma aşaması meydana gelir. Katalitik zincir reaksiyonu, lipit-peroksil radikalinin stabil bir lipit peroksite indirgenmesiyle sona eren üçüncü aşamada kesilir. Bu, cildin mikro ortamında alfa-tokoferol gibi bir antioksidan ile elde edilir (Welch ve ark., 2009).

Lipid peroksitlerin oluşturabileceği diğer endojen süreç, enzimatik oksidasyon yoluyla gerçekleşir. Enzimatik oksidasyon sırasında, lipoksijenaz, linoleik ve araşidonik asitler gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu katalize eder. Tüm enzimatik olarak üretilen serbest radikaller biyolojik olarak aktiftir, bu nedenle enzimatik oksidasyon işleminin artan aktivitesi, pilosebaköz birimlerde ROS birikmesine neden olabilir. Bu muhtemelen akne vulgaris ile ilişkili anormalliklere katkıda bulunur. Endojen kaynaklara ek olarak fotooksidasyon ve kirlenici / çevresel oksidanlar da ROS üretimi yoluyla aknenin patogenezinde katkıda bulunur. Tüm doymamış lipidlerde, ultraviyole (UV) ışığı gibi, duyarlılaştırıcıların varlığında fotooksidasyondan şüphelenilir. Fotooksidasyon sırasında serbest radikaller tarafından başlatılan ROS üretimi, oto-oksidasyondan 1000 ila 1.500 kat daha hızlıdır (Otto ve ark., 2016).

Akne halinde sebum bileşimi değişir. Yağ asitleri ve skualen gibi doymamış triterpenlerin lipit peroksidasyonu, hem hücre içi hem de hücre dışı ROS üretir. ROS üretimi sebumun viskozitesini ve bileşimini değiştirebilir. Aslında, akne aşırı sebum üretiminin, folikül içinde oksidatif strese yol açan aşırı ROS oluşumunu desteklemesi ve böylece cildin antioksidan sistemini çökertmesi düşünülmektedir (Kligman ve ark., 1970; Welch ve ark., 2009).

Lipit peroksidasyonu ile üretilen oksidanların ayrıca hiperketaminöz etkilenmelerin oluşumunu desteklediğinden şüphelenilmektedir. Bu güçlü oksidanlar, komedojenik kuvvetlendirme yeteneğine sahiptir. Lipid peroksitler, proteinler ile çapraz bağlanabilen ve keratinin sertliğini değiştirebilen ve böylece foliküler tıkanmayı arttıran MDA gibi yan ürünlerin oluşumu yoluyla gelişmiş glikasyon son ürünlerinin (AGE) oluşumuna yol açabilir (Otto ve ark., 2016). Ek olarak, lipid peroksitler foliküllerin duvarlarında enflamatuar tepkiler uyandırabilir, sonuçta duvarları zayıflatır ve parçalanmaya daha duyarlı hale getirir. Nötrofillerin ürettiği

ROS da foliküler duvarın tahriş ve tahribatında rol oynamaktadır. Folikül duvarının tahribatının bir sonucu olarak, foliküler içerikler çevre dokuya salınır ve sonuçta yabancı cisim reaksiyonuna neden olur (Ohsawa ve ark., 1984).

Normal şartlar altında, cildin antioksidan savunma sistemi pilosebaköz birimlerde serbest radikallerin ve ROS'un oluşumunu önler, böylece yapısal lipidlerin ve cildin bütünlüğünü koruyan proteinlerin oksidatif hasarını önlemiş olur (Ohsawa ve ark., 1984). Alfa-tokoferol (E vitamini) ve beta-karoten gibi non-enzimatik antioksidanlar, örneğin yağ peroksil radikalleri gibi serbest radikaller ile etkileşerek cildin mikro lipid peroksidasyonunu engeller. Bununla birlikte, aşırı lipid peroksidasyonu ve aşırı ROS varlığında, cildin redoks dengesi (elektron kaybı), E vitamini gibi koruyucu antioksidanlarda azalmaya neden olur.

E vitamini, serbest radikallerin oksidan etkisini nötralize eden ve böylece hücrel hasarı önleyen bir lipit çözülebilir antioksidandır (Konger, 2006). Üst düzey yüz cildi gibi sebum ve sebum açısından zengin bölgelerde yüksek E vitamini seviyeleri bulunur. E vitamini, deri yüzeyinin oksidasyondan korunmasına hizmet edebilir ve bu da sonuçta lipid peroksidasyonuna yol açabilir. Bununla birlikte, aşırı sebum üretiminde, endojen E vitamini kaynağı kısıtlanabilir ve bu da bu antioksidanın azalmasına ve oksidatif stresin artmasına neden olabilir (Otto ve ark., 2016).

Aşırı antioksidan savunma sistemi üzerindeki yüksek oksidatif yükün etkisi, akne vulgarisin patogeneğinde rol oynamaktadır. Çalışmalar, günlük ağızdan alfa-tokoferol desteğinin, insan cildinde, özellikle de yüksek yoğunluklu yağ bezleri olan bölgelerde E vitamini düzeylerinde önemli artışlara yol açtığını göstermiştir (Ekanayake-Mudiyanselage ve Thiele, 2006).

Cilt sürekli olarak enzim aktivitesi veya aktif nötrofiller gibi endojen kaynaklardan ve iyonize olmayan radyasyon, sigara içimi, stres ve hatta dışsal uyaranlardan oluşan ROS tarafından tetiklenen oksidatif streslere maruz kalmaktadır (Yun ve ark., 2014).

Son zamanlarda, sistemik oksidatif streslerin akne patogeneğini etkilediği gösterilmiştir. Akneli hastalarda, katalaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz içeren antioksidan enzimlerin normal kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğu ve MDA düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu



bildirilmiştir (Arıcan ve ark., 2005). Ayrıca, vitamin A ve E seviyelerinin akneli hastalarda genel ölçüde daha düşük olduğu ve negatif akne şiddeti derecesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (El-Akawi ve ark., 2006). LPO, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile ROS'un varlığında oluşan bir peroksittir. Lipid peroksidasyon seviyesi hücrelerde oksidatif stres için bir belirteç olarak kullanılabilir. Infundibulumda birikmiş sebum ROS ile oksidasyona duyarlıdır. Sebum oksidasyonu gerçekleştiğinde, LPO komedonlar oluşturur ve kutanöz inflamasyon dahil sitokin ve kemokinlerin seviyelerini artırabilir (Wollina ve ark., 1996).

Sonuç olarak, hava kirliliği, iyonize olmayan radyasyon, sigara içimi gibi durumlar oksidatif strese yol açarak komedonlarda sebumun lipid peroksidasyonunu indükleyebilir. Bunun sonucunda, anormal foliküler keratinizasyon veya enflamasyonu indükleyen lokal IL-1 $\alpha$  seviyesinde artışa neden olabilir (Yun ve ark., 2014).

### *2.8.1. Sebum, İnflamasyon ve Oksidatif stres*

Akne vulgariste, sebum boyut ve aktivitesinde artış olduğu için üretilen sebum miktarında da artış gözlenmektedir. Sebumda linoleik asit düzeyi azalırken palmitik asit düzeyinde artış olduğu bilinmektedir. Linoleik asit süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalini baskılamak, palmitik asitin de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi baskıladığı gözlenmiştir. Akne vakalarında linoleik asit seviyesindeki düşüklük, nötrofil fagositozunun ve ROS üretiminin baskılanamamasına yol açtığı için bu durum inflamasyon artışında sebep olmaktadır. Komedonda, palmitik asit seviyesindeki artış akne inflamasyonunun gerilemesini sağlamaktadır. Palmitik asit ortamda bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi azaltmaktadır. Fakat akne H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı palmitik asitin nötralize etme yetkisini aştığı için ortamda bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin doku hasarına sebep olduğu görülmektedir (Yorulmaz Demir ve Metin, 2011).

Akne gelişiminde rol oynayan bir başka proinflamatuvar mediyatör prostoglandinlerdir (Ottaviani ve ark., 2010). Yapılan çalışmalar neticesinde prostoglandin E2 (PGE2) ve siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin sebace bez hiperplazisini ve sebum üretimini artırdığı gözlenmiştir (Neufang ve ark., 2001). Ayrıca bunların lipoperoksidasyonu tetikleyerek akne oluşumuna sebep olduğu düşünülmektedir (Ottaviani ve ark., 2010).

### 2.8.2. *P.acnes*, İnflamasyon ve Oksidatif stres

*P.acnes* kolonizasyonu, akne patogenezinde rol oynayan önemli faktörlerden biridir. Follikül hücrelerindeki hiperproliferasyon, anormal keratinosit diferensiyasyonu folliküler kanalın üst kısımlarında tıkanmaya sebebiyet verirken, sebumdaki linoleik asit seviyesindeki düşüklükte keratin tıkaçta yapışkanlığı arttırdığı için bu durum *P.acnes* kolonizasyonunun kolaylaşmasını sağlar. Bunun sonucunda *P.acnes*, polimorfonükleer lökositleri (PMNL) ortama çekerek inflamatuvarın başlamasına sebep olur. *P.acnes* ve nötrofiller tarafından salgılanan proteolitik enzimler folliküler duvarda hasara sebebiyet verir ve inflamasyonda artış gözlenir (Yorulmaz Demir ve Metin, 2011). *P.acnes*'in kolonizasyonunda, folliküler mekanik strese bağlı olarak oluşan mikroaerobik ortam oluşumuda, folliküler mekanik stresin yanı sıra oksidatif stresin daha etkili olduğu düşünülmektedir ve sebum oksidasyonunun follikülerdeki oksijen miktarını değiştirdiği bildirilmektedir (Bowe ve Logan, 2010).

Sonuç olarak aknede *p.acnes* ve sebum artışı inflamasyon sebebi olarak görülmektedir. Ancak bunların inflamasyon nedeni olarak görülmesi bu hastalığın etiyopatogenezi için yeterli bir sonuç olarak kabul edilmemektedir. Oksidatif stres ve inflamasyon, akne ve oksidatif stres arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu bilinmektedir. Yapılacak daha çok araştırma ile oksidatif stresin bu durumlarla ilişkisi hedeflenip geliştirileceği düşüncesi mevcuttur (Yorulmaz Demir ve Metin, 2011).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Vakaların Oluşturulması

Tez çalışmamıza Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Dekanlığı, Etik Kurul Başkanlığının 22.09.2017 tarihli ve 2017/1009 sayılı kararı ile 'Etik Kurul Onayı' alındıktan sonra başlanmıştır. Çalışmamız N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 181318003).

Bu çalışma, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Cildiye Polikliniğine başvuran 18-60 yaş aralığında şiddetli akneli 57

kadın hasta ile yine aynı hastanenin Cildiye Polikliniğine başvuran 18-60 yaş aralığında gönüllü olarak çalışmamıza katılan aknesiz sağlıklı 40 kadın (kontrol grubu) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya katılmadan önce tüm katılımcıların yazılı onayları alınmış ve sözlü olarak bilgilendirme yapılmıştır. Çalışmaya kronik rahatsızlığı bulunmayan ve daha önce akne tedavisi için ilaç kullanmamış hastalar dahil edilmiştir. Hasta grubunda akne şiddet skoru 4 ve 5 olan hastalar tercih edilmiştir. Tüm hastaların cardiff akne skorlaması tek dermatoloji tarafından yapılmış ve tüm katılımcılar aynı hekim tarafından muayene edilmiştir. Skorlama 50 cm uzaktan tespit edilebilecek ölçüye göre objektif olarak yapılmıştır. Katılımcılardan rutin amaçla alınan venöz kanları çalışma için kullanılmıştır. Venöz kan örnekleri EDTA'lı ve düz tüplere alınarak 2 saati geçmeyecek şekilde plazma ve serumlarına ayrılmıştır. Ayrılan örnekler çalışma gününe kadar -80°C'de saklanmıştır. Serum da glukoz, üre, kreatinin, kolesterol, tg, hdl, ldl, vldl, ast, alt, crp ve hemoglobin parametreleri çalışılmıştır. miRNA ölçümleri için kandan RNA izolasyonu özel ticari kit kullanılarak tespit edilmiştir. Plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 düzeyleri Real-time PCR yöntemi ile ölçülmüştür.

### *3.1.2. Kullanılan Kimyasallar*

- RTA total miRNA izolasyon kiti
- RTA total miRNA izolasyon kitinin içeriği
  - o Proteinaz K+
  - o Lysis Buffer
  - o Wash Buffer
  - o Binding Buffer
  - o DNase 1
  - o DNase Working Buffer
  - o Elution Buffer
- Applied Biological Materials (abm) cDNA izolasyon kiti
- BrightGreen miRNA qPCR mastermix
- SNORD 44 Referans Gen Primerleri
- Applied Biological Materials (abm) Polly (A) kiti
- Hedef miRNA Primerleri

- MDA ve GSH ELISA kit içeriği
  - o Micro ELISA plate
  - o Reference Standard
  - o Concentrated Biotinylated Detection Ab (100×)
  - o Concentrated HRP Conjugate (100×)
  - o Reference Standart & Sample Diluent
  - o Biotinylated Detection Ab Diluent
  - o HRP Conjugate Diluent
  - o Concentrated Wash Buffer (25×)
  - o Substrate Reagent
  - o Stop Solution
  - o Plate Sealer
  - o Manual
  - o Certificate Of Analysis

### *3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları*

- Santrifüj
- Real Time PCR (LightCycler® 96)
- Roche LightCycler 96 Multiwell Plate
- Etüv
- Mikrosantrifüj
- Vorteks karıştırıcı
- (DNase & RNase free) ddH2O
- 96-100% Etanol
- Mikrosantrifüj tüpleri (1.5 ml, 2.0 ml)
- Mikropipet seti ve steril filtreli mikropipet uçları
- Spin Kolonlar
- Toplama Tüpleri
- Elüsyon Tüpleri

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Plazma Eldesi ve MikroRNA Analizi

- Kan örneği düz veya EDTA'lı tüpe alındıktan sonra 5-10 kez yavaşça alt üst edilerek karıştırıldı.
- Kan örneklerinin 2 saat içerisinde plazma ayırımı yapıldı.
- Tüpler 2.000 xg de 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj işlemi sonunda tüpler sarsılmadan dikkatlice santrifüjden çıkartıldı ve yavaşça kapakları açıldı. Plazmanın üst kısmından 200µl'lik pipetlerle (DNase, RNase free, filtreli pipet uçları kullanılarak) 5 kez pipetleme yapıldı. Toplamda 1000 µl örnek temiz eppendorflara toplanmış oldu.
- Toplanan 1.000 µl'lik bu plazma örneği 2.000 xg'de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmanın üst kısmından (en üstte bir miktar zor görülen lipid birikir ona değmeden) 250 µl lik kısım steril bir eppendorf tüpe alındı. Bu işlem alttaki hücresel kısım rahatsız edilmeden (DNase, RNase Free, filtreli pipet uçları kullanılarak) pipet ile yapıldı.
- Ayrılmış olan plazma örnekleri çalışma yapılacağı güne kadar -80°C de saklandı.

#### 3.2.2. miRNA İzolasyonu

- Plazma örneklerinden 200 µl'lik kısım DNase, RNase free eppendorf tüplere aktarıldı.
- 200 µl plazma örneği üzerine 350 µL Lysis Buffer ve 20 µL Proteinaz K çözeltisi ilave edildi, çekip bırakarak pipetle hafifçe karıştırıldı, ardından 60 ° C'de 30 dakika inkübe edildi.
- Kalıntı DNA istenmemesi için tüpe aktarılan sıvının üzerine Binding Buffer tamponu eklemeyen önce 20 µL DNase I Working Tamponu ve 10 µL DNase I eklendi ve pipetaj yaparak karıştırıldı, oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Üzerine 350 µL Binding Buffer tamponundan eklendi ve dikkatlice pipetaj yaparak karıştırıldı.
- Lizatın tamamını miRNA Spin Kolonuna (2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiş) aktarıldı, kapak kapatılıp ve 1 dakika boyunca 11000 xg'de santrifüj edildi.
- Filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.

- Filtreli kolona 500 uL Wash Buffer ilave edildi ve 11000 xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Sıvı içeren toplama tüpünü atarak filtreli kolonu yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Kalan etanolü uzaklaştırmak için 1 dakika süreyle 11000 xg'de santrifüj edildi.
- Sıvı içeren toplama tüpünü atarak miRNA Spin Kolonu temiz bir 1.5 mL'lik santrifüj tüpüne yerleştirildi.
- miRNA Spin Kolunun filtresinin merkezine önceden 65 °C'de ısıtılmış Elution Buffer'den 40 µl aktarıp ve oda sıcaklığında 1-3 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında tüpler 1 dakika boyunca 8000 xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Tüpte kalan sıvı miRNA içermiş olup ve kullanıma hazır hale getirildi.
- Elde edilen miRNA'lar -20 °C'de saklandı.

### 3.2.3. miRNA'lardan cDNA Eldesi

- Elde edilen miRNA'lar dan abm cDNA izolasyon kiti içeriğinde yer alan poly A mixi kullanılarak miRNA'lara poly A kuyruğu takıldı.
- Kitin içeriğinde yer alan tüm birleşenler her bir örnek için Tablo1'de belirtilen miktarlarda hazırlandı. Son hacim 25 µl olacak şekilde kitin çalışma protokolüne uygun olarak çalışıldı.

**Tablo 1:** Poly (A) mix içeriği.

<b>RNA</b>	15,25 µl
<b>ATP 10 mM</b>	1,25 µl
<b>Poly(A) polymerase, yeast (1 U/uL)</b>	1 µl
<b>5x Poly(A) polymerase, yeast reaction buffer</b>	5 µl
<b>25 mM MnCl<sub>2</sub></b>	2,5 µl (2,5 mM)
<b>Toplam</b>	25 µl

- Yapılan bu işlemlerin ardından ısı protokolü tablo 2 de belirtilen şekilde Light Cyclers cihazında uygulandı.

**Tablo 2:** Poly (A) 'nın bağlanması için gereken süre.

37° C	20 dakika
65° C	20 dakika

- Poly (A) takılı olan miRNA'lar +4 de beklemeye alındı ve bu sürede cDNA eldesi için yine aynı firmanın cDNA mix protokolü uygulanarak mixler hazırlandı. Öncelikle cDNA mix 1 hazırlandı ve içeriği tablo 3 de belirtildiği gibidir.

**Tablo 3:** cDNA mix 1'in içeriği.

RNA (poly a kuyruklu)	10 µl
Mirna oligo (dT) adapter (10 uM)	2 µl
Toplam	12 µl

- Hazırlanan mix 65° C'de 5 dakika bekletildi, sonrasında +4 de tutuldu.
- Hemen ardından cDNA mix 2 hazırlandı. Mix hazırlanırken kullanılan bileşenler ve hacimleri tablo 4 de belirtildiği gibi uygulandı.

**Tablo 4:** cDNA mix 2'nin içeriği.

dTNPs (10 mM)	1 µl
5x rt buffer	4 µl
Rnase off ribonuclease inhibitör	0,5 µl
Onescript rtase	1 µl
Rnase free water	1,5 µl
Toplam	20 µl

- Mix 1 ve mix 2 birbirine karıştırıldı. Hazırlanan cDNA sentez mix ve RNA karışımları yine üretici firmanın mirna onescript cDNA sentez kiti için hazırlamış olduğu kılavuzda ki tavsiyelerine uyularak aşağıda ki ısı ve sürelerde işlem görmek üzere Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate üzerine yüklendi.
  - o 42 C de 15 dk
  - o 72 °C de 10 dk.
  - o +4 °C de saklandı
- Uygulanan protokol sonrasında cDNA'lar elde edildi. Elde edilen cDNA lar PCR aşaması öncesi nanodropp ile ölçümleri yapılarak her cdna 250 ng düşürülecek şekilde PCR grade water ile seyreltildi. Hazırlanan karışımlar Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate üzerine yüklendi.

#### 3.2.4. Real Time PCR

- cDNA'ların referans gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla BrightGreen Master Mix ve SNORD44 PCR Primer Mix'leri üretici firmanın tavsiyelerine uyularak tablo 5'de belirtilen hacimlere göre hazırlandı.



**Tablo 5:** BrightGreen Mastermix ve SNORD44 primer mastermix içeriği.

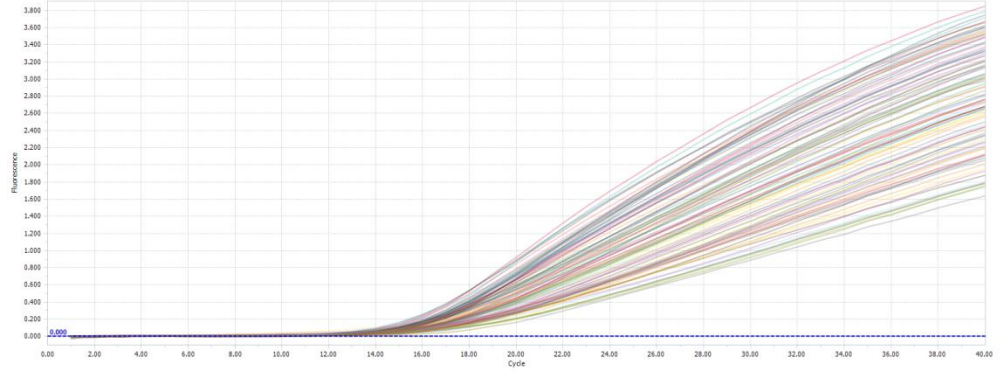
Bright Green Master Mix	10µl
Mirna forward Primer 300 nM	1µl
Mirna reverse primer 300 nM	1 µl
cDNA 250 ng	2 µl
H2O	6 µl
Total Volume	20 µl

- Hazırlanan referans gen real time PCR mix'leri ve hedef gen (miR-200a, miR-21, miR-31) real time PCR mix'leri uygun cDNA'lar ile Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate'ler üzerinde biraraya getirildikten sonra tablo 6' da belirtilen ısı protokolü uygulanarak Light Cycler96 sisteminde real time PCR işlemine alındı.

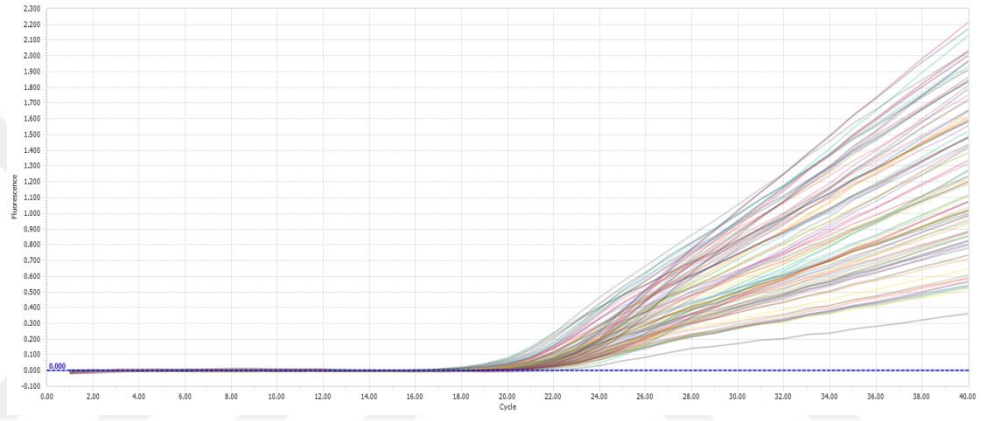
**Tablo 6:** Real time PCR ısı protokolü.

<b>Denaturasyon</b>	95°C de 10 dk.
<b>Amplifikasyon</b> Bu döngü 40 kez sağlanır. (40 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	95°C de 10 sn. 60°C de 15sn 72 °C de 30sn Okuma
<b>Melting Curve</b>	95°C de 30 sn. 50 °C de 1 dk. 90 °C de continue(Acquisitions 3 per/°C)
<b>Cooling</b>	40 C de 1 dk.

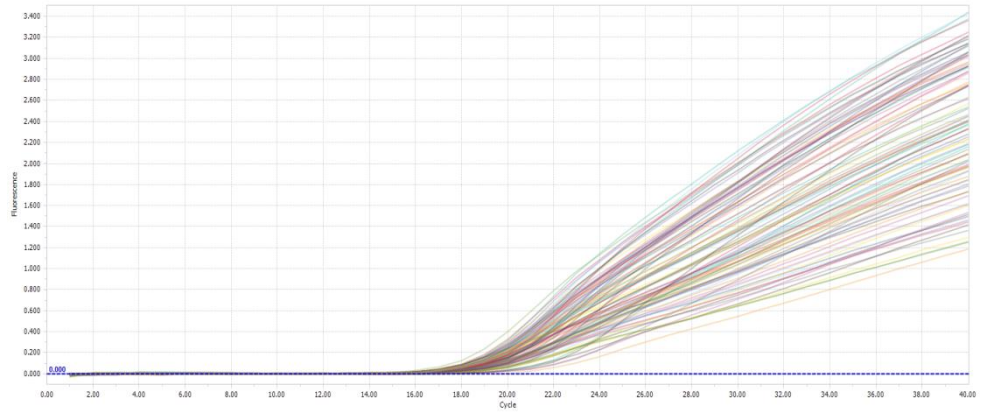
**Grafik 1:** miR-200a'nın amplifikasyon eğrisi.



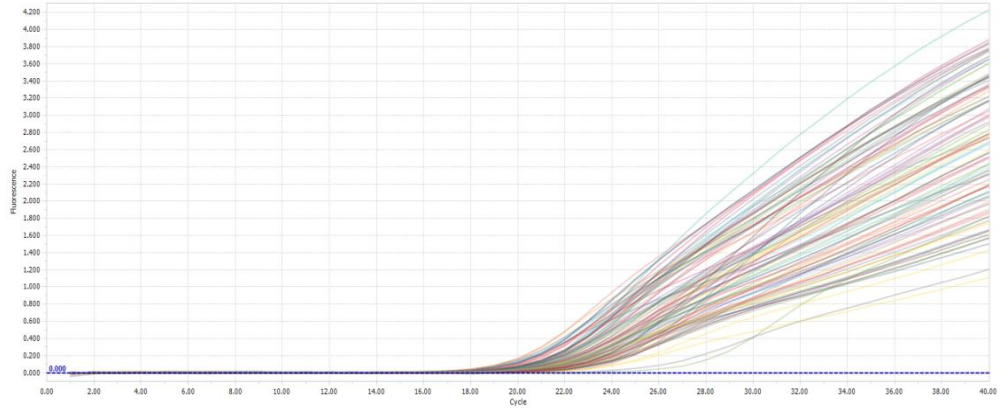
**Grafik 2:** miR-21'in amplifikasyon eğrisi.



**Grafik 3:** miR-31'in amplifikasyon eğrisi.



**Grafik 4:** Snord44'ün amplifikasyon eğrisi.



### 3.2.5. MDA Ölçümü

MDA ölçümü, ticari kit kullanılarak (Elabscience) ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Testin prensibi, insan MDA'sının farklı epitoplarına bağlanan iki anti-MDA poliklonal antikorunu kullanılarak yapılan sandviç ELISA yöntemidir.

ELISA kuyucuklarına konulan serumdaki MDA, kuyucuklardaki katı faza bağlı bulunan anti-MDA antikorunu ile reaksiyona girer. İlk inkübasyon periyodundan sonra reaktif olmayan plazma komponentleri yıkama ile uzaklaştırılır. Sonra her bir mikro plate kuyusuna Horseradish Peroksidaz'a (HRP) bağlı 2. antikor eklenir ve inkübe edilir. Daha sonra her bir göze bir TMB substrat çözeltisi eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk değişimi, spektrofotometrik olarak 450 nm  $\pm$  2 nm dalga boyunda ölçülür. Çalışma sonunda standartların grafiğinden MDA konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans değerleri ile numuların konsantrasyonu hesaplanır.

### 3.2.6. Glutasyon Ölçümü (GSH)

GSH ölçümü, ticari kit kullanılarak (Elabscience) ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Testin prensibi, insan GSH'nin farklı epitoplarına bağlanan iki anti-GSH poliklonal antikorunu kullanılarak yapılan sandviç ELISA yöntemidir.

ELISA kuyucuklarına konulan serumdaki GSH, kuyucuklardaki katı faza bağlı bulunan anti-GSH antikorunu ile reaksiyona girer. İlk inkübasyon periyodundan sonra reaktif olmayan plazma komponentleri yıkama ile uzaklaştırılır. Sonra her bir mikro plate kuyusuna Horseradish Peroksidaz'a (HRP) bağlı 2. antikor eklenir ve

inkübe edilir. Daha sonra her bir göze bir TMB substrat çözeltisi eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk değişimi, spektrofotometrik olarak 450 nm ± 2 nm dalga boyunda ölçülür. Çalışma sonunda standartların grafiğinden GSH konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans değerleri ile numuların konsantrasyonu hesaplanır.

### 3.3. İstatiksel Analiz

İstatistiki analiz SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada gruplara ait sonuçların ortalama değerleri (X) ± standart sapma (SD) ile beraber verildi (miR-200a, miR-21, miR-31 ve MDA için standart error değerleri kullanıldı). Test sonuçlarında p<0.05 anlamlı olarak değerlendirildi. Gruplar arası farklılığı karşılaştırmak amacıyla yaptığımız One-Sample Kolmogorov-Smirnov Testi ile elde ettiğimiz değerlendirmede verilerden parametrik test yapmaya uygun olduğu tespit edilenler glukoz, kolesterol, üre, kreatinin, AST, ALT, hemoglobin ve miR-21 için ‘independent-Samples T testi’ uygulandı.

Nonparametrik test yapmaya uygun olan miR-200a, miR-31, MDA ve Glutasyon için ‘2 Independent-Samples’ (Mann-Whitney U test) testi uygulandı. Çalışmamıza ait parametreler arası korelasyon ‘Spearman korelasyon testi’ ile yapıldı.

## 4. BULGULAR

Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait demografik özellikler tablo 7’de verilmiştir. Tablo 7’de görüldüğü gibi akne vulgarisli hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında boy ölçüm değeri istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.05). Bunun yanısıra yaş, kilo ve VKİ değerleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

**Tablo 7:** Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.

	<b>Akne Vulgarisli Hasta (n=57)</b>	<b>Kontrol (n=40)</b>	<b>P</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	22.4 ± 3.7	23.4 ± 1.5	0.102
<b>Ağırlık (kg)</b>	58.1 ± 8.9	60 ± 8.7	0.318
<b>Boy (cm)</b>	162.0 ± 5.4	164.6 ± 6.2	0.037
<b>VKI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	21.7 ± 2.9	21.8 ± 3.5	0.777

Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait biyokimya parametrelerinin ölçüm düzeyleri tablo 8’de gösterilmiştir. Tablo 8’de görüldüğü gibi akne vulgarisli hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında serum üre ( $p<0.05$ ) ve serum kreatinin ( $p<0.01$ ) değerleri istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur. Bunun yanı sıra serum glukoz, kolesterol, HDL, LDL, VLDL, TG, AST, ALT, CRP ve hemoglobin düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.

**Tablo 8:** Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait bazı biyokimya parametrelerinin düzeyleri.

	<b>Akne Vulgarisli Hasta (n=57)</b>	<b>Kontrol (n=40)</b>	<b>p</b>
<b>Glukoz (mg/ml)</b>	92.3 ± 10.5	92.3 ± 7.5	0.994
<b>Kolesterol (mg/dL)</b>	160.8 ± 35.4	170 ± 31.7	0.185
<b>LDL (mg/dL)</b>	83.1 ± 32.7	89.4 ± 24.6	0.289
<b>HDL (mg/dL)</b>	59.3 ± 12.3	59.3 ± 13.7	0.994
<b>VLDL (mg/dl)</b>	17.8 ± 9.2	18.9 ± 14.6	0.675
<b>TG (mg/dL)</b>	89.1 ± 46.3	94.7 ± 73.4	0.675
<b>Üre (mg/dL)</b>	20.5 ± 3.9	22.4 ± 4.9	0.048
<b>Kreatinin (mg/dL)</b>	0.6 ± 0.06	0.7 ± 0.08	0.002
<b>ALT (U/L)</b>	14.5 ± 5.6	14.8 ± 7.1	0.803
<b>AST (U/L)</b>	17.2 ± 3.4	16.7 ± 4.1	0.538
<b>CRP (mg/L)</b>	1.4 ± 3.7	0.7 ± 1.6	0.206
<b>HGB (g/dL)</b>	13.1 ± 1.2	13.2 ± 1.03	0.559

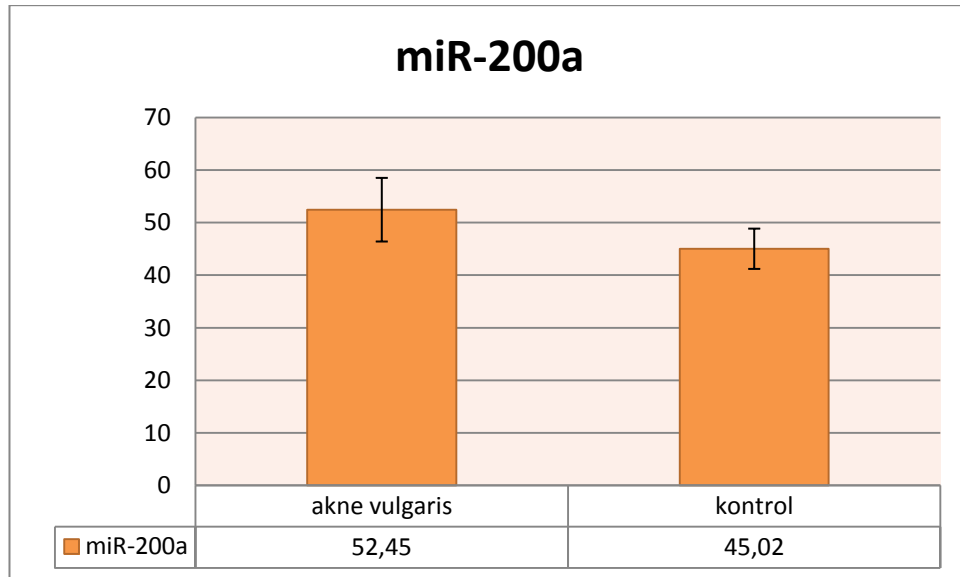
Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait miRNA parametre düzeyleri tablo 9’da ve grafik 5, grafik 6 ve grafik 7’de gösterilmiştir. Tablo 9’dan ve grafiklerden görüldüğü gibi akne vulgarisli hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında plazma miR-21 düzeyi akneli hasta grubunda istatistiki açıdan anlamlı yüksek

bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Bunun yanı sıra akneli hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında plazma miR-200a ve miR-31 düzeyleri akneli hasta grubunda yüksek bulunmuş fakat istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır.

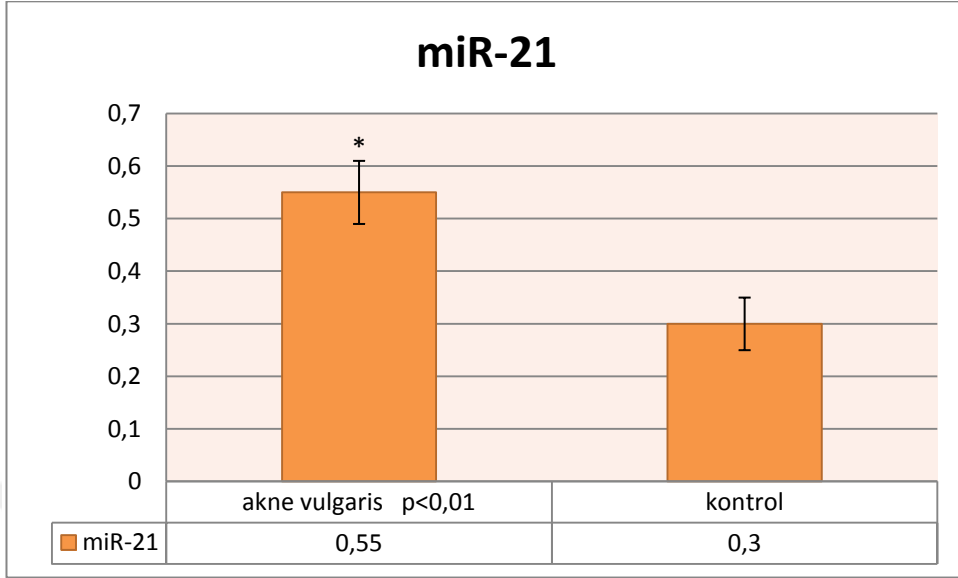
**Tablo 9:** Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait miRNA parametre düzeyleri.

	<b>Akne vulgarisli Hasta (n=57)</b>	<b>Kontrol (n=40)</b>	<b>p</b>
<b>miR-200a</b>	52.45 ± 6.05	45.02 ± 3.83	0.303
<b>miR-21</b>	0.55 ± 0.06	0.30 ± 0.05	0.003
<b>miR-31</b>	7.19 ± 1.50	6.44 ± 0.67	0.652

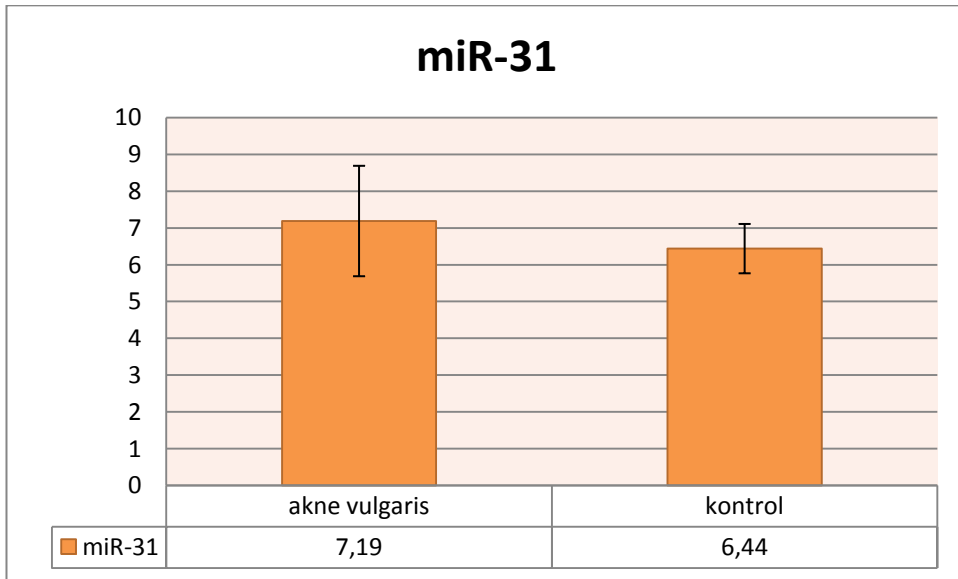
**Grafik 5:** miR-200a'nın standart sapma göstergesi.



**Grafik 6:** miR-21'in standart sapma göstergesi.



**Grafik 7:** miR-31'in standart sapma göstergesi.



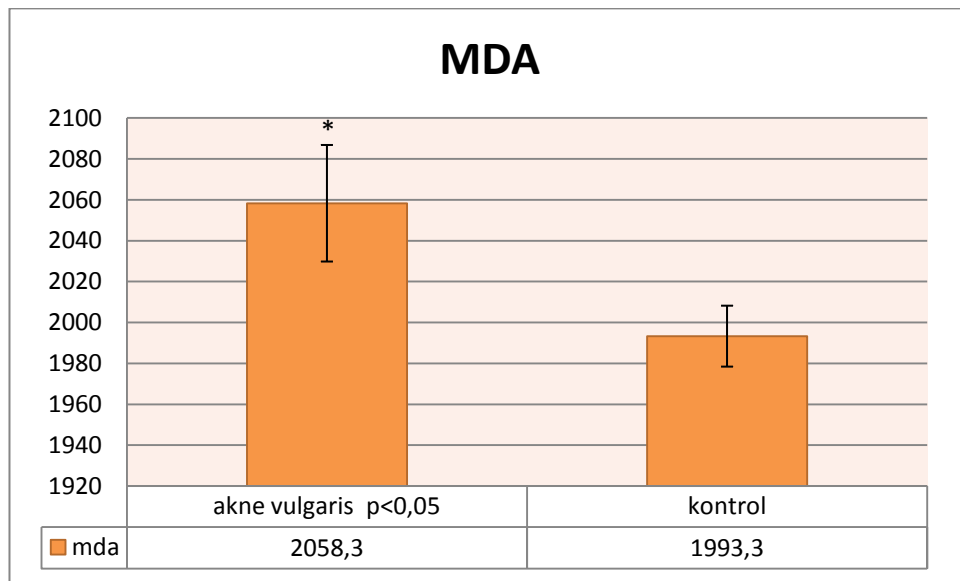


Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametre düzeyleri tablo 10’da, grafik 8 ve grafik 9’da gösterilmiştir. Tablo 10’dan ve grafiklerden görüldüğü gibi akne vulgarisli hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametre düzeyleri karşılaştırıldığında plazma MDA düzeyleri akne vulgarisli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek ( $p<0.05$ ), glutatyon düzeyleri ise istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

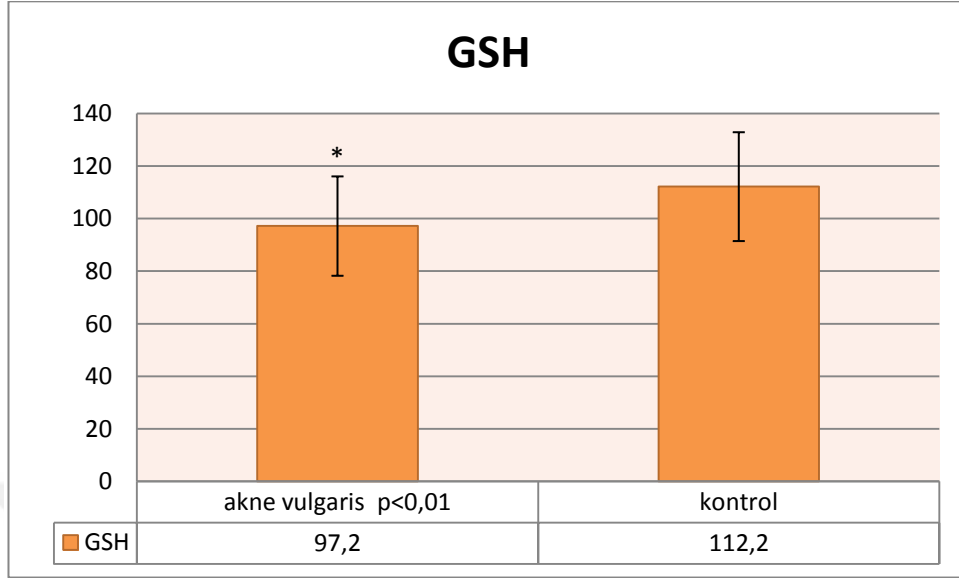
**Tablo 10:** Akne vulgarisli hasta ve kontrol grubuna ait oksidatif stres parametre düzeyleri.

	<b>Akne vulgarisli Hasta (n=57)</b>	<b>Kontrol (n=40)</b>	<b>p</b>
<b>MDA (ng/ml)</b>	2058.3 ± 28.5	1993.3 ± 14.9	0.047
<b>Glutatyon (µg/ml)</b>	97.2 ± 18.9	112.2 ± 20.8	0.001

**Grafik 8:** MDA’nın standart sapma göstergesi.



**Grafik 9:** GSH'in standart sapma göstergesi.



Tablo 11’de akne vulgarisli hastalarda oksidatif stres parametrelerinin plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 düzeyleri ile korelasyonu değerlendirilmiştir. Korelasyon sonucuna göre akne vulgarisli hastalarda plazma miR-200a düzeyi ile plazma miR-21 ( $p<0.001$ ), plazma miR-31 ( $p<0.001$ ) ve plazma MDA ( $p<0.05$ ) düzeyleri arasında anlamlı yüksek pozitif korelasyon bulunmuştur. Glutasyon düzeyinde ise anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Yine akne vulgarisli hastalarda plazma miR-21 düzeyine bakıldığında plazma miR-21’in plazma miR-200a ( $p<0.001$ ), plazma miR-31 ( $p<0.01$ ) ve plazma MDA ( $p<0.05$ ) düzeyleri ile arasında anlamlı pozitif korelasyon var iken glutasyon düzeyinde anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Plazma miR-31’in plazma miR-200a ( $p<0.001$ ), plazma miR-21 ( $p<0.05$ ) ve plazma MDA ( $p<0.001$ ) düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunurken glutasyon düzeyinde anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 11:** Akne vulgarisli hastalarda oksidatif stres parametrelerinin plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 ile korelasyonu.

	<b>miR-200a</b>	<b>miR-21</b>	<b>miR-31</b>	<b>MDA</b>	<b>Glutasyon</b>
<b>miR-200a</b>	-	r= 0.519 p= 0.00	r= 0.476 p= 0.00	r= 0.353 p= 0.010	r= 0.116 p= 0.413
<b>miR-21</b>	r= 0.519 p= 0.00	-	r= 0.402 p= 0.002	r= 0.323 p= 0.019	r= 0.008 p= 0.956
<b>miR-31</b>	r= 0.476 p= 0.00	r= 0.402 p= 0.002	-	r= 0.617 p= 0.00	r= 0.074 p= 0.602

Kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 ile korelasyonu tablo 12’de verilmiştir. Tablo 12’de görüldüğü gibi kontrol grubunda plazma miR-200a düzeyinin plazma miR-21 ( $p<0.001$ ) ve plazma miR-31 ( $p<0.001$ ) ile arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunurken plazma MDA ve glutasyon düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Bunun yanı sıra kontrol grubunda plazma miR-21 ve miR-31 düzeyleri ile plazma miR-200a düzeyleri arasında da anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Plazma miR-21 ve miR-31’in plazma MDA ve glutasyon düzeylerinde ise anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 12:** Kontrol grubunda oksidatif stres parametrelerinin plazma miR-200a, miR-21 ve miR-31 ile korelasyonu.

	<b>miR-200a</b>	<b>miR-21</b>	<b>miR-31</b>	<b>MDA</b>	<b>Glutasyon</b>
<b>miR-200a</b>	-	r= 0.592 p= 0.00	r= 0.606 p= 0.00	r= 0.150 p= 0.404	r= -0.312 p= 0.077
<b>miR-21</b>	r= 0.592 p= 0.00	-	r= 0.625 p= 0.00	r= 0.196 p= 0.252	r= -0.064 p= 0.710
<b>miR-31</b>	r= 0.606 p= 0.00	r= 0.625 p= 0.00	-	r= 0.155 p= 0.366	r= -0.175 p= 0.306

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Akne vulgaris komedonlar, papüller, kistler, nodüller ve yara izi ile karakterize, pilosebace birimin bir bozukluğudur (Rea ve ark., 1976). Durum yaşamı tehdit edici nitelikte olmasa da, ciddi psikolojik durumlara sebep olabilir ve bazı durumlarda tedavi edilmediği takdirde yüz kusurları meydana gelir. Akne vulgaris tipik olarak 12-14 yaş civarında başlar, ancak kadın hastalarda erken ortaya çıkma eğilimi gösterir. Akne vulgaris ile ilgili olarak cinsiyet dağılımı üzerinde çok tartışmalar vardır. Simpson 1991 yılında yaptığı çalışmada gençler ve yetişkin dönemdeki erkeklerin %95'nin, kızların ise %83'nün etkilendiğini belirtmiştir. Hunter ve akr. ise 2002 yılında yaptığı çalışmada sivilcenin cinsiyete dayalı bir öneme sahip olmadığını ve her iki cinsin de eşit derecede etkilendiğini belirtmiştir (Mahmood ve Shipman, 2017). Bizim çalışmamızda katılımcı sayısını yüksek tutmak ve çalışmayı daha değerli kılmak adına sadece bayanlar üzerinde çalışılmıştır.

Sebastif hiperplazi, folliküler hiperkeratinizasyon ve bakteriyel hiper kolonizasyon, aynı zamanda bağışıklık reaksiyonları ve inflamasyonlar oldukça kompleks bir patogenezi olan sivilceye neden olabilir. Propionibacterium acnes folliküler lipazlar, proteazlar ve hiyalüronidazlar gibi, inflamatuvar süreçte önemli rol oynayabilecek birçok enzim üretir (Arıcan ve ark., 2005). Ayrıca, birçok araştırmacı akne patogenezinin tam olarak anlaşılamayacağını düşünmektedir. Sivilcede, yağ bezleri tarafından üretilen sebum, içeriği değişir ve ROS etkilenmiş hasarlı foliküler duvarlardan salınabilir. Bunun aynı zamanda hastalığın patogenezinde inflamasyonun ilerlemesinin nedeni olabileceği düşünülmektedir.

İnsan için önemli ve yaşamsal bir bileşen olan oksijen, ROS olarak bilinen reaktif türler (süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve hidroksil kökleri) üretebilir. Bu radikaller, oksijenin suya indirgenmesiyle oluşur. ROS inflamatuvar deri hastalıklarının çoğunda kritik roller oynamaktadır (Briganti ve Picardo, 2003; Öztaş ve ark., 2003). Sivilce patogenezinde yer alan propionibacterium acnes, nötrofillerin birikmesine yol açan bazı kemotaktik faktörlerin salınmasına neden olur ve bu durum, fagositoz sonucunda lizozom enzimleri gibi bazı enflamatuvar faktörlerin bırakılmasından sonra foliküler epitele zarar verir. ROS, inflamatuvar dokudaki aktif nötrofilden salınır. Bu oksidanlar DNA'ya veya membran lipidlerine saldırır ve sağlıklı doku da dahil olmak üzere kendilerine kimyasal hasar verirler (Briganti ve

Picardo, 2003). İnsan sebumuna özgü skualen, cild yüzeyini lipid peroksidasyonundan korur.

Hücredeki oksidatif stres göstergesi, lipid peroksidasyonu seviyesidir ve son ürünü MDA'dır (Arıcan ve ark., 2005). GSH ise glutamat, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup etkili bir antioksidandır (Jones ve Go, 2010). İnflamatuvar hastalıklarda lipid peroksidasyonunun düzeyinin arttığını gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır (Arıcan ve ark., 2005). Bizimde çalışmamızda bu literatür bulguları destekler mahiyette sonuca ulaşılmıştır. Çalışmamızda akneli bayanlarda yüksek düzeyde MDA düşük düzeyde GSH saptanmıştır. Dahası, oksidatif stres yönetiminde var olduğu öne sürülen mir-21, mir-200a ve mir-31 ile MDA arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.

Wu ve ark. (2017), 2016 ve 2017 yılları arasında çalışmalarına dahil ettikleri 13 hastadan (3 erkek, 10 kadın) operasyon ile aldıkları keloid ve normal deri dokusu örneklerinde miR-21'in mimik transfeksiyonunun, keloid faktör (KF)'de ROS tetikli mitokondriyal apoptozisi inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Kuşkusuz, başka birçok faktör vardır ve bu süreci etkileyebilir. MiR-21'in ve diğer elementlerin KF'nin patogenezi üzerindeki çoklu etkileri daha fazla araştırmayı gerektirir. miR-21, hücre çoğalmasını ve göçünü hızlandırarak, kanserlerin çoğunda apoptozu inhibe ederek bir onkogen olarak hareket etmektedir. Oksidatif stres tarafından üretilen ROS apoptoza aracılık etmek için sinyal molekülü olarak hareket etmektedir. MiR-21'in yeniden düzenlenmesi, ROS'ta bir azalma ile sonuçlanırken, miR-21'in inhibisyonu ROS seviyesini arttırmıştır, bu da miR-21'in oksidatif strese karşı direnç oluşturabileceğini göstermektedir. Biz de çalışmamızda yukardaki araştırmacının bulgularını destekleyen sonuçlara ulaştık. Çalışmamızda plazma miR-21 düzeylerini kontrol grubuna göre akneli hastalarda yüksek seviyede bulduk dahası, akneli hastalarda miR-21 düzeyleri MDA ile pozitif korelasyon gösterdi.

Sala ve ark. (2018), yılında yaptıkları çalışmalarında 1 hafta boyunca sabit yüksek glukoza maruz kalan HUVEC'leri, ROS ölçümleri için nicel elektron paramanyetik rezonansa tabi tutmuşlardır. Süperoksit anyonları, SOD2 protein düzeylerini ve mitokondriyal membran potansiyelini değerlendirmişlerdir. Endojen miR-21 ve varsayılan ROS-homeostatik hedef genleri (KRIT1, FoxO1, NFE2L2 ve SOD2) mimic-miR-21 kullanarak test edip RT-PCR ile ölçmüşlerdir. Lusiferaz

analizleri miR-21 / 3'-UTR-SOD2 bağlanmasını test etmek için gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda miR-21'in yüksek glukoz ve erken mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkisini gözlemlemişlerdir. miR-21'in normalde ROS hasarını sınırlandıran homeostatik sinyalleme bastırılmasını destekleyebileceğini bulmuşlardır. Bu veriler, glukoz değişkenliği ve diyabette hücrel oksidatif hasara karşı korunmak için yeni bir terapötik yaklaşım olarak miR-21'in inhibisyonu hakkında yeni ipuçları ortaya koymaktadır.

Xia ve Zhang (2014), yılında yaptıkları çalışmalarında miR-21'in psoriatik lezyonlarda en fazla bulunan miRNA olduğunu bildirmişlerdir. Sedefli hastalarda ve sağlıklı kişilerde epidermal hücre ve dermal T hücrelerinde miR-21 ekspresyonu incelenmiş ve miR-21 ekspresyonunun her iki hücre tipinde de sedefli hastalarda yüksek bir ekspresyon gösterdiği ifade edilmiştir. Araştırmacılar, çalışmalarında miR-21'in inhibisyonu, aktive edilmiş T hücrelerinde apoptoz oranını artırdığını, bununda miR-21'in aktive edilmiş T hücrelerinde apoptosisi baskıladığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında psoriatik lezyonlarda miR-21'in aşırı ekspresyonu, T hücresi kaynaklı psoriatik deri iltihabına katkıda bulunan, aktive T hücrelerinin psoriatik deride infiltrasyonunu yansıtabildiğini ifade etmişlerdir.

Meisgen ve ark. (2012), yılında yaptıkları çalışmalarında miR - 21'in iyi bilinen bir onkojen olduğunu ve lösemik kanser de arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca miR-21'in kardiyovasküler hastalıklarda ve inflamasyonda önemli rol oynadığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (Cheng ve ark., 2007). miR-21, çeşitli hücre tiplerinde anti-apoptotik ve antiproliferatif ajan olarak görev yapmaktadır (Chan ve ark., 2005; Si ve ark., 2007).

Son zamanlarda, miR-21'in insan birincil T hücrelerinde proliferasyonu baskıladığı ve sitokin üretimini düzenlediği bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada psoriasisli hastaların ve sağlıklı kontrollerin lezyonlu ve lezyonlu olmayan cilt biyopsilerinde RT - PCR ile miR - 21 ekspresyon düzeyleri ölçülmüş ve miR-21'in lezyonda kuvvetli bir şekilde artışı görülmüş fakat lezyonlu olmayan ciltte artışı görülmemiştir. Çalışmada, hem bağışıklık sisteminin hem de epidermin yapısal hücreleri psoriasis patogenezinde önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (Sabat ve ark., 2007). Yine aynı çalışmada, sağlıklı epidermis ile psoriasis lezyonlu epidermis karşılaştırıldığında miR-21 psoriasis lezyonlu epidermiste sağlıklı epidermise göre

2.8 katlık bir artış göstermiş olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar sonuç olarak, bu verilerin psoriasis deri lezyonlarında miR-21'in yükselişinin aktive T hücrelerinin infiltrasyonundan kaynaklandığını ve T hücre apoptozunu baskılayarak deri inflamasyonuna katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Soliman ve ark. (2018), yılındaki yaptıkları çalışmalarında miR-21'in epidermis ve kıl folikülünde yüksek oranda arttığını göstermişlerdir. MiR-21'in aşırı artışı, keratinosit göçünü artırırken, miR-21 azalışı, yeniden epitelizasyon sürecinde kayda değer bir gecikmeye yol açmıştır. Bu, miR-21'in keratinosit migrasyonu ve yeniden epitelizasyonu için çok önemli olduğunu düşündürmektedir.

Ahmed ve ark. (2011), yılında yaptıkları çalışmalarında fare epidermal keratinositlerinin kemik morfogenetik proteinlerinin (BMP4) tedavisinin miRNA düzeyinde değişikliklere yol açıp açmadığını araştırmayı amaçlamışlardır. Bu kapsamda 2 ile 3 günlük farelerden izole edilen hücreler, 4 saat boyunca BMP4 ile muamele edilmiş ve miRNA ekspresyon profili araştırılmıştır. Analiz sonucunda 226 miRNA'dan 13'ünün, BMP4 tedavisine yanıt olarak ekspresyonlarında anlamlı ( $p < 0.01$ ) değişiklikler gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bu miRNA'lar arasında, miR-21, keratinositlerde çok yüksek bazal ekspresyon seviyeleri göstermiştir. Çalışmalarında kantitatif RT-PCR analizi ile de BMP4'ün fare primer keratinositlerinde önemli ölçüde ( $p < 0.01$ ) miR-21 ekspresyonunu inhibe ettiğini ifade etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda miR-21'i melanom ve skuamöz hücreli karsinom dahil olmak üzere bir dizi tümörde sürekli olarak aşırı eksprese edilen bir miRNA olduğu tanımlanmıştır (Krichevsky ve Gabriely, 2009 ; Selcuklu ve ark., 2009 ; Dziunycz ve ark., 2010). Bununla birlikte, normal deride miR-21'in spatiotemporal ekspresyonu henüz aydınlatılamamıştır. In situ hibridizasyon ile 12 haftalık yabancı tip farelerin epidermisinin bazal ve suprabazal tabakalarında miR-21 ekspresyonu görülmüş fakat dermiste görülmemiştir. Ek olarak, miR-21 ekspresyonu saç folikülünün dış ve iç kök kılıflarında ve saç matrisinde görülmüştür, fakat foliküler papillada görülmemiştir (Ahmed ve ark., 2011).

Yaptığımız bu çalışmada, akneli hastalarda miR-31 seviyelerini değerlendiren her hangi bir çalışmaya rastlayamadık. Bununla beraber, yaptığımız literatür taramasında patogenezinde inflamasyonun ve oksidatif stresin rol aldığı bazı hastalıklarda miR-31 seviyelerinin yükselmiş olduğunu gözlemledik (Joyce ve ark.,



2011). Biz de çalışmamızda miR-31 seviyelerini MDA ile pozitif korele ve akneli hastalarda istatistiki açıdan anlamlı olmasada yükselmiş seviyelerde bulduk.

Yapılan bir çalışmada miR-31'nin psoriatik lezyonlarda en fazla bulunan miRNA olduğu bildirilmiştir (Joyce ve ark., 2011). miR-31'in aşırı ekspresyonunun, enflamatuar mediatörlerin ve lökosit kemotaksisinin deriye üretilmesini düzenleyerek, psoriasis lezyonlarında deri iltihabına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Özellikle miR-31, keratinositlerde NF-κB sinyalinin negatif bir regülatörü olan serine / threonine kinase 40'ı (STK40) hedefleyerek sitokin / kemokin ekspresyonunu düzenlediği ifade edilmiştir. Ayrıca, psoriasis epidermiste yüksek oranda eksprese edilen bir sitokin olan transforme edici büyüme faktörü-β1'in, in vitro ve in vivo olarak keratinositlerde miR-31'in aşırı artışına neden olduğu bildirilmiştir (Xu ve ark., 2013).

Xu ve ark. (2013), yaptıkları çalışmalarında kontrol grubu olarak enflamasyonsuz sağlıklı bireyden deri örneği biyopsisi ve sedef hastalığı olan kişilerden lezyonsuz ve lezyonlu bölgelerdeki derilerden biyopsi almışlardır. Sonuçta sedef hastası kişilerdeki lezyonlu bölgedeki deri örneğindeki miR-31 seviyeleri sedef hastası kişilerin lezyonsuz bölgelerindeki deri ve kontrol grubundaki kişilerin deri örnekleri ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Çalışmalarında miR-31'in sitokin/kemokin ekspresyonunu düzenleyen ve psöriyazis lezyonlu deride aktive olan bir anahtar sinyal yolu olan keratinositlerdeki NF-κB yolunun aktivitesini düzenlediğini ifade etmişlerdir. Yine çalışmalarında, keratinositlerde miR-31'in, daha önce TNF ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilen STK40'ı doğrudan hedeflediğini göstermişlerdir. NF-κB sinyal yolunda miR-31'in düzenleyici rolüne ilişkin bulgular, miR-31'in biyolojik fonksiyonunun yüksek oranda hücre tipi bağımlı olduğunu göstermektedir.

Sitokinleri, büyüme faktörlerini ve hücre farklılaşmasını düzenleyen faktörleri kullanan sistematik bir ekranla, TGF-β1, primer keratinositlerde, yeniden yapılandırılmış insan epidermal eşdeğerlerinde ve bir transgenik fare modelinde, güçlü bir miR-31 ekspresyonu regülatörü olarak tanımlanmıştır. TGF-β1, psoriasis hastalarının epidermisi ve serumunda artmış düzeylere sahip bir sitokindir. Önemli olarak, TGF-β1, IL-1β ile birlikte, sedef hastalığında temel patojenik rol oynayan Th17 hücrelerinin farklılaşması için kritik öneme sahiptir. TGF-β1 ile

indüklenen miR-31, artmış IL-1 $\beta$  seviyelerine yol açabilir ve bu nedenle sedef hastalığında Th17 tipi enflamasyonun çoğalmasına katkıda bulunabilir. Bu çalışmayı destekler nitelikte akne patogenezinin inflamasyon basamağında da Th17'nin rolü görülmüştür (Kistowska ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda miR-31 seviyesi akneli hastalarda yüksek bulunmuş fakat anlamlılık ifade etmemiştir. Buradan yola çıkarak miR-31'in akneli hastada yüksek bulunması burada da IL-1 $\beta$  ve Th17'nin etkin olabileceğini düşündürmektedir.

Li ve ark. (2015), yılında yaptıkları bir çalışmada 17 sağlıklı gönüllünün karın bölgesinde biyopsi ile 3mm'lik cilt yarası oluşturmuşlardır. Yara kenarı dokular, yaralanmadan sonra 1.gün (enflamatuar faz) ve 7. gün (proliferatif faz) toplanmıştır. RT-PCR analizine göre insan cildindeki miR-31'in bazal seviyesinin düşük olduğu, ancak hasardan 1 gün sonra 1,9 kat arttığını gözlenmiştir. Sonraki proliferatif fazda (yaralanmadan 7 gün sonra), miR-31'in, sağlam ciltle karşılaştırıldığında 7,7 kat artış gösterdiği görülmüştür. Yaralanma üzerine, hem TGF- $\beta$ 1 hem de TGF- $\beta$ 2'nin cilt yaralarında yüksek derecede düzenlendiği, keratinosit göçünü ve yeniden epitelizasyonu desteklediği bilinmektedir. Bu çalışma, yara kenar keratinositlerinde miR-31'in TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 2 tarafından indüklendiği bir model önermektedir. miR-31'in aşırı ekspresyonu, kısmen EMP-1'i hedefleyerek keratinositlerin proliferasyonunu ve göçünü artırır. Bu bulgular cilt yaralarında miR-31 seviyesinin arttırılmasının iyileşmeyi hızlandırmak için iyi bir strateji olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle miR-31, miRNA bazlı terapötiklerin daha fazla araştırılması için umut verici bir aday olabilir.

Martinez ve ark. (2017), yaptıkları çalışmalarında miyokard İnfarktüsü (MI) sonrası sıçan kalplerinde 2 ve 14 gün içinde miR-31'in seviyesinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Gen analizleri sonrasında da miR-31'in 3'UTR kardiyak troponin-T (Tnnt2), E2F transkripsiyon faktörü 6 (E2f6), mineralokortikoid reseptörü (Nr3c2) ve metalloproteinaz inhibitörü 4 (Timp4) mRNA'larını hedeflediğini de bildirmişlerdir.

MiR-200 ailesi, epitelyal-mezenkimal geçişin (EMT) ana baskılayıcısı olarak bilinir; bu, tümör progresyonu ve metastazında aktive olan tersinir bir embriyonik programdır (Brabletz ve ark., 2011). Biz çalışmamızda miR-200a seviyelerini akneli grupta kontrol grubu ile kıyaslandığında yükselmiş bulduk. Fakat bu yükseklik istatistiki açıdan anlamlı değildi. Öteyandan, miR-200a seviyelerini akneli grupta

MDA düzeyleri ile pozitif korele bulduk. Yaptığımız literatür taramasında miR-200a seviyelerinin akneli hastalarda nasıl değiştiğini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Çalışmamız bu yönüyle mevcut bilgilere önemli katkı sağlamıştır. Bununla beraber yaydığımız literatür taramasında oksidatif stresin rol aldığı bazı hastalıklarda miR-200 ailesinin seviyelerinin arttığını gözlemledik. Aşağıda bu literatür taramasının sonuçları derlenmiştir. Bu bulgular da bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Cao ve ark. (2014) yaptıkları çalışmalarında epitelyal yumurtalık kanseri (EOC) olan 100 kadın hasta ve sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 50 kadının normal yumurtalık dokusunda miR-200 ailesinin ekspresyon düzeyini ve hücre içi lokalizasyonlarını analiz etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, bulunan veriler miR-200 ailesinin (miR-200a, miR-200b ve miR-200c) üç üyesinin insan EOC dokularında artış gösterdiğini doğrulayan kanıtlar sunmaktadır. Ayrıca, bu üç miRNA'nın anormal ekspresyonu, EOC'lu hastaların agresif klinikopatolojik özellikleri ve kötü prognozu ile ilişkili olabildiğide bildirilmektedir.

Tinaburri ve ark. (2018) yaptıkları çalışmalarında 2-45 yaş arası 10 genç ve 60-82 yaş arası 10 yaşlı sağlıklı kişilerin deri biyopsilerinde miR-200 seviyelerini araştırmışlardır. Sonuçta 2-45 yaş arası olan kişiler ile kıyaslandığında 60-82 yaş arasında olan kişilerde miR-200 seviyelerinin önemli arttığını bildirmişlerdir. İnsan keratinositlerinde hücre içi ROS seviyeleri ölçülmüş, genç donörlere kıyasla yaşlı donörlerin primer keratinositlerinde ROS seviyeleri 2.66 kat daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda miR200a seviyeside yaşlı keratinositlerinde yüksek görülmüştür. Bu çalışmada, OGG1-2a, ROS-kaynaklı miR-200a'nın doğrudan bir hedefi olduğu görülmüştür ve yaşlı keratinositlerde miR-200a seviyeleri önemli ölçüde artmıştır. Veriler ROS aşırı üretiminin yaşlı deride hem oksidatif DNA lezyonlarını hem de miR-200a ekspresyonunu indükleyebileceğini göstermektedir. MiR-200a ekspresyonunun azalması, DNA onarım sistemini geliştirmek ve yaşlı derideki kronik enflamasyonu azaltmak için yararlı bir araç olabileceği ifade edilmektedir.

Yine çalışmamızda hem kontrol hemde akne grubunda miR200a, miR21 ve miR31 birbirleri ile pozitif korelasyon göstermiştir. Yaptığımız literatür taramasında sedef hastalığında miR21 ve miR31'in pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir

(Cottonham ve ark., 2010). Oksidatif streste rol oynadığı bildirilen bu miRNA'ların birbirleri ile korelasyonuda çalışmamız için tatmin edici bir bulgu olmuştur. Yine bu miRNA'ların hepsinin oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA ile özellikle akneli hastalarda pozitif korelasyon göstermesi, aknenin oluşumunda oksidatif stresin varlığının miRNA düzeyinde ispatı olmuştur. Literatür incelendiğinde, akne hastalığının oksidatif stresle ilişkili olduğunu gösteren çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Akne hastalarında daha fazla oluşan reaktif oksijen türleri, oluşturdukları irritasyon ile foliküler duvarda hasar yaratarak inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Sonuç olarak çalışmamızın aknenin etyopatogenezinin daha iyi anlaşılmasına ileri katkı sağladığını ve bununla beraber tedaviye miRNA bakış açısı ile yeni yaklaşımlar sunabileceğini düşünüyoruz.



## 6. KAYNAKLAR

Abe E, Miyaura C, Sakagami H, et al. Differentiation of Mouse myleoid leukemia cells induced by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3, Proc Natl Acad Sci USA. 1981; 78: 4990-4.

Ahmed MI, Mardaryev AN, Lewis CJ, Sharov AA, Botchkareva NV. microRNA-21 is an important downstream component of BMP signalling in epidermal keratinocytes. J Cell Sci. 2011; 124(20): 3399-404.

Aksu AEK, Metintas S, Saracoğlu ZN et al. Acne: prevalence and relationship with dietary habits in Eskişehir, Turkey. J Eur Acad Dermatol Venereol 2012; 26: 1503-9.

Andl T, Ning MS. Control by a hair's breadth: the role of microRNAs in the skin. Cell Mol Life Sci. 2013; 70(7): 1149-69.

Arıcan Ö, Kurutaş EB, Şaşmaz S. Oxidative Stress in Patients With Acne Vulgaris. Mediators Inflamm. 2005; 2005(6): 380-4.

Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid Med Cell Longev 2014; 2014:360438.

Bast A, Haenen G, Goelmen JA. Oxidants and antioxidants. State of the Art The Am J Of Med. 1991; 91(Suppl 3C): 2-13.

Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. Nature 2001; 409(6818): 363-6.

Bolognia JL, Jorizzo JL, Schaffer JV. Dermatology. 2<sup>th</sup> Edition. Nobel Tıp Kitapevi, 2012.

Bowe WP, Logan AC. Clinical implications of lipid peroxidation in acne vulgaris: old wine in new bottles. Lipids Health Dis. 2010; 9: 141.

Bozkurt A. Akneli hastalarda serum D vitamini düzeylerinin ve VDR ( vitamin D reseptör) gen polimorfizmlerinin araştırılması. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İzmir, 2015 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlgen ERTAM).

Brabletz S, Bajdak K, Meidhof S, Burk U, Niedermann G, Firat E, Wellner U, Dimmler A, Faller G, Schubert J, Brabletz T. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells. EMBO J. 2011; 30: 770-82.

Brabletz S, Brabletz T. The ZEB/miR-200 feedback loop—A motor of cellular plasticity in development and cancer? EMBO Rep. 2010; 11: 670-7.

Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new? J Eur Acad Dermatol Venereol. 2003;17(6):663-9.

Cao Q, Lu K, Dai S, Hu Y, Fan W. Clinicopathological and prognostic implications of the miR-200 family in patients with epithelial ovarian cancer. Int J Clin Exp Pathol. 2014; 7(5): 2392-401.

Chan JA, Kričevski AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. Cancer Res. 2005; 65(14): 6029-33.

Cheng Y, Ji R, Yue J, Yang JL, Liu X, Chen H, Dean DB, Zhang CI. MicroRNAs are aberrantly expressed in hypertrophic heart: do they play a role in cardiac hypertrophy. Am J Pathol. 2007; 170(6): 1831-40.

Cochrane G G. Cellular injury by oxidants. The American J of Med. 1991; 91 (Suppl. 3C): 23-30.

Cordain L, Lindeberg S, Hurtado M, Hill K, Eaton SB, Brand- Miller J. Acne vulgaris: a disease of Western civilization. Arch Dermatol. 2002; 138:1584-90.

Cottonham CL, Koneko S, Xu L. miR-21 and miR-31 Converge on TIAM1 to Regulate Migration and Invasion of Colon Carcinoma Cells. *J Biol Chem.* 2010; 285(46): 35293-302.

Das SI, Reynolds RV. Recent advances in acne pathogenesis: implications for therapy. *Am J Clin Dermatol.* 2014; 15(6): 479-88.

Dolado I, Swat A, Ajenjo N, de Vita G, Cuadrado A, Nebreda AR. p38alpha MAP kinase as a sensor of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2007; 11: 191–205.

Dziunycz P, Iotzova-Weiss G, Eloranta JJ, Lauchli S, Hafner J, French LE, Hofbauer GF. Squamous cell carcinoma of the skin shows a distinct microRNA profile modulated by UV radiation. *J Invest Dermatol.* 2010; 130, 2686-9.

Ekanayake-Mudiyanselage S, Thiele JJ. Sebaceous glands as transporters of vitamin E. *Hautarzt.* 2006; 57(4): 291-6.

El-Akawi Z, Abdel-Latif N, Abdul-Razzak K. Ave E vitaminlerinin plazma seviyesi akne durumunu etkiler mi? *Clin Exp Dermatol.* 2006; 31: 430-4.

Emil A. Tanghetti. The role of inflammation in the pathology of Acne. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2013; 6(9): 27-35.

Erbaş D. Radikal kavramı ve oksijen radikalleri, Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu: Oksidan stres ve hücre hasarı kurs notları. 1993; ss 1-5.

Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs – microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(4): 259-69.

Favaro E, Ramachandran A, McCormick R, Gee H, Blancher C, Crosby M, Devlin C, Blick C, Buffa F, Li JL, et al. MicroRNA-210 regulates mitochondrial free radical response to hypoxia and krebs cycle in cancer cells by targeting iron sulfur cluster protein ISCU. *PLoS One.* 2010;5:e10345.

Fuji S, Dale G L, Beuther E. Glutathione-Dependent protection againts oxidative damage of the human red cell membrane. *Blood.* 1984; 63(5) : 1096-1101.

Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123(4): 631-40.

Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance, *Am J Clin Nut.* 1993; 57 (Suppl): 715S-25S.

<http://gıda.gumushane.edu.tr> (7 Mayıs 2014)

[http://www.emo.org.tr/ekler/dd3f1251263b19d\\_ek.pdf](http://www.emo.org.tr/ekler/dd3f1251263b19d_ek.pdf) 2013

<http://www.fitekran.com/antioksidanlar-hakkinda-hersey/>

<http://www.hastane.com.tr/saglik/oksidatif-stresi-azaltmak-icin-nasil-beslenmeli-neler-yapmalıyız.>

<http://www.oksante.com.tr> 2012.

<https://books.google.com.tr/books?isbn=0128012722> 2015.

Hunter J, Savin J, Dahl M. 3rd ed. Wiley-Blackwell; Oxford: *Clinical dermatology.* 2002.

Jacobson J M, Michael J R, Jafri M, Gurtner G T. Antioxidants and antioxidant enzymes protects againts pulmonary oxygen toxicity in the rabbit. *Am Physiological Society.* 1993, 90: 1252-9.

Jeremy AH, Holland DB, Roberts SG, et al. İnflammatory events are involved in acne lesion initiation. *J Invest Dermatol.* 2003; 121:20.

- Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 2011; 283: 65-87.
- Jones DP, Go YM. Redox compartmentalization and cellular stress. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(Suppl 2):116–125.
- Joyce CE, Zhou X, Xia J, Ryan C, Thrash B, Menter A, Zhang W, Bowcock AM. Deep sequencing of small RNAs from human skin reveals major alteration in the psoriasis miRNA. *Hum Mol Genet*. 2011; 20(20): 4025-40.
- Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002; 33: 110-118.
- Kilkenny M, Merlin K, Plunkett A, Marks R. The prevalence of common skin conditions in Australian school students: 3. Acne vulgaris. *Br J Dermatol* 1998; 139:840-5.
- Kistowska M, Meier B, Proust T, Feldmeyer L, Cozzio A, Kuendig T, Contassot E, French LE. *Propionibacterium acnes* promotes Th17 and Th17/Th1 Responses in Acne Patients. *Journal of Investigative Dermatology* 2015; 135,110-8.
- Kligman AM, Wheatley VR, Mills OH. Comedogenicity of human sebum. *Arch Dermatol*. 1970; 102(3): 267-75.
- Konger RL. A new wrinkle on topical vitamin E and photo-inflammation: mechanistic studies of a hydrophilic gamma-tocopherol derivative compared with alpha-tocopherol. *J Invest Dermatol*. 2006; 126(7): 1447-9.
- Krichevsky AM, Gabriely G. miR-21: a small multi-faceted RNA. *J Cell Mol Med*. 2009; 13, 39-53.
- Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci*. 2010; 101(11): 2309-15.
- Kwon HH, Yoon JY, Hong JS et al. Clinical and histological effect of a low glycaemic load diet in treatment of acne vulgaris in Korean patients: a randomized, controlled trial. *Acta Derm Venereol* 2012; 92: 241-6.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294(5543):853-8.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. Elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75(5): 843-54.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425 (6956):415-9.
- Li D, Li X, Whang A, Meisgen F, Pivarcsi A, Sonkoly E, Stahle M, Landen NX. MicroRNA-31 Promotes Skin Wound Healing by Enhancing Keratinocyte Proliferation and Migration. *J Invest Dermatol*. 2015; 135(6): 1676-85.
- Li X, Cassidy JJ, Reinke CA, Fischboeck S, Carthew RW. A microRNA imparts robustness against environmental fluctuation during development. *Cell*. 2009; 137:273–82.
- Lindsey E, Becker B, Yong L. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. *Chin J Cancer*. 2011; 30(6): 371-80.
- Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303(5654): 95-8.
- Mahmood NF, Shipman AR. The age-old problem of acne. *Int J Women Dermatol*. 2017; 3(2): 71-6.

Magenta A, Cencioni C, Fasanaro P, Zaccagnini G, Greco S, Sarra-Ferraris G, Antonini A, Martelli F, Capogrossi MC. miR-200c is upregulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition. *Cell. Death Differ.* 2011;18: 1628–39.

Martinez EC, Lityanna S, Wang P, Vardy LA, Jiang X, Armugam A, Jeyaseelan K, Richards AM. MicroRNA-31 promotes adverse cardiac remodeling and dysfunction in ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2017; 112: 27-39.

Mateescu B, Batista L, Cardon M, Gruosso T, de Feraudy Y, Mariani O, Nicolas A, Meyniel JP, Cottu P, Sastre-Garau X, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response. *Nat. Med.* 2011; 17: 1627–35.

Meisgen F, Xu N, Wei T, Janson PC, Obad S, Broom O, Nagy N, Kauppinen S, Kemény L, Stähle M, Pivarsci A, Sonkoly E. MiR-21 is up-regulated in psoriasis and suppresses T cell apoptosis. *Exp Dermatol.* 2012; 21: 312–4.

Michael G, Taylor K A. Introduction to peroxidation and antioxidant mechanism. In: Ed: Simic M G, Word F J.(eds) *Oxygen radicals in Biology and Medicine*, Vol: 49, Plenum pres, 1988.

Mills OH, Criscito MC, Schlesinger TE, Verdicchio R, Szoke E. Addressing Free Radical Oxidation in Acne Vulgaris. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2016; 9(1): 25-30.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43: 109-42.

Naidu S, Vijayan V, Santoso S, Kietzmann T, Immenschuh S. Inhibition and genetic deficiency of p38 MAPK up-regulates heme oxygenase-1 gene expression via Nrf2. *J. Immunol.* 2009;182:7048–57.

Narry KV. Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function. *Mol Cells* 2005; 19(1):1-15.

Navarro A, Boveris A. Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287:1244-9.

Neufang G, Furstenberger G, Heidt M, Marks F, Müller-Decker K. Abnormal differentiation of epidermis in transgenic mice constitutively expressing cyclooxygenase-2 in skin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(13):7629-34.

Niki E. Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54(6)(Suppl): 1119S-24S.

Ohsawa K, Watanabe T, Matsukawa R, et al. The possible role of squalene and its peroxide of the sebum in the occurrence of sunburn and protection from the damage caused by UV irradiation. *J Toxicol Sci.* 1984; 9(2): 151-9.

Ottaviani M, Camera E, Picardo M. Lipid Mediators in Acne. *Mediators of Inflammation.* 2010; 2010.

Oztas MO, Balk M, Ogus E, Bozkurt M, Ogus IH, Ozer N. The role of free oxygen radicals in the aetiopathogenesis of rosacea. *Clin Exp Dermatol.* 2003;28(2):188–192.

Özdemir G. Reaktif oksijen partikülleri (ROP) (Oksidan moleküller serbest radikaller), Roche Bilimsel Eserler Serisi, 1993.

Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408(6808): 86-9.



- Pavlidis S, Tsigos A, Migneco G, Whitaker-Menezes D, Chiavarina B, Flomenberg N, Frank PG, Casimiro MC, Wang C, Pestell RG, Martinez-Outschoorn UE, Howell A, Sotgia F, Lisanti MP. The autophagic tumor stroma model of cancer: Role of oxidative stress and ketone production in fueling tumor cell metabolism. *Cell Cycle*. 2010; 9(17): 3485-505.pii: 858176.
- Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA. 2005;11(12):1753-61.
- Rea JN, Newhouse ML, Halil T. Skin disease in Lambeth. A community study of prevalence and use of medical care. *Br J Prev Soc Med*. 1976; 30: 107-14.
- Reilly M, Delanty N, Lawson J A, Fitz G G. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation*. 1996; 94: 19-25.
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403(6772): 901-6.
- Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294(5543): 797-9.
- Sabat R, Philipp S, Höflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, Volk HD, Sterry W, Wolk K. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatology*. 2007; 16: 779-98.
- Sahib AS, Al-Anbari HH, Raghif ARA. Oxidative stress in acne vulgaris: an important therapeutic target. *J Mol Pathophysiol*. 2013; 2: 27-31.
- Sala LL, Mrakic-Spota S, Micheloni S, Prattichizzo F, Ceriello A. Glucose-sensing microRNA-21 disrupts ROS homeostasis and impairs antioxidant responses in cellular glucose variability. *Cardiovasc Diabetol*. 2018; 17: 105.
- Sayan H, Çetin E, Yarım i, Gönül B. Yüksek irtifada antrenman yapan kayakçılarda C vitamininin Eritrosit Süperoksid dismutaz Enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu düzeyleri üzerine etkisi. *T Klin Tıp Bilimleri*.2000; 20: 5-10.
- Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. Mikro RNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal*. 2011; 38(1):113-20.
- Selcuklu SD, Donoghue MT, Spillane C. miR-21 as a key regulator of oncogenic processes. *Biochem Soc Trans*. 2009; 37, 918-25.
- Shen Q, Jin H, Wang X. Epidermal Stem Cells and Their Epigenetic Regulation. *Int J Mol Sci*. 2013; 14(9): 17861-80.
- Shenouda SK, Alahari SK. MikroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor. *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28(3-4):369-78.
- Si ML, Zhu S, Wu H, Lu Z, Wu F, Mo YY. miR-21 mediated tumor growth. *Oncogene*. 2007; 26(19): 2799-803.
- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*. 1991;91: 31-38.
- Simpson NB. Acne and the mature woman. Science Press; London: 1991.
- Soliman AM, Das S, Ghafar NA, Teoh SL. Role of MicroRNA in Proliferation Phase of Wound Healing. *Front Genet*. 2018; 9: 38.
- Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. A current Assessment. *Circulation*. 1991. 84(3): 1420-5.
- Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. MicroRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng*. 2010; 12: 1-27.
- Thody AJ, Shuster S. Control and function of sebaceous glands. *Physiol Rev*. 1989; 69(2):383-416.

Tinaburri L, Errico MD, Sileno S, Maurelli R, Degan P, Magenta A, Dellambra E. miR-200a Modulates the Expression of the DNA Repair Protein OGG1 Playing a Role in Aging of Primary Human Keratinocytes. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 2018: 9147326.

Toyoda M, Morohashi M. Pathogenesis of Acne. *Med Electron Microsc*. 2001; 34: p. 29-40.

Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005; 12: 1161-208.

Vigue A C, Frei B, Shigenaga M K, Ames B N, Packer L, Brooks G A. Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *Am. Physiological Society*. 1993; 93: 566-72.

Wang Z, Liu Y, Han N, Chen X, Yu W, Zhang W, Zou F. Profiles of oxidative stress-related microRNA and mRNA expression in auditory cells. *Brain Res*. 2010; 1346: 14–25.

Welch M, Caughman A, Verdicchio RJ, et al. Addressing the role of free radical oxidation in the acne paradigm. Presented at: The 67th Annual Academy of Dermatology Meeting; March 6-10. San Francisco, California. 2009.

Wisp J A, Knight M, Roberts R T, Lipid peroxidation in newborn rabbits: Effects of oxygen, lipid emulsion and vitamin E. *Pediatr Res*. 1986; 20: 505-10.

Wollina U, Knöll B, Prüfer K, Barth A, Müller D, Huschenbeck J. Sentetik yara pansumanları in vitro olarak epitelial ve dermal hücrelerle etkileşimlerin değerlendirilmesi. *Cilt Pharmacol*. 1996;9: 35-42.

Wu H, Wang J, Ma H, Xiao Z, Dong X. MicroRNA-21 inhibits mitochondria-mediated apoptosis in keloid. *Oncotarget*. 2017; 8(54): 92914-25.

Xia J, Zhang W. MicroRNAs in normal and psoriatic skin. *Physiol Genomics*. 2014; 46(4): 113–22.

Xu Landen N, Li D, Stahle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cell Mol Life Sci*. 2016; 73(20): 3861-85.

Xu N, Meisgen F, Butler LM, Han G, Wang XJ, Söderberg-Naucler C, Stahle M, Pivarcsi A, Sonkoly E. MicroRNA-31 overexpressed in psoriasis and modulates inflammatory cytokine and chemokine production in keratinocytes via targeting serine/threonine kinase 40. *J Immunol*. 2013; 190(2): 678-88.

Yang YS, Lim HK, Hong KK, Shin MK, Lee JW, Lee SW, Kim NI. Cigarette smoke-induced interleukin-1 alpha may be involved in the pathogenesis of adult acne. *Ann Dermatol*. 2014; 26(1): 11-16.

Yavuzer S. Hiperoksi ve eritrosit superoksid dismutaz (SOD) aktivitesi. *Ank. Tıp Bülteni*. 1983; 5: 47-56.

Yavuzer S. Serbest radikallerle hücre yaralanması, Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu: Oksidan stres ve hücre hasarı kurs notları. 1993; ss 12-14.

Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev*. 2011;111:5944- 72.

Yorulmaz Demir A, Metin A. Acne Vulgaris and Oxidative Stress: Review. *Türkiye Klinikleri J Dermatol*. 2011; 21(2) 78.

Zaccagnini G, Martelli F, Fasanaro P, Magenta A, Gaetano C, di Carlo A, Biglioli P, Giorgio M, Martin-Padura I, Pelicci PG, et al. p66ShcA modulates tissue response to hindlimb ischemia. *Circulation*. 2004;109:2917–23.

Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *Embo J*. 2002(21); 21: 5875-85.

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü**

**ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı:	BETÜL ÇALIŞ	İmza	
Doğum Yeri:	KONYA		
Doğum Tarihi:	24/06/1987		
Medeni Durumu:	BEKAR		

**Öğrenim Durumu**

Derece	Okulun Adı	Program	Yıl
İlköğretim	Mehmet Akdoğan Okulu	ilköğretim	1997
Ortaöğretim	Mehmet Akdoğan Okulu	Ortaokul	2000
Lise	Mahmut Sami Ramazanoğlu AİHL	lise	2005
Lisans	Harran Üniversitesi	Kimya	2014
Yüksek Lisans	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	2018
Becerileri			
İlgi Alanları	Sosyal aktiviteler, sağlık ile ilgili araştırma ve incelemeler vs.		
İş Deneyimi	Laborant ve tıbbi sekreter olarak görev yaptım 2008-2009 2015-2018 kimya öğretmenliği		
Aldığı Ödüller	yok		
Hakkımda bilgi almak için önerebileceğim şahıslar ve Tel:	Prof. Dr. Ahmet KILIÇ Rektör Yrd. Doç. Dr. Ali İhsan ÖZTÜRK Kurucu Müdür Süleyman BADILLI	Tel: 0505-3782520 Tel: 0505-2842693 Tel: 0545-6926563	
Tel:	0553-4011330		
Adres:	ESENLER MAH. KOYUN PINAR SOK. NO:20 KONYA/SELÇUKLU		
E- mail	vas_und_ra@hotmail.com		