



## **PUVA TEDAVİSİNDE OLUŞAN OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ANTIOKSİDANLARIN ETKİSİ**

*Vedat ÇİMEN*

*Darica Farabi Devlet Hastanesi Dermatoloji Kliniği*

**Özet:** UV ışınları deride hasar oluşturan reaktif oksijen türlerini ortaya çıkarır. PUVA tedavisi de hücre membran yapısında hasar oluşturmada, glutatyon ve hidrojen peroksidi temizleyen enzimlerde azalma yaparak hücre fonksiyonlarda bozulmaya neden olmaktadır. Vitamin E ( $\alpha$ -tocoferol) lipid peroksidasyonu aracılığıyla oluşan serbest radikalleri engelleyen biyolojik bir antioksidandır. Bu çalışmada PUVA uygulamasının oluşturduğu oksidatif strese antioksidan vitamin olan E vitamininin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışma prospektif ve çapraz kontrollü olarak tasarlandı. 18-60 yaşları arasında PUVA tedavisi alan olgular arasından 40 hasta çalışmaya dahil edildi. PUVA tedavisi almakta olan hastaların bir grubuna (n=20) antioksidan olarak E vitamini 300 mg/gün verilirken PUVA tedavisine devam eden ancak E vitamini almayanlardan ise kontrol grubu (n=20) oluşturuldu. Hastalar PUVA tedavisi almaya devam ederken bir haftalık antioksidansız dönem sonrasında gruplar kendi aralarında yer değiştirerek çaprazlama yapıldı. Hastaların PUVA tedavisi öncesi ve sonrasında venöz kan örneklerini alınarak total oksidan status (TAS) ve total antioksidan (TOS) düzeylerini karşılaştırdı. PUVA uygulaması sonrasında plazma total oksidan status (TOS) düzeyinde artış, plazma total antioksidan status (TAS) düzeyinde ise azalma oluştuğunu, antioksidan olarak vitamin E uygulanması plazma TAS düzeyinde artış oluştururken plazma TOS düzeyindeki artışı engelleyerek oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiğini saptadık.

**Anahtar Kelimeler:** Total antioksidan status, Total oksidan status, antioksidan, oksidatif stres, E vitamini, PUVA

## **THE EFFECTS OF ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STRESS CREATED IN UVA TREATMENT**

**Abstract:** UV rays reveal reactive oxygen types which create damage on skin. PUVA treatment creates damage in the cell membrane structure, cause cellular function disorder by causing a decrease in enzymes which clean glutathione and hydrogen peroxide. Vitamin E ( $\alpha$ -tocoferol) is a biologic antioxidant which prevents free radicals created via lipid peroxidation. In this study, research of protective effect of vitamin E being an antioxidant vitamin on oxidative stress created by PUVA practice has been aimed. The study has been designed as prospective and cross checked. 40 patients among the cases receiving PUVA treatment between the ages of 18-60 have been included in the study. While 300 mg/day of vitamin E is given to a group of patients (n=20) as antioxidant, a control

group has been created from the ones who continue PUVA treatment but not receiving vitamin E. While patients continue to receive PUVA treatment, a crossing has been made by replacing the groups between themselves after a week's period without antioxidant. Total antioxidant status (TAS) and total antioxidant (TOS) values of patients have been compared by being taken their venous blood samples before and after PUVA treatment. Following PUVA treatment, we ascertained that there was an increase in plasma total oxidant status (TOS) level, and a decrease in plasma total antioxidant status (TAS) level; while vitamin E practice as antioxidant created an increase in plasma TAS level, it showed a protective effect against oxidative stress by preventing the increase in plasma TOS level.

**Key Words:** Total antioxidant status, Total oxidant status, antioxidant, oxidative stress, vitamin E, PUVA

## GİRİŞ

Organizmada oluşan zararlı oksidatif reaksiyonlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemler tarafından temizlenir. Bazı durumlarda oksidanların artışı ve antioksidanların azalması ile oksidatif/antioksidatif denge oksidatif durum yönüne kayabilir. Potent serbest radikal reaksiyonları Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalinin üretilmesiyle başlar ve bu reaksiyonların sonucu olarak oluşan biyomoleküller hücrede oksidatif hasara yol açar. Hidroksil radikali (OH.) ve türevleri reaktif oksijen ürünlerinin en zararlı olanıdır ve doku hasarında temel sorumludurlar. Antioksidan moleküller bu zararlı etkileri önlerler(1).

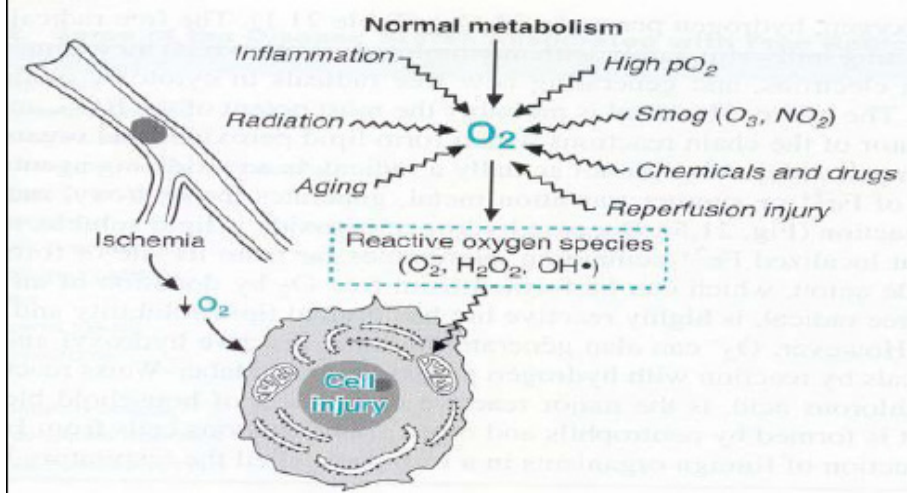
Hücrede oksidatif reaksiyonları kontrol eden mekanizmalar bozulduğunda serbest radikallerin üretimi artar. Belirgin hücresel hasar oluşturan bu durum yalnızca serbest radikal oluşumuna değil aynı zamanda nükleus gibi hücresel kompartımanlarda biriken moleküllere bağlıdır. Vitamin E ( $\alpha$ -tocoferol) lipid peroksidasyonu aracılığıyla oluşan serbest radikalleri engelleyen biyolojik bir antioksidandır. Ratlarda yapı-

lan çalışmalarda  $\alpha$ -tocoferolün antioksidan etkileri olmasının ötesinde serbest radikal oluşumunu engellediği ve yaşlanma sürecini kontrol ettiği gösterilmiştir(2).

PUVA ( psoralen + ultraviyole A ) ve UVB deri hastalıklarında yaygın olarak kullanılan fototerapilerdir. Keratinosit kültürlerinde PUVA ve UVB oksidatif stres üzerine artırıcı etki oluşturmaktadır. Terapotik dozlarda uygulanan PUVA ve UVB hücrelerde oksidatif DNA hasarını artırmaktadır. DNA hasarı hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), superoksit anyonları ( $O_2^-$ ), singlet oksijen ve hidroksil radikalleri ( $\cdot OH$ ) gibi reaktif oksijen ürünleri ile artmaktadır(3).

## SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ETKİLERİ

ROT oluşumu; enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı ( $pO_2$ ), ozon ( $O_3$ ) ve azot dioksit ( $NO_2^*$ ), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazıuyarıların etkisiyle artar (Şekil 1).



Şekil 1. Reaktif Oksijen Türleri oluşturan bazı uyarılar

#### Serbest radikallerin proteinlere etkileri:

Serbest radikallerin proteinlerde yaptığı hasarın büyüklüğü aminoasit kompozisyonlarının protein konformasyonuna, aminoasitlerin lokalizasyonuna ve hasar gören proteinin tamir yeteneğine bağlıdır. Proteinin hüresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin, “ROT” üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında enzimatik olmayan hidroksilasyona uğrayabilirler.

Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) veya hidrojen peroksitle ( $H_2O_2$ ) reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (4,5,6,7).

#### Serbest radikallerin lipidlere etkileri:

Hücre membranları poliansatüre yağ asitlerinden (PUFA) ve kolesterolden zengindir, kolaylıkla oksidan radikallerden etkilenirler. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. PUFA'nın oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ( $L^{\cdot}$ ) ve lipid peroksit radikallerinin ( $LOO^{\cdot}$ ) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu hücre hasarının önemli bir

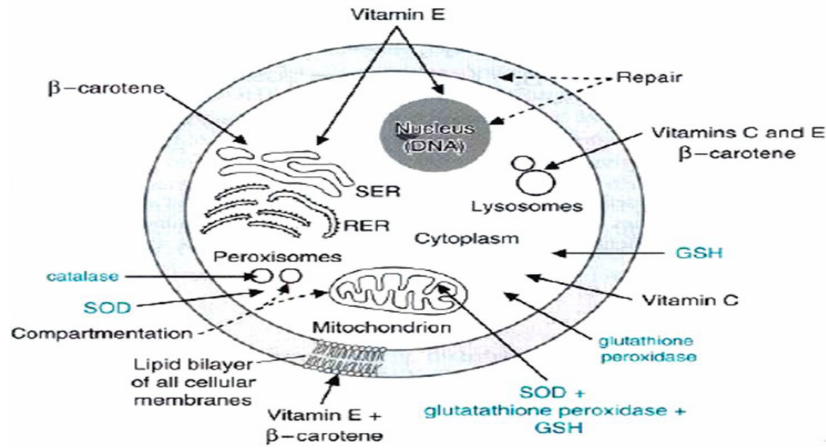
Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehyitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur. Plazma membranı ve subsellüler organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş

metallerinin varlığında artar (4,5,6,7).

## Serbest Radikallere Karşı Hücresel Savunma

### (Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar)

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler (Şekil 2).



Şekil 2. Vücutta bulunan bazı antioksidanlar

### Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivite-lerini azaltma veya aktif olmayan şekle

dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir(8,9).

## VİTAMİN E VE ANTIOKSİDAN ETKİNLİĞİ

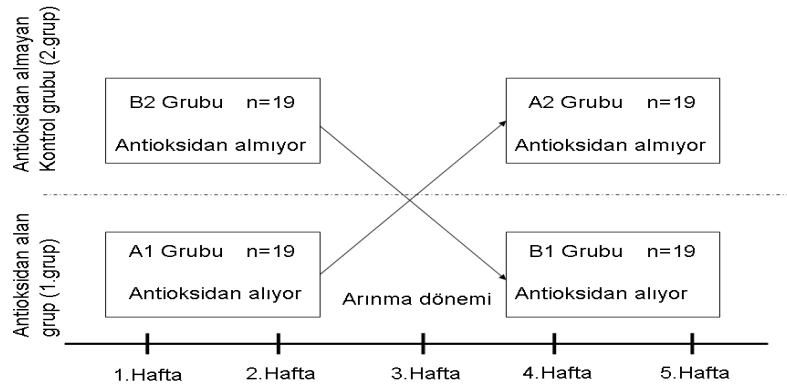
Vitamin E ( $\alpha$ -tocoferol) lipid peroksidasyonu aracılığıyla oluşan serbest radikalleri engelleyen biyolojik bir antioksidandır. Ratlarda yapılan çalışmalarda  $\alpha$ -tocoferolün antioksidan etkileri olmasının ötesinde serbest radikal olumunu engellediği ve yaşlanma sürecini kontrol ettiği gösterilmiştir(2).

Vitamin E olarak adlandırılan moleküllerin  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - $\delta$  tocopherol olmak üzere hücresel etkiler oluşturan dört tocopherol alt grubu vardır. Bu moleküllerin hepsinin antioksidan aktiviteleri vardır fakat kimyasal ve biyolojik olarak en aktif olan  $\alpha$ - tocopheroldür.  $\alpha$ - tocopherol primer lipid peroksidasyon ürünleri olan yağ asidi peroksil radikalleri ile reaksiyona girer.  $\alpha$ -tocopherol monosit-

lerin membranında NADPH-oxidaz enzim kompleksinin birikimini bozarak solunum patlamasını (respiratory burst) süperoksit oluşumunu önler. Monositlerde sitozolik faktör p47<sup>phox</sup> un translozyon ve fosforilasyonu  $\alpha$ - tocopherol ile azalır. Sitozolik faktör p47<sup>phox</sup> un azalmış fosforilasyonu proteinkinaz C (PKC) aktivitesini azaltır(10).

## BULGULAR

Çalışma Şubat 2009 ile Mayıs 2009 tarihleri arasında, Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği ve Biyokimya kliniğinde gerçekleştirildi. Bu çalışmada, kontrol ve hasta grupları oluşturulacak şekilde toplam 40 hasta ile çalışmaya başlandı Çalışmayı tamamlayan 38 hastanın sonuçları değerlendirmeye alındı



Tablo3: hasta gruplarının oluşturulması

Değerlendirme dışı kalan 2 hastadan biri PUVA tedavisi almakta iken plak tip psoriasis püstüler psoriasis formuna dönüştü ve PUVA tedavisi kesilerek sistemik tedaviye alındığından çalışmadan çıkarıldı. Diğer hasta ise çalışma devam ederken PUVA te-

davisine devam etmeyi bıraktı ve çalışma süresince hastaya ulaşılamadı.

Çalışma sırasında her hastadan dörder defa olmak üzere PUVA tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere toplam 8 defa kan örneği alındı (Tablo 1).

**Tablo:1** Serum Total antioksidan status ( TAS ) ve Total oksidan status (TOS) için kan örneklerinin kodlanması

Antioksidan Grubu (Grup 1)	Antioksidan almayan kontrol grubu (Grup 2)
TAS1Ö1: PUVA ted. öncesi birinci kan örneği	TAS2Ö1: PUVA öncesi birinci kan örneği
TAS1S1: PUVA sonrası birinci kan örneği	TAS2S1: PUVA sonrası birinci kan örneği
TAS1Ö2: PUVA öncesi ikinci kan örneği	TAS2Ö2: PUVA öncesi ikinci kan örneği
TAS1S2: PUVA sonrası ikinci kan örneği	TAS2S2: PUVA sonrası ikinci kan örneği
TOS1Ö1: PUVA öncesi birinci kan örneği	TOS2Ö1: PUVA öncesi birinci kan örneği
TOS1S1: PUVA sonrası birinci kan örneği	TOS2S1: PUVA sonrası birinci kan örneği
TOS1Ö2: PUVA öncesi ikinci kan örneği	TOS2Ö2: PUVA öncesi ikinci kan örneği
TOS1S2: PUVA sonrası ikinci kan örneği	TOS2S2: PUVA sonrası ikinci kan örneği

Çalışmaya alınan 38 hastanın ortalama yaşları 40.7 iken 20 si kadın 18 i kadındı (Tablo 2)

13 hasta psoriasis, 11 hasta vitiligo, 10 hasta MF ve 4 hasta alopesi tanılarıyla PUVA tedavisi almaktaydı

**Tablo: 2** Demografik veriler.

	HASTA
N	38
Yaş (yıl)	40.74 ± 11.495
Cinsiyet (kadın/erkek)	20/18

**Plazma TAS seviyeleri açısından antioksidan ( Grup 1 ) grubunda;**

TAS1Ö1 ile TAS1S2 gruplarının ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. (p=0,037). Total antioksidan status (TAS) sonuçlarına göre antioksidan grubunda birinci hafta PUVA öncesi değerlere göre ikinci hafta PUVA sonrası değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur.

TAS1Ö2 ile TAS1S2 gruplarının ölçüm de-

ğerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. (p=0,025). Total antioksidan status (TAS) sonuçlarına göre antioksidan grubunda ikinci hafta PUVA öncesi değerlere göre ikinci hafta PUVA sonrası değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur

Diğer gruplarının ölçüm değerleri arasında PUVA öncesi ve sonrası sonuçlar açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.(p>0,05). ( Tablo 3 )

**Tablo 3.** TAS antioksidan alan grup ( grup 1 ) sonuçları

GRUP	İncelenen alt grup	karşılaştırılan alt grup	Farkların ortalaması	P
TAS antioksidan alan grup (Grup 1)	TAS1Ö1 (mmol Trolox Equiv./L)	TAS1S1	-0,114	0,074
		TAS1Ö2	-0,078	0,290
		TAS1S2	-0,149	<b>0,037</b>
		TAS1Ö1	0,114	0,074
		TAS1Ö2	0,037	0,320
		TAS1S2	-0,034	0,148
	TAS1Ö2 (mmol Trolox Equiv./L)	TAS1Ö1	0,078	0,290
		TAS1S1	-0,037	0,320
		TAS1S2	-0,071	<b>0,025</b>
		TAS1Ö1	0,149	0,037
		TAS1S1	0,034	0,148
		TAS1Ö2	-0,071	<b>0,025</b>

Grupların kendi içindeki değişimini değerlendirmek için Tekrarlı Ölçümler Analizi ( Repeated Measures) testi kullanılmıştır.





**Tablo 5.** TOS antioksidan alan hasta ( grup 1 ) sonuçları

GRUP	İncelenen alt grup	karşılaştırılan alt grup	Farkların ortalaması	p
TOS antioksidan alan grup (Grup 1)	TOS1Ö1	TOS1S1	0,380	0,298
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOS1Ö2	0,088	0,877
		TOS1S2	0,215	0,715
	TOS1S1	TOS1Ö1	-0,380	0,298
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOS1Ö2	-0,293	0,600
		TOS1S2	-0,165	0,696
	TOS1Ö2	TOS1Ö1	-0,088	0,877
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOS1S1	0,293	0,600
		TOS1S2	0,128	0,858
	TOS1S2	TOS1Ö1	-0,215	0,715
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOS1S1	0,165	0,696
		TOS1Ö2	-0,128	0,858

Grupların kendi içindeki değişimini değerlendirmek için Tekrarlı Ölçümler Analizi ( Repeated Measures) testi kullanılmıştır

**Tablo 6.** TOS antioksidan almayan hasta ( grup 2 ) sonuçları

GRUP	İncelenen alt grup	karşılaştırılan alt grup	Farkların ortalaması	p
2	TOSÖ1	TOSS1	-0,807	0,304
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOSÖ2	1,687	0,046
		TOSS2	1,461	0,065
	TOSS1	TOSÖ1	0,807	0,304
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOSÖ2	2,494	0,021
		TOSS2	2,268	0,037
	TOSÖ2	TOSÖ1	-1,687	0,046
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOSS1	-2,494	0,021
		TOSS2	-0,226	0,328
	TOSS2	TOSÖ1	-1,461	0,065
	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	TOSS1	-2,268	0,037
		TOSÖ2	0,226	0,328

Grupların kendi içindeki değişimini değerlendirmek için Tekrarlı Ölçümler Analizi (Repeated Measures) testi kullanılmıştır

**Plazma TOS seviyeleri Antioksidan almayan (grup 2) grubunda**

Tekrarlı Ölçümler Analizi ( Repeated Measures) testi ile elde edilen sonuçlar anlamlı değildi. (Tablo6)

Verilerdeki uç değerleri içeren sonuçlar (>10 µmol H2O2 Equiv./L) çalışma dışı bırakılarak tekrar istatitikel inceleme yapıldı. (Tablo 7)

**Tablo 7.** TOS antioksidan almayan hasta ( grup 2 ) sonuçları

GRUP	İncelenen alt grup	n	Mean	Std. deviasyon
TOS antioksidan almayan grup (Grup 2)	TOS2Ö1 (µmol H2O2 Equiv./L)	31	3,67	1,34
	TOS2S1 (µmol H2O2 Equiv./L)	31	4,07	1,77
	TOS2Ö2 (µmol H2O2 Equiv./L)	37	3,50	1,20
	TOS2S2 (µmol H2O2 Equiv./L)	37	3,89	1,40

Grupları değerlendirmek için Paired Samples Statics - t testi kullanılmıştır

GRUP	İncelenen alt grup	n	Mean	Std. deviasyon	t	p
TOS antioksidan almayan grup (Grup 2)	TOS2Ö1- TOS2S1 (µmol H2O2 Equiv./L)	31	-0,40	1.50	-1,486	0,148
	TOS2S1- TOS2S2 (µmol H2O2 Equiv./L)	37	-0,39	0,99	-2,393	0,022

Grupları değerlendirmek için Paired Samples Statics - t testi kullanılmıştır

TOS2Ö1- TOS2S1 grublarının ölçüm değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmesede, birinci hafta PUVA öncesi plazma TOS değerine (3,67) göre PUVA sonrası plazma TOS değerinde(4,07) artış gözlenmiştir.

TOS2Ö2- TOS2S2 grublarının ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p=0,022) ikinci hafta PUVA öncesi plazma TOS değerine göre PUVA sonrası plazma TOS değerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir (Tablo 7)

Plazma TOS seviyelerinin değerlendirilmesinde grup 2 içerisindeki aşırı uç değerler (10 µmol H2O2 Equiv./L üzerindeki sonuçlar) değerlendirme dışı bırakılmıştır.

### **Bağımsız gruplar arasında yapılan karşılaştırmada;**

TAS ve TOS değerlerindeki değişimler antioksidan alan 1.grup ile almayan grup 2. grup arasında karşılaştırıldı.

TASÖ1Ö2: 1. ve 2. grublarının ölçüm değerleri karşılaştırılmasında TASÖ1 ile TASÖ2 değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p= 0,020). PUVA öncesi 1. hafta değerleri ile PUVA öncesi 2. hafta değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıklarında antioksidan verilen hastalarda antioksidan verilmeyen hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseklik saptanmıştır.

TASÖ1S2: 1. ve 2. grublarının ölçüm değerleri karşılaştırılmasında TASÖ1 ile TASS2 değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,008). PUVA öncesi 1. hafta değerleri ile PUVA sonrası 2. hafta değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıklarında antioksidan verilen hastalarda antioksidan verilmeyen hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseklik saptanmıştır.

TASS1S2: 1. ve 2. grublarının ölçüm değerleri karşılaştırılmasında TASÖ1 ile TASS2 değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,034). PUVA sonrası 1. hafta değerleri ile PUVA sonrası 2. hafta değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıklarında antioksidan verilen hastalarda antioksidan verilmeyen hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseklik saptanmıştır.

TOSS1Ö2: 1. ve 2. grublarının ölçüm değerleri karşılaştırılmasında TOSS1 ile TOSÖ2 değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,020). PUVA sonrası 1. hafta değerleri ile PUVA öncesi 2. hafta değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıklarında antioksidan verilmeyen hastalarda antioksidan verilen hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseklik saptanmıştır.

TOSS1S2: 1. ve 2. grublarının ölçüm değerleri karşılaştırılmasında TOSS1 ile TOSS2

değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ( $p=0,035$ ). ). PUVA sonrası 1. hafta değerleri ile PUVA sonrası 2. hafta değerleri arasındaki değişimlerin ortalama farklılıklarında antioksidan verilmeyen has-

talarda antioksidan verilen hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseklik saptanmıştır. (Tablo 8)

Diğer gruplarının ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 7).

**Tablo 8:** Bağımsız gruplar (Grup 1 ve Grup 2) arasında yapılan karşılaştırma

karşılaştırılan alt grup	Farkların ortalaması	p
TASÖ1S1	-0,10911	0,092
TASÖ1Ö2	-0,24974	0,020
TASÖ1S2	-0,23758	0,008
TASS1Ö2	-0,14063	0,100
TASS1S2	-0,12847	0,034
TASÖ2S2	0,01216	0,862
TOSÖ1S1	1,18763	0,169
TOSÖ1Ö2	-1,59895	0,112
TOSÖ1S2	-1,24526	0,201
TOSS1Ö2	-2,78658	0,020
TOSS1S2	-2,43289	0,035
TOSÖ2S2	0,35368	0,635

**Tablo 9:** Antioksidan alan hasta grubu (**Grup 1**) ölçümleri ile ilişkili değerler

Alt grup	N	Minimum	Maximum	Mean
TASÖ1	38	0,289	2,654	1,99439
TASS1	38	1,670	2,691	2,10866
TASÖ1S1	38	-1,77	0,21	-0,1143
TASÖ1Ö2	38	-1,77	1,02	-0,0776
TASÖ1S2	38	-2,01	0,16	-0,1486
TASÖ2	38	0,890	2,706	2,07203
TASS1Ö2	38	-0,36	1,08	0,0366
TASS1S2	38	-0,42	0,19	-0,0343
TASS2	38	1,547	2,710	2,14295
TASÖ2S2	38	-0,96	0,16	-0,0709
TOSÖ1	38	0,38	8,92	3,9737
TOSS1	38	0,47	7,23	3,5934
TOSÖ1S1	38	-6,85	5,40	0,3803
TOSÖ1Ö2	38	-16,32	5,82	0,0876
TOSÖ1S2	38	-16,08	8,27	0,2153
TOSÖ2	38	0,41	24,92	3,8861
TOSS1Ö2	38	-19,71	2,60	-0,2926
TOSS1S2	38	-12,55	3,87	-0,1650
TOSS2	38	0,38	16,65	3,7584
TOSÖ2S2	38	-12,11	22,11	0,1276

**Tablo 10:** Antioksidan almayan kontrol grubu (Grup 2) ölçümleri ile ilişkili değerler

Allt grup	N	Minimum	Maximum	Mean
TASÖ1	38	1,688	2,643	2,14363
TASS1	38	1,683	2,709	2,14879
TASÖ1S1	38	-0,20	0,25	-0,0052
TASÖ1Ö2	38	-0,26	1,76	0,1721
TASÖ1S2	38	-0,21	1,87	0,0890
TASÖ2	38	,258	2,678	1,97153
TASS1Ö2	38	-021	1,70	0,1773
TASS1S2	38	-0,21	1,90	0,0942
TASS2	38	0,478	2,666	2,05461
TASÖ2S2	38	-1,78	0,25	-0,0831
TOSÖ1	38	0,65	28,84	5,3558
TOSS1	38	2,34	34,65	6,1632
TOSÖ1S1	38	-16,22	16,56	-0,8074
TOSÖ1Ö2	38	-3,53	23,73	1,6866
TOSÖ1S2	38	-3,56	22,33	1,4605
TOSÖ2	38	1,86	9,83	3,6692
TOSS1Ö2	38	-2,81	29,54	2,4939
TOSS1S2	38	-3,43	28,14	2,2679
TOSS2	38	1,97	7,54	3,8953
TOSÖ2S2	38	-3,23	5,84	-0,2261

## 5. TARTIŞMA

Vücutta metabolik reaksiyonların sonucu olarak serbest radikal ve non-radikal formunda çeşitli reaktif ürünler üretilir. Oksijen türevi veya nitrojen türevi olan bu ürünler prooksidan olarak adlandırılırlar. Bu reaktif ürünler protein, DNA ve lipid gibi makromoleküllere saldırarak hücre ve dokularda hasar oluşturur. Serbest radikallerin oluşturduğu hücresel hasarı önlemek için organizma antioksidatif sistem olarak adlandırılan savunma mekanizmalarına sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon redüktaz (GSSGR) gibi enzimleri, Se, Mn, Cu ve Zn gibi mineralleri ve A, C ve E vitaminler gibi vitaminleri içeren antioksidanlar endojen üretilirler veya eksojen kaynaklardan alınırlar. Ayrıca glutatyon, flavonoidler, bilirubin, urik asit gibi bileşiklerde antioksidan aktivite içerirler. Plazma proteinleri geçiş metalleri ile şelat oluşturarak, reaktif oksijen türlerinin üretilmesini ve lipid peroksidasyonunu önleyebilirler.

Vitaminler insan derisinin doğal bir üyesidir ve deri antioksidan sisteminin bir parçasıdır. Deride antioksidan aktiviteyi geri kazanmak için vitaminler gibi doğal antioksidanların kullanımına ilgi artmıştır. A, C, E ve B3 vitamininin etkili antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahip oldukları gösterilmiştir ama bu etkileri elde edebilmek için ürünler uygun formüllerde hazırlanmalıdır. Alfa-tokoferol (E vitamini), L-askorbik asit (C vitamini), retinol (A vitamini) ve niasinamid (B3 vitamini) içeren ürünler fotoyaşlanma-

nın tedavisinde etkilidir. Bu bileşikler aynı zamanda enflamatuvar dermatozlar, akne, pigmentasyon hastalıkları ve yara iyileşmesinin tedavilerinde de etkiler göstermişlerdir(11)

Ultraviöle ışınları deride reaktif oksijen türlerinin üretimini artırır. Oluşan oksidatif stres hedef dokunun hücrelerinde hasar yapar. Vitamin E deride oksidatif stres sonucu oluşan hasardan korunmada kullanılabilen majör bir antioksidandır(12).

PUVA tedavisi hücre membran yapısında hasar oluşturur, glutatyon ve hidrojen peroksidi temizleyen enzimlerde azalma yaparak hücresel fonksiyonları bozar. İnsan fibroblastlarına 8-methoxypsoralen ve ultraviöle-A (PUVA) uygulanması stresle uyarılan (stress-induced) hücresel yaşlanmaya yol açmaktadır. Briganti ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PUVA ile uyarılan hücresel yaşlanmaya alfa-tokoferol, N-acetilsistein, alfa-lipoik asit gibi antioksidanların etkileri ve antioksidan savunma sisteminin reaktif oksijen türleri üzerine etkileri araştırılmış. Araştırmacılar alfa-tokoferol, N-acetilsistein, alfa-lipoik asit gibi küçük moleküllü antioksidanların PUVA ile uyarılan yaşlanmaya karşı koruyucu etkinliği olduğunu göstermişlerdir(13).

Biz çalışmamızda PUVA uygulamasının total oksidatif streste artış oluşturduğu bilgisinden yola çıkarak, PUVA'nın oluşturduğu oksidatif strese antioksidan vitamin olan E vitamininin koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Pek çok

çalışmada vitamin E' nin antioksidan etkinliği belirtilmiştir. Fakat antioksidan tedavi olarak kullanıldığında vitamin E' nin etkisiz olduğunu ifade eden yayınlar da mevcuttur (12-16).

Antioksidan özelliklere sahip olan maddelerle desteklemenin insan deri fibroblastlarının UV kaynaklı oksidatif strese adaptif yanıtına etkisi in vitro olarak çalışılmıştır. UV kaynaklı radyasyonun fibroblastlarda önemli derecede oksidatif strese yol açtığı tespit edilmiş, bu durum superoksit anyonlarının salınımının ve lipid peroksidasyonunun artmasına neden olmuştur. UV kaynaklı radyasyonun sub-letal dozlarının da fibroblast antioksidan savunmalarında adaptif yanıtlara ve katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerinde geçici bir yükselmeyi takiben daha yavaş ve fazla miktarda hücre sel glutatyon içeriğinde artışa yol açtığı bulunmuştur. Fibroblastların antioksidanlarla desteklenmesi, Trolox (alfa-tokoferolün suda çözünen bir analogu), askorbik asit veya beta-karoten bu yanıtlarda farklı etkilere yol açmıştır. Trolox desteği UVR kaynaklı hücre sel oksidatif stresi konsantrasyona bağımlı bir şekilde azaltmıştır. Askorbik asit ise fibroblastlardan süperoksit salınımını artırırken, aynı zamanda katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerindeki adaptif yükselmelerin şiddetini azaltmış ve glutatyon miktarını artırmış. Bu in vitro çalışmada E vitamini analogunun UV radyasyon kaynaklı oksidatif stresi azalttığını belirtilmiştir(14).

Metin ve arkadaşlarının yaptığı hayvan deneyi çalışmasında E vitamini uygulaması-

nın egzersizle artan oksidatif stres üzerindeki etkisini araştırılmış. Lipid peroksidasyonunun belirtisi olarak glutatyon (GSH) ve tiobarbitürik asit seviyeleri ölçülmüştür. E vitamini lipid peroksidasyonunda erken defans sisteminde en önemli antioksidan olduğu için, E vitamini desteği farelerde tiobarbitürik asit seviyeleri belirgin olarak düşük bulunmuş. Yine, E vitamini uygulanmış farelerde, glutatyon yanıtının belirgin şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, E vitamini desteğinin GSH seviyesinin korunmasında rol oynadığına işaret etmektedir denilmiştir (17).

Antioksidan maddelerin kültüre edilmiş insan epitel hücrelerinde radyasyon kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmada; insan epitel hücrelerine X ışınları, gama ışınları, protonlar ya da yüksek kütleli, yüksek atom ağırlıklı moleküller ve yüksek enerjili partiküller ile radyasyon uygulanmış. N-asetilsistein, askorbik asit, sodyum askorbat, koenzim Q10, alfa-lipoik asit, l-selenometionin ve vitamin E süksinatın radyasyon kaynaklı oksidatif strese etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar antioksidanların radyasyon kaynaklı oksidatif hasara karşı korumada etkili olduğunu göstermiş ve radyasyon maruziyetinden önce ve sırasında hücrelerin bu maddelerin kombinasyonuna tabi tutulması ile neredeyse tam korumaya ulaşılmıştır(18).

Total antioksidan status (TAS) sonuçlarına göre antioksidan almayan kontrol grubunda (grup2) birinci hafta PUVA öncesi değerle-



re göre ikinci hafta PUVA öncesi değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olması ( $p=0,030$ ) ve birinci hafta PUVA sonrası değerlere göre ikinci hafta PUVA öncesi değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olması ( $p=0,030$ ) antioksidan verilmeyen grupta PUVA tedavisine bağlı olarak total antioksidan kapasitede azalma olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlara göre PUVA uygulaması hastalarda plazma TOS düzeyinde artış, plazma TAS düzeyinde ise azalma oluşturmaktadır. Antioksidan olarak vitamin E uygulanması plazma TAS düzeyinde artış oluştururken plazma TOS düzeyindeki artışı engellerek oksidatif strese karşı koruyucu etki göstermiştir. Çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar daha önceden yapılan çalışmalarda sonuçlarla benzer şekilde antioksidan vitamin uygulanmasının oksidatif strese karşı koruyucu olabileceğini göstermektedir (12,13,14,19,20,21,22).

## KAYNAKLAR

- (1) **Erel O., 2004.** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem;37:277-85
- (2) **MALATESTA M, BERTONI-FRED-DARİ C, FATTORETTI P, BAL-DELLİ B VE ARK., 2004.** Aging and vitamin E deficiency are responsible

for altered RNA pathways. Ann N Y Acad Sci;1019:379-82.

- (3) **ORİMO H, TOKURA Y, HİNO R, KASAI H., 2006.** Formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the DNA of cultured human keratinocytes by clinically used doses of narrow-band and broadband ultraviolet B and psoralen plus ultraviolet A. Cancer Sci;97:99-105.
- (4) **DAVİES KJ., 1986.** Intracellular proteolytic systems may function as secondary antioxidant defenses: an hypothesis. J Free Radic Biol Med;2:155-73.
- (5) **HALLİWELL B, GUTTERİDGE JM., 1986.** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. Arch Biochem Biophys;246:501-14.
- (6) **DEAN RT., 1987.** Free radicals, membrane damage and cell-mediated cytotoxicity. Br J Cancer Suppl;8:39-45.
- (7) **PACİFİCİ RE, DAVİES KJ., 1991.** Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. Gerontology;37:166-80.
- (8) **HALLİWELL B, GUTTERİDGE JM, CROSS CE., 1992.** Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? J Lab Clin Med;119:598-620.

- (9) **HALLIWELL B., 1987.** Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J*;1:358-64.
- (10) **SCHNEIDER C., 2005.** Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res*;49:7-30.
- (11) **BURGESS C., 2008.** Topical vitamins. *J Drugs Dermatol*;7:s2-6.
- (12) **FİRKLE T, RESL V, RACEK J, HO-LECEK V., 2000.** [Antioxidants and protection of the skin against the effect of ultraviolet rays]. *Cas Lek Cesk*;139:358-60.
- (13) **BRİGANTİ S, WLASCHEK M, HİN-RİCHS C, BELLEİ B VE ARK., 2008.** Small molecular antioxidants effectively protect from PUVA-induced oxidative stress responses underlying fibroblast senescence and photoaging. *Free Radic Biol Med*;45:636-44.
- (14) **JONES SA, MCARDLE F, JACK CI, JACKSON MJ., 1999.** Effect of antioxidant supplementation on the adaptive response of human skin fibroblasts to UV-induced oxidative stress. *Redox Rep*;4:291-9.
- (15) **DREHER F, DENİG N, GABARD B, SCHWİNDT DA VE ARK., 1999.** Effect of topical antioxidants on UV-induced erythema formation when administered after exposure. *Dermatology*;198:52-5.
- (16) **BJELAKOVIĆ G, NİKOLOVA D, GLUUD LL, SİMONETTİ RG VE ARK., 2008.** Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*:CD007176.
- (17) **METİN G, ATUKEREN P, GUMUSTAS MK, BELCE A VE ARK., 2002.** The effect of vitamin E treatment on oxidative stress generated in trained rats. *Tohoku J Exp Med*;198:47-53.
- (18) **WAN XS, WARE JH, ZHOU Z, DONAHUE JJ VE ARK., 2006.** Protection against radiation-induced oxidative stress in cultured human epithelial cells by treatment with antioxidant agents. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;64:1475-81.
- (19) **AKYOL M, CELİK VK, OZCELİK S, POLAT M VE ARK., 2002.** The effects of vitamin E on the skin lipid peroxidation and the clinical improvement in vitiligo patients treated with PUVA. *Eur J Dermatol*;12:24-6.
- (20) **AYCİCEK A, EREL O., 2007.** Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *J Pediatr (Rio J)* ;83:319-22.
- (21) **DE PASCALE MC, BASSİ AM, PATRONE V, VİLLACORTA L VE ARK., 2006.** Increased expression of transglutaminase-1 and PPARgamma after vitamin E treatment in human

keratinocytes. Arch Biochem Biophys;447:97-106.

(22) **JİN GH, LİU Y, JİN SZ, LİU XD VE ARK., 2007.** UVB induced oxidative stress in human keratinocytes and protective effect of antioxidant agents. Radiat Environ Biophys;46:61-8.