

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

AKNE VULGARİSİ OLAN HASTALARDA
SFİNGOMİYELİN VE SERAMİD İNFLAMATUAR
YOLAĞININ ARAŞTIRILMASI

Sabriye KAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2018-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

AKNE VULGARİSİ OLAN HASTALARDA
SFİNGOMİYELİN VE SERAMİD İNFLAMATUAR
YOLAĞININ ARAŞTIRILMASI

Sabriye KAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mutay ASLAN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2017-25 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

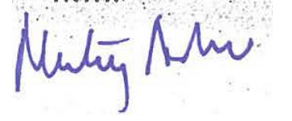
2018-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı yüksek lisans programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 27/06/2018

İmza

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Mutay ASLAN
: Akdeniz Üniversitesi
: Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. S.Gültekin YÜCEL
: Akdeniz Üniversitesi
: Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Ayşenur YEĞİN
: Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi
: Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Öğrencinin

Sabriye KAYA

İmza



Tez Danışmanı

Prof.Dr. Mutay ASLAN

İmza



TEŐEKKÜR

Bu araştırmanın her aşamasında bilgi ve desteğini esirgemeyen proje yürütücüsü ve akademik danışmanım Sayın Prof. Dr. Mutay ASLAN'a; yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalıştığım ve bundan mutluluk duyduğum Dr. Filiz Özcan ve araştırma görevlisi arkadaşım Ebru AFŐAR'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca ve hayatımın her döneminde her zaman desteklerini esirgemeyen, dualarıyla hep yanımda olan sevgili babaannem Sabriye KAYA, annem Elif KAYA, babam Yusuf KAYA, kardeşlerim Bayram KAYA, Harun KAYA ve yengem Betül KAYA'ya çok teőekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve hayatımın her aşamasında yanımda olan, tavsiyeleriyle destek çıkan ve dostluklarından güç aldığım çok sevgili arkadaşlarım Ebru AFŐAR, Alev Duygu ACUN ve Merve Nur ÇEVİK'e çok teőekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Akne vulgaris (AV)'de, farklı sfingomiyelin (SM) ve seramid (SER) türlerinin serum düzeyleri hakkında sınırlı veriler mevcuttur. Bu çalışma, AV hastalarında ve kontrollerde nötral sfingomiyelinaz aktivitesi (N-SMaz), seramid-1-fosfat (C1P), sfingozin-1-fosfat (S1P), C16-C24 SM ve C16-C24 SER'lerin dolaşımdaki seviyelerini belirlemeyi amaçlamıştır.

Yöntem: Otuz AV hastasından ve 20 yaş, cinsiyet uyumlu kontrollerden serum alınmıştır. C16-C24 sfingomiyelinlerin ve C16-C24 SER'lerin serum seviyeleri, ultra hızlı sıvı kromatografisi (UFLC) ve tandem kütle spektrometrisi (MS/MS) kullanılarak optimize edilmiş çoklu reaksiyon izleme (MRM) yöntemi ile belirlenmiştir. Nötral sfingomiyelinaz'ın serum aktivitesi standart kit yöntemleriyle, C1P ve S1P düzeyleri enzim bağımlı immunosorbent assay (ELİSA) ile belirlenmiştir.

Bulgular: Akne vulgarisli hasta serumlarının C16 SM düzeylerinde kontrol grubuna göre belirgin bir artış gözlenmiştir. Akne vulgaris hastalarının dolaşımdaki C1P düzeyleri artmış ve C24 SER düzeyleri kontrollere göre azalmıştır. Akne hastalarında ölçülen serum N-SMaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmazken S1P düzeylerinde kontrollere göre anlamlı bir artış gözlenmiştir.

Sonuç: Akne vulgaris patofizyolojisinde değişen sfingolipid düzeylerinin rolünü anlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Akne vulgaris, sfingomiyelin, seramid, nötral sfingomiyelinaz.

ABSTRACT

Objective: Limited data are available on serum levels of different sphingomyelin (SM) and ceramide (CER) species in acne vulgaris (AV). This study aimed to identify circulating levels of neutral sphingomyelinase activity (N-SMase), ceramide-1-phosphate (C1P), sphingosine-1-phosphate (S1P), C16-C24 SMs and C16-C24 CERs in AV patients and controls.

Method: Serum was collected from 30 AV patients and 20 age, gender matched control subjects. Serum levels of C16-C24 SMs and C16-C24 CERs were determined by an optimized multiple reaction monitoring (MRM) method using ultra fast-liquid chromatography (UFLC) coupled with tandem mass spectrometry (MS/MS). Serum activity of N-SMase was assayed by standart kit methods, C1P and S1P levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results: A significant increase was observed in serum levels of C16 SM in patients with AV compared to controls. No significant difference was found in C18 and C24 SM levels between two groups. Very-long-chain C24 CER was significantly decreased in AV patients compared to controls. Long chain C16-C20 CER levels showed no significant difference between AV patients and controls. A significant positive correlation was found between serum total cholesterol levels and all measured SMs and CERs in both the control and patient groups. Patients with AV had increased circulating levels of 16 SM, C1P and lower circulating levels of C24 CER compared to healthy controls, which may provide prognostic value for the disease.

Conclusion: Future studies are needed to understand the role of altered sphingolipid levels in the pathophysiology of AV.

Keywords: Acne vulgaris, sphingomyelin, ceramide, neutral sphingomyelinase.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Deri Yapısı ve Fonksiyonları	3
2.1.1. Derinin Tabakaları	3
2.1.2. Deri Yapısının Lipid Bileşimi	5
2.1.3. Deride Gözlenen Fizyopatolojik Durumlar	6
2.2 Akne Vulgaris	7
2.2.1. Sebasöz Bezin Sebum Üretimi	7
2.2.2. <i>Propionibacterium Acnes</i> Tarafından Kıl Folikülünün Kolonizasyonu	8
2.2.3. Üst Folikülün Hiperkeratinizasyonu	9
2.2.4. İnflamatuar Mediyatörlerin Deriye Salınımı	9
2.3. Sfingolipidler	10
2.3.1. Sfingolipidlerin Yapısı	11
2.3.2. Sfingolipid Metabolitleri	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Gruplandırma	24
3.2. Laboratuvar Ölçümleri	24
3.2.1. Serum Sfingomiyelin ve Seramidlerinin Ölçümleri	24
3.2.2. Kütle spektrometre analizi için serum örneklerinin hazırlanması	25
3.2.3. Nötral Sfingomiyelinaz aktivitesinin Ölçümü	26
3.2.4. Seramid-1-Fosfat seviyelerinin Ölçümü	26
3.2.5. Sfingozin-1-Fosfat Seviyelerinin Ölçümü	26
3.3. İstatistiksel analiz	27
4. BULGULAR	28
	iii

4.1. Çalışma Populasyonu Özellikleri ve Kan Lipit Profili	28
4.2. Sfingomiyelin ve Seramid Seviyeleri	28
4.3. Serum Nötral Sfingomiyelinaz Aktivitesi	33
4.4. Serum Seramid -1-Fosfat Seviyeleri	33
4.5. Serum sfingozin -1-Fosfat Seviyeleri	34
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇLAR	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	62



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Cilt Yapısı ve Hücre Popülasyonunun Şematik Gösterimi	3
2.2. Epidermal Lipidler ve Cilt Bariyeri İşlevi	6
2.3. İnsan Derisinde En Yaygın Bulunan Sfingoid Bazların ve Dört Farklı Sfingozin Türevi İçeren Biyoaktif Sfingolipidlerin Yapısı	12
2.4. Seramid, Sfingosin 1-P ve Seramid 1-P'nin Biyosentezi	14
2.5. Asit ve Alkali SMaz'lar, Nötral Seramidaz ve SK1'i İçeren Hücre Dışı Sfingolipidlerin Metabolik Yolları	16
2.6. Seramid 1-P Biyosentezi ve Hücre Dağılımı	18
2.7. S1P Yapısı ve İşlevi	22
4.1. Akne Vulgaris ve Kontrol Grubunda Serum Sfingomiyelin Düzeylerinin Grafiği	30
4.2. Akne Vulgaris ve Kontrol Grubunda Serum Seramid Düzeylerinin Grafiği	31
4.3. Serum Seramid ve SM Seviyeleri ile Total Kolesterol Seviyelerinin Korelasyonu	32
4.4. Serum SMaz Aktivitesi	33
4.5. Serum Seramid-1-P Seviyeleri	34
4.6. Serum Sfingozin-1-P Seviyeleri	34

TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
4.1. Kontrol ve AV Hastalarında Demografik Bulgular ve Lipid Değerleri	28
4.2. Serum Sfingomiyelin Düzeyleri	29
4.3. Serum Seramid Düzeyleri	29



SİMGELER VE KISALTMALAR

A-Smaz	:	Asidik Sfingomiyelinaz
AV	:	Akne Vulgaris
C1P	:	Seramid -1-Fosfat
CoA	:	Koenzim A
COX	:	Siklooksijenaz
ELİSA	:	Enzim Bağlı İmmunosorbent Assay
ER	:	Endoplazmik Retikulum
ESI	:	Elektrosprey İyonizasyon
GAGS	:	Küresel Akne Derecelendirme Sistemi
HEK 293	:	İnsan Embriyonik Böbrek Hücreleri
HDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IFN-γ	:	İnterferon- γ
IL	:	İnterlökin
LA	:	Linoleik Asit
LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
m/z	:	Kütle/Yük
MCP-1	:	Monosit Kemoatraktant Protein 1
MEK/ERK	:	Mitojen Aktive Protein Kinaz
MRM	:	Çoklu Reaksiyon İzleme Yöntemi
MS/MS	:	Tandem Kütle Spektrometrisi
N- Smaz	:	Nötral sfingomiyelinaz
P.acnes	:	Propionibacterium Acnes
PAF	:	Trombosit Aktive Edici Faktör
PI3K	:	Fosfoinozid 3-Kinaz
PKB	:	Protein Kinaz B
RANKL	:	NF- κ B Reseptör Aktivatör Ligandı
S1P	:	Sfingozin-1-Fosfat
SB	:	Stratum Bazal
SC	:	Stratum Corneum
SER	:	Seramid
SERK	:	Seramid Kinaz

SERT	:	Seramid Transfer Proteini
SG	:	Stratum Granülozum
SK	:	Sfingozin Kinaz
SL	:	Sfingolipid
SM	:	Sfingomiyelin
SMaz	:	Sfingomiyelinaz
SMS	:	Sfingomiyelin Sentaz
SP	:	Stratum Spinozum
SYA	:	Serbest Yağ Asidi
TACE	:	TNF- α Dönüştürücü Enzim İnhibitörü
TG	:	Trigliserid
TK	:	Total Kolesterol
TNF α	:	Tümör Nekrozis Faktör α
TRAF-2	:	TNF-Reseptör-İlişkili Faktör-2
UFLC	:	Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi
UVR	:	Ultraviyole Radyasyonu
VLDL	:	Oldukça Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

1. GİRİŞ

Akne vulgaris, pilosebace ünitenin foliküler kısmının tıkanıklığı ve iltihaplanmasından kaynaklanan iltihaplı bir deri hastalığıdır (Fenini ve ark., 2017). Tipik deri lezyonları açık ve kapalı komedonlarla karakterize edilirken şiddetli cilt lezyonları nodüller, kistler, foliküler papüller yüz ve göğüste görülür (Williams ve ark., 2012). *Propionibacterium acnes* ile kolonizasyon, hastalıkta önemli bir role sahiptir ve iltihaplı papüller ve püstüller açık ve kapalı komedondan gelişebilir (Williams ve ark., 2012). Birçok çalışma akciğer lezyon gelişiminin çok erken evrelerinde inflamatuvar yanıtın alındığını göstermiştir (Jeremy ve Holland, 2003). Aknedeki mevcut kanıtlar lezyon gelişiminin her aşamasında hücrel iltihaplanmanın önemini gösterirken, inflamatuvar kaskatın başlatılmasını tetikleyen olayların sırası bilinmemektedir (Holland ve Jeremy, 2005).

İnsan derisinde yapısal işlevleri olan sfingolipidler (SL) inflamatuvar yanıtlarda önemli rol oynamaktadır (Gomez-Munoz ve ark., 2016). Sfingolipidler, keratinositlerin ve cildin bağışıklık hücrelerinin biyolojik fonksiyonlarını düzenleyen sinyal moleküllerinin üretilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Borodzicz ve ark., 2016). Epiderminin en dış tabakası olan stratum corneum (SC); SER'ler, kolesterol ve serbest yağ asitleri (SYA) gibi hemen hemen eş molarlara sahip lipidlerden oluşur (Meckfessel ve Brandt, 2014). Seramidler, iltihaplanmanın kilit düzenleyicileri olan C1P, sfingozin ve S1P gibi metabolitlerin üretimine yol açabilir (Gomez-Munoz ve ark., 2016). Yakın tarihli SER çalışmaları, uzun zincirli (C16-C20) ve çok uzun zincirli (C22-C24) SER'lerin hücre çoğalması ve inflamasyonu üzerinde ters etkiler oluşturduğunu göstermiştir (Hartmann ve Lucks, 2012; Pinto ve Laviad, 2014).

Sfingomiyelinler, SER'ler için öncüler olarak hizmet ederler. Sfingomiyelinler SMaz tarafından farklı açıl zincir uzunluklarında, biyoaktif hidrofobik SER'lere indirgenebilirler (Hannun ve Obeid, 2011). Sfingomiyelinler dolaşımda en bol bulunan lipidlerdir. Açıl zincir uzunluğu ve doyumluğu ile tanımlanan çeşitli SM türleri vardır (Mielke ve ark., 2015). Sfingolipidler atopik dermatit (Ishikawa ve ark., 2010), sedef hastalığı (Mysliwiec ve ark., 2017), egzama (Jungersted ve ark., 2015) ve iktiyozis (Eckl ve ark., 2013) gibi birçok dermatolojik hastalıkta incelenmiştir. Birçok dermatolojik hastalıkta SL'ler değişse de (Borodzicz ve ark., 2016) AV'deki

farklı SM ve SER türlerinin serum düzeyleri hakkında sınırlı veriler mevcuttur. Bu çalışmada, AV hastalarından ve kontrollerden elde edilen serumda C16-C24 SM, C16-C24 SER, S1P, C1P ve N-SMaz aktivitelerinin düzeylerini saptamayı amaçladık.



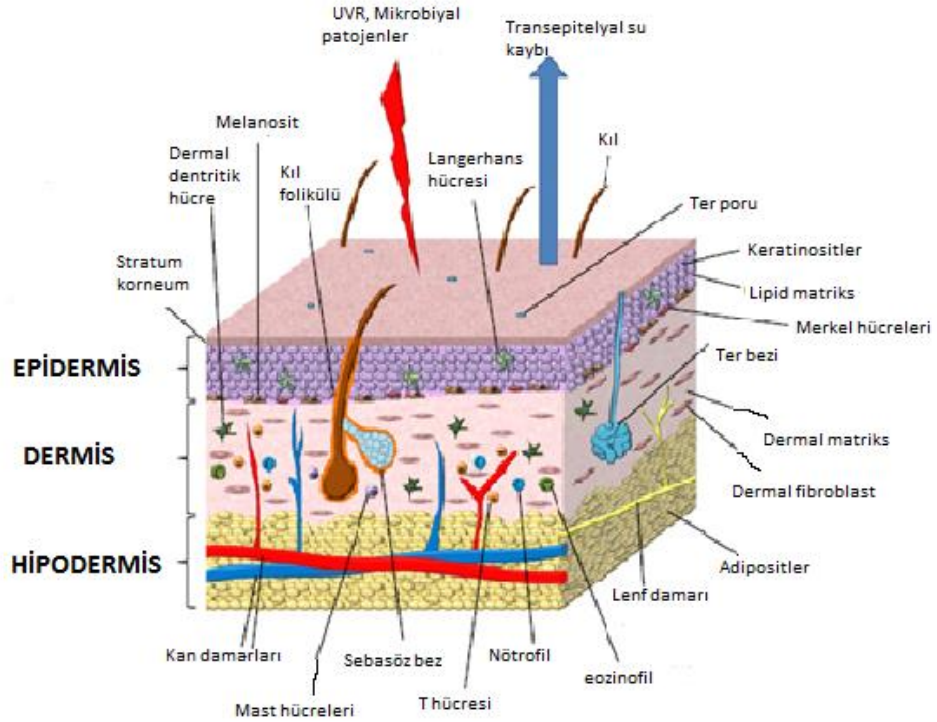
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri Yapısı ve Fonksiyonları

Deri vücudun en büyük organıdır. Deri bariyeri mikrobiyal patojenler, alerjenler, ultraviyole radyasyon (UVR) ve toksik bileşiklerin yayılması gibi çeşitli çevresel faktörlere karşı engel teşkil ederek organizmayı dış etkenlerden korurken aynı zamanda vücuttan su kaybını önleyerek termoregülasyonu sağlar (Hansen ve Jensen, 1985; Jungersted ve ark., 2008; Dumitru ve ark., 2009; Feingold ve Elias, 2014; Traupe ve ark., 2014; van Smeden ve ark., 2014). Bu durumda derinin temel iki işlevi, vücuttan su kaybını önlemek ve istenilmeyen çevresel faktörlere karşı etkili bir bariyer oluşturmaktır (Schaefer, 1996). Cilt bariyerinin bozulması durumunda kuru cilt, enfeksiyöz hastalıklar ve iktiyoz, atopik dermatit ve sedef hastalığı gibi kutanöz bozukluklar gözlenebilir (Feingold ve Elias, 2014; van Smeden ve ark., 2014).

2.1.1. Derinin Tabakaları

Deri; epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç ana katmandan oluşur (Kendall ve Nicolaou, 2013) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Cilt yapısı ve hücre popülasyonunun şematik gösterimi (Kendall ve Nicolaou, 2013).

Epidermis: Cilt bariyerinin en dış tabakasında bulunmaktadır (Man ve ark., 1993; Man ve ark., 1996). Epidermis, stratum bazal (SB), stratum spinosum (SP), stratum granulozum (SG) ve SC olmak üzere dört katmandan oluşmaktadır (Proksch ve ark., 2008; Mizutani ve ark., 2009).

Epidermis tabakasının ana hücre tipi keratinositlerdir. Keratinositler ilk olarak SB'de çoğalırlar ve SC'ye göç ederler. Cilt yüzeyine ulaştıkları zaman nukleuslarını tamamen kaybetmiş ve yassılaştırmış ölü korneositler biçiminde dökülürler. Stratum granulozumda bulunan keratinositlerin membranlarında SC lipidlerinin öncülleri olan glukozilseramidler, SM ve fosfolipidler bulunur. Stratum granulozumda bulunan bu lipid yapıları fosfolipaz ve SMaz gibi lipid metabolize edici enzimler tarafından SER'ler ve SYA'lara kadar parçalanırlar. Böylece SC, fosfolipid yıkımı sonucu açığa çıkan SYA'lar nedeniyle asidik bir hal alır (Fluhr ve ark., 2001; Fluhr ve ark., 2004). İnsanlarda ve hayvanlarda dış SC ve cilt yüzeyinin pH değeri 5-5.5 arasındadır. Bu durum SC'de bulunan β -glukoserebrosidaz ve asidik sfingomiyelinaz (a-SMaz) gibi asidik ortamda optimal aktivite gösteren enzimler için çok önemlidir (Mauro, 2006).

Stratum corneumda; hemen hemen eşit mol sayıda bulunan SER'ler, kolesterol ve SYA, hücre dışı alanlara lokalize olmuş lipid bakımından zengin matrikse sıkıca gömülü halde bulunurlar (Elias, 1983; Swartzendruber ve ark., 1987; Lazo ve ark., 1995; Jungersted ve ark., 2008; Proksch ve ark., 2008; Berthaud ve Boncheva, 2011; Hwa ve ark., 2011; Kihara, 2016). Aynı zamanda epidermiste; yabancı dış uyaranların girişine yanıt oluşturan ve antijen sunan langerhans hücreleri (LC) olarak adlandırılan benzersiz hücre toplulukları bulunur (Clausen ve Kel, 2010).

Dermis: Dermis tabakası, epidermisten bir taban zarı ile ayrılmıştır. Bu tabakada fibroblastlar ve çeşitli bağışıklık hücrelerinin yanı sıra kıl folikülleri, ter bezleri, duyu sinirleri ve küçük kan damarları gömülü halde bulunur (Man ve ark., 1993; Man ve ark., 1996; Lai-Cheong JE, 2013). İnflamatuvar yanıt sırasında immün hücre infiltrasyonu, kutanöz immün hücre popülasyonunda büyük bir artışa sebep olur (Kish ve ark., 2009).

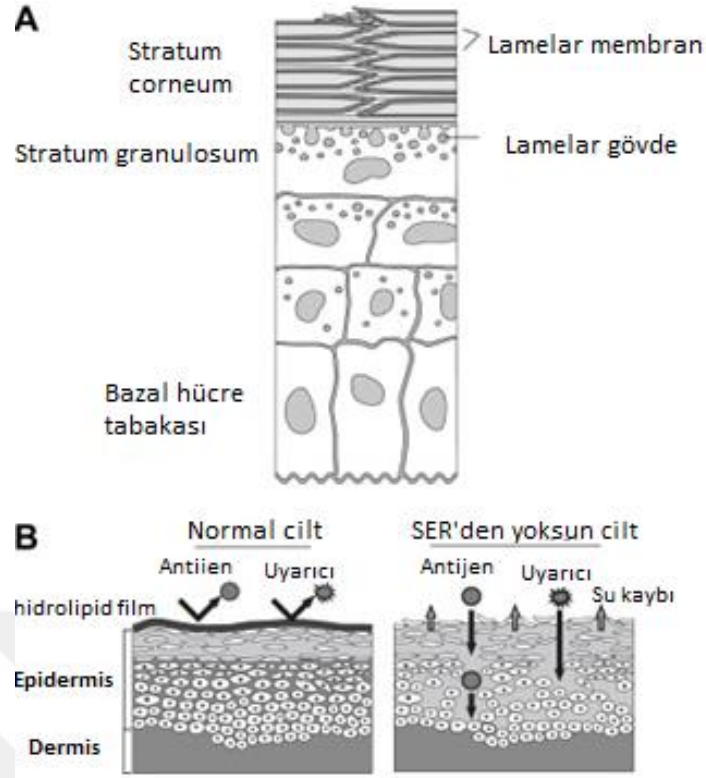
Hipodermis: Hipodermis tabakası diğer adıyla subkütan doku dermisin derindeki devamıdır. Adipoz doku ve kan damarlarını ihtiva eder. Adipositler yağ asitlerinin

önemli bir deposudur, aynı zamanda kutanöz hücreleri etkileyen bir dizi biyoaktif lipid mediyatörlerinin önemli üreticisidir (Iyer ve ark., 2010).

2.1.2. Deri Yapısının Lipid Bileşimi

Deride bulunan lipidlerin bileşimi vücutta bulunduğu bölgeye ve yaşa bağlı olarak farklılık gösterir (Gray ve Yardley, 1975; Lampe ve ark., 1983; Coolen ve ark., 2010; Kim ve ark., 2010). İnsan epidermisinin SC tabakasının toplam lipid içeriğini %50 SER, %25 kolesterol ve %15 SYA oluşturmaktadır (Wertz, 2006). Seramidler, dokuların cilt bariyeri formasyonundaki özel rolü nedeniyle epidermal membran yapısında diğer dokulara göre daha baskın olarak varlık gösteren büyük heterojeniteye sahip moleküllerdir (Holleran ve ark., 2006; Uchida ve Holleran, 2008; Mizutani ve ark., 2009; Breiden ve Sandhoff, 2014; van Smeden ve ark., 2014). Stratum corneum tabakasında bulunan SER'lerin N-açilli yağ asitlerinin zincir uzunluğu, diğer dokularda bulunanlara göre çok daha büyük bir çeşitlilik gösterir. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin (C26 veya daha uzun) cilt bariyerinin oluşumu için büyük bir önemi vardır (Jennemann ve ark., 2012).

Stratum corneum'da, diğer birçok zardan farklı olarak çok az fosfolipid bulunmaktadır. Normal koşullarda açılseramid yapılarında linoleat bulunurken, esansiyel yağ asidi eksikliğinde linoleat yerine oleatın geçmesiyle hücre dışı lipid matriksinin görünümüyle ilişkili olarak kutanöz geçirgenlik bariyeri fonksiyonunda belirgin bozukluklar meydana gelmektedir (Elias ve Brown, 1978; Wertz ve ark., 1983) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Epidermal lipidler ve cilt bariyeri işlevi. A. Gelişen insan cildinin yapısı. B. Normal ve SER eksikliği olan ciltte bariyer fonksiyonunun gösterimi (Mizutani ve ark., 2009).

2.1.3. Deride Gözlenen Fizyopatolojik Durumlar

Hastalıklı ciltlerde genellikle bozulmuş bir bariyer fonksiyonu gözlenmektedir (van Smeden ve ark., 2014). Karşılaşılan birçok kutanöz inflamatuvar bozukluk, SC'deki pH artışlarıyla ilişkilidir. Bu da SC'deki enzim aktivitesini olumsuz etkileyebilmekte ve geçirgenlik, bariyer fonksiyonu ve SC bütünlüğü ile kohezyonunda bir azalmaya neden olmaktadır (Mauro, 2006). Stratum corneum'daki lipit özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin bu bozulmuş deri bariyerine katkıda bulunup bulunmadığını incelemek için lipit kompozisyonu ve organizasyonu hakkında elde edilen bilgiler çok önemlidir. Bu alanda yapılan çalışmalar hastalığın neden oluştuğuna dair bir fikir sunmasa bile, lipit bileşimi ve dolayısıyla lipit organizasyonunda görülen değişiklikler hastalığın altında yatan mekanizmalar hakkında ek bilgi sağlayabilir (van Smeden ve ark., 2014). Akut bariyer fonksiyon bozukluğu, epidermiste SL sentezini uyarır ve bu sentezdeki artış hem alt hem de üst epidermal tabakalarda meydana gelir (Holleran ve ark., 1991; Holleran ve ark., 1995). Bununla birlikte, lipit organizasyonu ve cilt bariyeri fonksiyonu için bazı lipit türlerinin rolü hakkında temel bilgiler için ek bilgi sağlanmalıdır (van Smeden ve ark., 2014).

2.2. Akne Vulgaris

Akne, çoğunlukla ergenlik döneminde görülen, androjen salınımı, yağ bezlerinin aktivasyonu, değişmiş keratinleşme, inflamasyon ve bakteriyel kolonizasyondan kaynaklanan multifaktöriyel patogenezi kronik iltihaplı bir cilt hastalığıdır (Koo, 1995; Cunliffe ve ark., 2004). Hayati tehlike oluşturmamasına rağmen, akne önemli tıbbi ve psikolojik sonuçlar doğurmaktadır. Akne vulgaris hastalarının muzdarip olduğu sıkıntılar arasında yüz, göğüs veya sırtta kalıcı iz oluşumu, ağrı, kaşıntı ve acı gibi fiziksel belirtiler ile zayıf benlik imajı, sosyal çekingenlik, intihar düşüncesi, psikosomatik belirtiler, utanç, depresyon ve anksiyete hissi sayılabilir (Koo, 1995).

Akne vulgaris oluşumunun başlangıç ve sonraki gelişim aşamalarının altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Hastalık mekanizmasında akne lezyonu oluşumunu sağlayan süreçte; sebasöz bezin sebum üretimi, *Propionibacterium acnes* tarafından kıl folikülünün kolonizasyonu, üst folikülün hiperkeratinizasyonu, inflamatuvar mediatörlerin deriye salınımı gözlenmektedir (Thiboutot, 1996; Kistowska ve ark., 2014).

2.2.1. Sebasöz Bezin Sebum Üretimi

Sebasöz bezler, deride folikül adı verilen içinde kıl kökünün de bulunduğu bir kanala açılır ve sebace salgısını folikül kanalına boşaltır. Sebum salgısı kıl folikülünden deri yüzeyine boşalarak biyolojik bir savunma sağlayan lipid mantoyu oluşturur. Sebum, çoğunlukla non-polar yapıda lipidce zengin molekülleri ihtiva eder ve foliküllere, de novo sentez yoluyla salgılanır. Bu kanalın çevresini döşeyen hücrelere keratinositler denir. Keratinositler kıl folikülünün içine yapışır ve non-inflamatuvar yapıda bir tıkaç veya komedon ile sonuçlanır. Kümelenmiş keratinositlerin folikülü bloke etmeleri sonucu eğer gözenek açıksa (açık komedon) bir siyah nokta oluşur. Ancak tıkanmış gözenek kapalı yapıda ise yani deri altında kalmışsa (kapalı komedon) beyaz renkte oluşur.

Keratinosit tıkaçı ve sebum salgısının aşırı artması durumunda komedon rüptürü ile inflamatuvar lezyonlar gelişir. Komedon içeren sebace foliküller, *P. acnes*'in gelişmesi için anaerobik ve lipid açısından zengin bir ortam sağlar. Bu durumda bakteriler komedonu istila eder ve aknenin bir sonraki aşamasına yol açan enflamatuvar faktörleri serbest bırakırlar. Enflamasyon artmış kızarıklık ve irinle devam eder. Bu klinik olarak, deriden kabarık, çapları 1-10 mm arasında sınırlı, katı, içlerinde sıvı

bulunmayan, lezyonlar olan papül veya deriden kabarık, çapı 1 cm'den küçük, iltihaplı püstüller olarak saptanabilir. Bu inflamatuvar lezyonlar daha sonra çapı 1 cm veya daha büyük, deriden kabarık veya dermiste daha derinlerde bulunan nispeten büyük, küresel, ağrılı lezyonlar olan nodüller haline dönüşebilirler (BAUMANN, 2009; Goldschmidt ve ark., 1977).

İnsan sebumu trigliseritler (TG), balmumu esterleri, skualen, kolesterol esterleri, kolesterol ve SYA içerir. Çoğunluk olarak TG'ler ve yağ asitleri birlikte (%57,5) bulunurken bunu balmumu esterleri (%26) ve skualen (%12) izlemektedir. Sebumda en az bulunan lipit kolesterol esterleridir (%4,5) (Serhan ve ark., 1996) Sebum salgısı; hücre çoğalması ve farklılaşması, lipogenez, hormon metabolizması ve sitokin salınması gibi değişik faktörler tarafından düzenlenmektedir. Çoğu durumda gözlenen sekresyon artışı ise sebasöz bezin hipertrofisi ile ilişkilendirilmiştir (Rocha ve Bagatin, 2018).

Akne patogenezinde sebum salgılanmasının artışının yanı sıra, sebum içeriğindeki lipit mediyatörlerinin değişiminin de önemli rolü vardır (Manna ve Aggarwal, 1998). Akne ile ilgili ilk çalışmalarda, hastalarda cilt yüzey lipitlerinde azalan linoleik asit (LA) (C18:2) miktarları gözlenmiştir. Özellikle, bu esansiyel yağ asidinin seviyeleri, balmumu esterlerinde önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Bu sayede LA'nın sebasöz lipit sentezinde doğrudan rol oynadığı düşünülmektedir (Hayakawa ve ark., 1996). Sebumda LA eksikliği, trans epidermal su kaybına yol açarak komedonal duvarın inflamatuvar maddelere geçirgenliğini artırır ve bakteri üremesi için uygun bir ortam oluşturur. Bir yandan da düşük LA düzeyleri nötrofil fagositozunu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu baskılayamaz. Bu nedenle akne komedonlarında LA düzeylerinin düşük olması, kontrolsüz foliküler hiperkeratoza neden olur ve akne inflamasyonunun kötüleşmesine kısmen katkıda bulunur (Merrill, 2002; Cunliffe ve ark., 2004). Bu sebeple LA'nın topikal uygulamasının komedon büyüklüğünü ve genel inflamasyonu azalttığı yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Hannun ve Obeid, 2008; Maceyka ve Spiegel, 2014).

2.2.2. *Propionibacterium Acnes* Tarafından Kıl Folikülünün Kolonizasyonu

Akne prognozu ve tedavisi ile ilişkili risk faktörleri ve genler henüz tam olarak açık değildir (Williams ve ark., 2012). *Propionibacterium acnes*, cildimizin florasının doğal bir bölümünde bulunan anaerobik bir gram pozitif çubuk bakteridir ve akne

iltihabıyla bağlantılı ana tetikleyicidir (Lynn ve ark., 2016). Sebum antibakteriyel fonksiyonlara sahip olmasına rağmen, P. acnes sebasöz bezlerden salgılanan TG'leri mikrobiyal lipaz enzimi sayesinde metabolize eder ve cilt yüzeyinde SYA'yı açığa çıkartır. Bu sayede kıl foliküllerinde Propionibacterium'un lipofilik türlerinin kolonizasyonu kolaylaşarak bakteriyel çoğalma teşvik edilmiş olur. Sebum üretimi ile salgılama kapasitesi arasındaki orantısızlık sonucunda kıl folikülündeki aşırı P. Acnes artışı sebum tıkanmasına ve ardından inflamasyona yol açmaktadır (Rocha ve Bagatin, 2018).

2.2.3. Üst Folikülün Hiperkeratinizasyonu

Üst folikülde yer alan keratinositlerin kohezyonunda artış gözlenmesi sonucu hiperkeratinizasyon meydana gelmektedir. Artan kohezyon ve hücre sayısı, foliküler ağızda bir tıkaç oluşturur. Bu tıkaç üst kıl folikülü epitelinin alt kısmında keratin, sebum ve bakterilerin birikmesiyle meydana gelmektedir. Folikülde biriken bu katı maddeler AV'li hastalarda inflamatuvar lezyon oluşumuna ve üst kıl folikülünün dilatasyonuna neden olmaktadır (Cunliffe ve ark., 2000).

2.2.4. İnflamatuvar Mediyatörlerin Deriye Salınımı

İnflamasyon; enfeksiyon veya kızarıklık, ağrı, ısı, şişme ve bazen fonksiyon kaybı ile karakterizedir. Organizma çok çeşitli hastalık durumlarının patogenezinde ilgili mekanizmayı başlatabilmek için enfeksiyon veya doku hasarı üzerinde uygun bir tepki oluşturmaktadır. İnflamasyon, uygun şekilde kontrol edilmediği takdirde zararlı veya ölümcül olabilir. Parkinson veya Alzheimer hastalığı gibi nörolojik bozukluklar, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) yani Crohn hastalığı ve ülseratif kolit, romatoid artrit, ateroskleroz, obezite, tip II diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (COPD), astım veya kanser gibi birtakım kronik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.

İnflamatuvar hasarlara yanıt olarak, makrofajlar ve nötrofiller, kan dolaşımından yaralı veya enfekte bölgelere göç ederler ve istilacı bakteri ve mantar patojeni yok ederek konakçıları korurlar. Bu işlemler, sitokinlerin, hücre dışı matriks proteinlerinin, integrinlerin, biyoaktif lipidlerin ve proinflamatuvar eikosanoidler, yani prostaglandinler, lökotrienler ya da tromboksanlar gibi lipid türevi metabolitlerin üretilmesini ve salınmasını, aynı zamanda bu enflamatuvar mediyatörlerin üretiminde rol oynayan enzimlerin up-regülasyonunu veya aktivasyonunu içerir. Uzamış

enflamatuar yanıtlar sırasında immün hücrelerin ortaya çıkması sebebiyle bu mekanizmaların anlaşılması büyük önem kazanmıştır. Bu bağlamda inflamasyonun tam olarak çözülmesini sağlamak için, inflamatuvar mediatörlerin üretimini durdurmak ve aynı zamanda inflamatuvar hücrelerin birikimini azaltmak ve bir otoimmün yanıt vermeden çıkarmak gereklidir. Bu işlemlerin tümü, nötrofiller, makrofajlar, lenfositler de dahil olmak üzere bağışıklık hücreleri tarafından hassas ve koordineli eylemler içerir (Hayakawa ve ark., 1996; Serhan ve ark., 1996; Basu ve Kolesnick, 1998; Manna ve Aggarwal, 1998; Newton ve ark., 2000; Merrill, 2002; El Alwani ve ark., 2006; Kolesnick ve ark., 2007; Hannun ve Obeid, 2008; Spiegel ve Milstien, 2011; Hla ve Dannenberg, 2012; Maceyka ve Spiegel, 2014).

Sfingolipidler, hücre büyümesi, farklılaşması, proliferasyonu, embriyonik gelişimi, anjiyogenez, hücre ölümü ve inflamasyon gibi hayati hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan anahtar sinyal molekülleri olarak ortaya çıkmıştır (Merrill, 1991; Hannun, 1994; Saba ve ark., 1996; Spiegel ve Merrill, 1996; Merrill ve ark., 1997; Pyne ve ark., 1997; Gomez-Munoz, 1998; Perry ve Kolesnick, 2003; Hannun ve Obeid, 2008).

2.3. Sfingolipidler

Sfingolipidler, farklı sfingoid bazlar, N-açile edilmiş yağ asitleri ve polar baş gruplarının oluşturduğu kombinasyonlar sonucu büyük moleküler çeşitliliğe sahip kompleks bir, yapısal ve mediyatör lipid ailesidir (Kolter, 2011). Tüm ökaryotik hücrelerin ve bazı prokaryotik hücrelerin plazma membranında bulunan SL'ler birçok fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadırlar (Kihara ve ark., 2007; Chiricozzi ve ark., 2018). Sfingolipidler fizyolojik olarak; cilt bariyeri oluşumu, bakterilerin tanımlanması, kan damarı stabilizasyonu, immünite, spermatogenezis ve işitsel duyu oluşumu gibi çeşitli rollerde görev almaktadırlar (Kihara ve Igarashi, 2008; Mizutani ve ark., 2009; Wennekes ve ark., 2009; Kulkarni ve ark., 2010; Inokuchi, 2011; Maceyka ve Spiegel, 2014; Kihara, 2015; Rabionet ve ark., 2015; Schmitt ve ark., 2015). Hücresel düzeyde ise apoptozis, organel ve membran yapısı organizasyonu, hayatta kalma, hücre göçü, sinyalizasyon, hücre içi protein trafiği, otofaji, adezyon, stres yanıtı ve metabolik regülasyon gibi rolleri yerine getirmektedir (Ramstedt ve Slotte, 2006; Kihara ve Igarashi, 2008; Inokuchi, 2011; Yamagata ve ark., 2011; Grosch ve ark., 2012; Pontier ve Schweisguth, 2012;

Mitsutake ve Igarashi, 2013; Obara ve ark., 2013; Yamagata ve ark., 2013; Maceyka ve Spiegel, 2014; Harvald ve ark., 2015).

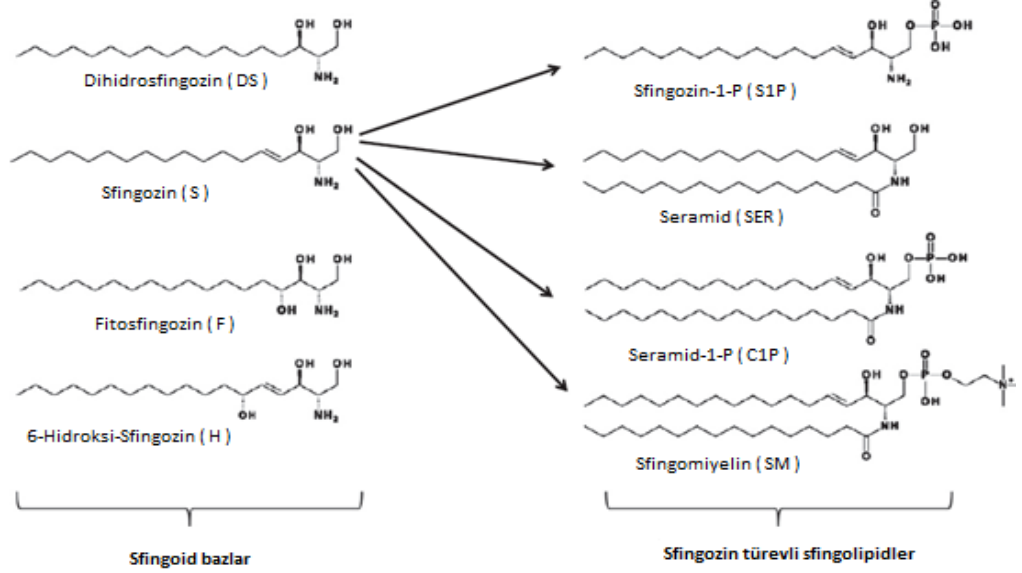
2.3.1. Sfingolipidlerin Yapısı

Sfingolipidler amfifilik moleküllerdir (Merrill, 2011). Plazma membranının lipit çift tabakasına yerleştirilmiş hidrofilik bir baş grubu ve bir hidrofobik omurga içermektedir. Memeli hücrelerinde 18C atomlu düz, uzun zincirli bir amino alkol olan sfingozin C-4 ve C-5 arasında bir trans çift bağ içerir; amid bağı vasıtasıyla uzun zincirli yağ asidine bağlanarak oldukça hidrofobik bir molekül olan SER oluşturur. Seramidler, tüm SL'ler tarafından paylaşılan yapısal bir birimdir. Sfingolipidlerin hidrofobik omurgasını bu SER yapısı oluşturur. Hidrofilik baş grupları ise türler arasında değişiklik göstermektedir. Seramidin C-1 pozisyonuna farklı baş gruplarının eklenmesi birçok karmaşık SL'lerin omurgasını oluşturur. Fosforilkolin eklenmesi SM oluştururken, glukoz veya galaktoz gibi bir şekerin tutturulması birçok karmaşık glikosfingolipidin oluşumundaki ilk adımdır (Kihara ve ark., 2007).

Sfingomiyelin memelilerde en çok bulunan SL türüdür; çoğu dokuda SM seviyeleri, tüm glikosfingolipid düzeylerinin toplamından bile daha yüksektir (C, 1980). Özellikle insan cildi farklı ve ilginç bir SL dizisine sahiptir. Sfingolipidlerin sfingoid baz yapısı; doygunluk derecesi, hidroksi grup sayısı ve karbon zincir uzunluğu açısından farklılık gösterse de deri SL'lerinde bulunan en yaygın bazlar, C18-20 zincirlerine (sfingozinler ve dihidrosfingozinler) veya C20-22 zincirlerine (fitosfingozinler ve 6-hidroksi-sfingozinler) sahiptir (Mizukoshi ve ark., 2011) (Şekil 2.3).

Epidermal SM türlerinin analizi sonucu 64 farklı yağ asidi tespit edilmiştir. Ayırt edici N-açile yağ asidi içeren SM bileşiminde ise üç ana alt fraksiyon bulunmuştur: uzun zincirli yağ asidi (SM-1; C22-26), kısa zincirli yağ asidi (SM-2; primer olarak C16) ve kısa zincirli α -hidroksi yağ asidi (SM-3; C16-18)'dir. En çok bulunanları ise, 2-karbon uzama ürünü olan sebaleik asit (C18:2n-10) ile birlikte sebumda benzersiz olarak bulunan palmitik asit (C16:0) ve sapienik asit (C16:1n-10)'tir. Aynı zamanda eser miktarda ise ω -hidroksi yağ asidi de bulunmaktadır (Uchida ve ark., 2000; Ni Raghallaigh ve ark., 2012).

İnsan sağlığındaki önemi uzun zamandır bilinen yağ asitleri (Burr ve Burr, 1973) yapısal lipidlerin bileşeni, biyoaktif araçların öncüleri, gen ifadesi düzenleyicileri ve sinyalizasyon molekülleri olarak görev almaktadır (Calder, 2006).



Şekil 2.3. İnsan derisinde en yaygın bulunan sfingoid bazların ve dört farklı sfingozin türevi içeren biyoaktif sfingolipidlerin yapısı (Kendall ve Nicolaou, 2013).

Son yirmi yıl boyunca yapılan kapsamlı araştırmalar göstermiştir ki; SER, sfingozin ve bunların fosforile formları C1P ve S1P de dahil olmak üzere bazı SL'ler biyoaktiftir ve hayati biyolojik fonksiyonları kontrol edebilirler (Gangoiti ve ark., 2010). Sfingolipid metabolizması ise bu biyoaktif molekülleri üreten oldukça düzenlenmiş yollardan oluşan karmaşık bir ağdan meydana gelmektedir (El Alwani ve ark., 2006).

2.3.2. Sfingolipid Metabolitleri

Seramidler, yağ asidine kovalent olarak bağlanmış sfingozinden oluşan bir lipid ailesidir (Bikman ve Summers, 2011). Sfingolipidlerin yapısal omurgası olan SER, SL biyosentez ve katabolizmasında metabolik merkez olarak kabul edilmektedir. Seramidler; sitokinler, ısı, UVR, hipoksi/reperfüzyon, kemoterapötik ajanlar, lipopolisakkarit gibi çeşitli uyarıcılara yanıt olarak üretilirler (Obeid ve ark., 1993; Chang ve ark., 1995; Wright ve ark., 1996; Haimovitz-Friedman ve ark., 1997; Hernandez ve ark., 2000; Senchenkov ve ark., 2001; Hannun ve Obeid, 2002; Hannun ve Obeid, 2008). Stratum corneum'un önemli bir bileşeni olan SER, SC lipidlerinin %50'sini oluşturur ve epidermal bariyer fonksiyonu için oldukça önemlidir (Bouwstra ve ark., 2003). Bariyer bozukluğu ile birlikte cilt

bozukluklarının patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır (Imokawa ve ark., 1986; Proksch ve ark., 2006; Imokawa, 2009).

Çok sayıda kanıt, deri bariyeri bütünlüğünün oluşumu ve korunmasında önemli rollerinin yanı sıra bu molekülün insan epidermisinde hücre proliferasyonu, farklılaşma, apoptoz ve diğer hücre yanıtlarını içeren çok sayıda hücrel sinyal yolunun aracısı olarak önemini göstermektedir (Geilen ve ark., 1997; Kolesnick ve Kronke, 1998; Luberto ve Hannun, 1999; Geilen ve ark., 2001).

Seramid metabolizmasında işlev gören, spesifik enzimlerin ayrı hücrel bölgelerde bulunmasından dolayı, epidermiste SER çeşitliliği gözlenmektedir. Bu farklı SER türleri, farklı enzimler içeren farklı mekanizmalar ile oluşturulmaktadır (Riboni ve ark., 1997; Kolesnick ve ark., 2000; Hannun ve Obeid, 2002; Kroesen ve ark., 2003; Masukawa ve ark., 2008). Hücre yüzeyindeki lipid mikro alanları SL'lerin ve kolesterolün dinamik kümelenmesiyle oluşur ve SER üretimi için özel alanlar oluşturur. Bu alanlarda SER üretiminin çeşitli agonistlere ve stres sinyallerine tepki oluşturdukları düşünülmektedir (Simons ve Ikonen, 1997; Tani ve ark., 2007).

Seramid, farklı hücre kompartmanlarını içeren dört farklı yol ile sentezlenebilir (Gomez-Munoz ve ark., 2016) (Şekil 2.4.).

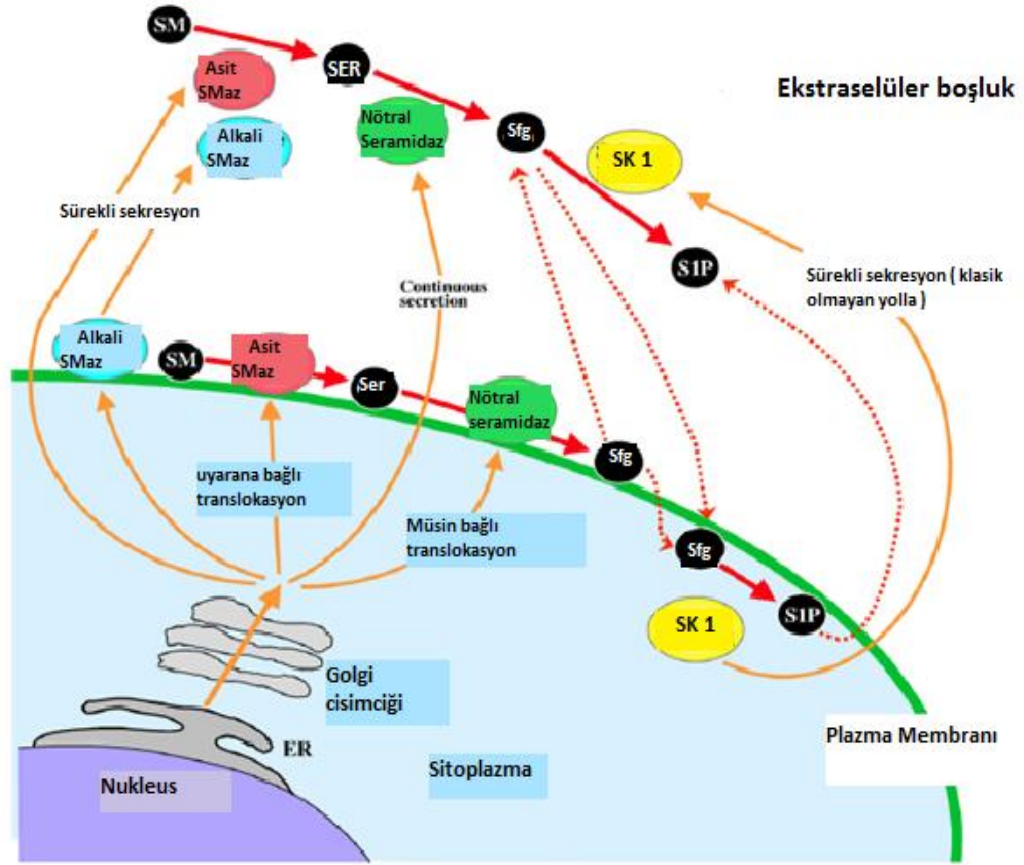
de novo sentez yolu: Serin palmitoiltransferaz (SPT) ile katalize edilen bir reaksiyonda 3-ketosfinganin oluşturmak üzere serin ve palmitoil-koenzim A (palmitoil-CoA)'nın kondensasyonu ile başlayan bir anabolik yoldur. Bu reaksiyonu, redüktaz aktivitesi ile sfinganin (dihidrosfingoizin) oluşturulması daha sonra seramid sentaz aktivitesi ile yağ açıl-CoA'nın eklenmesiyle dihidroseramid oluşturulması takip eder. Ardından bir desaturaz enzimi, 4-5 trans konumuna bir çift bağ ekleyerek dihidroseramid'i SER'e çevirir (Şekil 2.4.). Seramidin de novo sentezi, endoplazmik retikulumda (ER) meydana gelir ve golgi aparatına taşınırlar; burada, SM ve glikosfingolipidlerin sentezi gerçekleşir. Bir kez sentezlendiğinde, SER'ler, SM sentaz (SMS) veya glukozilseramid sentaz aktiviteleri yoluyla SM veya glikosfingolipidler gibi kompleks SL'lerin sentezlenmesi için kullanılabilir. Hücre, SER'i harekete geçirmek için iki ana mekanizma kullanmaktadır; bu ya vesiküler nakil yolu ya da seramid transfer proteini (SERT) vasıtasıyla gerçekleştirilmektedir (Hanada ve ark., 2007). Bu SERT, aktivitesinin kademeli olarak düzenlenmesi için

aktivitesinin güçlü uyarıcılarıdır ve farklı hücre tiplerinde inflamasyonu arttırdığı gösterilmiştir (Manna ve Aggarwal, 1998; Becker ve ark., 2010).

Nötral sfingomiyelinaz aktivitesinin 1967'deki orijinal tanımından bu yana dört memeli N-SMaz geni klonlanmış veya saflaştırılmıştır. Nötral sfingomiyelinaz 2 şu anda kemik mineralizasyonu, hücre büyümesi durması, eksozom oluşumu ve inflamatuvar yanıtta yerleşmiş rollere sahip en iyi çalışılan izoformdur (Airola ve Hannun, 2013). Veldman ve arkadaşları (Veldman ve ark., 2001), insan deri fibroblastlarının kaveolasında bir N-SMaz tanımlamış ve bu enzimin sitozolik bir yönelimini ima etmişlerdir.

Bir başka çalışma grubu ise, a-SMaz'nin hücre içi organellerden plazma membranının dış yaprağına yerleştirildiğini ve lipid sal mikrodomainleri içerisinde yer alan SM'nin hidrolizinde merkezi bir rol oynadığını tespit etmiştir (Bollinger ve ark., 2005). Asit SMaz ayrıca, Zn^{2+} bağımlı bir enzim olarak, Golgi sekresyon yolağı vasküler endotel hücrelerinden ve makrofajlardan salgılanmaktadır (Schissel ve ark., 1996; Marathe ve ark., 1998). Hem nötral hem de a-SMaz'lar, çeşitli eksojen uyarılar tarafından hızlı ve geçici olarak aktive edilir. Nötral ve a-SMaz, saniyeler veya dakikalar içinde SER seviyesindeki artışlardan sorumlu görünmektedir. Bu nedenle, N-SMaz ve a-SMaz, erken sinyal iletimi içinde SER üretimi için ana yollar olarak kabul edilebilmektedir (Schutze ve ark., 1992; Wiegmann ve ark., 1994; Gillard ve ark., 1998) (Şekil 2.5.).

Seramid sentezinin üçüncü yolu kurtarma yolu, (salvage): Kompleks SL'lerin sfingozine indirgendiği ve daha sonra seramid sentazların etkisiyle SER haline geri dönüştürülebildiği yolaktır. Böylece dihidroseramid oluşumu atlanmış olur (Novgorodov ve ark., 2011). Kompleks SL'ler (SM ve glikosfingolipidler), SL geri dönüşümü veya kurtarma yolu olarak adlandırılan bir dizi olayla, yerleşik enzimler (sırasıyla a-SMaz ve asit β -glukozidaz 1) ile asidik hücresel bölmeler içerisinde bozularak, SER oluştururlar; (Riboni ve ark., 1994; Kitatani ve ark., 2008; Kitatani ve ark., 2009) kendisi ise daha sonra sitozole girebilen sfingozin ve SYA olarak parçalanır (Riboni ve ark., 1998). Sitoplazmaya girdikten sonra, sfingozin seramidaz yoluyla tekrar SER'e dönüştürülebilir (Gillard ve ark., 1998).

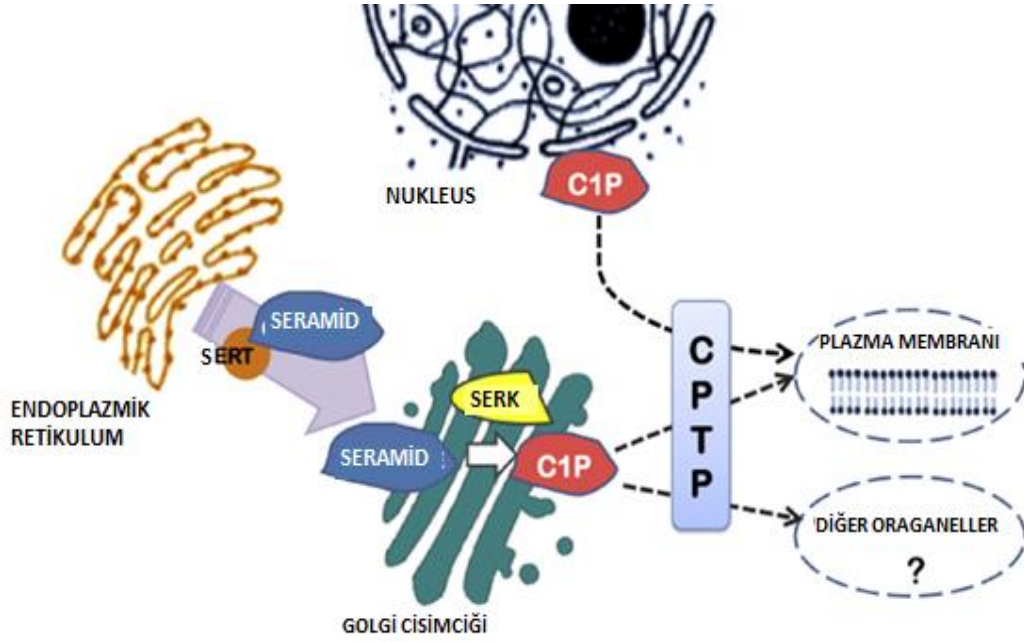


Şekil 2.5. Asit ve alkali SMaz'lar, nötral seramidaz ve SK1'i içeren hücre dışı SL'lerin metabolik yolları (Tani ve ark., 2007).

Seramid sentezinin dördüncü bir yolunun karaciğer mitokondriyasında özellikle ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu yolağın anahtar düzenleyici enzimi, sfingozinin ve açıl-CoA'nın kondansasyonunu katalizleyen nötral seramidazdır; bu reaksiyon, iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta palmitoil-CoA, tioesteraz ile mitokondriyumda palmitat ve CoA'ya hidroliz edilir; sonra nötral seramidaz, ters seramidaz reaksiyonunda SER oluşturmak üzere palmitat ve sfingozini birleştirir (Novgorodov ve ark., 2011). Seramidazlar; asit, nötral ve alkali olmak üzere katalitik optimal pH aralıkları, primer yapısı ve lokalizasyonu ile ayırt edilen üç gruba ayrılmıştır (Ito, 2003). Asit seramidaz, Ser'in katabolizmasına katkıda bulunan bir lizozomal enzimdir (Wilkening ve ark., 1998). Nötral ve alkali seramidazların biyolojik önemi çok daha az anlaşılmış olsa da, biriken kanıtlar şu anda bu enzimlerin uyarıcı tarafından indüklenen hüresel SER ve sfingozin seviyelerini düzenlediğini önermektedir (Mao ve ark., 2001; Mao ve ark., 2003). Örneğin, membrana bağlı bir enzim olan alkali seramidaz, ER/Golgi bölmelerinde lokalizedir

ve bu nedenle hücre içi SL'lerin düzenlenmesinde rol oynayabilir (Tani ve ark., 2005).

Seramid-1-P'nin varlığı ilk olarak Dressler ve Kolesnick tarafından insan lösemi (HL-60) hücrelerinde bildirilmiştir. Bu araştırmacılar, C1P'nin glikosfingolipidlerden değil de SM'den türetilmiş SER'den sentezlendiğini bulmuşlardır ve SM'den C1P'ye uzanan spesifik bir yolak olduğunu ileri sürmüşlerdir (Dressler ve Kolesnick, 1990). Seramid 1-P metabolizması ile ilgili olarak; memeli hücrelerindeki SER'i C-1 pozisyonundan fosforile ederek C1P biyosentezini indüklediği bilinen tek enzim seramid kinazdır (SERK) (Bajjalieh ve ark., 1989; Sugiura ve ark., 2002). Seramid kinaz, ilk olarak beyin sinaptik veziküllerinde Bajjalieh ve arkadaşları tarafından, (Bajjalieh ve ark., 1989) daha sonra HL-60 hücrelerinde Kolesnick ve Hemer tarafından bulunmuştur (Kolesnick ve Hemer, 1990). Şimdi ise çok sayıda hücre tipinde tanımlanmıştır (Gomez-Munoz ve ark., 2016). Seramid kinaz ilk önce mikrozomal membran fraksiyonunda bulunmuş daha sonra sitozolde ve çekirdekte de bulunduğu tespit edilmiştir (Mitsutake ve ark., 2004; Simanshu ve ark., 2013). Diaçilgliserol kinaz familyasının bir üyesi olan SERK, sadece substrat olarak SER'i kullanmaktadır. Endoplazmik retikulumde üretilen ve spesifik bir SERT ile Golgi aparatına taşınan SER'in SERK ile fosforile edilerek C1P oluşturulduğu (Presa ve ark., 2016); C1P trafiğinin Golgi ağından sekreteruar yol boyunca plazma membranına geçtiği ve burada ekstraselüler ortamda geri-alış-verişe tabi tutulduğu öne sürülmüştür (Boath ve ark., 2008) (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Seramid 1-P biyosentezi ve hücre dağılımı (Presa ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalarda Seramid kinazın, hücre büyümesi ve hücre sağkalımı üzerinde birtakım etkilere yol açtığı gözlenmiştir. Bununla ilgili ilk ipucu C1P'nin hücre proliferasyonunu uyardığı ve (Gomez-Munoz ve ark., 1995; Gomez-Munoz ve ark., 1997) apoptozu inhibe ettiği gözlemlerdir (Gomez-Munoz ve ark., 2004). Seramid-1-P'nin hücre büyümesini ve hayatta kalmayı teşvik ettiği mekanizmaların bazıları farklı hücre tipleri kullanılarak açığa çıkarılmıştır. Daha sonraki çalışmalar, SERK'nin hücre büyümesi ve ölümünü düzenlemesindeki etkilerini doğrulamıştır (Mitra ve ark., 2007). Göğüs ve akciğer kanseri hücre proliferasyonunda SERK'nin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Mitra ve ark., 2007; Pastukhov ve ark., 2014). Ek olarak, yüksek SERK ekspresyonu meme kanserinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Ruckhaberle ve ark., 2009).

Seramid 1-P seviyeleri hem SERK yolundaki senteziyle hem de defosforilasyon ile tekrar SER'e düzenlenir. Seramid-1-fosfatın defosforile olduğu açık değildir, ancak birkaç grup araştırmacı hem karaciğer hem de beyinde plazma membran fraksiyonlarında C1P fosfataz aktivitesi bildirmiştir (Boudker ve Futerman, 1993; Shinghal ve ark., 1993; Brindley ve ark., 2000). Sıçan beyinde (Shinghal ve ark., 1993) ve hepatositlerde (Boudker ve Futerman, 1993) C1P fosfatazın SERK varlığıyla birlikte tanımlanması, SER ve C1P'nin hücrelerde birbirine dönüştürülebildiğini önermiştir. Her durumda, SERK ve C1P fosfatazlarının

koordineli etkisi ile SER ve C1P düzeylerini kontrol etmek, bu iki SL tarafından düzenlenen metabolik veya sinyal yolları için çok önemli olabilir (Gomez-Munoz, 2006).

Spesifik olarak, çeşitli SER türleri ve metabolitleri, hücre kaderine yön vererek proliferasyon, farklılaşma ve/veya apoptozis gibi farklı süreçlerde iyi bilinen rollere sahiptir (Wakita ve ark., 1994; Geilen ve ark., 1997; Bektas ve ark., 1998; Takami ve ark., 1998; Uchida ve ark., 2002; Holleran ve ark., 2006). Seramid başlangıçta inflamatuvar yanıtlar için bir sinyal molekülü olarak kabul edilmiştir (Pettus ve ark., 2005). Seramidin majör pro-inflamatuvar etkisi, memeli hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilen transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin (Nükleer faktör- κ B) aktivasyonunu sağlamaktır (Nixon, 2009). Memeli hücrelerinde çok sayıda genin ekspresyonu NF- κ B, tarafından düzenlenebilir, bu da inflamatuvar tepkilere katılan diğer birçok genin up-regülasyonuna yol açar. Bu pro-inflamatuvar genlerin bazıları, IL-1 β , IL-6 veya IL-8 gibi sitokinleri, monosit kemoatraktant protein-1 (MCP-1) gibi kemokinleri ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi pro-inflamatuvar eikosanoidlerin sentezinde yer alan pro-inflamatuvar enzimleri kodlar (Xiao ve Ghosh, 2005; Nixon, 2009). Bu anlamda SER'ler iyi yerleşmiş pro-inflamatuvar mediyatörler olduğundan biyosentezinden sorumlu enzimler, inflamatuvar yanıtların veya inflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisi için uygun hedeflerdir (Baudiss ve ark., 2015). Bu bağlamda, C1P'nin ilk anti-inflamatuvar etkilerinden biri uyarılmış SER üretiminin inhibisyonudur. Seramid 1-P'nin anti-inflamatuvar etkilerinin, N-SMaz, NF- κ B, matriks metalloproteaz-9, ve TNF-reseptör-ilişkili faktör-2'nin (TRAF-2) ekspresyonunun inhibisyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Baudiss ve ark., 2015). Ek olarak, C1P'nin, güçlü bir TNF- α dönüştürücü enzim inhibitörü (TACE) (Hankins ve ark., 2011) olduğu belirtilmiş böylece C1P'nin anti-inflamatuvar etkisi vurgulanmıştır.

Seramid 1-P'nin anti-inflamatuvar özellikleri, son raporlar tarafından da desteklenmiştir. Kester ve çalışma arkadaşları tarafından insan embriyonik böbrek hücreleri (HEK 293) ile yapılan bir çalışmada ekzojen olarak ilave edilen C1P'in, NF- κ B'nin transkripsiyonunu azalttığı, IL-6, IL-8 ve IL-1 β 'nin üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir; böylece ekzojen C1P'nin anti-inflamatuvar lipid mediyatörü olarak işlev görebileceği bildirilmiştir (Hankins ve ark., 2011). Birçok çalışma, bağışıklık

sisteminin çeşitli hücrelerinin emilimi ve aktivasyonuna aracılık etmede SL için bir role işaret etmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalardaki ilginç bir başka gözlem de, C1P düzeylerindeki değişikliklerin, sfingozin ve S1P'deki değişikliklerle doğrudan ilişkili olduğu ve C1P'nin, S1P'nin bir öncüsü olabileceğidir (Simanshu ve ark., 2013).

Seramidlerin N-açıl zincirleri, seramidazlar tarafından hidroliz edilerek sfingozin ve SYA üretilir (El Alwani ve ark., 2006). Sfingozin, protein kinazların ve diğer sinyal yollarının modülasyonu ile hücre döngüsünü inhibe ettiğinden ve apoptozisi indüklediğinden önemli bir sinyal molekülüdür (Merrill ve Stevens, 1989; Ma ve ark., 2005). Sfingozin ayrıca sfingozin kinazlar (SK) için bir substrat görevi görür ve bu nedenle S1P için bir prekürsör olarak kullanılır. Sfingozin 1-P, SK'lar (SK1 ve SK2) tarafından serbest sfingozinin doğrudan fosforilasyonu ile üretilir (Kohama ve ark., 1998; Liu ve ark., 2000). Sfingozinin fosforilasyonunu sağlayan iki izoenzim tanımlanmıştır. Sfingozin kinaz 1 ve SK2 olarak adlandırılan bu iki izoenzim, farklı genlerden köken alırken, büyüklükleri (sırasıyla 43 kDa ve 65 kDa) yüksek derecede benzerlik gösterir.

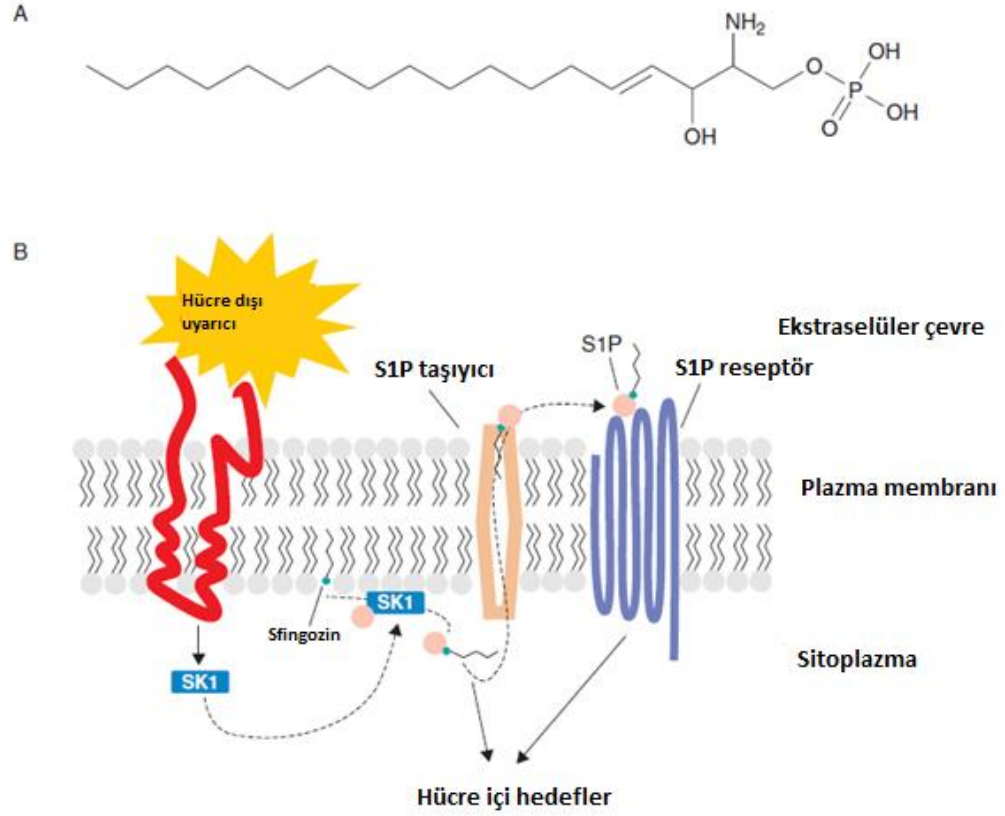
Bilinen SK'lar hücre içi enzimlerdir ve S1P genellikle hücre içi olarak üretilir, fakat aynı zamanda hücre dışı bir mediyatör olarak da işlev görmektedir (Yatomi ve ark., 1997). Sfingozin-1-P, hem S1P1-5R olarak adlandırılan 5G protein bağlı hücre yüzey reseptörleri ile hem de reseptörlerinden bağımsız olarak hücre içi etkilere sahiptir (Olivera ve ark., 2003; Rosen ve Goetzl, 2005). Topolojik olarak, SK1 sitoplazmada lokalize iken; SK2, hücre tipine bağlı olarak ER, mitokondri veya nükleus dahil çeşitli hücre bölümlerinde bulunabilir (Spiegel ve Milstien, 2007). Dahası, SK1 salgılanabilir ve plazma S1P seviyelerine katkıda bulunabilirken; SK2 sadece sitozol ve nükleusta hücre içi olarak bulunur. İlginçtir ki, SK1 ve SK2 çok yakından ilişkilidir ve her ikisi de S1P üretmek için sfingozini fosforile eder. Ancak hücre sağkalımı ve SL metabolizması üzerinde farklı etkileri olduğu görülmektedir (Hait ve ark., 2005; Maceyka ve ark., 2005). Her iki kinazın etkisiyle üretilen S1P'nin karşıt biyolojik etkilere yol açabileceği bilinmektedir. Bu nedenle, kabul edilen bir çalışma hipotezine göre, SK1'in etkisiyle oluşan sitosolik S1P, hücre proliferasyonunu uyardığı ve de novo SER sentezini inhibe ettiği, ER-lokalize SK2 izoformu ile üretilen S1P'nin ise SER sentezini teşvik ettiği gösterilmiştir (Maceyka ve ark., 2005). S1P hücre büyümesini ve hayatta kalmayı teşvik ettiği ve hücre göçü, anjiyogenez ve

bağışıklık fonksiyonunda rol oynadığı için SER'in etkilerini antagonize eden etkilere sahiptir (Spiegel ve Milstien, 2003). Tümör nekrozis faktör- α kaynaklı COX-2 ve prostaglandin E2 üretimi için SK1 ve S1P gereklidir (Pettus ve ark., 2003). Yapılan bir çalışmada S1P'nin, romatoid artrit pro-inflamatuar NF- κ B reseptör aktivatör ligandının (RANKL) ekspresyonunu upregüle ettiği (Takeshita ve ark., 2012), akut inflamasyonda vasküler permeabilite ve hücre alımını modüle ettiği gösterilmiştir (Roviezzo ve ark., 2011). Üstelik S1P düzeylerinin inflamatuvar artritli bireylerde yükseldiği gösterilmiştir (Lai ve ark., 2010).

Sfingozin kinaz 2'nin inflamatuvar mekanizması, NF- κ B aktivasyonunu, proinflamatuvar sitokin/kemokin üretimini, adezyon molekül ekspresyonunu, monosit/makrofajların ve nötrofillerin infiltrasyonunu, fokal nekrozu ve apoptozu içerir (Liu ve ark., 2012). Ayrıca SK2'nin karaciğer transplantasyonu sonrası inflamasyon ve greft yaralanması bağlamında da işlev gördüğü ve karaciğer transplantasyonu sonrası hepatik S1P seviyelerini artırdığı bulunmuş, SK2 aktivitesinin inhibe edilmesi ile S1P artışının ortadan kaldırılabilirdiği ifade edilmiştir (Liu ve ark., 2012).

Sfingozin-1-P'nin hücresele seviyeleri büyük oranda sfingozin oluşumundan SK aktivitesiyle, daha az bir ölçüde S1P liyaz tarafından degrade edilmesiyle kontrol edilir. Çoğu hücrede, S1P oluşumu ve bozunması arasındaki bu denge, hücrede düşük bazal S1P seviyelerine yol açar. Bununla birlikte, hücreler spesifik büyüme faktörlerine ve diğer agonistlere maruz kaldıklarında, S1P seviyeleri, hücrede SK aktivitesindeki hızlı değişikliklerin doğrudan bir sonucu olarak hızla ve geçici olarak artabilir (Leclercq ve Pitson, 2006). Sfingozin-1-P'deki bu artış ve bunun downstream sonuçları, SK inhibitörlerinin eklenmesi veya dominant negatif SK ekspresyonu ile önlenebilir (Pitson ve ark., 2000).

Son yıllarda S1P aracılı hücre sinyalleme ile ilgili raporlarda; sfingozin önemli bir fizyolojik regülatör olsa da, protein kinaz C'yi inhibe edebilmektedir. Hücre siklusunu ve apoptozu indükleyebildiği için de S1P'nin hücre büyümesi ve hayatta kalma, anjiyogenez, vaskülojenez, nörotogenez ve immün fonksiyonlarda farklı rolleri vardır (Chalfant ve Spiegel, 2005).



Şekil 2.7. S1P yapısı ve işlevi. (A) S1P'nin yapısı, (B) İnflamatuar yanıtta S1P tutulumunun diyagramı (Chiricozzi ve ark., 2018).

Akne vulgaris etiyolojisi ve tedavisindeki SYA'nın etkilerine ek olarak, akne hastalarının cildinde görülen iltihaplanmalarda bireysel biyoaktif lipid mediyatörlerinin de yer aldığına dair kanıtlar ortaya çıkmaktadır (Wertz ve ark., 1985). Buna örnek olarak akne tedavisi için uygulanan retinoid terapinin başarısı verilebilir. Retinoid uygulamasının, SL biyosentezinde ve bazı SER'lerde yer alan birkaç enzimin gen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2009). Ayrıca, fitosfingozinin topikal olarak uygulanması ile birlikte anti-bakteriyel ve anti-inflamatuar etkiler görülmüş ve semptomlarda belirgin bir azalma kaydedilmiştir. Bu sebeple akne tedavisi için uygun bir potansiyele sahip görünmektedirler (Pavicic ve ark., 2007).

Bu durumda değişen lipid profilleri ile patolojik deri koşulları arasındaki bağlantılar ortaya çıktıkça epidermal bariyer bütünlüğünü korumada SL metabolitleri oldukça önemli kabul edilmektedir ve immün hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesinde kilit rollere sahiptirler.

Çalışmamızda kronik inflamatuvar bir rahatsızlık olan AV'li hastalarda SL metabolizmasında yeri olan biyoaktif lipid öncü moleküllerinin seviyelerinin inflamatuvar yolağa etkisini inceledik.

Çalışmamız, literatürde AV'de serum SL metabolitlerinin, dolaşımdaki seviyelerinin inflamatuvar yolağa etkisini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamasından dolayı son derece özgündür. Bu anlamda çalışmamızdan elde edilen verilerin literatüre önemli katkılar sağlayacağı ve ileriki çalışmalara yön göstereceği düşünülmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gruplandırma

Hasta grubu, 18-40 yaşları arasında, dermatoloji kliniğine başvuran 30 kadın hastayı kapsamaktadır. Hastalık aktivitesi küresel akne derecelendirme sistemi (GAGS) kriterleri tarafından belirlenmiştir (Doshi ve ark., 1997). GAGS skoru hastalık aktivitesi kullanılarak belirlenmiştir ve hastalara orta veya şiddetli akne teşhisi konulmuştur. Kontrol grubu, 19-40 yaşları arasında 20 kişi yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş sağlıklı denekler içermektedir. Çalışmaya dahil edilen hastalar ve kontroller son üç ay içinde sistemik veya topikal ilaç tedavisi almamış, sistemik ilaç kullanımı öyküsü yoktur ve sigara içme alışkanlığı yoktur. Bu çalışma Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Helsinki Beyanı'na uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Kontrollerden ve akne hastalarından alınan venöz kan numuneleri toplanmıştır. Kontrol ve hasta gruplarından alınan serumlar analiz edilene kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.2. Laboratuvar Ölçümleri

Total kolesterol ve TG düzeyleri, otoanalizör kullanılarak standart kit yöntemleri ile analiz edilmiştir (Beckman Coulter AU5800 Clinical Chemistry).

3.2.1. Serum Sfingomiyelin ve Seramidlerinin Ölçümleri

Optimize edilmiş MRM yöntemi, daha önce tarif edildiği gibi MS/MS ile birleşen UFLC kullanılarak geliştirilmiştir (Unal, Ozcan et al. 2017). N-palmitoil-D-eritro sfingozilfosforilkolin [C16-SM], N-lignoaseroil-D-eritro sfingozilfosforilkolin (C24 SM), N-palmitoil-D-eritro-sfingozin (C16 CER), N-stearoil-D-eritro-sfingozin (C18 CER), N-araşidoil-D-eritro-sfingozin (C20 CER), N-behenoil-D-eritro-sfingozin (C22 CER) ve N-lignoseroil-D-eritro-sfingozin (C24 CER) için standartlar Avanti Polar Lipids'den satın alınmıştır (Alabaster, AL, USA). Etiketli C16 CER d18:1/16:0 (Palmitoyl-U-13C16) internal standardı Cambridge Isotope Laboratuvarlarından (Andover, MA, ABD) elde edilmiştir. Her bir SL standardının çözeltileri, 40°C'de, metanolde (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, ABD) hazırlanmıştır. Ultra hızlı sıvı kromatografisi sistemi (LC-20 AD UFLC XR, Shimadzu Corporation, Japonya) bir LCMS-8040 triple quadrupole kütle spektrometresi (Shimadzu Corporation, Japonya) ile birleştirilmiştir. Kromatografik ayırmalar 60°C'de muhafaza edilen bir

yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kolonu (XTerra C18, 2.1 mm X 50 mm, Waters, MA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sfingolipidler, 0.45 ml/dak akış hızında bir elüsyon gradienti kullanılarak ayrılmıştır.

Mobil fazlar ise; solvent A:10 mM amonyum format ile su-asetonitril-2-propanol (8:1:1, v/v/v) ve solvent B: asetonitril-2-propanol (9:1, v/v) şeklinde hazırlandı. Gradyan programında solvent B; %65 (0-2 dk), %90 (2.01-13 dk), %100 (13.01-20 dk) ve %65 (20.1-23 dk) olarak kullanılmıştır. Bileşiklerin optimize edilmiş MRM sistemindeki geçişleri ve yanıtları, pozitif elektrosprey iyonizasyonunda (ESI) tek tek otomatik olarak optimize edilmiştir. Analiz edilen tüm SL'ler için pozitif ESI-MS modu prekürsör ve ürün m/z değerleri aşağıdaki gibidir:

C16 SM, prekürsör m/z: 703.30, ürün m/z: 184.20;
C18 SM, prekürsör m/z: 731.40, ürün m/z:184.20;
C24 SM, prekürsör m/z: 815.50, ürün m/z: 184.20;
C16 SER, prekürsör m/z: 538.50, ürün m/z: 264.40;
C16 SER*IS, prekürsör m/z: 554.30, ürün m/z: 264.30;
C18 SER, prekürsör m/z: 566.30, ürün m/z: 264.40;
C20 SER, prekürsör m/z: 594.60, ürün m/z: 264.50;
C22 SER, prekürsör m/z: 622.60, ürün m/z: 264.40;
C24 SER, prekürsör m/z: 650.40, ürün m/z: 264.30.

Analiz edilen SL'lere verilen yanıtlar, 39-625 ng/ml'den lineer bir kalibrasyon aralığına ve 23 dakikalık bir örnek analiz süresine optimize edilmiştir.

3.2.2. Kütle Spektrometre Analizi İçin Serum Örneklerinin Hazırlanması

Serum SL ekstraksiyonu daha önce tarif edildiği gibi yapılmıştır (Tuzcu, Unal et al. 2017). 500 µl serum örneği 1:20 (v/v) oranında distile suda dilüe edildi ve üzerine 5µg/ml internal standart solüsyonundan 2 µl ilave edildi. Örnekler kısaca vortekslenip 375 µl kloroform/metanol (1:2, v/v) eklendi. Örnekler 30 sn süresince sonike edildi ve 100 µl su ilave edildi. Bu karışım 5 dakika vortekslendi ve oda sıcaklığında 30 dakika boyunca bekletildi. Karışım, 2000g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantı ayrıldı ve 125 µl kloroform ile 125 µl su eklendi. Örnekler tekrar vortekslendi ve faz ayrımı için 30 dakika boyunca oda ısısında bekletildi. Üst organik tabaka cam tüplere aktarıldı ve oda sıcaklığında, yüksekliği

ayarlanabilen gaz dağıtım ünitesinde sabit bir azot akımı altında buharlaştırıldı (VLM, Bielefeld, Germany). Kurutulmuş kalıntı 100 µl metanol içinde çözüldü ve kolon içerisine 10 µl enjekte edildi.

3.2.3. Nötral Sfingomiyelinaz Aktivitesinin Ölçümü

Nötral SMaz aktivitesi SMaz test kitiyle serumda ölçüldü. (Abcam, Catalog#ab138876, Cambridge, UK). Kit, SM'nin hidrolizinden üretilen fosfokolin miktarını belirlemek için kolorimetrik bir prob kullanır. Oluşturulan renk 655 nm'de kolorimetrik olarak ölçülür. Sfingomiyelinaz standartlarının bilinen miktarlarının absorbans değerleriyle standart eğrisi oluşturulmuştur. Örneklerdeki SMaz aktivitesi (mU/mL), standart eğri üzerinden ilgili absorbans değerlerinden hesaplanmıştır.

3.2.4. Seramid-1-Fosfat Seviyelerinin Ölçümü

Seramid-1-fosfat seviyeleri serumda bir ELISA kit ile ölçülmüştür (MyBioSource, Catalog#MBS2601367, CA, USA). Bir katı faz insan monoklonal antikoru ile yakalanan serum C1P, biyotin etiketli poliklonal antikor ile tespit edilir. Biyotinile edilmiş antikor bağlamak için bir avidin peroksidaz konjugatı eklenir. Bir TMB substratı eklenmiş ve oluşan sarı ürün 450 nm'de ölçülmüştür. Bilinen C1P standartlarının absorbans değerlerinin standart eğrisi, GraphPad Prism Software Windows version 5.03 programı kullanılarak C1P standart konsantrasyonlarının bir fonksiyonu olarak çizilmiştir (GraphPad Software Inc.). Örneklerdeki C1P miktarı, standart eğri üzerinden karşılık gelen absorbans değerlerinden hesaplanmıştır.

3.2.5. Sfingozin-1-Fosfat Seviyelerinin Ölçümü

Sfingozin-1-fosfat seviyeleri serumda bir ELISA kit ile ölçüldü (Fine Biotech Co. Ltd., Wuhan, China). Bir katı faz insan monoklonal antikoru ile yakalanan serum S1P, biyotin etiketli poliklonal antikor ile tespit edildi. Biyotinile edilmiş antikor bağlamak için bir streptavidin peroksidaz konjugatı eklenmiştir. Bir TMB substratı eklenmiş ve oluşan sarı ürün 450 nm'de ölçülmüştür. Bilinen S1P standartlarının absorbans değerlerinin standart eğrisi, GraphPad Prism Software Windows version 5.03 programı kullanılarak S1P standart konsantrasyonlarının bir fonksiyonu olarak çizilmiştir (GraphPad Software Inc.). Örneklerdeki S1P miktarı, standart eğri üzerinden karşılık gelen absorbans değerlerinden hesaplanmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, istatistik yazılımı SigmaStat 2.0 sürümü kullanılarak yapıldı. Her ölçüm için istatistiksel analiz, şekil ve tablo metninde açıklanmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Çalışma Populasyonu Özellikleri ve Kan Lipit Profili

Kontrol grubu kadınlardan oluşmaktadır. Kontrol grubundaki yaş ve vücut kitle indeksi ortalaması \pm SD sırasıyla 28.45-6.92 yıl ve 23.91-4.04 kg/m² 'dir. Hasta grubu da kadınlardan oluşmaktadır. Hasta grubundaki yaş ve vücut kitle indeksi ortalaması \pm SD sırasıyla 23.83-5.61 yıl ve 22.86-4.49 kg/m² 'dir. Toplam kolesterol için anlamlı bir fark bulunmazken, TG düzeyleri akne hastalarında kontrollere göre anlamlı olarak artmıştır (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Akne vulgaris ve kontrol grubunda demografik bulgular ve lipid değerleri

Parametre	Kontrol ortalama \pm SD (n=20)	Akne Vulgaris ortalama \pm SD (n=30)
Yaş (yıl)	28,45 \pm 6,92	23,83 \pm 5,61
VKI (kg/m ²)	23,91 \pm 4,08	22,86 \pm 4,49
TC (mg/dl)	178,60 \pm 44,50	167,67 \pm 30,82
TG (mg/dl)	61,95 \pm 19,43	84,63 \pm 41,88*

VKI, vücut kitle indeksi; TC, total kolesterol; TG, trigliserid.

*p=0,022 Akne grubu ile kontrol grubu karşılaştırılması.

Sonuçlar ortalama \pm SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz Mann-Whitney Rank Sum Testi ile yapılmıştır.

4.2. Sfingomiyelin ve Seramid Seviyeleri

Sfingomiyelinlerin ve SER'lerin serum seviyeleri tablo 4.2 ve tablo 4.3'te sırasıyla verilmiştir. Akne hastalarında C16 SM'lerinin serum düzeylerinde kontrollere göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. İki grup arasında C18 ve C24 SM seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.1.). Akne hastalarında ve kontrollerde çok uzun zincirli C24 SER anlamlı olarak azalmıştır. Uzun zincirli C16-C20 SER seviyeleri kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı bir fark oluşturmamıştır (Şekil 4.2.). Serum TK düzeyleri ve ölçülen tüm SM ve SER değerleri arasında anlamlı olarak pozitif korelasyon bulunmuştur (Şekil 4.3.).

Tablo 4.2. Serum sfingomyelin düzeyleri

Sfingomyelin (µg/ml)	Kontrol (n=20)	Akne Vulgaris (n=30)
16:0 SM (d18:1/16:0)	520,69 ±101,65	579,59 ±94,11*
18:0 SM (d18:1/18:0)	151,69 ±62,39	149,28 ±45,45
24:0 SM (d18:1/24:0)	213,03 ±134,84	185,31 ±49,35

SM; sfingomyelin.

16:0 SM, (d18:1/16:0) N-palmitoil-D-eritro sfingozilfosforilkolin

18:0 SM , (d18:1/18:0) N-stearoil-D-eritro-sfingozilfosforilkolin

24:0 SM, (d18:1/24:0) N-lignoaseroil-D-eritro sfingozilfosforilkolin

* p=0,047 Akne grubu ile kontrol grubu karşılaştırılması.

Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz Student-t Testi ile yapılmıştır.

Tablo 4.3. Serum seramid düzeyleri

Seramid (ng/ml)	Kontrol (n=20)	Akne Vulgaris (n=30)
C16 Seramid (d18:1/16:0)	1752,66 ± 806,10	1533,07 ± 419,45
C18 Seramid (d18:1/18:0)	537,38 ± 176,64	573,33 ± 213,87
C20 Seramid (d18:1/20:0)	748,74 ± 284,32	722,46 ± 249,72
C22 Seramid (d18:1/22:0)	5876,67 ± 2334,20	5476,52 ± 2059,77
C24 Seramid (d18:1/24:0)	16801,38 ± 5993,80	13217,25 ± 4470,49*

16:0 Seramid, (d18:1/16:0) N-palmitoil-D-eritro-sfingozin

18: 0 Seramid, (d18:1/16:0) N-stearoil-D-eritro-sfingozin

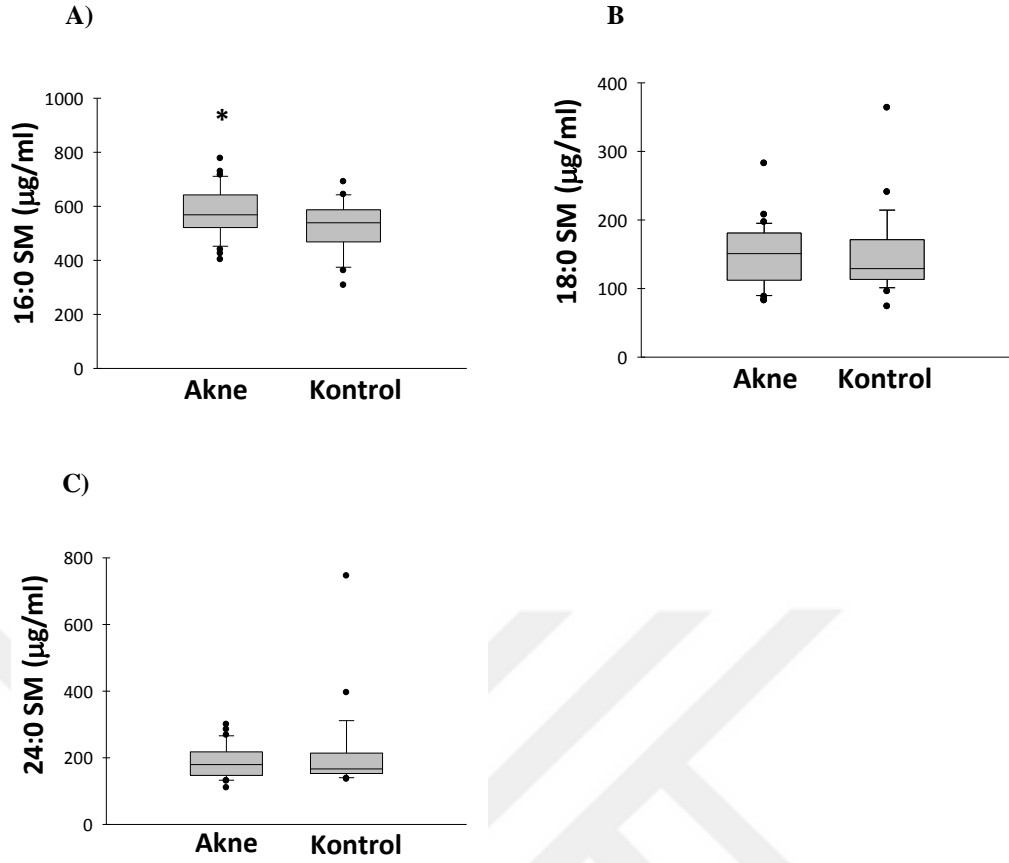
20: 0 Seramid, (d18:1/20:0) N-araşidoil-D-eritro-sfingozin

22: 0 Seramid, (d18:1/22:0) N-behenoil-D-eritro-sfingozin

24: 0 Seramid, (d18:1/24:0) N-lignoseroil-D-eritro-sfingozin

* p=0,045 Akne grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılması

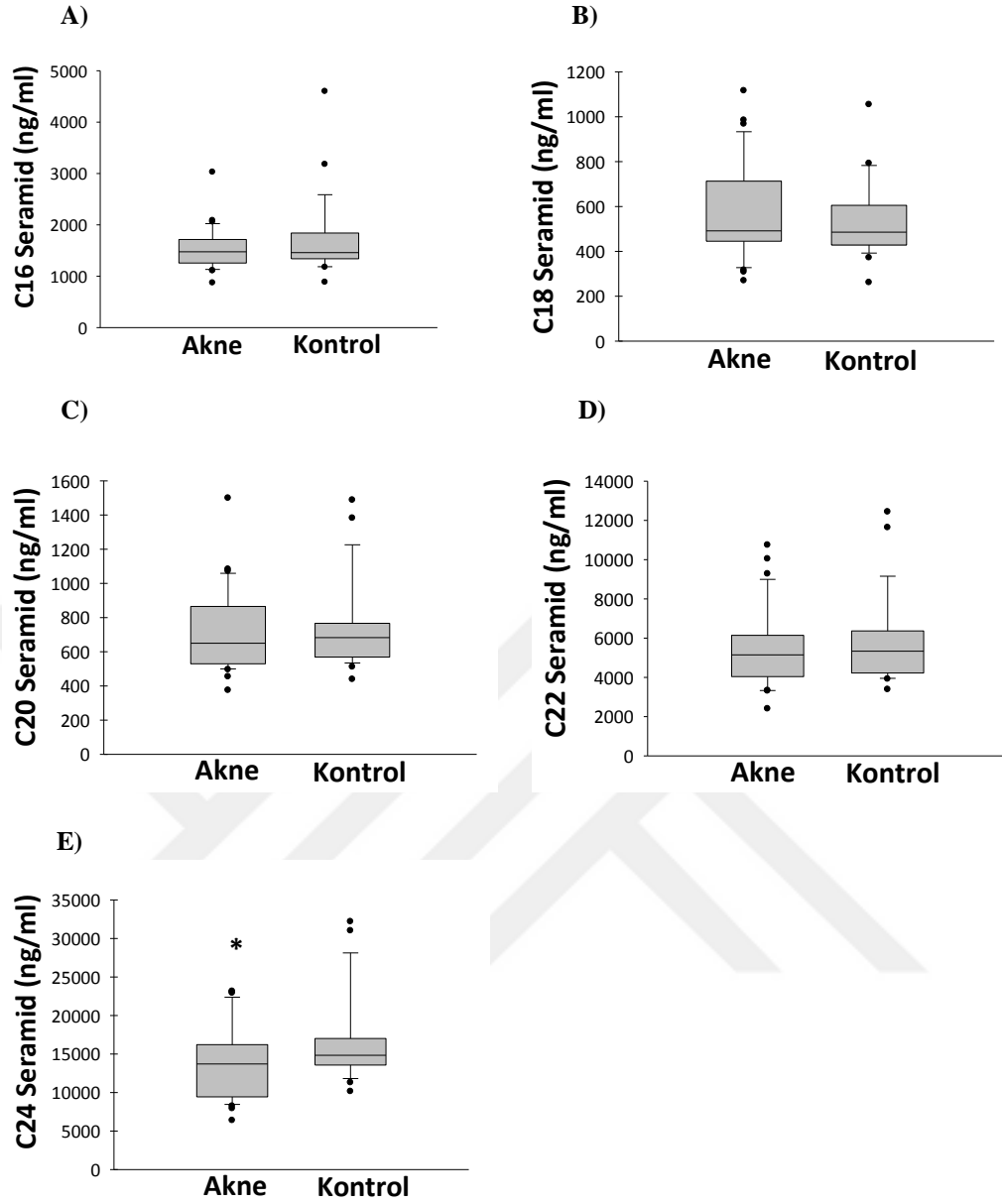
Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz Mann-Whitney Rank Sum Testi ile yapılmıştır.



Şekil 4.1 Akne vulgaris ve kontrol grubunda serum sfingomyelin düzeylerinin grafiği

A) 16:0 SM (d18:1/16:0) serum seviyeleri B) 18:0 SM (d18:1/18:0) serum seviyeleri C) 24:0 SM (d18:1/d24:0) serum seviyeleri SM:sfingomyelin. *p=0,047 Akne ile kontrol grubunun karşılaştırılması. Grafikte kutunun sıfıra en yakın sınırı yüzdelik dilimde 25'i gösterir. Kutu içindeki çizgi medyanı gösterir ve kutunun sıfırdan en uzak sınırını işaretleyerek yüzde 75'lik bir alanı ifade eder. Kutunun üstündeki ve altındaki işaretler yüzde 10'luk ve 90'luk dilimleri gösterir.

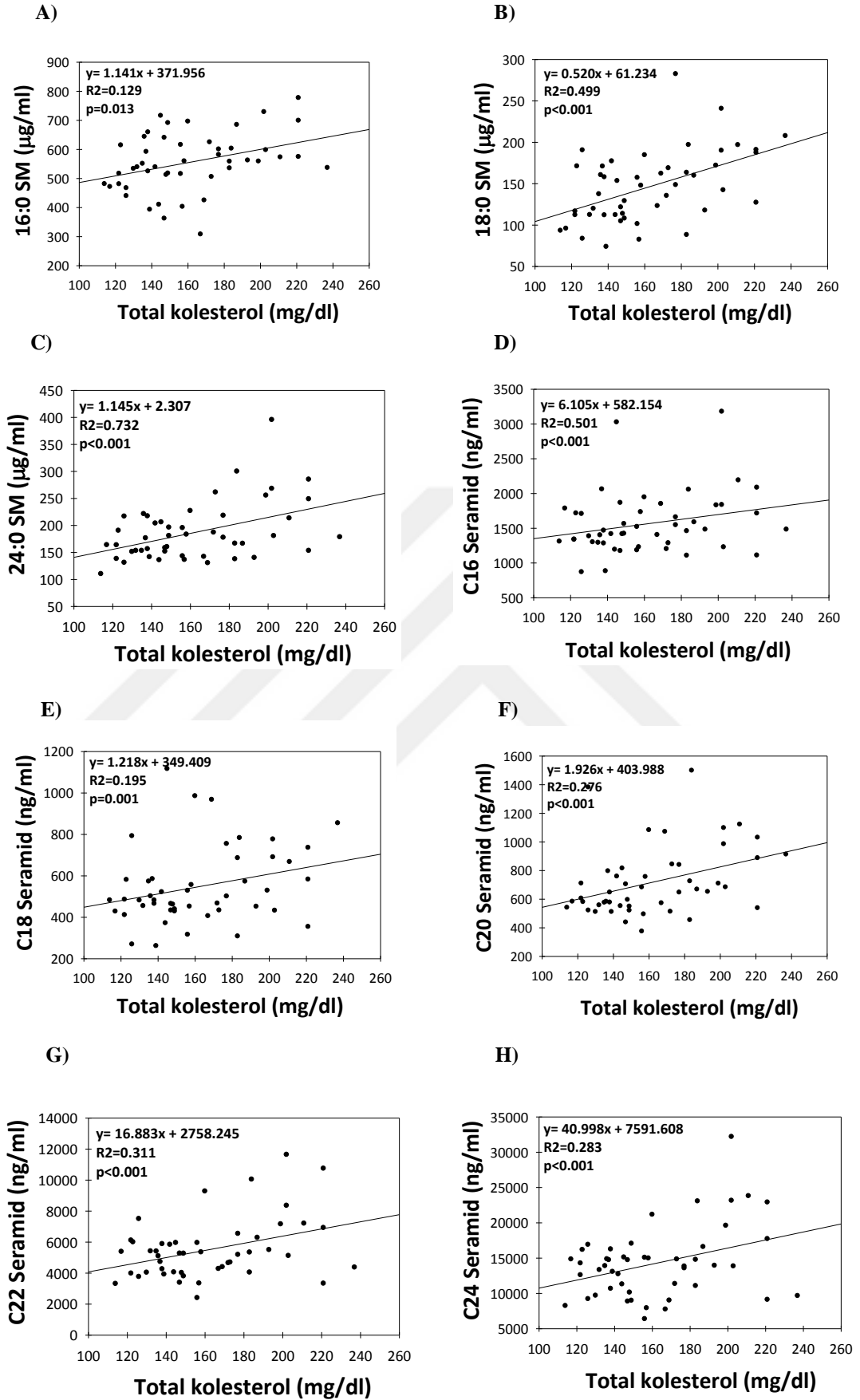
İstatistiksel analiz Student-t Testi ile yapılmıştır.



Şekil 4.2. Akne vulgaris ve kontrol grubunda serum seramid düzeylerinin grafiği

A)16:0 seramid (d18:1/16:0) serum seviyeleri **B)**18:0 Seramid (d18:1/18:0) serum seviyeleri **C)** 20:0 Seramid (d18:1/20:0) serum seviyeleri **D)** 22:0 Seramid (d18:1/22:0) serum seviyeleri **E)** 24:0 Seramid (d18:1/24:0) serum seviyeleri * p=0,045 Akne grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılması

Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz Mann-Whitney Rank Sum Testi ile yapılmıştır.



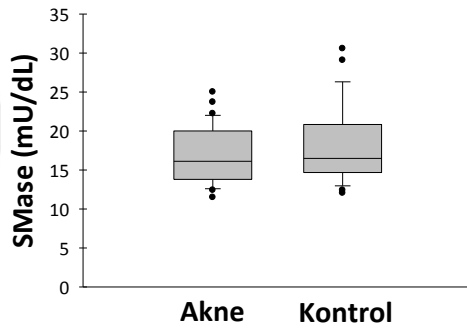
Şekil 4.3. Serum seramid ve sfingomiyelin seviyeleri ile total kolesterol seviyelerinin korelasyonu **A)** 16:0 SM (d18:1/16:0) **B)** 18:0 SM (d18:1/18:0) **C)** 24:0 SM (d18:1/d24:0) **D)** 16:0 seramid

(d18:1/16:0) **E**)18:0 Seramid (d18:1/18:0) **F**) 20:0 Seramid (d18:1/20:0) **G**) 22:0 Seramid (d18:1/22:0) **H**) 24:0 Seramid (d18:1/24:0)

Korelasyonlar lineer regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.3. Serum Nötral Sfingomiyelinaz Aktivitesi

Akne hastalarında ($n=30$) (17.95 ± 6.63 mU/dL) ölçülen serum N-SMaz aktivitesi (ortalama \pm SD) kontrollere göre ($n=20$) (18.19 ± 5.31 mU/dL) anlamlı olarak farklılık göstermemiştir ($p=0.73$) (Şekil 4.4.).

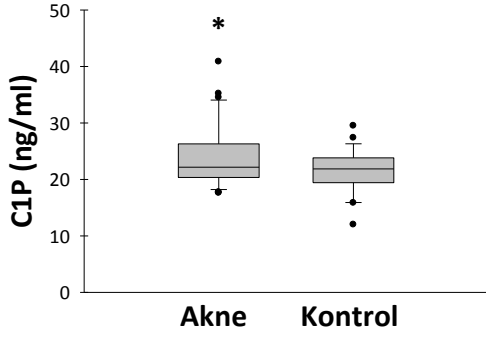


Şekil 4.4 Serum nötral sfingomiyelinaz (N-SMaz) aktivitesi

İstatistiksel analiz Mann-Whitney Rank Sum Testi ile yapılmıştır.

4.4. Serum Seramid -1-Fosfat Seviyeleri

Akne hastalarında ($n=30$) (24.41 ± 5.81 ng/ml) ölçülen serum C1P seviyeleri (ortalama \pm SD) kontrollere göre ($n=20$) (21.47 ± 3.98 ng/ml) anlamlı olarak artış göstermiştir ($p=0.049$) (Şekil 4.5.).

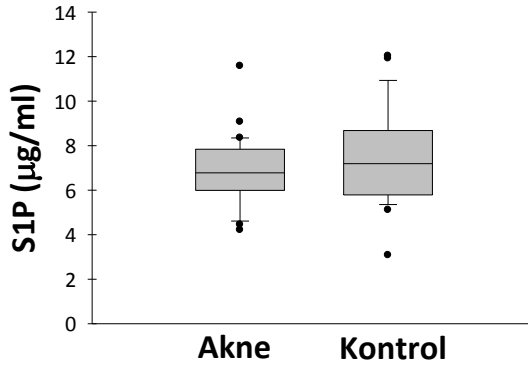


Şekil 4.5. Serum seramid -1-P seviyeleri * p = 0.049

İstatistiksel analiz Student-t Testi ile yapılmıştır.

4.5. Serum Sfingozin -1-Fosfat Seviyeleri

Akne hastalarında (n=30) (6.89 ± 1.55 $\mu\text{g/ml}$) ölçülen serum S1P seviyeleri (ortalama \pm SD) kontrollere göre (n=20) (7.50 ± 2.23 $\mu\text{g/ml}$) anlamlı olarak bir farklılık göstermemiştir (p=0.084) (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Serum sfingozin -1-P seviyeleri

* p=0.084

İstatistiksel analiz Student-t Testi ile yapılmıştır.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, AV hastalarından ve kontrollerden elde edilen serumlarda C16-C24 SM, C16-C24 SER, S1P, C1P ve N-SMaz aktivitesinin dolaşım düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca lipit profili hem kontrol hem de AV grubunda belirlenmiştir.

Transepidermal su kaybının önlenmesinde büyük role sahip olduğu bilinen SL'lerin AV üzerindeki rolleri önemlidir. Epidermiste azalan su miktarı bariyer fonksiyonunda değişikliğe neden olmaktadır ve foliküler epitelyumun hiperkeratoza yol açması sonucu komedon oluşumu gözlenebilmektedir (Yamamoto ve ark., 1995).

Tüm hastaların ve kontrollerin vücut kitle indeksi (BMI)<30 kg/m² idi. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol gruplarında herhangi bir karaciğer hastalığı, böbrek fonksiyon bozukluğu, koroner kalp hastalığı, periferik arter hastalığı, inme, tiroid disfonksiyonu ve enfeksiyöz hastalık öyküsü bulunmamaktaydı. Bu çalışmada iki grup arasında serum TG seviyesinde belirgin bir artış olduğunu bulduk. Elde edilen sonuçlarımız son zamanlarda yapılan kısmen şiddetli ve orta derecede aknesi olan hastaların, sağlıklı kontrollere göre serum TG düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bildiren çalışmanın sonuçları ile kısmen uyumludur (Jiang ve ark., 2015).

Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, AV hastalarında LC-MS/MS ile yapılan ilk serum sfingolipidomik analizidir. Sfingomiyelinlerin açıl zincir uzunluğu ile nicelendirilmesi, seçilen SM türlerinden etkilenen mekanistik yolların anlaşılması açısından değerlidir. Bir lipit türünün karbon zinciri uzunluğu, belirli fonksiyonlarla farklı şekilde ilişkili olabileceğinden, farklı açıl zincir uzunluklarına sahip 3 SM türünü inceledik. Akne hastalarının serum C16 SM düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptadık ancak bu iki grup arasında 18-24C'lu SM düzeylerinde anlamlı bir fark bulamadık. Sonuçlarımız, SM'lerin genellikle C16-C24 karbon zincir uzunluğuna sahip yağ asitleri içerdiğini gösteren önceki bir çalışmayı desteklemektedir. Bu da çoğunlukla yağ asidi bileşeni olarak palmitik asit (C16) içerdiğini göstermektedir (Kitano ve ark., 1996). Epidermal SM'lerin uzun zincirli yağ asidi (C22-26 SM), kısa zincirli yağ asidi (birincil olarak C16 SM) ve kısa zincirli alfa hidroksi yağ asidi (C16-18 SM) gibi karakteristik yağ asidi bileşimleri ile üç ana alt fraksiyondan oluştuğu bildirilmiştir (Uchida ve ark., 2000).

Her bir epidermal SM türünün fonksiyonel rolü henüz çözülememiş olmasına rağmen, SM türlerinin SC membran yapısı ve işlevi için kritik bir öneme sahip olduğu görülmektedir. Epidermal yüzey lipidlerinin çoğunun sebasöz kökenli olduğunu belirtmek gereklidir (Pappas, 2009). Bununla birlikte, cildin sistemik lipid metabolizmasındaki anormallikleri de yansıttığını kabul etmek çok önemlidir. Vitamin ve mineraller gibi lipitler de sistemik sirkülasyon yoluyla cilde verilmektedir. Örneğin, erüptif ksantomlar serum TG düzeylerinde belirgin yükselmeler ile ilişkilirken (Gillian Roga, 2016) düzlemsel ksantomlar ailesel disbetalipoproteinemiyle ilişkilidir (Burnside ve ark., 2005). Bu nedenle, ksantomun varlığı lipid ve lipoprotein metabolizmasında bozukluk tanısına izin veren kutanöz belirteç olabilir (Bennett, 2001). Sebum analizi ayrıca, cilt yüzeyinde kesin olarak diyetten gelen esansiyel yağ asitleri, linoleik (18:2, Δ9,12) ve α-linoleik asitin (18:2, Δ9,12,15) de bulunduğunu göstermiştir (Nicolaidis, 1974). Daha kısa N-açıl yağ asidi içeren SM'lerin epidermal SL fonksiyonuna önemli ölçüde katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Bu kısa zincirli SL türlerinin, sinyal yollarında yer aldığı veya epidermal farklılaşmanın sonraki aşamalarında bozunabileceği düşünülmektedir (Wertz ve Downing, 1983).

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, dolaşımdaki SM türlerinin ayrımı için dolaşımdaki SER'lerin baskın olarak çok uzun zincirli yağ asitleri (C22-24 SER) içerdiğini gördük. Bu verimiz, epidermal SM türlerinin aksine, epidermal glukozilseramidlerin ve SER'lerin çok uzun zincirli yağ asitleri içerdiğini gösteren önceki çalışmalarla uyum göstermektedir (Wertz ve Downing, 1983) ve SM öncülerinden spesifik SER'lerin üretiminde farklı metabolik yolların olabileceğini desteklemektedir. Çok uzun zincirli C24 SER'in akne hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede azaldığını gözlemledik. İnsanlarda mikro damar sistemi, ısı regülasyonu için zengin bir şekilde gelişmiştir. Bu nedenle, insan derisinin kanı besleyebilmesi, beslenme ihtiyaçlarını karşılayabilmesi için gerekli olanın çok üzerindedir (Johnson ve ark., 2016) Dolayısıyla, AV'li hastalarda gözlenen artmış serum C16 SM ve azalan serum C24 SER düzeyleri de sebase düzeylerine yansiyabilir. Bulgularımız genel olarak, hafif ve orta derecede AV olan hastaların SC'deki toplam SER'lerin anlamlı olarak daha düşük yüzdelik oranını bildiren bir önceki çalışma ile paraleldir (Yamamoto ve ark., 1995). Bildirilen bu çalışmada, akne ve kontrol gruplarında SC'nin transepidermal su kaybı ölçülerek su bariyeri fonksiyonu da değerlendirilmiştir.

Bariyer disfonksiyonunun foliküler epitelyumun hiperkeratozu ile eşlik etmesi nedeniyle, bozulmuş su bariyeri fonksiyonunun komedon oluşumu için sorumlu olabilecek SER'lerin azalmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır (Yamamoto ve ark., 1995). Bu bağlamda, AV hastalarında deri SL düzeylerini aydınlatabilmek için daha ileri bir analiz gereklidir.

Diğer çalışmalarla benzer şekilde tutarlı olarak (Yeboah ve ark., 2010; Vaarhorst ve ark., 2011), hem kontrol hem de hasta gruplarında serum TK düzeyleri ile ölçülen tüm SM ve SER'ler arasında anlamlı olarak pozitif korelasyon saptadık. Aynı şekilde, aterosklerozun varlığının ve/veya ciddiyetinin deri yüzeyindeki kolesterol seviyelerini ölçerek yansıyabileceğini gösteren bir dizi çalışma vardır. Koroner arter hastalığı tanısı için standart bir prosedür oluşturularak koşu bandında yapılan stres testi ile cilt yüzey kolesterolü arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Bennett, 2001). Daha sonra cilt kolesterol içeriğinin Framingham risk tahmini ile korele olduğu bildirilmiştir (Mancini ve ark., 2002).

Akne hastalarında ölçülen serum N-SMaz aktivitesi kontrollere göre anlamlı olarak bir farklılık göstermemiştir. Sfingomiyelinaz, SM'nin fosfokolin ve SER'e dönüşmesinden sorumlu bir enzimdir. Katyon bağımlılıklarına ve pH optimumuna göre beş tip SMaz belirlenmiştir (Bienias ve ark., 2016). Bunlar; lizozomal a-SMaz, sekretuar çinko-bağlı a-SMaz, magnezyum bağı N-SMaz, magnezyum-bağımsız N-SMaz ve alkali SMaz'dır. Beş tip arasında, lizozomal a-SMaz ve magnezyum bağımlı N-SMaz, strese hücrel cevapta SER üretimi için başlıca adaylar olarak kabul edilir (Bienias ve ark., 2016). Dış epidermis bol miktarda SMaz aktivitesi içerir (Kusuda ve ark., 1998). Çalışmalar, normal cilt bariyeri fonksiyonunun bir SER havuzu oluşturmak için SMaz aktivitesi gerektirdiğini göstermiştir (Schmuth ve ark., 2000). Nötral-SMaz'nin dolaşım aktivitesi AV hastalarında anlamlı olarak farklı olmasa da, dolaşımdaki SER düzeylerinin azalması, epidermal SM'ler içinde artmış SER degradasyonuna bağlanabilir. Çalışmalar göstermiştir ki, P.acnes, keratinositlere sitotoksisite kazandırabilen SMaz ile ilişkili ko-hemolitik aktiviteye sahip bir sekretuar proteine sahiptir (Nakatsuji ve ark., 2011). Ayrıca, desipramin ile sistemik tedavi ile a-SMaz inhibisyonu, P.acnes ile intradermal enjeksiyonun neden olduğu enflamatuar reaksiyonları önemli ölçüde azaltmıştır (Nakatsuji ve ark., 2011).

Bildiğimiz kadarıyla, bu, AV hastalarında C1P'nin serum düzeylerini bildiren ilk çalışmadır. Akne hastalarında ölçülen serum C1P düzeyleri kontrollere göre anlamlı olarak artmıştır. Sfingomiyelinaz ile üretilen SER, daha sonra C1P'ye metabolize edilir. C1P, SER'nin SERK ile doğrudan fosforilasyonu yoluyla sentezlenir ve dolaşıma bırakılabilir (Gomez-Munoz ve ark., 2016). Seramid-1-P ve S1P gibi biyoaktif SL metabolitleri, keratinositlerin ve bağışıklık hücrelerinin biyolojik modülasyonunda yer alır (Wijesinghe ve ark., 2014). Bu nedenle SL metabolizmasının düzensizliği, Psoriasis vulgaris ve atopik dermatit gibi inflamatuvar cilt hastalıklarında tanımlanmıştır (Kleuser ve Japtok, 2013). Ekstraselüler C1P, MCP-1 salgılanmasına yol açan mitojen aktif protein kinaz (MEK)/ERK ve fosfoinositid 3-kinaz/protein kinaz B (PI3K)/PKB yollarının müteakip aktivasyonunu ve putatif Gi protein-bağlı reseptör ile etkileşimini içeren bir mekanizma yoluyla hücre göçünü uyarır (Gangoiti ve ark., 2008).

Seramid sfingozine seramidazlar tarafından parçalanabilir, bu da SK'lar tarafından S1P'ye fosforile edilebilir (Gomez-Munoz ve ark., 2016). Biz çalışmamızda, dolaşımdaki serum S1P'nin kontrollere göre anlamlı derecede farklı olmadığını gözlemledik. Dolaşımdaki S1P'nin büyük kısmı eritrositler, lökositler, hepatositler ve vasküler endotelial hücrelerden gelir (Ksiazek ve ark., 2015). Sfingozin-1-P dolaşım sisteminde hücre-spesifik taşıyıcılar tarafından hücrelerden ihraç edilerek kompartmanlara ayrılır. Plazmada çoğu S1P, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve albümin gibi protein taşıyıcılarına bağlanırken daha az miktarı ise oldukça düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ve düşük yoğunluklu lipoproteine (LDL) bağlanır (Proia ve Hla, 2015). Sfingosin-1-fosfat'ın diğer hücre tiplerinin çoğundan farklı olarak, epidermal hücreler üzerindeki etkisi çok önemlidir. Sfingosin-1-fosfat, keratinosit proliferasyonunu inhibe ederek keratinosit diferansiyasyonunu ve göçünü indükler. Bu durum yaraların tekrar epitelizeasyonunda S1P'nin rol oynadığını göstermektedir (Herzinger ve ark., 2007).

Özetle bizim çalışmamız, AV hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla 16 SM ve C1P'nin dolaşımdaki seviyelerinin anlamlı olarak arttığını, C24 SER'in dolaşımdaki seviyelerinin ise anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Akne hastalarında, SL metabolizmasının aydınlatılması ve akne arasındaki serolojik bağlantılar için yeni biyobelirteçlerin tanımlanmasında sfingolipidomik analizler önem kazanmaktadır.

6. SONUÇLAR

Bulduğumuz deneysel verilere göre sonuçlarımızı şu şekilde özetleyebiliriz:

1. Akne vulgarisli hastaların ve kontrol grubunun kan lipit profili değerlendirildiğinde TK için anlamlı bir fark bulunmazken, TG düzeyleri akne hastalarında kontrollere göre anlamlı olarak artmıştır.
2. Akne hastalarında serum SER ve SM düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; C16 SM'lerin serum düzeylerinde kontrollere göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. İki grup arasında C18 ve C24 SM seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Akne hastalarında ve kontrollerde çok uzun zincirli C24 SER anlamlı olarak azalmıştır. Uzun zincirli C16-C20 SER seviyeleri kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Serum TK düzeyleri ve ölçülen tüm SM ve SER değerleri arasında anlamlı olarak pozitif korelasyon bulunmuştur.
3. Akne hastalarında ölçülen serum N-SMaz aktivitesi kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır.
4. Akne hastalarında ölçülen serum C1P seviyeleri kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir.
5. Akne hastalarında ölçülen serum S1P seviyeleri kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda AV hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla 16 SM, C1P'nin dolaşımdaki seviyelerinin anlamlı olarak arttığı ve C24 SER'in dolaşımdaki seviyelerinin ise anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Çok uzun zincirli SER'lerin azalması, bozulmuş epidermal su bariyerine ve eşlik eden foliküler epitelyumun hiperkeratozu sonucu komedon oluşumundan sorumlu olabileceğini göstermektedir. Kısa zincirli SL türleri, akne oluşumunda epidermal farklılaşmanın sonraki aşamalarında kullanılacağı için bir artış göstermiştir.

KAYNAKLAR

Airola, M. V. and Y. A. Hannun (2013). "Sphingolipid metabolism and neutral sphingomyelinases." *Handb Exp Pharmacol*(215):57-76.

Bajjalieh, S. M., T. F. Martin, et al. (1989). "Synaptic vesicle ceramide kinase. A calcium-stimulated lipid kinase that co-purifies with brain synaptic vesicles." *J Biol Chem* 264(24): 14354-14360.

Basu, S. and R. Kolesnick (1998). "Stress signals for apoptosis: ceramide and c-Jun kinase." *Oncogene* 17(25): 3277-3285.

Baudiss, K., C. K. Ayata, et al. (2015). "Ceramide-1-phosphate inhibits cigarette smoke-induced airway inflammation." *Eur Respir J* 45(6): 1669-1680.

BAUMANN, L. (2009). *Cosmetic Dermatology PRINCIPLES AND PRACTICE*. L. BAUMANN. The McGraw-Hill Companies: 3-126.

Becker, K. A., J. Riethmuller, et al. (2010). "The role of sphingolipids and ceramide in pulmonary inflammation in cystic fibrosis." *Open Respir Med J* 4: 39-47.

Bektas, M., Y. Dullin, et al. (1998). "Induction of apoptosis by synthetic ceramide analogues in the human keratinocyte cell line HaCaT." *Exp Dermatol* 7(6): 342-349.

Berthaud, F. and M. Boncheva (2011). "Correlation between the properties of the lipid matrix and the degrees of integrity and cohesion in healthy human Stratum corneum." *Exp Dermatol* 20(3): 255-262.

Bienias, K., A. Fiedorowicz, et al. (2016). "Regulation of sphingomyelin metabolism." *Pharmacol Rep* 68(3): 570-581.

Bikman, B. T. and S. A. Summers (2011). "Ceramides as modulators of cellular and whole-body metabolism." *J Clin Invest* 121(11): 4222-4230.

Boath, A., C. Graf, et al. (2008). "Regulation and traffic of ceramide 1-phosphate produced by ceramide kinase: comparative analysis to glucosylceramide and sphingomyelin." *J Biol Chem* 283(13): 8517-8526.

Bollinger, C. R., V. Teichgraber, et al. (2005). "Ceramide-enriched membrane domains." *Biochim Biophys Acta* 1746(3): 284-294.

Borodzicz, S., L. Rudnicka, et al. (2016). "The role of epidermal sphingolipids in dermatologic diseases." *Lipids Health Dis* 15: 13.

Boudker, O. and A. H. Futerman (1993). "Detection and characterization of ceramide-1-phosphate phosphatase activity in rat liver plasma membrane." *J Biol Chem* 268(29): 22150-22155.

Bouwstra, J. A., P. L. Honeywell-Nguyen, et al. (2003). "Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations." *Prog Lipid Res* 42(1): 1-36.

Breiden, B. and K. Sandhoff (2014). "The role of sphingolipid metabolism in cutaneous permeability barrier formation." *Biochim Biophys Acta* 1841(3): 441-452.

Brindley, D. N., J. Xu, et al. (2000). "Analysis of ceramide 1-phosphate and sphingosine-1-phosphate phosphatase activities." *Methods Enzymol* 311: 233-244.

Burnside, N. J., L. Alberta, et al. (2005). "Type III hyperlipoproteinemia with xanthomas and multiple myeloma." *J Am Acad Dermatol* 53(5 Suppl 1): S281-284.

Burr, G. O. and M. M. Burr (1973). "Nutrition classics from *The Journal of Biological Chemistry* 82:345-67, 1929. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet." *Nutr Rev* 31(8): 248-249.

C, T. (1980). "The hydrophobic effect: Formation of micelles and biological membranes." New York: Wiley: 233

Calder, P. C. (2006). "Polyunsaturated fatty acids and inflammation." *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 75(3): 197-202.

Chalfant, C. E. and S. Spiegel (2005). "Sphingosine 1-phosphate and ceramide 1-phosphate: expanding roles in cell signaling." *J Cell Sci* 118(Pt 20): 4605-4612.

Chang, Y., A. Abe, et al. (1995). "Ceramide formation during heat shock: a potential mediator of alpha B-crystallin transcription." *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(26): 12275-12279.

Chiricozzi, E., N. Loberto, et al. (2018). "Sphingolipids role in the regulation of inflammatory response: From leukocyte biology to bacterial infection." *J Leukoc Biol* 103(3): 445-456.

Clausen, B. E. and J. M. Kel (2010). "Langerhans cells: critical regulators of skin immunity?" *Immunol Cell Biol* 88(4): 351-360.

Coolen, N. A., K. C. Schouten, et al. (2010). "Comparison between human fetal and adult skin." *Arch Dermatol Res* 302(1): 47-55.

Cunliffe, W. J., D. B. Holland, et al. (2000). "Comedogenesis: some new aetiological, clinical and therapeutic strategies." *Br J Dermatol* 142(6): 1084-1091.

Cunliffe, W. J., D. B. Holland, et al. (2004). "Comedone formation: etiology, clinical presentation, and treatment." *Clin Dermatol* 22(5): 367-374.

Cunliffe, W. J., D. B. Holland, et al. (2004). "Comedone formation: etiology, clinical presentation, and treatment." *Clin Dermatol* 22(5): 367-374.

Doshi, A., A. Zaheer, et al. (1997). "A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system." *Int J Dermatol* 36(6): 416-418.

Dressler, K. A. and R. N. Kolesnick (1990). "Ceramide 1-phosphate, a novel phospholipid in human leukemia (HL-60) cells. Synthesis via ceramide from sphingomyelin." *J Biol Chem* 265(25): 14917-14921.

Dumitru, C. D., M. A. Antonyamy, et al. (2009). "NK1.1+ cells mediate the antitumor effects of a dual Toll-like receptor 7/8 agonist in the disseminated B16-F10 melanoma model." *Cancer Immunol Immunother* 58(4): 575-587.

Eckl, K. M., R. Tidhar, et al. (2013). "Impaired epidermal ceramide synthesis causes autosomal recessive congenital ichthyosis and reveals the importance of ceramide acyl chain length." *J Invest Dermatol* 133(9): 2202-2211.

El Alwani, M., B. X. Wu, et al. (2006). "Bioactive sphingolipids in the modulation of the inflammatory response." *Pharmacol Ther* 112(1): 171-183.

Elias, P. M. (1983). "Epidermal lipids, barrier function, and desquamation." *J Invest Dermatol* 80(1 Suppl): 44s-49s.

Elias, P. M. and B. E. Brown (1978). "The mammalian cutaneous permeability barrier: defective barrier function is essential fatty acid deficiency correlates with abnormal intercellular lipid deposition." *Lab Invest* 39(6): 574-583.

Feingold, K. R. and P. M. Elias (2014). "Role of lipids in the formation and maintenance of the cutaneous permeability barrier." *Biochim Biophys Acta* 1841(3): 280-294.

Fenini, G., E. Contassot, et al. (2017). "Potential of IL-1, IL-18 and Inflammasome Inhibition for the Treatment of Inflammatory Skin Diseases." *Front Pharmacol* 8: 278.

Fluhr, J. W., J. Kao, et al. (2001). "Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity." *J Invest Dermatol* 117(1): 44-51.

Fluhr, J. W., M. J. Behne, et al. (2004). "Stratum corneum acidification in neonatal skin: secretory phospholipase A2 and the sodium/hydrogen antiporter-1 acidify neonatal rat stratum corneum." *J Invest Dermatol* 122(2): 320-329.

Gangoiti, P., L. Camacho, et al. (2010). "Control of metabolism and signaling of simple bioactive sphingolipids: Implications in disease." *Prog Lipid Res* 49(4): 316-334.

Gangoiti, P., M. H. Granado, et al. (2008). "Ceramide 1-phosphate stimulates macrophage proliferation through activation of the PI3-kinase/PKB, JNK and ERK1/2 pathways." *Cell Signal* 20(4): 726-736.

Geilen, C. C., S. Barz, et al. (2001). "Sphingolipid signaling in epidermal homeostasis. Current knowledge and new therapeutic approaches in dermatology." *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14(5): 261-271.

Geilen, C. C., T. Wieder, et al. (1997). "Ceramide signalling: regulatory role in cell proliferation, differentiation and apoptosis in human epidermis." *Arch Dermatol Res* 289(10): 559-566.

Gillard, B. K., R. G. Clement, et al. (1998). "Variations among cell lines in the synthesis of sphingolipids in de novo and recycling pathways." *Glycobiology* 8(9): 885-890.

Gillian Roga, M. M. J., DNB (2016). Eruptive xanthoma: Warning sign of systemic disease. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*.

Goggel, R., S. Winoto-Morbach, et al. (2004). "PAF-mediated pulmonary edema: a new role for acid sphingomyelinase and ceramide." *Nat Med* 10(2): 155-160.

Goldschmidt, H., J. J. Leyden, et al. (1977). "Acne fulminans: investigation of acute febrile ulcerative acne." *Arch Dermatol* 113(4): 444-449.

Gomez-Munoz, A. (1998). "Modulation of cell signalling by ceramides." *Biochim Biophys Acta* 1391(1): 92-109.

Gomez-Munoz, A. (2006). "Ceramide 1-phosphate/ceramide, a switch between life and death." *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1758(12): 2049-2056.

Gomez-Munoz, A., J. Y. Kong, et al. (2004). "Ceramide-1-phosphate blocks apoptosis through inhibition of acid sphingomyelinase in macrophages." *J Lipid Res* 45(1): 99-105.

Gomez-Munoz, A., L. M. Frago, et al. (1997). "Stimulation of DNA synthesis by natural ceramide 1-phosphate." *Biochem J* 325 (Pt 2): 435-440.

Gomez-Munoz, A., N. Presa, et al. (2016). "Control of inflammatory responses by ceramide, sphingosine 1-phosphate and ceramide 1-phosphate." *Prog Lipid Res* 61: 51-62.

Gomez-Munoz, A., P. A. Duffy, et al. (1995). "Short-chain ceramide-1-phosphates are novel stimulators of DNA synthesis and cell division: antagonism by cell-permeable ceramides." *Mol Pharmacol* 47(5): 833-839.

Goni, F. M. and A. Alonso (2002). "Sphingomyelinases: enzymology and membrane activity." *FEBS Lett* 531(1): 38-46.

Gray, G. M. and H. J. Yardley (1975). "Lipid compositions of cells isolated from pig, human, and rat epidermis." *J Lipid Res* 16(6): 434-440.

Grosch, S., S. Schiffmann, et al. (2012). "Chain length-specific properties of ceramides." *Prog Lipid Res* 51(1): 50-62.

H. Schaefer, T. E. R. (1996). *Skin Barrier: Principles of Percutaneous Absorption.* (u.a.).

Haimovitz-Friedman, A., C. Cordon-Cardo, et al. (1997). "Lipopolysaccharide induces disseminated endothelial apoptosis requiring ceramide generation." *J Exp Med* 186(11): 1831-1841.

Hait, N. C., S. Sarkar, et al. (2005). "Role of sphingosine kinase 2 in cell migration toward epidermal growth factor." *J Biol Chem* 280(33): 29462-29469.

Hanada, K., K. Kumagai, et al. (2007). "CERT and intracellular trafficking of ceramide." *Biochim Biophys Acta* 1771(6): 644-653.

Hankins, J. L., T. E. Fox, et al. (2011). "Exogenous ceramide-1-phosphate reduces lipopolysaccharide (LPS)-mediated cytokine expression." *J Biol Chem* 286(52): 44357-44366.

Hannun, Y. A. (1994). "The sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide." *J Biol Chem* 269(5): 3125-3128.

Hannun, Y. A. and L. M. Obeid (2002). "The Ceramide-centric universe of lipid-mediated cell regulation: stress encounters of the lipid kind." *J Biol Chem* 277(29): 25847-25850.

Hannun, Y. A. and L. M. Obeid (2008). "Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids." *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(2): 139-150.

Hannun, Y. A. and L. M. Obeid (2008). "Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids." *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(2): 139-150.

Hannun, Y. A. and L. M. Obeid (2011). "Many ceramides." *J Biol Chem* 286(32): 27855-27862.

Hansen, H. S. and B. Jensen (1985). "Essential function of linoleic acid esterified in acylglucosylceramide and acylceramide in maintaining the epidermal water permeability barrier. Evidence from feeding studies with oleate, linoleate, arachidonate, columbinic acid and alpha-linolenate." *Biochim Biophys Acta* 834(3): 357-363.

Hartmann, D., J. Lucks, et al. (2012). "Long chain ceramides and very long chain ceramides have opposite effects on human breast and colon cancer cell growth." *Int J Biochem Cell Biol* 44(4): 620-628.

Harvald, E. B., A. S. Olsen, et al. (2015). "Autophagy in the light of sphingolipid metabolism." *Apoptosis* 20(5): 658-670.

Hayakawa, M., S. Jayadev, et al. (1996). "Role of ceramide in stimulation of the transcription of cytosolic phospholipase A2 and cyclooxygenase 2." *Biochem Biophys Res Commun* 220(3): 681-686.

Hayakawa, M., S. Jayadev, et al. (1996). "Role of ceramide in stimulation of the transcription of cytosolic phospholipase A2 and cyclooxygenase 2." *Biochem Biophys Res Commun* 220(3): 681-686.

Hernandez, O. M., D. J. Discher, et al. (2000). "Rapid activation of neutral sphingomyelinase by hypoxia-reoxygenation of cardiac myocytes." *Circ Res* 86(2): 198-204.

Herzinger, T., B. Kleuser, et al. (2007). "Sphingosine-1-phosphate signaling and the skin." *Am J Clin Dermatol* 8(6): 329-336.

Hla, T. and A. J. Dannenberg (2012). "Sphingolipid signaling in metabolic disorders." *Cell Metab* 16(4): 420-434.

Holland, D. B. and A. H. Jeremy (2005). "The role of inflammation in the pathogenesis of acne and acne scarring." *Semin Cutan Med Surg* 24(2): 79-83.

Holleran, W. M., K. R. Feingold, et al. (1991). "Regulation of epidermal sphingolipid synthesis by permeability barrier function." *J Lipid Res* 32(7): 1151-1158.

Holleran, W. M., W. N. Gao, et al. (1995). "Localization of epidermal sphingolipid synthesis and serine palmitoyl transferase activity: alterations imposed by permeability barrier requirements." *Arch Dermatol Res* 287(3-4): 254-258.

Holleran, W. M., Y. Takagi, et al. (2006). "Epidermal sphingolipids: metabolism, function, and roles in skin disorders." *FEBS Lett* 580(23): 5456-5466.

Hwa, C., E. A. Bauer, et al. (2011). "Skin biology." *Dermatol Ther* 24(5): 464-470.

Imokawa, G. (2009). "A possible mechanism underlying the ceramide deficiency in atopic dermatitis: expression of a deacylase enzyme that cleaves the N-acyl linkage of sphingomyelin and glucosylceramide." *J Dermatol Sci* 55(1): 1-9.

Imokawa, G., S. Akasaki, et al. (1986). "Selective recovery of deranged water-holding properties by stratum corneum lipids." *J Invest Dermatol* 87(6): 758-761.

Inokuchi, J. (2011). "Physiopathological function of hematoside (GM3 ganglioside)." *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 87(4): 179-198.

Ishikawa, J., H. Narita, et al. (2010). "Changes in the ceramide profile of atopic dermatitis patients." *J Invest Dermatol* 130(10): 2511-2514.

Ito, M., Okino, N., Tani, M., Mitsutake, S., and Kita, K. (2003). "in Ceramide Signaling (Futerman, A. H., ed)." Landes Bioscience, Georgetown, TX: 41-48.

Iyer, A., D. P. Fairlie, et al. (2010). "Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity." *Nat Rev Endocrinol* 6(2): 71-82.

Jenkins, R. W., D. Canals, et al. (2010). "Regulated secretion of acid sphingomyelinase: implications for selectivity of ceramide formation." *J Biol Chem* 285(46): 35706-35718.

Jennemann, R., M. Rabionet, et al. (2012). "Loss of ceramide synthase 3 causes lethal skin barrier disruption." *Hum Mol Genet* 21(3): 586-608.

Jeremy, A. H., D. B. Holland, et al. (2003). "Inflammatory events are involved in acne lesion initiation." *J Invest Dermatol* 121(1): 20-27.

Jiang, H., C. Y. Li, et al. (2015). "Acne patients frequently associated with abnormal plasma lipid profile." *J Dermatol* 42(3): 296-299.

Johnson, R. S., J. Titze, et al. (2016). "Cutaneous control of blood pressure." *Curr Opin Nephrol Hypertens* 25(1): 11-15.

Jungersted, J. M., J. K. Hogh, et al. (2015). "Hand eczema and stratum corneum ceramides." *Clin Exp Dermatol* 40(3): 243-246.

Jungersted, J. M., L. I. Hellgren, et al. (2008). "Lipids and skin barrier function--a clinical perspective." *Contact Dermatitis* 58(5): 255-262.

Kendall, A. C. and A. Nicolaou (2013). "Bioactive lipid mediators in skin inflammation and immunity." *Prog Lipid Res* 52(1): 141-164.

Kihara, A. (2015). "Sphingolipid metabolism via sphingosine 1-phosphate." Yokomizo T, Murakami M,: 127–138.

Kihara, A. (2016). "Synthesis and degradation pathways, functions, and pathology of ceramides and epidermal acylceramides." *Prog Lipid Res* 63: 50-69.

Kihara, A. and Y. Igarashi (2008). "Production and release of sphingosine 1-phosphate and the phosphorylated form of the immunomodulator FTY720." *Biochim Biophys Acta* 1781(9): 496-502.

Kihara, A., S. Mitsutake, et al. (2007). "Metabolism and biological functions of two phosphorylated sphingolipids, sphingosine 1-phosphate and ceramide 1-phosphate." *Prog Lipid Res* 46(2): 126-144.

Kim, E. J., M. K. Kim, et al. (2010). "Skin aging and photoaging alter fatty acids composition, including 11,14,17-eicosatrienoic acid, in the epidermis of human skin." *J Korean Med Sci* 25(6): 980-983.

Kish, D. D., X. Li, et al. (2009). "CD8 T cells producing IL-17 and IFN-gamma initiate the innate immune response required for responses to antigen skin challenge." *J Immunol* 182(10): 5949-5959.

Kistowska, M., S. Gehrke, et al. (2014). "IL-1beta drives inflammatory responses to propionibacterium acnes in vitro and in vivo." *J Invest Dermatol* 134(3): 677-685.

Kitano, Y., Y. Iwamori, et al. (1996). "Selective reduction in alpha-hydroxypalmitic acid-containing sphingomyelin and concurrent increase in hydroxylated ceramides in murine skin tumors induced by an initiation-promotion regimen." *Jpn J Cancer Res* 87(5): 437-441.

Kitatani, K., J. Idkowiak-Baldys, et al. (2008). "The sphingolipid salvage pathway in ceramide metabolism and signaling." *Cell Signal* 20(6): 1010-1018.

Kitatani, K., K. Sheldon, et al. (2009). "Involvement of acid beta-glucosidase 1 in the salvage pathway of ceramide formation." *J Biol Chem* 284(19): 12972-12978.

Kleuser, B. and L. Japtok (2013). "Sphingolipids and inflammatory diseases of the skin." *Handb Exp Pharmacol*(216): 355-372.

Kohama, T., A. Olivera, et al. (1998). "Molecular cloning and functional characterization of murine sphingosine kinase." *J Biol Chem* 273(37): 23722-23728.

Kolesnick, R. N. and M. Kronke (1998). "Regulation of ceramide production and apoptosis." *Annu Rev Physiol* 60: 643-665.

Kolesnick, R. N. and M. R. Hemer (1990). "Characterization of a ceramide kinase activity from human leukemia (HL-60) cells. Separation from diacylglycerol kinase activity." *J Biol Chem* 265(31): 18803-18808.

Kolesnick, R. N., F. M. Goni, et al. (2000). "Compartmentalization of ceramide signaling: physical foundations and biological effects." *J Cell Physiol* 184(3): 285-300.

Kolesnick, R., D. Altieri, et al. (2007). "A CERTain role for ceramide in taxane-induced cell death." *Cancer Cell* 11(6): 473-475.

Kolter, T. (2011). "A view on sphingolipids and disease." *Chem Phys Lipids* 164(6): 590-606.

Koo, J. (1995). "The psychosocial impact of acne: patients' perceptions." *J Am Acad Dermatol* 32(5 Pt 3): S26-30.

Kroesen, B. J., S. Jacobs, et al. (2003). "BcR-induced apoptosis involves differential regulation of C16 and C24-ceramide formation and sphingolipid-dependent activation of the proteasome." *J Biol Chem* 278(17): 14723-14731.

Ksiazek, M., M. Chacinska, et al. (2015). "Sources, metabolism, and regulation of circulating sphingosine-1-phosphate." *J Lipid Res* 56(7): 1271-1281.

Kulkarni, A. A., A. A. Weiss, et al. (2010). "Glycan-based high-affinity ligands for toxins and pathogen receptors." *Med Res Rev* 30(2): 327-393.

Kusuda, S., C. Y. Cui, et al. (1998). "Localization of sphingomyelinase in lesional skin of atopic dermatitis patients." *J Invest Dermatol* 111(5): 733-738.

Lai, W. Q., A. J. Melendez, et al. (2010). "Role of sphingosine kinase and sphingosine-1-phosphate in inflammatory arthritis." *World J Biol Chem* 1(11): 321-326.

Lai-Cheong JE, M. J. (2013). Structure and function of skin, hair and nails.

Lampe, M. A., A. L. Burlingame, et al. (1983). "Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations." *J Lipid Res* 24(2): 120-130.

Lazo, N. D., J. G. Meine, et al. (1995). "Lipids are covalently attached to rigid corneocyte protein envelopes existing predominantly as beta-sheets: a solid-state nuclear magnetic resonance study." *J Invest Dermatol* 105(2): 296-300.

Leclercq, T. M. and S. M. Pitson (2006). "Cellular signalling by sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate." *IUBMB Life* 58(8): 467-472.

Lee, D. D., O. Stojadinovic, et al. (2009). "Retinoid-responsive transcriptional changes in epidermal keratinocytes." *J Cell Physiol* 220(2): 427-439.

Leslie Baumann, S. S., Edmund Weisberg *Cosmetic dermatology Principles and Practise*, The McGraw-Hill Companies.

Liu, H., M. Sugiura, et al. (2000). "Molecular cloning and functional characterization of a novel mammalian sphingosine kinase type 2 isoform." *J Biol Chem* 275(26): 19513-19520.

Liu, Q., H. Rehman, et al. (2012). "Inhibition of sphingosine kinase-2 suppresses inflammation and attenuates graft injury after liver transplantation in rats." *PLoS One* 7(7): e41834.

Luberto, C. and Y. A. Hannun (1999). "Sphingolipid metabolism in the regulation of bioactive molecules." *Lipids* 34 Suppl: S5-11.

Lynn, D. D., T. Umari, et al. (2016). "The epidemiology of acne vulgaris in late adolescence." *Adolesc Health Med Ther* 7: 13-25.

Ma, Y., S. Pitson, et al. (2005). "Sphingosine activates protein kinase A type II by a novel cAMP-independent mechanism." *J Biol Chem* 280(28): 26011-26017.

Maceyka, M. and S. Spiegel (2014). "Sphingolipid metabolites in inflammatory disease." *Nature* 510(7503): 58-67.

Maceyka, M. and S. Spiegel (2014). "Sphingolipid metabolites in inflammatory disease." *Nature* 510(7503): 58-67.

Maceyka, M., H. Sankala, et al. (2005). "SphK1 and SphK2, sphingosine kinase isoenzymes with opposing functions in sphingolipid metabolism." *J Biol Chem* 280(44): 37118-37129.

Man, M. M., K. R. Feingold, et al. (1996). "Optimization of physiological lipid mixtures for barrier repair." *J Invest Dermatol* 106(5): 1096-1101.

Man, M. Q., K. R. Feingold, et al. (1993). "Exogenous lipids influence permeability barrier recovery in acetone-treated murine skin." *Arch Dermatol* 129(6): 728-738.

Mancini, G. B., S. Chan, et al. (2002). "Association of skin cholesterol content, measured by a noninvasive method, with markers of inflammation and Framingham risk prediction." *Am J Cardiol* 89(11): 1313-1316.

Manna, S. K. and B. B. Aggarwal (1998). "IL-13 suppresses TNF-induced activation of nuclear factor-kappa B, activation protein-1, and apoptosis." *J Immunol* 161(6): 2863-2872.

Manna, S. K. and B. B. Aggarwal (1998). "IL-13 suppresses TNF-induced activation of nuclear factor-kappa B, activation protein-1, and apoptosis." *J Immunol* 161(6): 2863-2872.

Mao, C., R. Xu, et al. (2001). "Cloning and characterization of a novel human alkaline ceramidase. A mammalian enzyme that hydrolyzes phytoceramide." *J Biol Chem* 276(28): 26577-26588.

Mao, C., R. Xu, et al. (2003). "Cloning and characterization of a mouse endoplasmic reticulum alkaline ceramidase: an enzyme that preferentially regulates metabolism of very long chain ceramides." *J Biol Chem* 278(33): 31184-31191.

Marathe, S., S. L. Schissel, et al. (1998). "Human vascular endothelial cells are a rich and regulatable source of secretory sphingomyelinase. Implications for early atherogenesis and ceramide-mediated cell signaling." *J Biol Chem* 273(7): 4081-4088.

Masukawa, Y., H. Narita, et al. (2008). "Characterization of overall ceramide species in human stratum corneum." *J Lipid Res* 49(7): 1466-1476.

Mauro, T. (2006). *SC pH: measurement, origins, and functions. In Skin Barrier.* . Taylor & Francis, New York. .

Meckfessel, M. H. and S. Brandt (2014). "The structure, function, and importance of ceramides in skin and their use as therapeutic agents in skin-care products." *J Am Acad Dermatol* 71(1): 177-184.

Merrill, A. H., Jr. (1991). "Cell regulation by sphingosine and more complex sphingolipids." *J Bioenerg Biomembr* 23(1): 83-104.

Merrill, A. H., Jr. (2002). "De novo sphingolipid biosynthesis: a necessary, but dangerous, pathway." *J Biol Chem* 277(29): 25843-25846.

Merrill, A. H., Jr. (2002). "De novo sphingolipid biosynthesis: a necessary, but dangerous, pathway." *J Biol Chem* 277(29): 25843-25846.

Merrill, A. H., Jr. (2011). "Sphingolipid and glycosphingolipid metabolic pathways in the era of sphingolipidomics." *Chem Rev* 111(10): 6387-6422.

Merrill, A. H., Jr. and V. L. Stevens (1989). "Modulation of protein kinase C and diverse cell functions by sphingosine--a pharmacologically interesting compound linking sphingolipids and signal transduction." *Biochim Biophys Acta* 1010(2): 131-139.

Merrill, A. H., Jr., E. M. Schmelz, et al. (1997). "Sphingolipids--the enigmatic lipid class: biochemistry, physiology, and pathophysiology." *Toxicol Appl Pharmacol* 142(1): 208-225.

Michael J. Bennett, P. R. (2001). "The Metabolic Autopsy Comes of Age." *Clinical Chemistry* 47(7).

Mielke, M. M., V. V. Bandaru, et al. (2015). "Factors affecting longitudinal trajectories of plasma sphingomyelins: the Baltimore Longitudinal Study of Aging." *Aging Cell* 14(1): 112-121.

Mitra, P., M. Maceyka, et al. (2007). "Ceramide kinase regulates growth and survival of A549 human lung adenocarcinoma cells." *FEBS Lett* 581(4): 735-740.

Mitsutake, S. and Y. Igarashi (2013). "Sphingolipids in lipid microdomains and obesity." *Vitam Horm* 91: 271-284.

Mitsutake, S., T. J. Kim, et al. (2004). "Ceramide kinase is a mediator of calcium-dependent degranulation in mast cells." *J Biol Chem* 279(17): 17570-17577.

Mizukoshi, K., K. Matsumoto, et al. (2011). "Effects of serine palmitoyltransferase inhibitor ISP-I on the stratum corneum of intact mouse skin." *Biol Pharm Bull* 34(9): 1383-1389.

Mizutani, Y., S. Mitsutake, et al. (2009). "Ceramide biosynthesis in keratinocyte and its role in skin function." *Biochimie* 91(6): 784-790.

Mysliwiec, H., A. Baran, et al. (2017). "Increase in circulating sphingosine-1-phosphate and decrease in ceramide levels in psoriatic patients." *Arch Dermatol Res* 309(2): 79-86.

Nakatsuji, T., D. C. Tang, et al. (2011). "Propionibacterium acnes CAMP factor and host acid sphingomyelinase contribute to bacterial virulence: potential targets for inflammatory acne treatment." *PLoS One* 6(4): e14797.

Newton, R., L. Hart, et al. (2000). "Ceramide induction of COX-2 and PGE(2) in pulmonary A549 cells does not involve activation of NF-kappaB." *Biochem Biophys Res Commun* 277(3): 675-679.

Ni Raghallaigh, S., K. Bender, et al. (2012). "The fatty acid profile of the skin surface lipid layer in papulopustular rosacea." *Br J Dermatol* 166(2): 279-287.

Nicolaides, N. (1974). "Skin lipids: their biochemical uniqueness." *Science* 186(4158): 19-26.

Nixon, G. F. (2009). "Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets." *Br J Pharmacol* 158(4): 982-993.

Novgorodov, S. A., B. X. Wu, et al. (2011). "Novel pathway of ceramide production in mitochondria: thioesterase and neutral ceramidase produce ceramide from sphingosine and acyl-CoA." *J Biol Chem* 286(28): 25352-25362.

Obara, K., R. Kojima, et al. (2013). "Effects on vesicular transport pathways at the late endosome in cells with limited very long-chain fatty acids." *J Lipid Res* 54(3): 831-842.

Obeid, L. M., C. M. Linares, et al. (1993). "Programmed cell death induced by ceramide." *Science* 259(5102): 1769-1771.

Olivera, A., H. M. Rosenfeldt, et al. (2003). "Sphingosine kinase type 1 induces G12/13-mediated stress fiber formation, yet promotes growth and survival independent of G protein-coupled receptors." *J Biol Chem* 278(47): 46452-46460.

Pappas, A. (2009). Epidermal surface lipids.

Pastukhov, O., S. Schwalm, et al. (2014). "The ceramide kinase inhibitor NVP-231 inhibits breast and lung cancer cell proliferation by inducing M phase arrest and subsequent cell death." *Br J Pharmacol* 171(24): 5829-5844.

Pavicic, T., U. Wollenweber, et al. (2007). "Anti-microbial and -inflammatory activity and efficacy of phytosphingosine: an in vitro and in vivo study addressing acne vulgaris." *Int J Cosmet Sci* 29(3): 181-190.

Perry, D. K. and R. N. Kolesnick (2003). "Ceramide and sphingosine 1-phosphate in anti-cancer therapies." *Cancer Treat Res* 115: 345-354.

Pettus, B. J., A. Bielawska, et al. (2003). "Ceramide kinase mediates cytokine- and calcium ionophore-induced arachidonic acid release." *J Biol Chem* 278(40): 38206-38213.

Pettus, B. J., C. E. Chalfant, et al. (2002). "Ceramide in apoptosis: an overview and current perspectives." *Biochim Biophys Acta* 1585(2-3): 114-125.

Pettus, B. J., K. Kitatani, et al. (2005). "The coordination of prostaglandin E2 production by sphingosine-1-phosphate and ceramide-1-phosphate." *Mol Pharmacol* 68(2): 330-335.

Pinto, S. N., E. L. Laviad, et al. (2014). "Changes in membrane biophysical properties induced by sphingomyelinase depend on the sphingolipid N-acyl chain." *J Lipid Res* 55(1): 53-61.

Pitson, S. M., P. A. Moretti, et al. (2000). "Expression of a catalytically inactive sphingosine kinase mutant blocks agonist-induced sphingosine kinase activation. A dominant-negative sphingosine kinase." *J Biol Chem* 275(43): 33945-33950.

Pontier, S. M. and F. Schweisguth (2012). "Glycosphingolipids in signaling and development: from liposomes to model organisms." *Dev Dyn* 241(1): 92-106.

Presa, N., A. Gomez-Larrauri, et al. (2016). "Regulation of cell migration and inflammation by ceramide 1-phosphate." *Biochim Biophys Acta* 1861(5): 402-409.

Proia, R. L. and T. Hla (2015). "Emerging biology of sphingosine-1-phosphate: its role in pathogenesis and therapy." *J Clin Invest* 125(4): 1379-1387.

Proksch, E., J. M. Brandner, et al. (2008). "The skin: an indispensable barrier." *Exp Dermatol* 17(12): 1063-1072.

Proksch, E., R. Folster-Holst, et al. (2006). "Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema." *J Dermatol Sci* 43(3): 159-169.

Pyne, S., D. G. Tolan, et al. (1997). "Sphingolipids as differential regulators of cellular signalling processes." *Biochem Soc Trans* 25(2): 549-556.

Rabionet, M., A. Bayerle, et al. (2015). "Male meiotic cytokinesis requires ceramide synthase 3-dependent sphingolipids with unique membrane anchors." *Hum Mol Genet* 24(17): 4792-4808.

Ramstedt, B. and J. P. Slotte (2006). "Sphingolipids and the formation of sterol-enriched ordered membrane domains." *Biochim Biophys Acta* 1758(12): 1945-1956.

Riboni, L., A. Prinetti, et al. (1994). "Formation of bioactive sphingoid molecules from exogenous sphingomyelin in primary cultures of neurons and astrocytes." *FEBS Lett* 352(3): 323-326.

Riboni, L., P. Viani, et al. (1997). "The role of sphingolipids in the process of signal transduction." *Prog Lipid Res* 36(2-3): 153-195.

Riboni, L., R. Bassi, et al. (1998). "Metabolic fate of exogenous sphingosine in neuroblastoma neuro2A cells. Dose-dependence and biological effects." *Ann N Y Acad Sci* 845: 46-56.

Rocha, M. A. and E. Bagatin (2018). "Skin barrier and microbiome in acne." *Arch Dermatol Res* 310(3): 181-185.

Rosen, H. and E. J. Goetzl (2005). "Sphingosine 1-phosphate and its receptors: an autocrine and paracrine network." *Nat Rev Immunol* 5(7): 560-570.

Roviezzo, F., V. Brancaleone, et al. (2011). "Sphingosine-1-phosphate modulates vascular permeability and cell recruitment in acute inflammation in vivo." *J Pharmacol Exp Ther* 337(3): 830-837.

Ruckhaberle, E., T. Karn, et al. (2009). "Gene expression of ceramide kinase, galactosyl ceramide synthase and ganglioside GD3 synthase is associated with prognosis in breast cancer." *J Cancer Res Clin Oncol* 135(8): 1005-1013.

Saba, J. D., L. M. Obeid, et al. (1996). "Ceramide: an intracellular mediator of apoptosis and growth suppression." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 351(1336): 233-240; discussion 240-231.

Samet, D. and Y. Barenholz (1999). "Characterization of acidic and neutral sphingomyelinase activities in crude extracts of HL-60 cells." *Chem Phys Lipids* 102(1-2): 65-77.

Schissel, S. L., E. H. Schuchman, et al. (1996). "Zn²⁺-stimulated sphingomyelinase is secreted by many cell types and is a product of the acid sphingomyelinase gene." *J Biol Chem* 271(31): 18431-18436.

Schmitt, S., L. C. Castelvetti, et al. (2015). "Metabolism and functions of lipids in myelin." *Biochim Biophys Acta* 1851(8): 999-1005.

Schmuth, M., M. Q. Man, et al. (2000). "Permeability barrier disorder in Niemann-Pick disease: sphingomyelin-ceramide processing required for normal barrier homeostasis." *J Invest Dermatol* 115(3): 459-466.

Schutze, S., K. Potthoff, et al. (1992). "TNF activates NF-kappa B by phosphatidylcholine-specific phospholipase C-induced "acidic" sphingomyelin breakdown." *Cell* 71(5): 765-776.

Senchenkov, A., D. A. Litvak, et al. (2001). "Targeting ceramide metabolism--a strategy for overcoming drug resistance." *J Natl Cancer Inst* 93(5): 347-357.

Serhan, C. N., J. Z. Haegstrom, et al. (1996). "Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines." *FASEB J* 10(10): 1147-1158.

- Serhan, C. N., J. Z. Haeggstrom, et al. (1996). "Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines." *FASEB J* 10(10): 1147-1158.
- Shinghal, R., R. H. Scheller, et al. (1993). "Ceramide 1-phosphate phosphatase activity in brain." *J Neurochem* 61(6): 2279-2285.
- Simanshu, D. K., R. K. Kamlekar, et al. (2013). "Non-vesicular trafficking by a ceramide-1-phosphate transfer protein regulates eicosanoids." *Nature* 500(7463): 463-467.
- Simons, K. and E. Ikonen (1997). "Functional rafts in cell membranes." *Nature* 387(6633): 569-572.
- Spiegel, S. and A. H. Merrill, Jr. (1996). "Sphingolipid metabolism and cell growth regulation." *FASEB J* 10(12): 1388-1397.
- Spiegel, S. and S. Milstien (2003). "Sphingosine-1-phosphate: an enigmatic signalling lipid." *Nat Rev Mol Cell Biol* 4(5): 397-407.
- Spiegel, S. and S. Milstien (2007). "Functions of the multifaceted family of sphingosine kinases and some close relatives." *J Biol Chem* 282(4): 2125-2129.
- Spiegel, S. and S. Milstien (2011). "The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity." *Nat Rev Immunol* 11(6): 403-415.
- Sugiura, M., K. Kono, et al. (2002). "Ceramide kinase, a novel lipid kinase. Molecular cloning and functional characterization." *J Biol Chem* 277(26): 23294-23300.
- Swartzendruber, D. C., P. W. Wertz, et al. (1987). "Evidence that the corneocyte has a chemically bound lipid envelope." *J Invest Dermatol* 88(6): 709-713.
- Takami, Y., A. Abe, et al. (1998). "Effect of an inhibitor of glucosylceramide synthesis on cultured human keratinocytes." *J Dermatol* 25(2): 73-77.
- Takeshita, H., M. Kitano, et al. (2012). "Sphingosine 1-phosphate (S1P)/S1P receptor 1 signaling regulates receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)

expression in rheumatoid arthritis." *Biochem Biophys Res Commun* 419(2): 154-159.

Tani, M., M. Ito, et al. (2007). "Ceramide/sphingosine/sphingosine 1-phosphate metabolism on the cell surface and in the extracellular space." *Cell Signal* 19(2): 229-237.

Tani, M., Y. Igarashi, et al. (2005). "Involvement of neutral ceramidase in ceramide metabolism at the plasma membrane and in extracellular milieu." *J Biol Chem* 280(44): 36592-36600.

Thiboutot, D. M. (1996). "An overview of acne and its treatment." *Cutis* 57(1 Suppl): 8-12.

Traupe, H., J. Fischer, et al. (2014). "Nonsyndromic types of ichthyoses - an update." *J Dtsch Dermatol Ges* 12(2): 109-121.

Tuzcu, H., B. Unal, et al. (2017). "Neutral sphingomyelinase inhibition alleviates apoptosis, but not ER stress, in liver ischemia-reperfusion injury." *Free Radic Res* 51(3): 253-268.

Uchida, Y. and W. M. Holleran (2008). "Omega-O-acylceramide, a lipid essential for mammalian survival." *J Dermatol Sci* 51(2): 77-87.

Uchida, Y., M. Hara, et al. (2000). "Epidermal sphingomyelins are precursors for selected stratum corneum ceramides." *J Lipid Res* 41(12): 2071-2082.

Uchida, Y., S. Murata, et al. (2002). "Glucosylceramide synthesis and synthase expression protect against ceramide-induced stress." *J Lipid Res* 43(8): 1293-1302.

Unal, B., F. Ozcan, et al. (2017). "Inhibition of neutral sphingomyelinase decreases elevated levels of nitrative and oxidative stress markers in liver ischemia-reperfusion injury." *Redox Rep* 22(4): 147-159.

Vaarhorst, A. A., M. Beekman, et al. (2011). "Lipid metabolism in long-lived families: the Leiden Longevity Study." *Age (Dordr)* 33(2): 219-227.

van Smeden, J., M. Janssens, et al. (2014). "The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function." *Biochim Biophys Acta* 1841(3): 295-313.

Veldman, R. J., N. Maestre, et al. (2001). "A neutral sphingomyelinase resides in sphingolipid-enriched microdomains and is inhibited by the caveolin-scaffolding domain: potential implications in tumour necrosis factor signalling." *Biochem J* 355(Pt 3): 859-868.

Wakita, H., Y. Tokura, et al. (1994). "Keratinocyte differentiation is induced by cell-permeant ceramides and its proliferation is promoted by sphingosine." *Arch Dermatol Res* 286(6): 350-354.

Wennekes, T., R. J. van den Berg, et al. (2009). "Glycosphingolipids--nature, function, and pharmacological modulation." *Angew Chem Int Ed Engl* 48(47): 8848-8869.

Wertz, P. W. (2006). "Biochemistry of human stratum corneum lipids. In *Skin Barrier*." P. Elias and K. Feingold: 33-42.

Wertz, P. W. and D. T. Downing (1983). "Ceramide of pig epidermis: structure determination." *J Lipid Res* 24(6): 759-765.

Wertz, P. W., E. S. Cho, et al. (1983). "Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat." *Biochim Biophys Acta* 753(3): 350-355.

Wertz, P. W., M. C. Miethke, et al. (1985). "The composition of the ceramides from human stratum corneum and from comedones." *J Invest Dermatol* 84(5): 410-412.

Wiegmann, K., S. Schutze, et al. (1994). "Functional dichotomy of neutral and acidic sphingomyelinases in tumor necrosis factor signaling." *Cell* 78(6): 1005-1015.

Wijesinghe, D. S., M. Brentnall, et al. (2014). "Ceramide kinase is required for a normal eicosanoid response and the subsequent orderly migration of fibroblasts." *J Lipid Res* 55(7): 1298-1309.

Wilkening, G., T. Linke, et al. (1998). "Lysosomal degradation on vesicular membrane surfaces. Enhanced glucosylceramide degradation by lysosomal anionic lipids and activators." *J Biol Chem* 273(46): 30271-30278.

Williams, H. C., R. P. Dellavalle, et al. (2012). "Acne vulgaris." *Lancet* 379(9813): 361-372.

Wright, S. C., H. Zheng, et al. (1996). "Tumor cell resistance to apoptosis due to a defect in the activation of sphingomyelinase and the 24 kDa apoptotic protease (AP24)." *FASEB J* 10(2): 325-332.

Xiao, C. and S. Ghosh (2005). "NF-kappaB, an evolutionarily conserved mediator of immune and inflammatory responses." *Adv Exp Med Biol* 560: 41-45.

Yamagata, M., K. Obara, et al. (2011). "Sphingolipid synthesis is involved in autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*." *Biochem Biophys Res Commun* 410(4): 786-791.

Yamagata, M., K. Obara, et al. (2013). "Unperverted synthesis of complex sphingolipids is essential for cell survival under nitrogen starvation." *Genes Cells* 18(8): 650-659.

Yamamoto, A., K. Takenouchi, et al. (1995). "Impaired water barrier function in acne vulgaris." *Arch Dermatol Res* 287(2): 214-218.

Yatomi, Y., Y. Igarashi, et al. (1997). "Sphingosine 1-phosphate, a bioactive sphingolipid abundantly stored in platelets, is a normal constituent of human plasma and serum." *J Biochem* 121(5): 969-973.

Yeboah, J., C. McNamara, et al. (2010). "Association of plasma sphingomyelin levels and incident coronary heart disease events in an adult population: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30(3): 628-633.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sabriye	Uyruğu	T.C
Soyadı	KAYA	Tel no	0538 593 4015
Doğum tarihi	13/03/1992	e-posta	kayasabriye7@gmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Aksu Lisesi	2009
Lisans	Ege Üniversitesi-Biyokimya Bölümü	2015
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi-Tıbbi Biyokimya ABD	2018
Doktora		

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YÖKDİL	63,75