

T1176

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞI PATOGENEZİNDE
SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ÖNEMİ:
KONTROLLÜ BİR ÇALIŞMA**

T1176 /1-1

UZMANLIK TEZİ

Dr. Cengiz ÇATAL

Tez Yönetmeni: Doç. Dr. Erkan ALPSOY

"Bu çalışma, 97.02.0103.06 numaralı araştırma projesi olarak
Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir"

"Tezinden kaynakça gösterilerek yararlanılabilir"

Antalya, 1999

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

GİRİŞ

1-17

GEREÇ VE YÖNTEM

18-28

BULGULAR

29-37

TARTIŞMA

38-43

SONUÇLAR

44

ÖZET

45

KAYNAKLAR

46-53

KISALTMALAR

54

GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet Hastalığı (BH); ilk kez 1937 yılında bir Türk dermatoloğu olan, Dr. Hulusi Behçet tarafından oral ve genital ülserlerle birlikte hipopyonlu üveitten oluşan üç semptomlu bir kompleks olarak tanımlanmıştır.¹ Sonraki çalışmalar hastalığın; eklemler, gastrointestinal, kardiyovasküler, pulmoner ve santral sinir sistemi (SSS) gibi tutulumlarla seyir gösteren sistemik bir hastalık olduğunu göstermiştir.²⁻⁴ Temel patolojisi vaskülit olan hastalık, remisyon ve relapslarla kronik bir seyir izlemektedir.^{3,4}

BH erkeklerde daha şiddetli bir klinik seyir izlemektedir.^{5,6} Genellikle ikinci on yılın sonlarında başlayan hastalık, en sık olarak 20-40 yaşları arasında görülmektedir. Başlangıçta hastalık erkeklerde daha sık rapor edilmişse de, son 20 yıl içindeki araştırmalar hastalığın neredeyse her iki cinsten eşit olarak görüldüğüne işaret etmektedir.⁷⁻⁹

Hastalık Türkiye, İsrail, Yunanistan, ve Kıbrıs gibi Akdeniz ülkeleri, ortadoğu ülkeleri ve Japonya, Kore, Çin gibi uzakdoğu ülkelerinde diğer ülkelere göre daha sık görülmektedir.^{5,7} Yapılan araştırmalarda Japonya'da prevalans 1/10000⁸ iken İngiltere'de 1/100 000'den daha az olarak saptanmıştır.⁶ Türkiye'de bu konuda yapılan dört ayrı çalışmada hastalığın prevalansı sırasıyla; 4.09/ 10.000,⁹ 8/10.000⁶, 11.5/10.000¹³ ve 37/10 000¹⁴ olarak bildirilmiştir.

Hastalığın etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, infeksiyöz ajanlar (herpes simplex tip 1¹⁵ Streptococcus sanguis¹⁶) immunolojik ve çevresel faktörler, pıhtılaşma bozuklukları, hormonlar, damar endotel patolojileri ve genetik yatkınlık gibi birçok neden hastalığın etiyolojisinde suçlanmıştır.^{8,9} Etyopatogeneizde genetik faktörlerinde rol oynayabileceği

hastaların bazı HLA doku antijenleri ile ilişkisi saptandıktan sonra gündeme gelmiştir. Ancak bu ilişki yöresel farklılıklar göstermektedir. HLA B5 Türk ve Japon Behçet hastalarında sıklıkla görülürken İngiliz hastalarda bu oran düşmektedir. Buna karşın HLA B12 İngiliz hastalarda anlamlı derecede sık bulunmaktadır.^{17,18} Son yıllardaki teknolojik gelişmeler sonucunda, immün sistem elemanlarının yapı ve görevleri hakkında elde edilen yeni bilgiler, immün sistemin hastalığın başlangıcında ya da seyirinde önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir. Bugün için üzerinde en çok durulan hipotez; hastalığın, viral, bakteriyel, veya diğer bir antijenle tetiklenen ve genetik olarak hastalığa yatkınlık gösteren kişilerde ortaya çıkan otoimmün bir reaksiyon olduğu yönündedir.^{2,19}

BH' nin klinik bulguları çok çeşitli olup, ilk belirti sıklıkla oral ülserlerdir. Klinik olarak rekürren aftöz stomatit ile idantik olmakla birlikte daha sık tekrarlama ve yaygın seyretme eğilimi gösterir. Oral ülserler diğer belirtiler olmaksızın tek başına yıllarca sürebilir.^{6,20}

Çaplarına göre ülserler üç grupta incelenir.

- 1) Minör ülserler; çapları 0.5 cm' den küçük olan ve 15 günden daha kısa süre içerisinde skatris bırakmadan iyileşen ülserlerdir.
- 2) Major ülserler; çapları 0.5 cm' den büyük ve 15 günden daha uzun sürede, skatris ile iyileşen ülserlerdir.
- 3) Herpetiform ülserler; sayıları 100' e ulaşan çok sayıda 1-2 mm çaplı, yüzeysel ve birbirleriyle birleşme eğilimi olan, skatris bırakmadan iyileşen ve daha nadir görülen ülserlerdir.⁶

Genital ülserlerin seyri, oral ülserlere benzemektedir. Erkeklerde sıklıkla skrotuma, daha az olarak glans ve korpus penise, kadınlarda ise genellikle vulvaya ve özellikle de labium majusa yerleşir.^{6,21} Genellikle papülopüstül şeklinde başlar ve hızla ülser olurlar. Erkeklerin %75' i, kadınların %50' sinde haftaları bulan süre sonunda skatrisle iyileşirler.^{6,22}

BH'nın deri belirtileri çok çeşitli olup, genellikle üç gruba ayrılarak incelenir.

1) Nodüler lezyonlar; klinik olarak kadınlarda daha sık görülen eritema nodozum şeklinde veya erkeklerde daha sık görülen gezici yüzeysel tromboflebit şeklindedir. Özellikle alt ekstremitelerde yerleşen bu lezyonlar ortalama 10-15 gün içerisinde, ülserleşmeksizin ve yerlerinde pigmentasyon bırakarak iyileşirler.⁶

2) Papülo-püstüler lezyonlar; eritemli zeminde yerleşmiş follikülit veya akneye benzer steril püstüllerden oluşmaktadır.⁶ Papül halinde başlayan lezyonlar, 24-48 saat içinde püstüle dönüşürler ve sıklıkla gövde, alt ekstremit ve yüz bölgesi yerleşimi gösterirler. Bu tip lezyonların olguların %65-96' sında bulunduğu bildirilmiştir.^{3,23} Kliniğimizde yapılan kontrollü ve kör bir çalışmada bu belirtinin hastaların %96' sında bulunduğu, ancak kontrol grubunda da yüksek oranda gözlenmesi (%89) nedeniyle çok spesifik bir belirti olmadığı gösterilmiştir.²³

3) Kutanöz vaskülitik lezyonlar; Sweet benzeri lezyonlar, pyoderma gangrenozum benzeri lezyonlar, eritema multiforme benzeri lezyonlar, palpabl purpurik lezyonlar, subungual infarktlar, hemorajik büller ve ekstrasgenital ülserlerden oluşmaktadır.²¹

BH' nda Göz Tutulumu; en ciddi belirtilerinden birisi olan ve körlükle sonuçlanabilen göz tutulumu,^{2,6} erkeklerde ve hastalığın ilk yıllarında daha siktir.^{5,24} Göz tutulumu; ön üveit, arka üveit ve retinal vaskülit olmak üzere başlıca üç grubu içerir. Tek başına ön segment tutulması nadirdir. Tutulum sıklıkla bazen ön, bazen arka üveit ağırlıklı olmak üzere panüveit ve/veya retinal vaskülit şeklindedir. Göz tutulumunun seyri ataklar halinde ve alevlenmeler ve iyileşmelerle gider. Ciddi göz komplikasyonları arka segment tutulumu sonucunda gelişir. Bu alevlenmeler sırasında görülebilen ön kamera ve vitreus içinde iltihabi hücre ve protein artışı retinada eksüda ve hemoraji, papil ödemi gibi bulguların bir kısmı remisyon sırasında kaybolurken bazı hastalarda vitreus içinde opasite, optik atrofi, kistoid maküler ödem gibi

kalıcı komplikasyonlara yol açarlar. Sekonder glokom ve katarakt gibi komplikasyonların da eklenmesi ile görme azalır.^{6,25} Hastaların %50' sinde görülen göz tutulumunda görme kaybı göz tutulumu olanların %10-20' sinde ortaya çıkar.⁶

BH'nda Eklem Tutulumu; ilk kez hastalık tanımlandıktan bir yıl sonra yine Dr. Hulusi Behçet tarafından bildirilmiştir. Eklem tutulumu sıklıkla artrit şeklinde olabileceği gibi artralji şeklinde de olabilmektedir. Hastaların yaklaşık %60' ında bulunur. Tekrarlayıcı ve genellikle noneroziv özellikte, seronegatif bir artrittir. Tutulum genellikle asimetric ve oligoartiküler tipte olup en sık diz eklemi, daha düşük oranda ise ayak bileği, el bileği ve dirsek tutulumu gözlenir. Reaktif artritlerin tersine sakroileit nadiren görülür.^{2,21,26}

Nörolojik Tutulum; Nörolojik bulgular multipl skleroz ile benzerlik gösterip hastaların %4-42' sinde görülmektedir. Basit bir baş ağrısından, ciddi meningoensefalit, benign intrakraniyal hipertansiyon, beyin sapı lezyonları, kraniyal sinir paralizileri, piramidal, ekstrapiramidal ve serebellar sistem belirtileri, spinal kord ve periferik sinir tutulumuna kadar değişen özellikler gösteren nörolojik bulguların mortalitesi yüksektir.^{2,6,25,27} Hastaların yaklaşık 2/3'ü nörolojik belirtilerin ortaya çıkmasından itibaren 1 yıl içerisinde kaybedilmektedir.²⁷

Damar Tutulumu; BH' ında vasküler tutulum temelde venöz, arteriyel oklüzyon ve arteriyel anevrizmalar şeklindedir. Venöz tutulum daha sık görülür. Tutulum genellikle yüzeysel veya derin tromboflebit şeklinde olup erkeklerde daha sıktır ve genellikle alt ekstremitelere yerleşim gösterir. Tekrarlayan tromboflebit atakları hastaların yaklaşık dörtte birinde görülür. Pulmoner emboli BH' nın nadir görülen ancak mortalite ile sonuçlanabilen ciddi bir damar tutulumudur. Vena cava superior veya vena cava inferior gibi büyük venlerin tıkanması durumunda göğüs ve karında kollateraller oluşur. Tam olarak sıklığı bilinmeyen arteriyel tutulum; ciddi bir komplikasyondur. Nadiren femoral ve popliteal arter gibi damarlarda anevrizmalar gelişebilir ve rüptür sonucu ölüme neden olabilirler. Pulmoner arter anevrizması

da ölümle sonuçlanabilen bir başka ciddi vasküler tutulum şeklidir^{6,28,29} BH' nda damar tutulum sıklığı; %22-40 arasında değişmektedir. Türkiye' de bu sıklık %27.7 olarak bildirilmiş, bununda %88' inin venöz tutulum şeklinde olduğu belirtilmiştir.²⁶ Damar lezyonları olan hastalarda paterji testi pozitifliği ve göz tutulumu sıklığı artmıştır^{26,29}

Gastrointestinal Sistem Tutulumu; özellikle Japon Behçet hastalarında sık görülen bir bulgudur. Ülkemiz Behçet hastalarında nadir görülmektedir.⁶ Karın ağrısı, distansiyon, bulantı, iştah azalması, ishal gibi nonspesifik bulgulardan, kanlı diyare ile seyreden ülseratif kolite benzer anüs ve kolon ülserasyonlarına kadar değişen özellikte olabilir.⁶ Submukozaın lenfositik infiltrasyonu ve küçük damarların vaskülitini tarifleyen klinik semptomlara yol açan intestinal ülserasyonlarla sonuçlanır.¹⁷ Lezyonlar en çok terminal ileum ve çekumda lokalize olur. Barsak perforasyonları BH' nda ölüm sebeplerindedir.⁶

Kalp tutulumu; perikardit, myokardit, endokardiyal fibrozis sonucu kapak fonksiyon bozuklukları gibi belirtilerle karakterizedir ve hastaların %5' inde ortaya çıkar.^{2,17,28,29}

Akciğer tutulumu; BH' nda akciğer tutulumu ender olup, bazı serilerde %5 oranı belirtilmektedir. BH' nda, akciğere ait patolojik değişikliklerin temelinde, her boydan pulmoner arter ve ven ile septal kapiller damarlarda yerleşen lenfositik ve nekrotizan vaskülit yatmaktadır. Buna bağlı olarak da pulmoner arter anevrizmaları, arteriel ve venöz trombozlar, pulmoner enfaktlar görülebilmektedir. Bu lezyonlar ender olmakla birlikte, ölümcül seyir olasılığı konunun önemini arttırmaktadır.^{30,31}

Orşit, epididimit, pankreatit, amiloidoz, hepatit, pulmoner ve bölgesel lenfadenopati hastalığın nadir görülen diğer bulgularıdır.^{2,6}

Histopatolojik olarak vasküler inflamasyon BH' ndaki deri lezyonlarının temelini oluşturur. Genellikle her boydan arter ve venleri tutan bir vaskülit tablosu gözlenir. Histolojik bulgular damar duvarında belirgin fibrinoid nekroz ile birlikte nekrotizan bir vaskülitten, belirgin bir

interstisyel infiltratla birlikte olan yada olmayan perivasküler inflamasyona kadar değişebilen özellikler gösterir. Damar duvarları ve perivasküler alanda lenfosit, monosit, plazmosit, bazen de nötrofil infiltrasyonu vardır. Endotel hücrelerinde şişme ve proliferasyon görülür. Arterlerin media tabakasında elastik lifler parçalanmış olarak saptanabilir³²

BH'ında kesin tanı koydurucu laboratuvar ve histopatolojik bulgular olmadığından tanı klinik bulgulara dayanmaktadır² Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu' nun tanımladığı tanı kriterleri son yıllarda en çok kabul gören kriterlerdir. Bu kriterler;

- Tekrarlayan ağız ülserleri; 1 yıl içinde en az 3 kez tekrarlayan, hastanın veya doktorun tanımladığı minör, major veya herpetiform ülserler.
- Tekrarlayan genital ülserler; hastanın veya doktorun tanımladığı genital ülser veya skatrisi,
- Göz lezyonları; ön veya arka üveit, retinal vaskülit veya biomikrokopi ile vitreusta hücre saptanması.
- Deri lezyonları; hastanın tanımladığı ya da hekimin saptadığı eritema nodosum, hekimin saptadığı papülopüstüler lezyonlar, tromboflebit gibi deri lezyonları ve steroid tedavisinde olmayan erişkin hastalarda akneiform nodüller
- Paterji testinin pozitifliği; 24-48 saat sonra yapılan paterjinin pozitif olması.

Tekrarlayan oral ülserlere ek olarak en az iki bulgunun daha olması BH tanısını koydurmaktadır.^{2,33-36}

Behçet hastalarının çoğunda nonspesifik bir uyarana karşı deri yanıtı alınmakta ve bu fenomen paterji testi ile gösterilebilmektedir.³⁷ İlk kez Blobner tarafından 1937 yılında tanımlanan Deri Paterji Reaksiyonu; iğne batırılan alanda gelişen artmış nonspesifik deri reaktivitesini gösterir.³⁸ Bu reaksiyon sonucu gelişen lezyonların BH'larında spontan olarak gelişen papülopüstüler lezyonlar ile idantik olduğu gösterilmiştir.³⁹ Deri paterji testi steril

koşullar altında, ön kol fleksör yüzüne uygulanır.^{37,38} Testin 20G enjektör iğnesi ile ve en az iki ayrı noktaya pikür yapılarak uygulanması önerilmektedir.³⁹ Reaksiyonun gelişebilmesi için pikürün dermise kadar incek derinlikte olması gerekmektedir.⁴⁰ Paterji testi pikür alanına serum fizyolojik veya otolog serum enjekte edilerek de yapılabilir.^{33,40} Pikür alanında 24. saatte başlayan ve 48. saatte maksimum olan eritemli papül veya püstül oluşumu pozitif reaksiyonu gösterir.^{33,37,40}

Yapılan çalışmalarda künt iğnelerle yapılan testte pozitiflik oranının keskin iğnelerle yapılan teste göre anlamlı oranda artış gösterdiği saptanmıştır.⁴¹ Türkiye' de 1984' den önce %80 olan pozitiflik oranı, 1985, 1986 ve 1987 yıllarında yapılan üç ayrı çalışmada sırasıyla %70, %67 ve %65 olarak saptanmıştır.⁴¹⁻⁴³ Ülkemizde nondisposbl enjektörlerin kullanıldığı 1985' den önce yüksek olan pozitiflik oranının daha sonraki yıllarda azalması disposbl enjektör kullanımı ile bağlantılı gibi görünmektedir. Non-disposable enjektörlerde kaynatma sırasında kalsiyum çökmesi nedeniyle iğnenin pürüzlü bir hal alması ve daha künt bir özellik kazanmasından dolayı daha travmatizan olması testin pozitifliğini arttırmaktadır.³⁸

Yapılan çalışmalarda paterji testinde pozitiflik oranının kullanılan iğnenin çapı ile de orantılı olarak arttığı saptanmış ve bu artışın daha küçük çaplı iğnelerle yapılan testlerdeki pozitiflik oranı ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir.⁴³

Testte pozitiflik oranı ırksal farklılıklar da göstermekte ve en yüksek oranlara Türk ve Japon hastalarda rastlanmaktadır.^{44,45} Yazıcı ve ark. Paterji testi pozitifliğinin özellikle Türk Behçet hastalarında tanı koydurucu bir bulgu olduğunu ileri sürmüşlerdir.⁴⁶ Paterji testinde pozitif sonuçlar Türk ve Japon Behçet hastalarında %79-84 iken, bu oran Amerika ve İngiltere' de daha düşüktür.⁴²

Uluslararası Behçet Hastalığı çalışma Grubu'nun tanımladığı kriterler arasında yer alan pozitif paterji reaksiyonu 1937 yılından beri bilinmesine karşın etyopatogenezi hala tam olarak

aydınlatılamamıştır.³⁷ Pozitif paterji testinin histopatolojik incelemesinde; epidermiste kalınlaşma, vakuolizasyon ve subkorneal püstül oluşumu izlenir. Dermiste ise damarlar ve deri ekleri çevresinde yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmiştir.^{37,47,48} Dermal infiltratta daha az oranda monositler ve makrofajlar bulunmaktadır.³⁷

Tedavi; Etiyolojisi tam olarak bilinmeyen BH' nin tedavisinde değişik ilaçlar kullanılmaktadır. Günümüze kadar kullanılan ilaçlardan alınan sonuçlar, küratif olmaktan çok semptomatiktir. Tedavide topikal olarak; steroidler, antibiyotik-steroid kombinasyonları, intralezyoner steroidler, anestezikler,² sucralfate,⁴⁹ sistemik olarak; kolşisin,⁵⁰ kortikosteroidler,² talidomid,⁵¹ levamizol,⁵² salisilatlar ve antiagreganlar², asiklovir,⁵³ siklosporin,⁵⁴ klorambusil,⁵⁵ azatioprin,⁵⁶ ve inreferonlar⁵⁷ gibi çok sayıda ilaç değişik başarı oranlarıyla kullanılmaktadır.

Serbest radikallerin, kardiyovasküler, nörometabolik hastalıklar, malign hastalıklar ve karsinogenez gelişimi üzerindeki etkileri uzun zamandan beri birçok çalışmaya konu olmuştur. Son yirmi yıl içinde dermatoloji alanında yapılan araştırmalar serbest oksijen radikalleri (SOR)' nin birçok dermatozun gelişiminde de rol oynadıklarını göstermiştir.⁵⁸⁻⁶¹

Serbest radikaller, en son yörüngesinde bir veya birden fazla tek elektron bulunduran atomlardan oluşan kimyasal maddeler olup tek elektronların sayısı arttıkça reaktif güç de artmakta ve biyokimyasal reaksiyon geliştirme olasılığı da güçlenmektedir.^{60,61}

Zararlı etkileri uzun zamandır bilinen SOR' nin organizmada bazı biyolojik işlevlerde yararlı oldukları da gösterilmiştir.^{58,60}

Fagositoz olayında aktive nötrofillerden salınarak bakterilerin etkisiz hale getirilmesi, hücre bütünlüğünün korunması, mitokondrial oksidasyon, hemoglobinin oksijen taşıması, nonoksijenaz yoluyla prostoglandinlerin oluşumu ve DNA replikasyonu bilinen yararlı etkilerinden bazılarıdır.⁵⁸⁻⁶⁰

Biyolojik sistemlerde oksijen kaynaklı radikallerin oluşumu diğer serbest radikallerden daha fazla orandadır.⁶⁰ SOR' leri olarak bilinen bu kimyasal moleküller dışında; karbon, kükürt ve nitrojen kaynaklı radikaller de bulunmaktadır.⁶² SOR' leri ileri derecede reaktiftirler ve ikincil bir elektronla birleşme yolunu ararlar. Bu mekanizma ile diğer moleküllerin elektronlarını ayırarak yeni serbest radikallerin ortaya çıkmasına da neden olurlar. Organizmada serbest radikaller, sürekli olarak iç ve dış kaynaklar yoluyla üretilmektedir. Biyolojik sistemde en sık rastlanan serbest radikallere; merkezinde oksijen bulunan Süperoksit (O_2^-), Hidrojenperoksit (H_2O_2), Hidroksil radikal (OH^\cdot), Singlet Oksijen ($^1\Delta_g$) gibi güçlü oksijen metabolitleri ve merkezinde kükürt bulunan Tiyil (RS^\cdot), azot içeren Nitrik oksit (NO), karbon kaynaklı Triklormetil, metal komplekslerinden demir (Fe^{++}) ve bakır (Cu^{++}) örnek olarak verilebilir.⁶⁰⁻⁶²

SOR, oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu oluşan, çok kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikte metabolitlerdir.⁶⁰ Organizmada en fazla araştırılan serbest radikal kaynağı fagositlerdir.⁶² Aktive PNL'de çeşitli etkenlerin uyarımına bağlı olarak, spesifik bir membran enzim sistemi aracılığı ile (NADPH-oksidad) SOR üretimi gerçekleşir.^{60,63} NADPH oksidadın etkisi ile oksijen bir elektron alarak süperoksit anyona dönüşür.^{60,62-64} Fizyolojik PH'da süperoksit dismutaz enzimi süperoksit anyonunu hidrojen peroksit katalizleyerek 2 adet süperoksit anyon oluşumunu engeller. Süperoksit anyon ve hidrojen peroksit sıvı ortamlarda zayıf etkiye sahip türevler olup pek hasar meydana getirmezler. Ancak hidroksil radikal son derece reaktif ve destrüktif bir SOR olup hidrojen peroksitten, Haber ve Weis tarafından tanımlanan bir reaksiyonla ortamda demirin bulunması ile gerçekleşen fenton reaksiyonu ile oluşmaktadır. Reaksiyonun demire bağımlı olması ve deride de birçok hücre membranında demirin bulunması bu reaksiyonun gerçekleşmesini kolaylaştırmaktadır.^{61,62} Myeloperoksidad (MPO) da SOR' lerinin oluşumunda rol alan önemli diğer bir enzimdir.⁶⁵

Fagositler de oluşan süperoksit radikalleri ve metabolitlerinin mikroorganizmaları öldürme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. SOR'lerinin oluşmasını izleyen reaksiyonlar zinciri ile miktarları sürekli artar. Belirli bir miktarın üzerine çıktıklarında, aşırı miktarda üretildiğinde, ortamda metal iyonları bulunduğunda veya antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında SOR' i biyomoleküller ve doku komponentlerine zarar vermektedirler⁵⁸⁻⁶⁰. Transport, hücre büyümesinin düzenlenmesi ve bazı fizyolojik olaylar için gerekli moleküllerdir. Her ne kadar SOR' i normal immunolojik savunma mekanizmalarının bir parçası olsalarda aşırı reaksiyon durumlarında, inflamasyona ve ağır doku hasarına neden olabilmektedir⁶².

Özellikle lipidler, proteinler, DNA, karbonhidratlarda oksidasyon, kalsiyum dengesinde değişme ve hücre dışı yapılar SOR' leri için hedef yapılardır^{60,62}.

Hücre membranlarındaki lipidler doymamış yağ asitlerinden zengin olduklarından SOR' lerine oldukça duyarlıdır⁶¹. Oksijenin lipidlerden elektron alarak oluşturduğu lipid peroksidler hücreler için son derece önemli zararlara yol açarlar. Deri, zengin poliansatüre yağ içeriği, sık ultraviyole radyasyon ve oksijen temasından dolayı serbest radikallerin kolaylıkla yıkım oluşturabildiği bir organ özelliğini taşımaktadır. SOR' lerin deride oluşturduğu yıkım in vivo olarak birçok çalışmada gösterilmiştir^{61,66}. Temel fonksiyonel birimini fosfolipidlerin oluşturduğu hücre zarında^{66,67} SOR varlığında lipid peroksidasyonu oluşur. Böylece zarın yapısı bozulur, transport ve metabolik işlevi ortadan kalkar^{60,61,66}. Lipid peroksidasyonu, hücre ve/veya dokulardaki dönüşümlü veya dönüşümsüz hasarların en önemli nedenlerinden birisidir. Aynı zamanda da lipid zarın yıkılması, daha fazla SOR yapımına yol açar⁶⁶. SOR tarafından membranlarda gerçekleştirilen oksidatif hasarın gösterilmesinde Malondialdehit (MDA) kullanılmaktadır⁶⁴⁻⁶⁶. Lipid peroksidlerin oluşumuna bağlı olarak SOR' leri fosfolipaz A2 enzimini uyararak araşidonik asit metabolizmasını aktive ederler. böylece

prostoglandinler, tromboksan ve lökotrienlerin sentezi gerçekleşir ve ayrıca bu yoldan SOR' de ortaya çıkar.⁶⁰ Oksidatif stres sonucu deride oluşanları ultraviyole modeli örnek alarak açıklayabiliriz. UVB ve UVA, süperoksit anyon, hidroksil radikali hidrojen peroksit ve lipid peroksit gibi SOR' lerin yapımına neden olur. Burada gelişen olaylar sonucu ortaya çıkan SOR' ların etkisi ile aktive olan sitokinler ve prostoglandinlerin etkisi ile yıkım bölgesinde PNL ve lenfositlerin aktivasyonunu artar.⁶¹

PNL' in, immunkompleksler ve aktive olmuş kompleman da dahil çeşitli aktive edici ajanlarla karşılaşması sitotoksik oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur PNL hücrelerin ve bunların araşidonik asid yollarının aktivasyonunu içeren oksidan işlemlerin, organların mikrosirkulatuar endotelinin zedelenmesi ve bu şekilde hem hayvanlarda hemde insanlarda inflamasyon ve immunité ile ilgili pek çok hastalıkda rol oynamaları beklenebilir.⁶²

SOR, proteinler üzerinde doğrudan yada dolaylı etki gösterirler. özellikle sülfidril grubu bulunan ve bu nedenle de kolayca okside olabilen proteinleri okside ederek hücre metabolizmasında önemli bozukluklara neden olurlar.⁵⁸⁻⁶⁰

SOR etkisiyle DNA zincirinde kopmalar, bazlarda hasar oluşur. Sonuçta karsinogenez, kromozomal değişmeler, hücre büyümesinde değişiklikler görülür.⁶⁰ Karbonhidratların proteinlere bağlanmasının, proteinleri SOR hasarına daha duyarlı kıldığı da öne sürülmektedir.⁶²

SOR' lerin en fazla etkilediği hücre dışı doku komponentleri kollojen ve hyalüronik asit olup bu yapılarda hasar oluşturabilmektedir.⁶⁸

SOR' leri sürekli olarak iç ve dış kaynaklar yoluyla üretilmektedir. Fagositler, mitokondrial elektron transport sistemi, ksantin oksidaz, araşidonik asit metabolizması, otooksidasyonlarla iç kaynaklardan, radyasyon, infeksiyonlar, travmalar, hava kirliliği, sigara dumanı, termal etki ile de dış kaynaklardan oluşabilmektedir.⁶⁰⁻⁶²

Canlı organizmada değişik metabolik yollarla SOR üretimi devam ettiğinden organizma kendini korumak için bu toksik ürünlere karşı enzimatik ve non enzimatik antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Sağlıklı bir organizmada oksidanlar ile antioksidanlar arasında hassas bir denge vardır. Patolojik durumlarda bu denge oksidatif tarafa kayabilir ve sonuçta potansiyel olarak letal oksidatif hasar meydana gelir^{61,62,64,66}. Sitokrom oksidaz sistemi, hücredeki oksijenin %95-99 kadarını etkisiz hale getiren önemli bir antioksidan enzim sistemidir⁶⁰. Yetersiz kaldığı durumlarda diğer enzimatik antioksidanlar [Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Glutasyon enzimleri (Glutasyon Peroksidaz)] devreye girmektedir.⁶¹ Süperoksit dismutazın (SOD) 3 ana formu vardır. En fazla bulunanı bakır-çinko içerir ve sitoplazmada yer alır. Mangane içeren formu mitokondride, demir içeren formu ise bakterilerde bulunur. SOD, süperoksiti su ve hidrojene indirgeyerek etkisiz hale getirirler.⁶⁰

Katalaz; hidrojen peroksidin indirgenmesini katalizler. Ancak katalaz hidrojen peroksidin üretildiği tüm hücresel komponentlerde bulunmaz. Bu nedenle radikallere karşı korumada ikincil derecede önemi olduğu kabul edilmekte olup demire bağımlı bir antioksidan enzimdir.^{60,62}

Glutasyon enzimleri; Canlıların yaşayabilmesi için yüksek miktarda indirgenmiş glutasyon (İG) ve düşük miktarda oksidize glutasyon (OG) gereklidir. İG oksidasyona karşı iki ana yolla koruma sağlar; protein sülfidrilleri içine substrat olarak girer ve protein sülfidrillerinin oksidasyonunu engeller. Ayrıca OG' a protein sülfidrilleriyle reaksiyona girerek proteinleri inaktive edebilir. Gerekli olan İG/OG oranı glutasyon redüktaz ve glutasyon-6-fosfat dehidrogenaz enzimleri tarafından sağlanır. Glutasyon enzimleri 3 grupta incelenir.

- 1) Glutasyon peroksidaz (GP)
- 2) Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz
- 3) Glutasyon S-transferaz

GP, sadece hidrojen peroksiti değil diğer organik peroksitleri de etkisizleştirir. Yağ asit hidroperoksitleri salındıklarında GP enzimi tarafından indirgenir ve zararsız hidroksi yağ asitleri oluşur. Diğer iki enzimde lipid peroksidasyonunu çeşitli derecelerde engellemekle beraber hidrojen peroksiti detoksifiye edemez.^{60,69}

Non-enzimatik antioksidanlar; enzimatik antioksidanlar oldukça reaktif ürünlerin zararlı etkilerine karşı sınırlı bir koruma sağlar. Buna karşın bir grup düşük molekül ağırlıklı SOR tutucuları tespit edilmiştir. Bunlar SOR ile direkt reaksiyona girerek onları stabil derivelere çevirirler. Bunlar içinde alfa-tokoferol (E vitamini), askorbik asid (C vitamini), indirgenmiş glutatyon, ürik asid, beta karoten, sistin, albumin, melanin, laktoferrin, ferritin, taurin, mukus, kreatinin, katekol, östrojenler, fibrinojen, hidrojenperoksit ve süperoksid anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan Haber-Weis reaksiyonu' nu katalizleyen, bakır ve demir iyonlarını içeren seruloplazmin ile ferritin, transferrin, laktoferrin bulunmaktadır.⁶⁰⁻⁶⁴ Ayrıca insan plazmasında ekstraselüler antioksidan savunma mekanizmaları olarak bulunan diğer maddeler; haptoglobulin-hemopeksin, glukoz, yüksek dansiteli lipoprotein, alfa-1 antitripsin, makroglobulin, fibronektin, immunglobulin G' dir. Bu mekanizmalar normal biyokimyasal reaksiyonlar sırasında az miktarda oluşan SOR' ni nötralize ederler.⁶²

Dermatolojik hastalıkların bir kısmı SOR türevleri tarafından oluşturulurken bir kısmı da oksidatif stresi takiben gelişmektedir. SOR türevlerinin oluşturduğu dermatolojik tabloların en çarpıcı örneği iyonize radyasyon etkisiyle gelişen radikallerin DNA, proteinler ve lipidler üzerindeki yıkım etkisidir.^{61,62} Ancak, dermatolojik hastalıkların büyük bir kısmı serbest radikallerin doğrudan etkisiyle değil, oksidatif stresi takiben gelişmektedir.⁶² Oksidatif stres sonucu prostoglandinler, lökotrienler ve proinflamatuvar sitokinler [interlökinler ve tümör nekrotizan faktörler (INF)] salınmakta ve doku yıkımı gerçekleşmektedir.⁶¹ Doku yıkımı lökositlerin ve makrofajların aktivasyonuna ve NADPH enzimi aracılığı ile SOR yapımına

neden olmaktadır.^{60,61} Süperoksit anyon ve diğer radikaller bir yandan PNL için kemotaktik rol oynarken diğer yandan da TNF salınımını uyarırlar. TNF, T lenfositlerini aktive ederek inflamasyon sürecini başlatmaktadır.^{61,62}

SOR' lerinin doku hasarı olan her tabloda kolaylıkla oluşabileceği dikkate alındığında, patolojik bir sonuç mu yoksa gerçekten primer doku hasarında rol aldıkları konusuna açıklık getirmek amacıyla birtakım kriterler belirlenmiştir:

- 1) Doku yıkımı olan bölgede mutlaka SOR veya metabolitlerin bulunması,
- 2) Fizyolojik koşullarda direkt SOR uygulaması ile doku hasarı oluşması
- 3) Antioksidan veya SOR inhibitörlerinin uygulaması ile doku hasarının önlenmesi gibi kriterlerin bulunduğu durumlarda dermatozların etyopatogenezinde SOR' lerinin rol oynadığı kabul edilmektedir.⁶¹

SOR' nin bir çok dermatolojik hastalığın patogenezinde rolleri olduğuna dair çalışmalar son yıllarda artmıştır. Psoriasis, atopik dermatit, vaskülit, mikozis fungoides, dermatitis herpetiformis, akne vulgaris, büllöz pemfigoid, skleroderma ve sistemik lupus eritematozus gibi hastalıklarda glutatayon peroksidaz (GSPHx) enzim düzeylerinde belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir. Ayrıca psoriasis ve epidermoid karsinomlu olgularda süperoksit dismutaz enzim seviyelerinin düşük olduğu bildirilmiştir.⁶⁰ Fotokontakt dermatitte, ilaçlara bağlı fotoallerjik dermatozlarda, porfirilerde, dermatoheliosis ve deri tümörlerinin gelişiminde de rolleri olduğu bilinmektedir.⁶¹

Vaskülitler, damar duvarının iltihaplanması ve nekrozu sonucu ortaya çıkan değişikliklerdir. Vaskülitler çeşitli nedenlerle oluşabilmekteyse de patogenezlerinde SOR' nin rolü olduğu bilinmektedir.² SOR' leri lipid peroksidasyonuna neden olarak damar duvarında endotel hasarına yol açarlar.⁶⁶

Lökositoklastik vaskülitte de SOR' i kompleman aktivasyonuna yol açmaları, nötrofil kemotaksisini arttırmaları şeklinde açıklanmaktadır. Vaskülit olgularında özellikle hidroksil radikalinin etkin rol oynadığı kabul edilmektedir.⁶¹ Otoimmün hastalıklarda en erken bulgulardan birisi inflamasyon bölgelerinde toplanan nötrofillerin tetiklenmesiyle oluşan vasküler hasardır. Bilindiği gibi immun kompleksler kompleman sistemini aktive ederek nötrofiller için kemotaktan C5a salınımına yol açarlar. Etkilenen nötrofiller bir yandan süperoksit anyon yapımına neden olurken bir yandan da lizozomal enzimler, lipooksijenaz ve siklooksijenaz aktivasyonu gelişir ve sonuç olarak inflamasyon başlamış olur.^{61,62}

Romatoid artrit eklemlerde biriken immun komplekslerin nötrofilleri aktive etmesi ile ortaya çıkan SOR' nin oluşturduğu endotelial hasar bu olayın iyi bir örneğidir. Psoriasis, lökositoklastik vaskülit, sweet sendromu, Behçet hastalığı, çocukluk çağının büllöz dermatozu, lineer IgA dermatozu, akne ve rozase' de nötrofillerin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Nötrofillerin SOR' nin etkisiyle de aktive olabildikleri ve inflamatuvar mediatörlerin salınımına yol açtıkları bilinmektedir. SOR' nin nötrofilik hastalıkların patogeneğinde rol aldıklarını düşündüren diğer önemli bir kanıt antioksidan özellikte ilaçların sağladıkları yarardır. Psoriasis tedavisinde başarı sağlayan retinoidlerin oksijen yapımını inhibe ettikleri bildirilmektedir.⁶¹

BH' nda ana patolojik bozukluk vaskülit olup⁴ hastaların periferik kanlarında uyarılmış nötrofillerde kemotaksis ve fagositozun bozulduğu, lizozomal enzim aktivitesiyle çeşitli SOR' inde artış gibi fonksiyonel bozukluklar geliştiği gösterilmiştir.⁶⁴ Dolaşan immun kompleksler ve uyarılmış nötrofillerin BH' nda damar duvarı hasarı oluşturduğu bilinmektedir.^{2,4} Uyarılmış nötrofillerin BH patogeneğinde rol aldığı göz önüne alındığında nötrofillerde oksidan/antioksidan sistemdeki değişiklik sonucu oluşan SOR' lerinin hastalığın patogeneğinde etkili olabileceği düşünülmektedir.⁶⁶

Kontrollü olarak planladığımız çalışma ile aktif Behçet hastalarının plazma ve doku örneklerinde NADPH-Oksidaz, myeloperoksidaz ve enzimatik antioksidanlardan; süperoksid dismutaz, katalaz, ayrıca MDA seviyelerinin saptanması, plazma ve doku değişikliklerinin karşılaştırılması ve SOR' nin BH' nin patogenezindeki etkilerinin ortaya çıkarılmasını hedefledik. Daha önce yapılan çalışmalarda Behçet hastalarında sağlıklı kontrollere göre plazma antioksidan düzeylerinde farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir. Plazma NADPH-oksidadaz seviyelerinin arttığı gösterilmiş,^{63,64} MPO plazma düzeyleri hakkında ise farklı sonuçlar bildirilmiştir. SOD, katalaz, GP enzimleri düzeylerinin plazma seviyelerinin düşük olduğu gösterilmiştir.^{64,67} Behçet hastalarında seruloplazmin, bakır, fibrinojen plazma düzeylerinde kontrol gruplarına göre anlamlı derecede artış tespit edilmiştir.⁶⁴ Bir diğer çalışmada ise kontrol gruplarına göre selenyum, transferrin ve thiol' ün plazma düzeyleri düşük olarak bulunmuştur.⁶⁷ Namba ve ark. yaptıkları bir araştırmada Behçet hastalarında kontrol grubuna göre MPO seviyelerini düşük olarak tespit etmişlerdir.⁷⁰ Pronai ve ark. PNL' de Süperoksit scavening aktivitelerini Behçet hastalarında düşük olarak tespit ederken hastalık aktivitesiyle SOR ve PNL lökositlerdeki Süperoksid scavening aktivitesi arasında güçlü bir negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.⁷¹ Juhlin ve ark. Behçet hastalarında plazma GP seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit etmişlerdir.⁷² Köse ve ark. 1995' te yaptıkları bir çalışmada Behçet hastalarında kontrol grubuna göre plazma MPO ve MDA seviyelerini yüksek olarak tespit etmişlerdir.⁶⁶ Köse ve ark. diğer yaptıkları bir çalışmada total plazma antioksidan seviyelerini kontrol grubuna göre düşük olarak tespit etmişlerdir.⁷³

SOR' nin yarı ömürlerinin çok kısa olması, doku komponentleri ve biyomoleküllerle hızla reaksiyona girmeleri nedeniyle, çalışmalarda direkt SOR düzeylerini ölçmek mümkün olmamaktadır. Bu nedenle indirekt olarak SOR düzeyleri hakkında fikir veren antioksidan

enzimlerin düzeyleri araştırılmaktadır.⁶² BH' ında plazma antioksidan değişikliklerinin hastalığın patogeneğinde SOR' nin rolünü aydınlatmada tam olarak güvenilir olmayıp dokudaki seviyelerinin daha anlamlı olduğuna inanmaktayız. Literatürde BH' nın patogeneğinde SOR' lerinin rolünü, doku düzeylerinde saptayarak araştırılan bir çalışmaya rastlamadık. Literatürde bugüne kadar yapılan serum antioksidan enzim düzeyleri araştırmaları lökositlerde çalışılmıştır. Biz bu çalışmamızda SOD, katalaz ve MDA serum düzeylerini eritrositlerde, MPO ve NADPH oksidaz seviyelerini de lökositlerde çalıştık. Çalışmamızda hastalığın patogeneğinde SOR' lerinin rolünü aydınlatmak için hastalarının pozitif ve negatif paterji reaksiyonlarında antioksidan enzim düzeylerinin tespit edilerek sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması amaçlandı. Bu amaçla hasta ve sağlıklı bireylerinde, aynı anda alınan venöz kanda ve doku örneklerinde;

- a) Hasta grubu ile kontrol grubu arasında doku ve kanda antioksidan enzim seviyeleri karşılaştırılıp aradaki farkın anlamlı olup olmadığı,
- b) Behçet hastalarının doku ve kandaki antioksidan enzim seviyeleri ile hastalığın aktivitesi arasında bir ilişki olup olmadığı,
- c) Behçet hastalarının doku ve kanlarındaki antioksidan enzim düzeyleri ile hastalığın semptomları arasında ilişki olup olmadığı araştırılacaktır

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta Seçimi

Calışmaya Akdeniz Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran, Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubunun tanı kriterlerine göre BH tanısı almış yaşları 14 ile 60 (ort 37.2 ± 13.0) arasında değişen toplam 20 olgu alındı. Son 3 ay içinde BH için sistemik ilaç kullanmakta olanlar, herhangi bir nedenle kortikosteroid, immunsupressif veya diğer sistemik ilaç kullanmakta olan hastalar çalışmaya alınmadı. Kontrol grubu olarak yaşları 22 ile 69 (ort 46.3 ± 14.3) arasında değişen herhangi bir otoimmün veya vaskülitik hastalığı olmayan, sağlıklı 15 gönüllü alındı.

Paterji testinin yapılması

Paterji testinin yapılması ve değerlendirilmesindeki farklılığı engellemek amacıyla, bütün testler aynı hekim tarafından yapıldı. Test alanı olarak, çoğunlukla önerilen bölge olan, ön kol fleksor yüzü seçildi. Hasta ve kontrollere uygulanan test, steril koşullar altında yapıldı. Paterji testinin uygulama alanı %70' lik etil alkol solüsyonu ile temizlendikten sonra, 20G enjektör iğnesi ile her bir kola üçer adet olmak üzere toplam 6 adet dermise kadar inen pikür uygulandı. Test sırasında hastaların klinik bulguları kaydedildi. Testten 48 saat sonra hasta ve kontrollerin test alanları kontrol edildi. Pikür alanında papül ve/veya püstül gelişimi pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Yalnızca eritem gelişimi veya hiçbir reaksiyon izlenmemesi halinde test negatif olarak kabul edildi.

Biyopsi Materyali ve Kan Örneği Alınması

Hasta ve kontrollerden; ön kol iç yüzünden ve herhangi bir lezyon olmayan alandan, %2' lik lidokain ile yapılan lokal anestezi sonrasında biopsi alındı. Biopsiler; insizyonel yöntemle elips şeklinde, epidermis, dermis ve kısmen subcutisi içerecek şekilde yaklaşık 1 cm çapında

alındı. Alınan biyopsiler herhangi bir solüsyon içine konulmadan soğuk zincir ile Biyokimya Anabilim Dalına ulaştırıldı. Biyopsi materyalleri, çalışma yapılıncaya kadar -20 derecede saklandı. Biyopsi işlemini takiben, hasta ve kontrollerin diğer kolundan antecubital bölgesinden heparinize tüpe 10 cc venöz kan alınarak en kısa sürede Biyokimya Anabilim Dalına ulaştırıldı

Kanın Ayırma İşlemleri

1-Eritrosit İzolasyonu

Kan örnekleri 2000Xg hızında 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazma ayrıldı. Elde edilen eritrosit süspansiyonu 3 defa 154 mM NaCl solusyonu ile yıkanarak santrifüj edildi. Kalan paket ayrılarak -20 derecede dondurularak saklandı.

2-Lökosit İzolasyonu

Tam kan oda ısısında 30-60 dakika bekletildiği zaman, önce eritrositler çöker. Lökositlerin dansitesi eritrositlere göre daha düşük olduğundan lökositler daha yavaş çöker ve eritrositler ile süpernatant plazma arasında bir beyaz tabaka (Lökosit tabakası) oluşur. Sedimentasyonun olduğu ortamın dansitesi dextran ilavesiyle artırılırsa lökositler süspansiyon halinde kalır. Süpernatanın alınması ve düşük devirde santrifüj yapılması lökositce zengin bir pellet oluşturur. Ortama eritrositlerin kontaminasyon ihtimali ise, bu hücrelerin hipotonik solüsyonlarda parçalanmaya karşı lökositlere göre az dirençli olmasından dolayı, şok uygulamasıyla elimine edilir

Kullanılan Reaktifler

1. Dextran solüsyonu (5gr/dl): 10x125 mm'lik, içinde heparin bulunan plastik tüplere 0,1 gr ağırlığında HH grade'inde ve MA 254 000 olan dextran, tartılarak konuldu. Kullanılmadan hemen önce 2 ml 0,7 gr/dl' lik NaCl ilave edildi

2. NaCl 0,7 gr/dl: 100 ml' lik balon joje içinde 0,7 gr NaCl konuldu, distile suyla çözülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

3. NaCl 0,9 gr/dl: 100 mm' lik balon joje içinde 0,9 gr NaCl konuldu distile suyla çözülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

4. NaCl 1,8 gr/dl: 100 ml' lik balon joje içinde 1,8 gr NaCl konuldu, distile suyla çözülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı

Yöntem

Enjektörle alınan 8 ml' lik venöz kan derhal, içinde antikoagulan madde ve 2ml %5 dextran bulunan plastik tüplere boşaltıldı ve hemen birkaç kez alt-üst edildi. Hücrelerin sedimentasyonu için 45 dakika +4 derecede bekletildi. Bu süre sonunda üstte kalan lökosit zengin plazma kısmı disposable bir plastik pipet ucuyla bir başka plastik tüpe aktarıldı ve bunlar diğer kanların alınıp ayırılmasına kadar +4 °C' de buzdolabında bekletildiler. Plastik tüplerde 10' ar ml olarak biriktirilmiş lökosit zengin süpernatantlar 500xg cihazında 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan süpernatantlar çekilip atıldı.

Ortamda bulunan eritrositlerin uzaklaştırılması için şok uygulaması yapıldı. Dipteki beyaz küre hücreleri 1 ml soğuk 0,9 gr/dl'lik NaCl içinde süspansiyon edildi. 3 ml soğuk-buzlu distile su ilave edildi, nazikçe 45 saniye karıştırıldı. Süre bitiminde derhal 3 ml 1,8 gr/dl soğuk NaCl ilave edilerek, karıştırıldı ve 500xg' da 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant çekilip atıldı. Tarif edilen şok uygulaması ortamdaki eritrositleri tamamen uzaklaştırmak için üç defa yapıldı.

Bu aşamadan sonra lökositlerin hepsi toparlanıp havuz haline getirildi. Lökositler izole edildikten sonra polistiren tüplerde Krebs-Ringer fosfat tamponu, pH: 7.4 (KRPB) içerisinde süspansiyon edilerek ölçüm gününe kadar -20 °C' de derin soğutucuda dondurularak saklandı.

Lökositlerin derin dondurucuda saklanması ve çözülmesi sırasında parçalanacaklarından dolayı, lökositlerle ilgili hesaplamalar yapılırken lökosit sayısı/ml değeri yerine, böyle bir durumda tercih edilmekte olan mg protein değeri kullanıldı.

Elde edilen eritrosit ve lökosit süspansiyonları ile biyopsi materyalleri -20°C ' de buzlukta saklanıp, hasta ve materyal alımı tamamlandıktan sonra aynı anda antioksidan enzim düzeyleri aynı hekim tarafından ve materyalin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin çalışıldı. Ayrılmış olan; lökosit solusyonlarında NADPH ve Myeloperoksidaz, eritrosit solusyonlarında MDA, Katalaz ve SOD enzim düzeyleri çalışıldı. Doku örnekleri santrifüje edildikten sonra elde edilen homojenat örneklerinde kanda çalışılan tüm antioksidan enzimler, aynı yöntemlerle çalışılmıştır.

Protein Ölçümü- Lowery Metodu

Proteinler, alkali ortamda ilave edilen Cu^{++} iyonları ile, kompleks yaparlar Cu^{++} - Protein kompleksi bir elektron donorü olarak hareket edebilir ve ilave edilen folin-Ciocalteu reaktifini yoğun renkli molibdeum ve tungsten mavisine indirger. Oluşan renk şiddetinin optik dansitesi 750 nm ' de ölçülür ve standart eğri ile karşılaştırılarak değerlendirilir.

Kullanılan Reaktifler:

- 1.A reaktifi. %2 Na_2CO_3 solüsyonu 4 0,1 NaOH olacak şekilde hazırlandı. Solüsyonu hazırlamak için, 1 gr Na_2CO_3 (Sigma) ve 0,2 gr NaOH tartıldı ve bir miktar distile suda çözüldükten sonra 50 ml' ye tamamlandı.
2. B Reaktifi: % 1 CuSO_4 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ den 0,0156 gr alındı ve distile suyla 1 ml' ye tamamlandı. %2 Na-K Tartarat' dan 0,0268 gr tartıldı ve distile suyla çözüldükten sonra 1 ml' ye tamamlandı. Bu iki solüsyon eşit hacimde karıştırıldı.
- 3.C Reaktifi-Alkalin Bakır solüsyonu (protein solüsyonu) Bu solüsyon 50 kısım A reaktifi ile 1 kısım B Reaktifi' nin karışımıyla elde edildi ve günlük hazırlandı.

4.Folin-Ciocalteu- Fenol (FCF) Sigma' dan hazır olarak elde edildi. Hazır olan reaktif, asid cinsinden 2 N olduğu için aşağıdaki şekilde sulandırılarak kullanıldı.

Hazır FCF reaktifi 1 kısım

Distile su 1,5 kısım

5.Protein standardı: 25 mg Bovin Serum Albumin (BSA) tartıldı ve distile suda çözüldükten sonra hacim 10 ml' ye tamamlandı (2,5 mg/ml).

Yöntem

Elde edilen lökositler 1720 oranında phosphate-buffered-saline (PBS) ile aşağıdaki şekilde dilüe edildi.

0,1 ml Süpernatant

1,9 ml PBS

Daha sonra reaktifler pipetlenerek ilave edilip derhal karıştırıldı. Tekrar 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 750 nm' de köre karşı okundu.

Lipid Peroksidasyonu Ölçümü

MDA oluşumu, invitro lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu, doymamış lipid materyallerinin moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini açığa çıkarması ile sonuçlanan kompleks bir işlemdir. Birçok durumda biyolojik numunelerdeki lipid hidroperoksitler, alkanallara, alkanellere, hidroksilalkanellere, ketonlara ve alkanlara parçalanmaktadır.

Metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonun bir ürünü olan MDA Tiyobarbitürik asid (TBA) ile reaksiyona girmesi ve 532 nm de absorbans veren bir kompleks oluşturması esasına dayanır.

MDA Tayini

Çözeltiler

1. Fosfat tamponlu salin (PBS) pH: 7.4

8.1 gr. NaCl

2.302 gr. Na₂HPO₄

0.194 gr. Na₂HPO₄ tartılıp 1000 ml distile suya tamamlanır. PH: 7.4' e ayarlanır.

2. %30 TCA

3. 0.1 m EDTA (Na Tuzu)

4. %1 TBA 0.05 N NO₁OH içinde hazırlanır.

5. MDAbis (dimetil asetat) standart solüsyonu; 0.05, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 ve 1 nmol/L

konsantrasyonlarında hazırlanır

Metod

Yıkamış ve paketlenmiş 0.6 ml eritrosit veya standart üzerine 2.4 ml fosfat tamponlu salin pipetlenir. Bunun üzerine 1.5 ml TCA ilave edilerek karıştırılır. 2 saat buz banyosunda inkübe edilir. Tüpler 2000Xrpm de santrifüje edildikten sonra 3 ml süpernatant bir başka tüpe aktarılır. Üzerine 0.0225 ml EDTA ve 0.75 ml TBA eklenerek 15 dakika kaynatılır. Tüpler soğutulduktan sonra 532 nm dalga boyunda absorbans değeri kendi körüne karşı spektrometrede okunur. Değerlendirme MDA-TBA reaksiyonu sonucu oluşturulan standart eğri ile yapılır. Aynı numuneden siyanomethemoglobin ile hemoglobinin ölçümü yapılarak MDA seviyesi gram hemoglobin olarak verilir.

NADPH Oksidaz Aktivitesi Tayini

NADPH'nin varlığında, tetrazolium tuzlarının enzimatik redüksiyonu ile oluşan formazanın ölçülmesi esasına dayanarak tayin edilmiştir.

Diyaforaz olarak da isimlendirilen NADPH oksidaz, çeşitli kromojenik elektron akseptörlerinin NADPH'ya bağımlı redüksiyonunu katalizlemektedir. Bu elektron akseptörlerinden en önemlileri; okside lipoyl türevleri, ferrisiyanit, 2-6-diklorofenol ve

tetrazolium tuzlarıdır. MTT (thiazolyl blue tetrazolium bromide) ile enzim aktivitesinin tayini diğer boyalara göre daha güvenilir bulunmuştur. MTT kullanılan yöntemde düşük kör değerleri ve lineer bir kinetik elde edilmiştir ve enzim aktivitesi enzim konsantrasyonu ile direkt ilişkili bulunmuştur. Diklorofenol indofenol ve ferrisiyanit kullanılan yöntemlerde ise yüksek değerler ve lineer olmayan kinetik saptanmıştır.

Çözeltiler

1. Fosfat tamponu (0.13 M, pH:7.75)
2. MTT (1mg/ml)
3. NADPH (10 mg/ml)

Çalışma

	Numune	Kör
Fosfat tamponu (0.13 M, pH:7.75)	2.3 ml	2.3 ml
MTT (1mg/ml)	0.5 ml	0.5 ml
NADPH (10 mg/ml)	0.1 ml	0.1 ml
Lökosit homojenatı	0.1 ml	-
Deiyonize su	-	0.1 ml

Lökosit homojenatı ortama en son eklenerek, 30 derecede 560 nm dalga boyunda köre karşı numunenin absorbans artışı spektrofotometrede 5 dakika boyunca izlendi. Sonuçlar standarda göre değerlendirildi. Standart olarak saf diyaforaz (Clostridium kluyveri, Sigma) kullanıldı. Stok standart mg/ml olacak şekilde 50.5 BSA içerisinde hazırlandı. Çalışma standartları deney ortamında 2,3,4,5 ve 10 ünite/g olacak şekilde hazırlanarak numune gibi çalışıldı. NADPH oksidaz miktarı uygun hesaplamalar ile tayin edildi.

Katalaz Aktivitesi Tayini

Yöntem Hidrojenperoksitin katalaz tarafından Oksijen ve suya parçalanması esnasında reaksiyon karışımındaki absorbans değişiminin ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Çözeltiler:

1. % 0.18 Hidrojenperoksit (0.05 M pH: 7.0 Fosfat tamponu içinde hazırlanır)
2. 0.05 M Fosfat tamponu pH: 7.0

Çalışma

1.0 ml % 0.18 Hidrojenperoksit

2.0 ml 0.05 m Fosfat tamponu (pH:7.0)

0.2 ml lökosit homojenatı (Fosfat tamponu ile 10 defa dilüe edilmiş)

Enzim preparatı ortama en son olarak eklenerek 25 derecede 240 nm dalga boyunda deiyonize su körüne karşı, spektrofotometrede 3 dakika boyunca absorbans değişimi ölçüldü.

Standart olarak (Bovine Liver Catalase, Sigma) saf katalaz kullanıldı ve 2.5, 5.0, 7.5, ve 10 ünite g/ml' lik çalışma standartları 0.005 M, pH: 7.0 fosfat tamponu içerisinde hazırlandı

Standartlarda numune gibi çalışıldı Numunede ki katalaz miktarı standart eğriye göre değerlendirildi. Lökosit homojenatında Lowry yöntemine göre protein tayini yapılarak sonuçlar spesifik aktivite olarak verilerek uygun hesaplamalar ile tayin yapıldı.

Süperoksit Dismutaz Tayini

Epinefrinin otooksidasyonu ile adrenokrom oluşumunun, süperoksit dismutaz tarafından inhibisyonu esasına dayanır ve bu inhibisyonun yüzdesine göre enzim miktarı hesaplanır.

Epinefrin' den adrenokrom oluşumu peroksidazlar tarafından katalizlenmektedir.

Peroksidazın bu katalitik etkisi nedeniyle MPO ihtiva eden PMN lökositlerin SOD tayininde kullanılmaları mümkün değildir. Bu amaçla lökosit süspansiyonu 27000xg' de 15 dakika

santrifüjlenerek MPO taşıyan granüller çöktürülmekte ve üstteki süpernatant SOD tayininde kullanılmaktadır.

Çözeltiler

1. 0.3 M Sodyum karbonat/ Sodyum bikarbonat tamponu (pH: 10.2)
2. 0.75 mM EDTA
3. 1.8 mM NaN_3

Çalışma

Süspansiyon halinde $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de dondurulmuş olan lökosit preparatı 5 defa dondurulup çözülerek granüllerin parçalanması sağlandı. Lökosit preparatına % 0.1 Triton X-100 eklendikten sonra buz banyosu içerisinde teflon uçlu homojenizatör ile 2 dakika homojinize edildi ve $20\ 000\times g$ ' de 15 dakika santrifüjlendi. Üstteki süpernatant kısmı SOD tayini için kullanıldı. BSA' nın standart olarak kullanıldığı Lowry yöntemine göre süpernatanda protein tayini yapıldı. Daha sonra numuneler 0.75 mg protein/ml olacak şekilde KRPB ile dilüe edildi.

Deney ortamı şu şekilde hazırlandı

0.75 mM EDTA	0.4	0.4	0.4
0.3 M Na_2CO_3 (pH:10.2)	0.5	0.5	0.5
Süpernatant (0.75 mg protein/ml)	-	1.5	-
60 mM NaN_3	0.1	0.1	0.1
Kaynatılmış Süpernatant (0.75 mg protein/ml)	-	-	1.5
KRPB	1.5	-	-
0.01 M HCL (pH: 2)	0.5	-	-

Ortama en son olarak 0.5 ml 1.8 mM epinefrin eklenerek derhal karıştırıldı ve 480 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı numune ve kontrol tüplerindeki absorbans değişimi 3

dk boyunca izlendi Tüm numuler çift çalışılarak ortalama değerler alınarak uygun hesaplamalar kullanıldı ve enzim tayini hesaplandı.

Myeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Miyeloperoksidaz tarafından oksitlenen Hidrojenperoksitin O-dianisidini redüklemesi ve bu redüklenmiş ürünün 460 nm dalga boyunda absorbansının ölçülmesi esasına dayanır.

Çözeltiler

1. 0.1 M Fosfat tamponu (ph:6.0)
2. 0.01 M hidrojenperoksit (Buzdolabında 1 hafta dayanıklıdır.)
3. 0.02 M o-dianisidin

Çalışma

	Numune	Kör
0.1 M Fosfat tamponu (ph:6.0)	0.3 ml	0.3 ml
0.01 M hidrojenperoksit	0.3 ml	0.3 ml
0.02 M o-dianisidin	0.5 ml	0.5 ml
Deiyonize su	1.89 ml	1.90ml
Lökosit homojenatı	10 ult	-

Lökosit homojenatı ortama en son eklenerek derhal karıştırıldı ve 25 °C' de 460 nm dalga boyundaki absorbans değişimi spektrofotometrede 10 dakika boyunca izlendi. Bütün numuler çift çalışılarak ortalama değerler alındı. Dakikada 0.0012 lik absorbans artışı 1 ünite enzim aktivitesi olarak tarif edildi. Miligram protein başına düşen MPO aktivitesi hesaplanarak sonuçlar spesifik aktivite olarak değerlendirildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları aşağıda özetlenmiştir.

- 1- Sülfanilamid S-9251 100 gram
- 2- Tiyobarbitürik asit T-5500 100 gram

3- N- Naftiletildiamin N-9125 25 gram

4- O-dianisidine D-3252 5 gram

5- MTT M-2128 1 gram

[3-(4,5 dimethyl- 2-thiazolyl- 2,5-diphenyl- 2H-diphenyl- 2H-tetrazolium bromide)]

6- Diaphorase D-5540 300 ünite

İstatistiksel değerlendirme

Hasta ve kontrol gruplarına ait demografik, klinik ile kan ve doku antioksidan enzim düzeylerine ait veriler bilgisayara yüklendi. İstatistik işlemleri SPSS for Windows paket programında yapıldı

1-Hasta ve kontrol gruplarında kan ve doku antioksidan enzim düzeyleri arasında fark olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan karşılaştırmada; Paired Samples-t test' i kullanıldı.

2-Hasta ve kontrol grupları arasında, yaş ile kan ve doku antioksidan enzim düzeyleri arasında fark olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan karşılaştırmada; Paired Samples-t test' i kullanıldı.

3-Hasta grubunda paterji pozitif olan hastalarla negatif olan hastaların kan ve doku antioksidan enzim düzeyleri arasında fark olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan karşılaştırmada; olgu sayısının az olması nedeniyle non-parametrik istatistik yöntemleri kullanıldı. Karşılaştırmada Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W Test' i kullanıldı.

BULGULAR

Calışmamızda; hasta grubunu yaşları 14 ile 60 (ort 37.2 ± 13.0), hastalık süreleri 1 ile 15 (ort 5.9 ± 4.2) yıl arasında değişen 11'i erkek 9' u kadın toplam 20 hasta oluşturdu Behçet hastalarının demografik ve klinik özellikleri Tablo 1' de verilmiştir. Çalışma sırasında; Behçet hastalarının 17' sinde oral ülser, 4' ünde genital ülser, 8' inde papülopüstüler lezyonlar, 17' sinde eklem şikayetleri, 2' sinde göz tutulumu ve 1' inde yüzeysel tromboflebit mevcuttu. Paterji testi, Behçet hastalarının 13 (%65)' ünde pozitif, 7 (%35)' sinde negatif idi. Laboratuvar bulgusu olarak; 13 hastada HLA-B5 pozitifliği, 7 hastada CRP ve 9 hastada sedimantasyon yüksekliği saptandı.

Hastalarda oral ülser, genital ülser ve göz bulgularından en az ikisine sahipolan ve buna ek olarak, eritrosit sedimantasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP)' den en az birisinde yükselme saptanan hastalar aktif dönemde kabul edildi. Rastgele olarak çalışmaya alınan hasta grubumuzda; yapılan klinik ve laboratuvar değerlendirmede 3 hasta (1, 8, 19 no' lu hastalar) aktif diğer 17 hasta ise inaktif Behçet hastası olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Behçet Hastalarının Klinik ve Demografik özellikleri

No	A.S.	Yaş	Cins	Süre	OÜ	GÜ	Göz	PPL	Ekl	Tro	HLA	Pat	CRP	ESH
1	H.Ö.	21	E	2	+	+	+	+	+	-	+	+	0.83	33
2	A.Y.	33	E	5	+	+	-	-	+	-	+	-	0.89	3
3	H.K.	14	K	2	+	-	-	-	+	-	-	+	4.43	28
4	H.A.	36	E	10	-	-	-	-	+	+	+	+	5.55	26
5	K.K.	40	E	3	+	-	-	+	+	-	+	+	0.42	14
6	P.B.	40	K	10	+	-	-	+	+	-	+	-	0.83	18
7	Z.B.	35	E	4	-	-	-	+	+	-	-	-	0.45	7
8	O.K.	24	E	3	+	+	-	-	-	-	-	+	4.85	32
9	S.K.	28	E	5	+	-	-	-	-	-	-	+	0.72	8
10	R.Y.	50	E	14	+	-	-	+	+	-	+	-	0.3	4
11	F.E.	28	E	10	+	-	-	+	+	-	+	+	0.45	10
12	E.A.	57	K	15	+	-	-	+	+	-	-	+	4.35	36
13	N.T.	58	K	10	+	-	-	+	+	-	+	-	0.3	33
14	A.A.	35	K	5	+	-	-	-	+	-	+	+	4.32	28
15	D.E.	41	E	6	+	-	-	-	+	-	+	+	0.3	10
16	A.U.	20	K	1	-	+	-	-	-	-	+	+	0.4	14
17	S.G.	27	K	4	+	-	-	-	+	-	+	-	0.1	18
18	N.A.	38	K	7	+	-	-	+	+	-	+	-	0.4	13
19	P.E.	60	K	1	+	-	+	-	+	-	?	+	24	37
20	M.U.	50	E	2	+	-	-	-	+	-	?	+	5.08	38

OÜ: Oral Ülser, GÜ: Genital Ülser, Göz Bulgusu, PPL: Papülo-püstüler lezyonlar, Ekl: Eklem şikayetleri, Tro: Tromboflebitis, HLA: HLA-B5, Pat: Paterji, CRP: C-Reaktif Protein, ESH: Eritrosit Sedimentasyon hızı (mm/saat)

Kontrol grubu, yaşları 22 ile 69 (ort 46.3 ± 14.3) arasında değişen 8' i kadın, 7' si erkek toplam 15 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Paterji testi, kontrol olgularının tamamında negatif olarak değerlendirildi. Kontrol grubunun demografik özellikleri Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Kontrol grubunun demografik özellikleri.

No	Adı Soyadı	Yaş	Cins	Paterji
1	F.A	47	K	Negatif
2	M.Y.	65	K	Negatif
3	E.K.	45	E	Negatif
4	E.F.	58	K	Negatif
5	H.K.	26	E	Negatif
6	H.G.	35	K	Negatif
7	T.A.	44	E	Negatif
8	C.K.	22	K	Negatif
9	A.K.	29	K	Negatif
10	M.G.	56	E	Negatif
11	M.K.	69	E	Negatif
12	G.B.	35	E	Negatif
13	B.T.	53	E	Negatif
14	L.Y.	57	K	Negatif
15	A.Ç.	54	K	Negatif

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet yönünden farklılık saptanmadı. Behçet hastaları ve kontrol grubunun demografik özellikleri karşılaştırmalı olarak Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 3 Behçet ve kontrol hastalarının demografik bulguları

	Behçet hastaları (n: 20)	Kontrol (n: 15)
Yaş (Ortalama \pm SD)	37.2 \pm 13.0	46.3 \pm 14.3
Cinsiyet		
Erkek	11	7
Kadın	9	8
Ortalama hastalık süresi (yıl)	5.9 \pm 4.2	

Hasta grubuna ait kan ve doku antioksidan enzim düzeylerine ait veriler Tablo 4 ve kontrol grubuna ait veriler Tablo 5' te verilmiştir. Hasta grubundan 2, kontrol grubundan 5 hastanın serumlarında enzim ve MDA düzeyleri teknik nedenlerden dolayı çalışılmamıştır.

Hasta kan ve doku antioksidan enzim düzeylerinin ortalamaları ve karşılaştırmaları Tablo 6 ve kontrol grubunun kan ve doku antioksidan enzim düzeyleri Tablo 7' de verilmiştir. Behçet hastalarının kan ve doku antioksidan enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında; NADPH oksidaz kanda doku düzeyine göre anlamlı derecede yüksek bulundu. (p: 0.006) MPO kanda yüksek olarak tespit edilmiş olup aradaki fark anlamlı bulundu. (p <0.001) Katalaz enzimi ise doku seviyesi kana göre daha düşük tespit edilerek aradaki fark belirgin derecede yüksek bulundu. (p <0.001) Behçet hastalarının SOD kan ve doku enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında; SOD düzeyi kanda yüksek bulundu fakat anlamlı bir fark saptanmadı. MDA dokuda çalışılmadığından istatistik yapılamadı. Kontrol grubunda MPO ve katalaz doku düzeyleri kana göre düşük saptandı ve aradaki fark anlamlı bulundu (p:0.003, p<0.001) NADPH oksidaz ve SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında ise fark saptanmadı.

Tablo 4. Behçet Hastalarının kan ve doku enzim düzeyleri ile kan MDA düzeyleri. (u/mg protein)

Gp isim	NADPH	NADPH Doku	Myeloper	Myeloper Doku	Süperoksit	Süperoksit Doku	Katalaz	Katalaz Doku	MDA
1 HO	2,3	2,9	5,816	2,098	6976,66	1606,96	282,07	19,951	0,016
2 AY	3,4	4,4	3,789	2,074	5117,65	4025	311,12	87,085	0,022
3 HK	4,7	2,4	3,422	2,298	5254,76	2081,35	331,61	45,22	0,022
4 HA	8	2,6	5,296	1,68	5994,8	2122,08	238,75	18,198	0,02
5 KK	3,8	2,2	4,348	1,408	4036,66	4287,5	272,6	95	0,021
6 PB	3,7	1,6	3,503	0,747	8226,47	3259,56	499,11	83,24	0,024
7 ZB	4,9	2,1	4,698	0,675	3113,26	2192,4	347,6	46,55	0,023
8 OA	3,4	1,9	3,231	1,836	2650,11	6056,84	317,11	112,638	0,013
9 SK	4,1	4,6	3,954	2,197	5117,34	2430	304,62	40,672	0,021
10 RY	5,8	4,2	4,139	2,696	4039	678,46	230,09	97,874	0,02
11 FE	3,2	3,1	3,015	1,479	3696,52	4473,91	217,3	99,54	0,016
12 EA	9,2	3	4,383	1,468	2852,94	7012,17	267,56	76,9	0,01
13 NT	4,2	4,1	3,026	2,407	4175,99	8141,35	204,48	78,605	0,024
14 AA	4,9	3	3,516	1,803	4447,8	5075	230,77	37,428	0,025
15 DE	3,9	4,4	2,833	3,063	1845,94	8575	218,32	130,353	0,025
16 AU	4	2,879	2,317	1,786	2958,68	7604,21	179,86	73,856	0,026
17 SG	3,7	4,5	5,677	2,118	3110,48	4387,02	281,83	31,908	0,022
18 NA	2,5	1,6	3,026	2,263	3673,52	5896,38	236,39	32,271	0,022
19 PE	3,5	3,026	2,263	3673,52	5896,38	236,39	32,271	0,022	0,022
20 MU	1,6	3,026	2,263	3673,52	5896,38	236,39	32,271	0,022	0,022

Tablo 5. Kontrol grubunun kan ve doku enzim düzeyleri ile kan MDA düzeyleri. (u/mg protein)

Gp	isim	NADPH	NADPH Doku	Myeloper	Myeloper Doku	Süperoksit	Süperoksit Doku	Katalaz	Katalaz Doku	MDA
1	FA	3,8	3,8	2,72	2,72	1232,74	1232,74	38,425	38,425	
2	MY	4,5	4,5	2,196	2,196	7468,69	7468,69	106,73	106,73	
3	EK	6,2	6,2	2,936	2,936	9215,29	9215,29	80,395	80,395	
4	EF	3	9	5,124	4,405	4439,89	1651,72	306,43	45,809	0,025
5	HK	1,9	2,9	4,782	1,865	7860,96	1201,97	370,76	52,709	0,024
6	HG	4,8	3,4	4,449	1,629	3190,97	4060	238,69	76,725	0,02
7	TA		6,6		2,096		6431,35		18,208	
8	CK	4,4	3,3	4,177	2,103	4248,58	4908,75	266,96	25,782	0,016
9	AK	3	2,6	5,009	0,952	2546,69	1369,88	237,26	73,28	0,015
10	MG	6,2	4,2	4,783	1,997	3334,6	344,86	293,98	110,974	0,018
11	MK	4,8	3,8	3,811	1,468	2878,7	255,65	240,56	24,964	0,017
12	GB		3,9		2,482		7170		69,951	
13	BT	3,4	1,7	3,2	1,643	3907,08	5980	388,13	60,957	0,013
14	LY	8,9	3,8	2,838	2,451	3420,67	9191	192,43	39,567	0,025
15	AÇ	2,1	2,6	1,525	2,542	2694,59	5680,12	191,5	21,294	0,02

Tablo 6. Behçet Hastalarının kan ve doku enzim düzeyleri

	Behçet Hastaları	
	Kan (n:18)	Doku (n: 20)
NADPH oksidaz	4.64±1.68	3.13±1.03**
Myeloperoksidaz	3.89±0.99	1.95±0.62***
Superoksit Dismutaz	4293.8±1610.5	4584.5±2465.5
Katalaz	276.2±72.8	64.7±33.9***

** : <0.01, ***: <0.001

Tablo 7. Kontrol grubunun kan ile doku enzim düzeyleri

	Kontrol	
	Kan (n:10)	Doku (n: 15)
NADPH oksidaz	4.25±2.11	4.15±1.85
Myeloperoksidaz	3.96±1.14	2.23±0.79**
Superoksit Dismutaz	3852.3±1544.1	4410.8±3190.1
Katalaz	272.7±67.5	56.4±29.7***

** : <0.01, ***: <0.001

Behçet hastaları ile kontrol olgularının kan antioksidan enzim ve MDA düzeylerinin karşılaştırılmasında anlamlı bir fark gözlenmemiş sonuçlar Tablo 8' de verilmiştir. Behçet hastaları ile kontrol olgularının doku antioksidan enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında belirgin bir fark gözlenmedi. Sonuçlar Tablo 9' da verilmiştir.

Tablo 8. Behçet hastaları ile kontrol grubunun kan enzim ve MDA düzeyleri

	Behçet Hastaları	Kontrol
	Kan (n:18)	Kan (n:10)
NADPH oksidaz	4.64±1.68	4.25±2.11
Myeloperoksidaz	3.89±0.99	3.96±1.14
Superoksit Dismutaz	4293.8±1610.5	3852.3±1544.1
Katalaz	276.2±72.8	272.7±67.5
MDA	0.020±0.004	0.019±0.004

Tablo 9. Behçet hastalarının ve kontrol grubunun doku enzim düzeyleri

	Behçet Hastaları	Kontrol
	Doku (n: 20)	Doku (n: 15)
NADPH oksidaz	3.13±1.03	4.15±1.85
Myeloperoksidaz	1.95±0.62	2.23±0.79
Superoksit Dismutaz	4584.5±2465.5	4410.8±3190.1
Katalaz	64.7±33.9	56.4±29.7

Hasta grubunda paterji pozitif olan hastalarla negatif olan hastaların kan ve doku antioksidan enzim düzeyleri arasında fark olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan karşılaştırmada elde edilen sonuçlar Tablo 10' da verilmiştir. Behçet hastalarının paterji pozitif ve paterji negatif olan hastaların kan ve doku antioksidan enzim düzeyleri ile kan MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Tablo 10. Paterji pozitif ve Paterji negatif Behçet hastalarının kan ile doku enzim ve kan MDA düzeyleri

	Paterji + (n:13)	Paterji - (n:7)
NADPH oksidaz Kan	4.54±1.46	4.85±2.2
NADPH oksidaz Doku	3.12±1.07	3.15±1.05
Myeloperoksidaz Kan	3.80±0.1	4.05±1.15
Myeloperoksidaz Doku	2.05±0.6	1.80±0.69
Superoksit Dismutaz Kan	3926.65±1175.88	5028.12±2192.31
Superoksit Dismutaz Doku	4185.42±2499.90	5325.64±2400.83
Katalaz Kan	263.79±50.80	300.98±106.04
Katalaz Doku	59.92±38.60	73.50±18.62
MDA Kan	0.021±0.003	0.019±0.005

TARTIŞMA

Oksijen ile yaşıyan tüm canlılarda normal metabolik işlemler sırasında kaçınılmaz bir şekilde üretilmekte olan SOR' nin hücrenel komponentler üzerinde çeşitli hasarlara sebep olduğu bilinmektedir⁷⁴

Deri, zengin poliansatüre yağ içeriği, sık ultraviyole radyasyon ve oksijen temasından dolayı serbest radikallerin kolaylıkla yıkım oluşturabildiği bir organ özelliğini taşımaktadır.⁶¹ SOR' nin deride oluşturduğu yıkım in vivo olarak birçok çalışmada gösterilmiştir.^{60,61,74} Temel fonksiyonel birimini fosfolipidlerin oluşturduğu hücre zarında SOR varlığında lipid peroksidasyonu oluşur. Böylece zarın yapısı bozulur, transport ve metabolik işlevi ortadan kalkar. Lipid peroksidasyonu, hücre ve/veya dokulardaki dönüşümlü veya dönüşümsüz hasarların en önemli nedenlerinden birisidir.⁶⁰⁻⁶²

BH, değişik organ tutulumlarıyla multisistemik bir hastalık olup temel patolojisi vaskülit olan, nedeni tam olarak bilinmeyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır.^{2-4,22} Patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik yatkınlığı olan bireylerde herpes virus ve bazı streptokok suşları başta olmak üzere çeşitli çevresel faktörlerin neden olduğu immunolojik fonksiyon bozukluklarının BH' ında sorumlu olduğu düşünülmektedir.^{2,19} Hastalıkta tüm klinik bulgulara yol açan esas patoloji vaskülitir.^{3,4} Bazı araştırmacılar, immunkompleks aracılı lökositoklastik vaskülitte uyumlu bulgular saptamışlarsa da diğerleri lenfositik vaskülitte karakterize olduğunu vurgulamışlardır³⁴

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, BH' ında nötrofil fonksiyonlarında önemli bozukluklar olduğu kaydedilmiştir. Nötrofil göçü, lizozomal enzim aktivitelerinde yükselme, nötrofil yaşamının kısılması ve aktif oksijen radikallerinde artış gibi nötrofil fonksiyon bozuklukları bildirilmiştir.^{74,75} James ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Behçetli hastalarda PNL' in kemotaktik aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir.⁷⁴ Behçet hastalarında hücre içi antioksidan mekanizmanın tamamen bozuk olması nedeniyle sadece ekstrasellüler ortamdaki koruma mekanizması yeterli olmamaktadır. Bu nedenle artmış olan süperoksit, hidroksil radikal ve hidrojenperoksit gibi SOR' i sülfidril gruplarının bozulmasına, polipeptid zincirlerinin kırılmalarına ve aminoasitlerde bozukluklara, lipid peroksidasyona ve inflamatuvar cevabın artmasına neden olarak doku harabiyetine yol açmaktadır.^{64,66}

Literatürde PNL' deki antioksidan mekanizmayı incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda aktif Behçet hastalarının kan enzim seviyeleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda aktif Behçet hastalarında PNL fonksiyonlarının bozulduğu, antioksidan mekanizmada yer alan enzim aktivitelerinin azaldığı ve SOR' inin artarak sonuçta doku harabiyetine yol açtığı belirtilmiştir.^{63-66,70,74,75}

İki veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA üretimi ile sonuçlanır. Peroksidasyon sonucu üretilen MDA, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalara, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki yapılarda bozukluklar gibi iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Bütün bu etkilerinden dolayı yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelen MDA, mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşik olup, SOR tarafından membranlarda gerçekleştirilen oksidatif hasarın gösterilmesinde kullanılmaktadır.^{66,76,77} Köse ve ark⁶⁶, Freitas ve ark⁷⁷' nin yaptıkları ayrı çalışmalarda aktif Behçet hastalarının kanlarında kontrol grubuna göre MDA seviyelerinde artış bildirmişlerdir. Rastgele olarak çalışmaya alınan hasta grubumuzda;

yapılan klinik ve laboratuvar değerlendirmede 3 hasta (1, 8, 19 no' lu hastalar) aktif diğer 17 hasta ise inaktif Behçet hastası olarak değerlendirilmiş olup hastaların büyük bölümü inaktif dönemdeydi. Çalışmamızda Behçet hastalarının serum MDA düzeyleri ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanamaması hastaların büyük bölümünün inaktif dönemde olması ile açıklanabilir.

PNL' in, immunkompleksler ve aktive olmuş kompleman da dahil çeşitli aktive edici ajanlarla karşılaşması sitotoksik oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. PNL hücrelerin ve bunların araşidonik asid yollarının aktivasyonunu içeren oksidan işlemlerin, organların mikrosirkulatuar endotelinin zedelenmesine neden olduğu bilinmektedir.^{66,75,76}

Nötrofiller ve diğer fagositoz yapan hücreler çeşitli aktive edici ajanlara maruz kaldıkları zaman, solunum patlaması olarak bilinen metabolik olay meydana gelmektedir. Fagositoz olayı sırasında nötrofillerin oksijen tüketimi hızlanmaktadır ve oksijen alınımı, süperoksit üretimi, hidrojenperoksit oluşumu hızlanmaktadır. Fagositoz olayı boyunca meydana gelen oksijenle ilgili bu değişikliklerin hepsine solunum patlaması adı verilmektedir. Bu olayın amacı, oksijenin kısmi redüksiyonu sonucu mikrobisid etkili ajanların (SOR) açığa çıkarılmasıdır.^{66,76}

NADPH oksidaz, solunum patlamasından sorumlu olan anahtar enzimdir. Enzim plazma membranında lokalize olmuştur. Enzim dinlenme halindeki hücrelerde tamamen inaktif halde olup hücreler uygun bir uyarana maruz kaldıkları zaman aktif hale geçmektedirler. Aktif hale gelen NADPH oksidaz oksijeni redükte ederek süperoksit anyonunu oluşturur. Behçet hastalarında da fagositoz olayının arttığı literatürde bildirilmektedir.^{58,62,63,66,75,76} Köse ve ark^{64,66}, iki ayrı çalışmada aktif Behçet hastalarında kan NADPH oksidaz seviyelerini yüksek olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubunun kan ile doku NADPH oksidaz düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanamaması, Behçet hastalarının kan

ve doku karşılaştırmasında NADPH oksidaz doku düzeyi kana göre düşük olarak saptanması Behçet hastalarının büyük bölümünün inaktif dönemde olmasıyla açıklanabilir.

Solunum patlaması esnasında tüketilen oksijenin hepsi membrana bağlı enzim olan NADPH oksidaz' ın etkisi ile süperokside dönüşmektedir. Süperoksidin dismutasyonu ile hidrojenperoksit oluşur.^{58,66,76} Hidrojenperoksit ve süperoksidden hidroksi radikal oluşabilmesi için Myeloperoksidaz gereklidir. MPO aynı zamanda NADPH oksidaz aktivitesini düzenleyerek solunum patlamasını sınırlamada rol alır.^{58,76} Köse ve ark^{64,66} ilk çalışmalarında aktif Behçet hastalarında MPO düzeylerini düşük, ikinci çalışmalarında yüksek olarak bildirmişlerdir. Yamada⁶³ ve Namba' nın⁷⁰ yaptıkları iki ayrı çalışmada aktif Behçet hastalarında MPO düzeylerini düşük olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubunun kan ve doku MPO seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunamaması ve Behçet hastalarının kan ve doku karşılaştırmasında doku MPO seviyelerinin düşük olarak bulunması hastalığın inaktif döneminde enzim aktivitesinin normal olmasıyla açıklanabilir.

SOD, aeorobik hücrelerde yaygın bir şekilde bulunan ve süperoksidin dismutasyonunu sağlayarak hücreyi koruyan bir enzimdir. SOD süperoksidi hidrojenperokside dönüştürerek hücreyi oksijen zararına karşı koruyucu bir rol oynar.^{58,66} Literatürde aktif Behçet hastalarında kan SOD değerleri yüksek olarak bildirilmiştir.^{64,66,73} Çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubu kan ve doku SOD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadığı gibi Behçet hastalarının kan ve doku seviyelerinde de bir fark bulunaması inaktif dönemde enzim aktivitesinin normal olmasıyla açıklanabilir.

Katalaz, H_2O_2 ' in su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Fagositoz sırasında monositler ve nötrofiller, fagozomların içine ve ekstrasellüler ortama fazla miktarda H_2O_2 salgırlar. Katalaz, fagositlerdeki peroksidasyona karşı koruyucu potansiyele sahip bir enzimdir ve H_2O_2 ' i su ve oksijene parçalamaktadır. Endojen katalaz, H_2O_2 ' i parçalayarak

ekstrasellüler üretilen H_2O_2 tarafından oluşturulan hasara karşı, insan kan fagositlerini korumaktadır^{58,66-68,76} Köse ve ark^{64,66} yaptıkları çalışmada aktif Behçet hastalarında kan Katalaz seviyesini düşük olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubu kan ve doku seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmaması hastaların büyük bölümünün inaktif dönemde olmasıyla açıklanabilir. Ayrıca bu sonuçlar SOR üretiminin Behçet hastalarında inaktif dönemde normal düzeylerde olduğunu da göstermektedir.

Aktif Behçet hastalarımızın sayısının az olması nedeniyle inaktif Behçet hastaları ile kan ve doku enzim seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılamadığından aradaki fark saptanamadı.

Deri paterji reaksiyonu, iğne batırılan bölgede gelişen nonspesifik hiperreaktivite reaksiyonu olarak tanımlanır³⁸ Bu reaksiyon, Behçet hastalarında spontan olarak gelişen papülopüstüler lezyonlarla idantiktir³⁹ Etiyopatogenezi hala aydınlatılmamış olmasına rağmen, ana patolojik bozukluk vaskülit olup BH' da kutanöz vaskülitin bir bulgusu olarak kabul edilmektedir.³³

Aktif Behçet hastaların serumlarında enzimatik veya non-enzimatik antioksidan seviyelerindeki değişikliklere yönelik bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır. Fakat SOR' lerinin plazma düzeyindeki değişikliklerden ziyade doku değişikliklerinin BH' nın etyopatogenezi aydınlatmada daha anlamlı olacağına inanmaktayız. Bu nedenle de BH' nın kutanöz vaskülitlerinden biri sayılan deri paterji reaksiyonu³³ çalışmamızda örnek alınmıştır.

Çalışmamızda; steril şartlar altında yapılan paterji testi Behçet hastalarının 13 (%65)' inde pozitif olarak değerlendirilmiştir. Testte pozitiflik oranı literatürdeki bilgilerle uyumlu olarak erkek hastalarda daha fazla idi. Irksal farklılıklar gösteren testin pozitiflik oranı literatürde Türk Behçet hastaları için %50-80 olarak bildirilmiştir^{41,43} Testin yapılış tekniği, kullanılan iğnenin çapı ve ucunun künt veya keskin oluşu gibi faktörler de testin pozitifliğini

etkilemektedir.^{38,43} Çalışmamızda paterji testi önerilen teknik olan steril şartlar altında 20G enjektör iğnesi ile ön kol fleksör yüzüne pikür şeklinde yapıldı. Pikürün dermise kadar inmesine dikkat edildi ve her hastada test 6 ayrı pikür şeklinde uygulandı. Kontrol grubunda ise aynı teknikle yapılan paterji testi tüm bireylerde negatif olarak değerlendirildi. Deri paterji reaksiyonu pozitifliği Behçet hastalığı tanı kriterleri arasında yer aldığı halde aktivite kriterleri arasında bulunmamaktadır.³⁷ Çalışmamızda; paterji pozitif hastalarla negatif hastaların kan ile doku enzim seviyeleri, kan MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanması yukarıda da belirttiğimiz gibi hasta grubumuzun büyük bölümünün inaktif Behçet hastaları oluşturması ile açıklanabilmektedir.

Sonuç olarak, Behçet hastalığının etyopatogenezinde SOR' nin rolü hakkındaki bu çalışmamızda kan ve doku düzeyindeki SOR' ne ait enzim seviyelerinin ve SOR üretiminin inaktif Behçet hastalarında normal düzeylerde olduğu kanısına varılmıştır.

SONUÇLAR

- 1- Çalışmaya, yaşları 14 ile 60 arasında değişen 11' i erkek, 9' u kadın toplam 20 Behçet hastası alındı. Kontrol grubu, yaşları 22 ile 69 arasında değişen 8' i kadın 7' si erkek toplam 15 sağlıklı gönüllüden oluştu.
- 2- Behçet hastalarının hastalık süreleri 1 yıl ile 15 yıl arasında değişiyordu.
- 3- Behçet hastalarının 13' ünde (%65) HLAB5 pozitif, 7' sinde (%35) HLAB5 negatif olarak tespit edildi.
- 4- Behçet hastalarının 9' unda ESH yüksekliği, 7' sinde CRP yüksekliği saptandı.
- 5- Hastalarının 17' si inaktif, 3' ü aktif Behçet hastası olarak değerlendirildi.
- 6- Hasta ve kontroller steril koşullar altında 20G enjektör iğnesi kullanılarak ön kol fleksör yüzüne 6 ayrı pikür şeklinde paterji testi yapıldı. Testten 48 saat sonra paterji alanından (pozitif veya negatif) biyopsi alındı. Aynı zamanda hastaların ve kontrol grubunun diğer ön kol antecubital bölgesinden 10 cc venöz kan alındı.
- 7- Paterji testi; Behçet hastalarının % 65' inde pozitif saptanırken, kontrol grubunun tamamında test negatif olarak değerlendirildi.
- 8- Behçet hastaları ile kontrol grubu arasında kan ve doku NADPH oksidaz, MPO, SOD, Katalaz enzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
- 9- Behçet hastaları ile kontrol grubu arasında kan MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- 10- Behçet hastalarının kan ve doku enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında; NADPH oksidaz, MPO ve katalaz doku enzim düzeyleri kana göre belirgin derecede düşük bulundu. SOD enzim seviyelerinde anlamlı bir fark saptanmadı.
- 11- Kontrol grubunun kan ve doku enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında; Katalaz ve MPO dokudaki düzeyleri kana göre belirgin derecede düşük bulundu. NADPH oksidaz ve SOD değerlerinde anlamlı bir fark saptanmadı.
- 12- Paterji testi pozitif olan hastalarla negatif olan hastaların doku ve kan enzim seviyelerinin karşılaştırılmasında anlamlı bir fark bulunmadı.
- 13- Paterji pozitif ve negatif Behçet hastalarının kan MDA seviyeleri arasında fark bulunamadı.

ÖZET

Bu çalışma, temel patolojisi bugün için vaskülit olan BH' ındaki kutanöz vaskülitin bir örneğini oluşturan deri paterji reaksiyonunda SOR' nin rolünü saptamak amacıyla yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarından paterji alanından biyopsi ve aynı zamanda 10 cc venöz kan alındı. Alınan doku ve kan örneklerinde; NADPH oksidaz, MPO, Katalaz, SOD ve MDA düzeyleri saptandı.

Behçet hastalarının %65' inde paterji testi pozitif saptanırken, kontrol grubundaki tüm olgularda test negatifti. Hastaların 17' si inaktif, 3' ü aktif Behçet hastası olarak değerlendirildi.

Behçet hastaları ile kontrol grubu kan ve doku enzim seviyeleri, kan MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Behçet hastalarının doku örneklerinde NADPH oksidaz, MPO, Katalaz değerleri kana göre düşük olarak saptanmış ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunda ise doku örneklerinde, MPO, Katalaz değerleri kana göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır.

Paterji testi pozitif olan hastalar ile negatif olanların kan ve doku enzim seviyeleri, kan MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Sonuç olarak, Behçet hastalarının inaktif dönemlerinde SOR üretiminin ve SOR' ne ait enzim seviyelerinin inaktif Behçet hastalarında normal düzeylerde olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Behçet H: Über rezidivierende aphthöse, durch ein Virus Verursachte Geschwüre am Mund, am auge, und an den Genitalien. *Dermatol Wochenschr* 1937;105:1152
- 2- Jorizzo JL Behçet's Disease. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB eds *Dermatology in General Medicine*. 5th ed New York: Mc Graw Hill, 1999:2161-2165.
- 3- International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990;1: 1078-80
- 4- O'Duffy JD. Vasculitis in Behçet's Disease. *Rheumatic Disease Clinics of North America*-Vo. 16, No. 2, May 1990
- 5- Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, et al Influence of age of onset and patient's sex on the prevalans and severity of manifestations of Behçets syndrome. *Ann Rheum Dis* 1984 43:783-9
- 6- Tüzün Y, Kotogyan A, Aydemir EH, Baransü O. *Dermatoloji* Istanbul, Nobel Tıp Kitabevi 1994; 393-9
- 7- Gürler A, Boyvat A, Türsen Ü Clinical manifestations of Behçet's disease: An analysis of 2147 patients. *Yonsei Med J* 1997;38:423-7.
- 8- Saylan T, Özarmağan G, Azizkuli G, Övül C, Öke N. Morbus Behçet in der Türkei *Zbl Haatkr* 1986;61:1120-2.
- 9- Nakae K, Masaki F, Hashimoto T, Inaba G, Mochizuki M, Sakane T Recent epidemiological features of behçet's disease in Japan In; Wechsler B, Godeau P, eds *Behçet's disease International Congress series 1037* Amsterdam: Excerpta Medica, 1993:145-51
- 10- Moschella SL, Hurley HJ *Dermatology* 3rd ed WB Saunders Company, 1992;587-588.

- 11- Aoki K, Fujioka K, Katsumata H, et al Epidemiological studies of Behçet's disease in the Hokkaido district. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1971;25:2239-43.
- 12- Acar MA, Akbaba M, Yalaz M. Çukurova bölgesinde Behçet hastalığı prevalansı. *Deri ve Zührevi Hastalıklarda Yenilikler Simpozyumu* 1989;272-75.
- 13- İdil A, Gürler A, Boyvat A, et al. Behçet's disease prevalence study over 10-year age in park Health Care Center. In; Oliveri I, Salvanani C, Cantini F, eds 8th International Congress on Behçet's Disease Program and abstracts. Milano. Prex, 1998:99.
- 14- Yurdakul S, Günaydın I, Tüzün Y. et al The prevalence of Behçet's syndrome in rural area in northern Turkey. *J Rheumatol* 1988;15(5):820-2
- 15- Sohn S. Etiopathology of Behçet's disease: Herpes simplex virus infection and animal model. *Yonsei Med J* 1997;38:359-64.
- 16- Lehner T, Lavery E, Smith R, et al. Association between the 65-kilodalton heat shock protein, streptococcus sanguis, and the corresponding antibodies in Behçet's disease. *Infect Immun* 1991;59:1434-41.
- 17- Mege JL, Dilşen N, Sanguedolce V, et al. Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor α , interleukin (IL) 6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behçet's disease. A comparative study with familial mediterranean fever and healthy subjects. *J Rheumatol* 1993;20:1544-9.
- 18- Hamzaoui K, Ayed K, Slim A, et al. Natural killer cell activity, interferon-gamma and antibodies to herpes viruses in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 1990;79(1):28-34
- 19- Jorizzo JL. Neutrophilic dermatoses: Sweet's syndrome and pyoderma gangrenosum. In: Gallin JJ, Goldstein IM, Snyderman R, eds. *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. New York: Raven Press, 1988:785-802

- 20- Cohen L. Ulcerative lesions of the oral cavity. *Int J Dermatol* 1980;19:362-74
- 21- Magro CM, Crowson AN Cutaneous manifestations of Behçet's Disease *International Journal of Dermatology*. 1995;34(3):134-138
- 22- Shimizu T, Erlich GE, Hayashi K Behçet's Disease (Behçet's Syndrome). *Sem Arth Rheumatol* 1979;8:223-60
- 23- Alpsoy E, Aktekin M, Er H, Çayirli Ç, Yılmaz E. Distribution and frequency of papulopustular lesions in Turkish Behçet's disease. A randomized, controlled study. *Int J dermatol*. 1998;37(11):839-42
- 24- Yazıcı H, Hekim N, Tüzün Y, et al Sex factor and Behçet's syndrome. In: Lehner T and Barnes CG, eds *Recent advances in Behçet's disease* Royal Society of Medicine Services limited, 1986:205-6 28-34
- 25- Pazarlı H, İzyazgan Y, Bahçecioğlu H, ve ark. Behçet hastalığına bağlı göz tutulumlarında Ön ve arka segment lezyonlarının korelasyonu. *Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi* 1987;21(1):17-9.
- 26- Yurdakul S, Yazıcı H, Tüzün Y, et al The arthritis of Behçet's Disease: a prospective study. *Ann Rheum Dis* 1983; 42:505-15.
- 27- O'Duffy JD, Goldstein NP. Neurologic involvement in seven patients with Behçet's Disease *Am J Med* 1976;61:171-8.
- 28- Kansu E. Behçet hastalığında vasküler komplikasyonlar 3. Ulusal Behçet Hastalığı Kongresi, Çukurova - Basımevi, Adana 1991;149-55.
- 29- Bowles CA, Nelson AM, Hammill SC, et al. Cardiac involvement in Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 1985;28(3):345-348
- 30- Decroix AG. Thoracic manifestations of Behçet's syndrome. *Thorax* 1969;24(3):380.

- 31- Hatzinicolaou P, Vayopoulos G, Mavropoulos S, et al. Vascular manifestations in Behçet's disease. *Br J Rheumatol* 1992; 31(4):284-5.
- 32- Koç Y, Güllü İ, Akpek G, et al. Vascular involvement in Behçet's disease. *J rheumatol* 1992;19(3):402-10
- 33- Jorizzo JL, Solomon AR, Cavallo T. Behçet' syndrome Immunopathologic assessment of pathergy lesions is useful in diagnosis and follow-up. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:747-751
- 34- Chen KR, Kawahara Y, Miyakawa, et al. Cutaneous vasculitis in Behçet's disease: A clinical and histopathologic study of 20 patients. *J Am Acad Dermatol* 1997;36(5):689-96.
- 35- Jorizzo JL. Behçet's Disease: an update based on the 1985 International Conference in London. *Arch Dermatol* 1986;122:556-8.
- 36- International Study group for Behçet's Disease. Evaluation of diagnostic (classification) criteria in Behçet's disease-towards Internationally agreed criteria. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 299-308.
- 37- Gül A, Esin S, Dilşen N, Koniçe M, Wigzell H, Binerfeld P. Immunohistology of skin pathergy reaction in Behçet's Disease. *British Journal of Dermatology* 1995; 132: 901-907
- 38- Dilşen N, Koniçe M, Aral O, et al. Comparative study of the skin pathergy test with blunt and sharp needles in Behçet's disease: confirmed spesifity but decreased sensitivity with sharp needles. *Annals of the Rheumatic disease* 1993;52:823-825.
- 39- Serdaroğlu S, Işçimen A, Tüzün Y, Yazıcı H. Behçet hastalığında paterji testinin multipl pikür tarzında uygulanmasının önemi. *Ulusal Dermatoloji Kongresi* 1990A; 339.
- 40- Özarmağan G, Saylan T, Azizlerli G, et al. Re -evaluation of the pathergy test in Behçet's disease. *Acta Derm Venereol* 1991;71:75-76

- 41- Yazıcı H, Tüzün Y, Tanman AB, et al. Male patients with Behçet's syndrome have stronger pathergy reaction. *Clin Exp Rheum* 1985; 3:137-141
- 42- Dilşen N, Koniçe M, Aral O et al Standardization and evaluation of the skin pathergy test in Behçet's disease and controls. In: recent Advances in Behçet's disease (Lehner T. Barnes CG, eds) London: Royal Society of Medicine Services. 1986; 169-72
- 43- Gürler A, Erdem C, Kundakçı N, Behçet hastalığında üç aşamalı paterji testi ile elde edilen sonuçlar. *Lepra mecmuası* 1987;18:73-84
- 44- Yazıcı H, Chamberlain MA, Tüzün Y, et al Comperative study of the pathergy reaction among Turkish and British patients with Behçet's Disease *Ann Rheum Dis* 1984;43:74-5
- 45- Davies PG, Fordham JN, Kirwan JR, et al. The pathergy test and Behçet's syndrome in Britain. *Ann Rheum Dis* 1984;43:70-73.
- 46- Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, et al. The combined use of HLA-B5 and pathergy test as diagnostic markers of Behçet's disease in Turkey *J Rheumatol* 1980; 7: 206-10
- 47- Sobel JD, Haim S, Shahrir A, et al Cutaneous hyperreactivity in Behçet's disease *Dermatologica* 1973;146:350-6
- 48- Gilhar A, Winterstein G, Turani, et al Skin hyperreactivity response (pathergy) in Behçet's disease. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 547-52
- 49- Alpsoy E, Er H, Çayırılı Ç, Yılmaz E Topical sucralfate is effective in the tratment of oral and genital ulcerations of Behçet's disease: a randomized, placebo-controlled and double-blind study *Arch Dermatol* 1999;135(5):529-32.
- 50- Aktulga E, Altaş M, Müftüoğlu A, et al A double blind study of colchicine in Behçet's disease. *Haematologica* 1980;65:399-402

- 51- Hamuyudan V, Mat C, Saip S, et al Thalidomide in the treatment of the mucocutaneous lesions of the Behçet's syndrome. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1998 Mar 15;128(6):443-50.
- 52- Turanlı AY, Mengü K, Cantürk I, ve ark Behçet hastalığında levamizol ve kolşisin tedavisiyle elde edilen sonuçlar *Deri Hast Frengi Arş* 1991;25 103-11
- 53- Davies UM, Palmer RG, Denman AM. Treatment with acyclovir does not affect orogenital ulcers in Behçet's syndrome: A randomized double-blind trial. *Br J Rheumatol* 1998;27:300-2.
- 54- Masuda k, Urayama a, Nakajima A. Cyclosporin A treatment of Behçet's disease: a multicenter double-masked trial. *Recent Advances in Behçet's disease*. Eds. T. Lehner, CG Barnes London, Royal Society of Medicine 1986;327-31
- 55- O'Duffy-JD; Robertson-DM; Goldstein-NP. Chloambucil in the treatment of uveitis and meningoencephalitis of Behçet's disease. *Am j Med* 1984 Jan;76(1):75-84.
- 56- Yazıcı H, Pazarlı H, Barnes CG, et el. A controlled trial of azathioprine in Behçet's syndrome. *N Eng J Med* 1990;322:281-5
- 57- Alpsyoy E, Yılmaz E, Başaran E. Interferon therapy for Behçet's disease. *J AM Acad Dermatol* 1994;31(4):617-9
- 58- Özdemir G: Reaktif oksijen partikülleri Roche Bilimsel Eserler Serisi Eskişehir, 1993
- 59- Mc Cord JM: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balancer. *Clin Biochem* 1993;26:351-357.
- 60- Aybey B, Tufan H, Ergenekon G: Serbest Radikaller. *TÜRKDERM* 1996;30:116-122
- 61- Oğuz O: Reaktif oksijen türevlerinin Dermatolojik hastalıklardaki rolleri ve antioksidanların tedavide kullanımı. *Dermatolojide Gelişmeler 3. Deri ve Zührevi Hastalıklar Derneği İstanbul*, 1998.

- 62- Özdem SS, Şadan G. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi Akd U. Tıp Fak. Dergisi (Med J. Akdeniz Ü.) 1994;11:63-70
- 63- Yamada M, Mimura Y, Watanaba K, Yuasa T, Murai Y. Neutrophil lysosome enzyme activities in patients with Behçet's disease. In: Behçet's Disease, edited by G Inaba, Jpn. Med. Res. Found Pub. 1981;18:259-267.
- 64- Doğan P, Tanrikulu G, Soyuer İ, Köse K. Oxidative enzymes of polymorphonuclear leucocytes and plazma fibrinogen, ceruloplazmin and copper levels in Behçet disease Clin Biochem 1994;27:413-418.
- 65- Doğan P, Soyuer Ü, Tanrikulu G. Superoxide dismutase end myeloperoxidase activity in polymorphonuclear leukocytes, and serum ceruloplasmin and copper levels, in psoriasis Br J Dermatol. 1989;120:239-244.
- 66- Köse K, Doğan P, Aşçionlu M, Kuddası E, Aşçionlu Ö. Oxidative stresses and antioxidant defenses in plazma of patients with Behçet's Disease. Tohoku J Exp Med 1995;176:239-248.
- 67- Halliwell B; Free radicals and metal ions in health and disease. Proceeding of nutrition soceity 1987;46:13-2.
- 68- Erden M: Serbest Radikaller. T Klin Tıp Bilimleri 1992;12:201-207
- 69- Janice B, Irwin F. Inactivation of Glutathione by Superoxide Radical. Archives of Biochemisry and Biophysics 1985;240(2):500-508
- 70- Namba K. Leucocytes and lysosomal enzymes in the patients with Behçet's disease Jpn J Ophtalmol 1984;28:80-88.
- 71- Pronai L, Arimori S. BG-104 enhances the decreased plazma superoxide scavenging activity in patients with Behçet's disease, Sjögren's syndrome or hematological malignancy. Biotherapy 1991;3:367-371

- 72- Juhlin I, Edqvist I E, Ekman L G, Ljunghall K, Olsson M Blood Glutathione peroxidase levels in skin disease: Effect of selenium and vitamin E treatment. *Acta Dermatovener Venereol* 1982;62:211-214
- 73- Köse K, Doğan P, Aşçıoğlu M, Erkiliç K, Aşçıoğlu Ö. Antioxidant potential of plazma in Behçet's disease. *Erciyes Med J* 1993;15:350-356.
- 74- James DW, Walker JR, Smith JH Abnormal polymorphonuclear leucocyte chemotaxis in Behçet's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1979;38:219-221.
- 75- Niwa Y, Miyake S, Sakane T, et al Auto-oxidative damage in Behçet's disease-endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils *Clin Exp Immunol*. 1982;49:247-255
- 76- Maccarrone M, Catani VM, İraci S et al. A survey of reactive oxygen species and their role in dermatology. *J European Acad Dermatol and venereol* 1997;8.185-202.
- 77- Freitas JP, Filipe P, Yousefi A et al Oxidative stress in Adamantiades-Behçet's disease. *Dermatology* 1998;197:343-8.

KISALTMALAR

BH	:	Behçet hastalığı
SSS	:	Santral Sinir Sistemi
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri
MDA	:	Malondialdehit
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
İG	:	İndirgenmiş Glutatyon
OG	:	Oksidize Glutatyon
GP	:	Glutatyon Peroksidaz
TBA	:	Tiyobarbitürik asid
PBS	:	Fosfat Tamponlu Salin
BSA	:	Bovin Serum Albumin
MTT	:	Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide
MPO	:	Myeloperoksidaz
SOD	:	Süperoksidaz dismutaz