

ARAŞTIRMA

Behçet hastalarında oksidatif stress ve antioksidan savunma mekanizması

Uğurcan Keskin¹, Emre Ayıntap¹, Oktay Hasan Öztürk², Hüseyin Özyurt³, Mesut Coşkun¹,
Özgür İlhan¹, Esra Ayhan Tuzcu¹

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

²Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

³Gaziosman Paşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı Behçet Hastalığı'nın aktif ve inaktif dönemlerinde oksidan /antioksidan sistemin durumunu değerlendirmek için serum malondialdehid, nitrik oksit seviyeleri ile glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin ölçülmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza Behçet Hastalığı tanısı almış 22 hasta dahil edildi. Klinik değerlendirmede klinik semptomlarda kötüleşme ve üveiti olan hastalar aktif dönem olarak değerlendirildi. Nitrik oksidin in vitro ve in vivo üretiminin göstergesi olan nitrit miktarı Griess reaksiyonu ile ölçüldü. Serum malondialdehid seviyesi, malondialdehidin tiyobarbitürik asit ile 90-100 °C'de reaksiyona girmesine dayanan bir metot ile ölçüldü. Toplam süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümü, xanthine/xanthine oksidasyon sistemi ile elde edilen O₂ ile nitroblue tetrazolyumun indirgenmesinin inhibisyonuna dayanan yöntem ile ölçüldü. Glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine metodu ile ölçüldü.

Bulgular: Aktif dönemdeki malondialdehid (aktif: 2,927 ± 0,292 µmol / L, inaktif: 2,145 ± 0,188 µmol / L) ve nitrik oksit (aktif: 115,03 ± 3,28 µmol / L, inaktif: 78,20 ± 5,33 µmol / L) seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,05). Glutatyon peroksidaz (aktif: 89,170 ± 5,83 U / L, inaktif: 140,99 ± 11,10 U / L) ve süperoksit dismutaz (aktif: 6,094 ± 0,467 U / L, inaktif: 7,688 ± 0,429 U / L) aktivitelerinde ise aktif dönemde inaktif dönem ile kıyaslandığında anlamlı azalma tespit edildi (p<0,05)

Sonuç: Bu bulgular Behçet Hastalığı'nda oksidan/antioksidan dengenin bozulduğunu ve oksidatif stres olarak adlandırılan durumun oluştuğunu desteklemektedir. Behçet Hastalığı'nın şiddeti de bozulmuş olan antioksidan mekanizmaya bağlı olabilir. Bu bulgular hastalığın patogenezi ve prognozu ile ilgili bilgilere katkı sağlamaktadır ve konu ile ilgili yeni çalışmalara olan ihtiyacı göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Behçet Hastalığı, malondialdehid, nitrik oksit, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz.

Yazışma Adresi:

Dr.Uğurcan Keskin
ugurcankeskin@gmail.com
Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi
Göz Hastalıkları Anabilim Dalı
Serinyol/Antakya
Tel: cep:05458933393
Hastane: 03262291000-2856

Oxidative stress and antioxidant defence system In patients with behcet's disease

Abstract

Aim: The purpose of this study was to evaluate the serum malondialdehyde, nitric oxide levels, glutathione peroxidase and superoxide dismutase

activities in patients with Behçet's Disease both in their active and inactive periods to assess the oxidant/antioxidant status.

Material and Methods: Twenty two patients with Behçet's disease were included to the study. Patients with worsening of clinical symptoms along with having uveitis were considered to be in active period. Quantitation of nitrite, which is an indicator of nitric oxide in vivo and in vitro, is based on Griess reaction. Serum malondialdehyde concentrations were determined by a method based on the reaction with thiobarbituric acid. Total superoxide dismutase activity was determined by the inhibition of nitroblue tetrazolium reduction by O₂ generated by the xanthine/ xanthine oxidizing system. Glutathione peroxidase activity was measured with the method of Paglia and Valentine.

Results: Malondialdehyde activity (active: 2,927 ± 0,292 µmol / L, inactive: 2,145 ± 0,188 µmol / L) and nitric oxide (active: 115,03 ± 3,28 µmol / L, inactive: 78,20 ± 5,33 µmol / L) levels in active period were increased significantly (p<0,05). Whereas, the activities of glutathione peroxidase (active: 89,170 ± 5,83 U / L, inactive: 140,99 ± 11,10 U / L) and superoxide dismutase (active: 6,094 ± 0,467 U / L, inactive: 7,688 ± 0,429 U / L) were decreased significantly in active period (p<0,05).

Conclusion: Our findings confirm the presence of deteriorated oxidant/antioxidant equilibrium in favour of oxidative stress. The severity of Behçet's disease may be arise from impaired antioxidant mechanisms.

Key words: Behçet's disease, malondialdehyde, nitric oxide, superoxide dismutase, glutathione peroxidase

Behçet hastalığı (BH) ilk olarak bir Türk hekimi olan Hulusi Behçet tarafından 1937 yılında tanımlanmıştır. Eklemleri, gözleri, vasküler ve pulmoner sistemi, mukokutanöz alanları ve gastrointestinal sistemleri tutan sistemik bir hastalıktır. Tarihi İpek yolu boyunca bulunan Japonya, Kore, Çin, Irak, İran ve Türkiye'de daha sık görülen BH (1), oral aftöz ülserler, genital ülserler, cilt lezyonları ve üveit ile karakterizedir. Etiyolojisi kesin bilinmemekle birlikte otoimmün, genetik, çevresel ve biyolojik faktörler üzerinde durulmuştur.

Perivasküler dokuları ve vasküler duvarı tutan vaskülit BH'nın tipik özelliğidir (2). Bu lezyonların oluşumunda endotelial disfonksiyonun merkezi bir rol oynadığı düşünülmüştür. Oksidan/antioksidan sistemdeki dengesizliğe bağlı olarak artış gösteren Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) hastalıkta önemli rol oynadığı ile ilgili bulgular artmıştır (3). BH'daki doku hasarında nötrofillerin ana rol üstlenen hücreler olduğu gösterilmiştir (4). Nötrofiller

tarafından salgılanan ROT lipid ve protein peroksidasyonuna yol açabilir.

Nitrik oksid (NO), konstrantasyonuna ve salgılandığı yere bağlı olarak pro ve antiinflamatuvar etkisi olan yüksek reaktivitesi olan bir moleküldür (5). Güçlü bir sitotoksik ajan olan NO ve süperoksid anyonların bol bulunduğu ortamda spontan olarak çok güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşur (6).

Plazmada, organlarda ve hücre membranı gibi lipid sistemlerde lipid hasarının yayılımını açığa çıkarmak için malondialdehid (MDA) seviyelerinin spesifik olarak ölçümü kullanışlı bir yöntemdir (7). Glutathione peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksid dismutaz gibi enzimatik antioksidanlar serbest radikallerin ve serbest radikal süpürücülerin doku konsantrasyonlarını sınırlarlar.

Bu çalışmanın amacı BH'nın aktif ve inaktif dönemlerinde oksidan /antioksidan sistemin durumunu değerlendirmek için serum MDA, NO seviyeleri, GSH-Px ve SOD enzim aktivitelerinin ölçülmesidir.

Gereç ve Yöntem

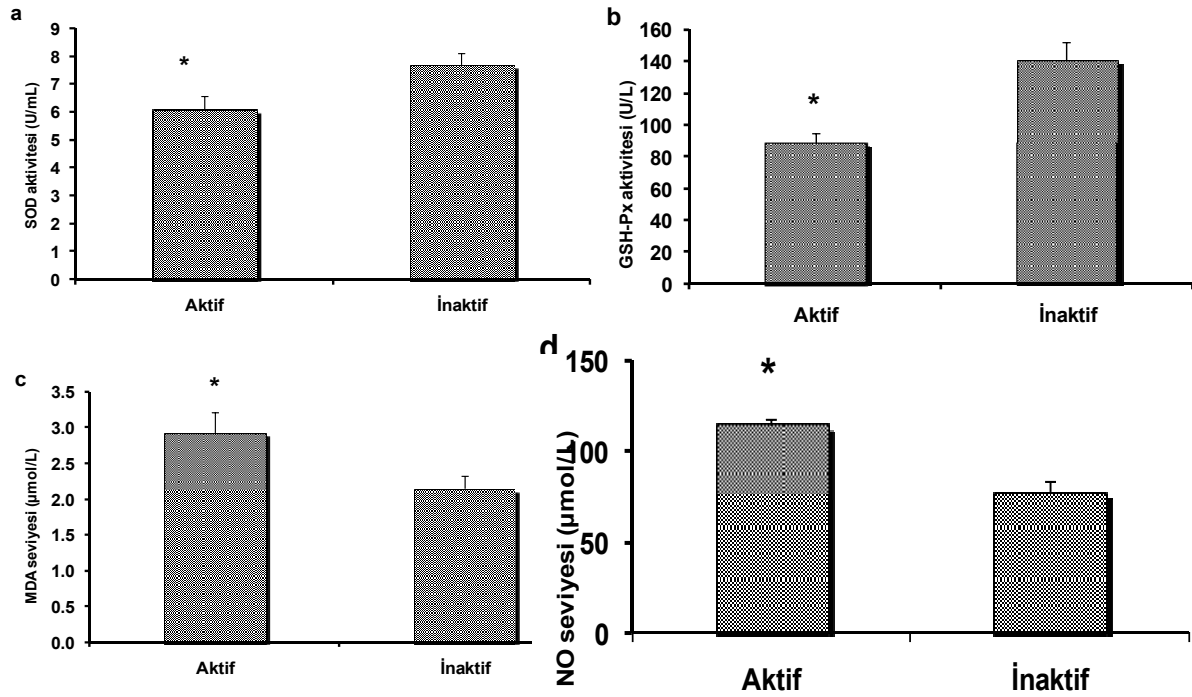
Hastalar:

Çalışmamız Göz Hastalıkları kliniğimize başvuran ve BH tanısı almış 22 hastada yapıldı. Bu hastalar bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra hastalığın aktif döneminde çalışmaya dahil edildi. Teşhis 'Behçet hastalığı için Uluslararası Çalışma Grubu'nun belirlediği kriterlere göre konuldu (8). Tüm hastalar Dermatoloji bölümüne konsülte edildi. Hastalığın aktif ve inaktif dönemleri klinik bulgulara göre konuldu. Klinik değerlendirmede klinik semptomlarda kötüleşme ve üveiti olan hastalar aktif dönem olarak değerlendirildi. Hiçbir hastaya standardize diyet verilmedi. Hepatik ve renal hastalığı (Kronik böbrek yetmezliği), diyabeti, esansiyel hipertansiyonu olan veya sistemik ilaç tedavisi (örn: steroidler, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar) alan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Panüveiti olan hastalara sistemik kortikosteroid, topikal kortikosteroid ve sikloplejin verildi. Sadece iridosikliti olan hastalara ise topical kortikosteroid ve sikloplejin verildi. Hastalığın aktivitesinin azalması ile birlikte ilaç dozları da kademeli olarak azaltılarak kesildi. Tedaviler yaklaşık olarak iki buçuk ay sürdü.

Biyokimyasal analizler:

12 saat açlıktan sonra antikoagulan içermeyen tüplere 10cc venöz kan alındı. Serum elde etmek için 3,000g ile 10 dakika boyunca +4°C'de kan örnekleri santrifuj edildi. Analizlerden önce kan



Şekil 1. BH hastalarında aktif ve inaktif dönemde, plazma superoksit dismutaz (SOD) aktivitesi (a), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi (b), MDA seviyeleri (c), ve nitrik oksit (NO) seviyeleri (d). *: $p < 0.05$ aktif dönem inaktif dönem ile karşılaştırıldığında. (ANOVA testi kullanıldı).

örnekleri -70°C 'de depolandı. Tüm kimyasallar Sigma (St.Lois, Mo., USA) firmasından temin edildi.

NO kısa zamanda başka moleküllere dönüştüğü için tespit edilmesi zordur. NO'nin stabil oksidasyon son ürünü olan nitrit (NO_2) ve nitrat biyolojik sıvılarda tespit edilebilir ve NO in vitro ve in vivo üretiminin göstergesidir (9, 10). Bu nedenle serum NO_2 ve NO_3 seviyeleri NO üretiminin göstergesi olarak değerlendirilir. Örnekler ilk olarak Somogy ajanı ile deproteinize edildi. Toplam nitrit seviyesi (nitrit + nitrat), nitratın bakırlı cadmium granülleri ile pH 9.7'da (4ml karışım için 2.5-3.0g Cd granülü) tamponlanarak indirgenmesi ile ölçüldü. NO_2 ölçümü, naftiletilediamin ve sulfanilamide karışımı ile nitritin reaksiyonu sonucu oluşan 540nm'de güçlü emilimi olan kromofor oluşturan Griess reaksiyonu ile ölçüldü (11).

Serum MDA seviyesi, MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile $90-100^{\circ}\text{C}$ 'de reaksiyona girmesine dayanan bir metod ile ölçüldü (12). TBA testinde, MDA veya MDA benzeri maddeler TBA ile reaksiyona girerek 532nm'de maksimum absorpsiyon gösteren pembe pigment oluştururlar. Reaksiyon pH 2-3 seviyesinde ve 90°C sıcaklıkta 15 dakika süreyle yapıldı. Proteini çöktürmek için, örnek 2 hacim soğuk %10 (W/v) triklorasetikasit ile karıştırıldı. Presipitat santrifuj

ile pelletlendi ve süpernatantın bir kısmı eşit hacimde (0.67% (W/v)) TBA ile 10 dakika süreyle kaynar su havuzunda reaksiyona sokuldu. Soğutmadan sonra, absorbans 532nm'de ölçüldü (Ultraspec plus, pharmacia LKB Biochrom Ltd., England).

Toplam SOD (EC 1.15.1.1) aktivitesi ölçüm metodu, xanthine/xanthine oksidasyon sistemi ile elde edilen O_2 ile nitroblue tetrazolyumun indirgenmesinin inhibisyonuna dayanır. Aktivite serumun etanol fazında, 1.0 ml etanol-kloroform karışımının (5;3, v/v) aynı miktarda serum ile karıştırılıp santrifuj edilmesinden sonra değerlendirildi. Bir ünite SOD, %50 nitroblue tetrazolyumun indirgenmesi için gerekli olan enzim miktarı olarak belirlendi. Aktivite U/ml olarak belirtildi.

GSH-Px (EC 1.6.4.2) aktivitesi Paglia ve Valentine metodu ile ölçüldü (14). Enzimatik reaksiyon, GSH, NADPH ve glutatyon redüktaz içeren karışıma H_2O_2 eklenmesiyle inhibe edildi. Absorpsiyondaki 340 nm değişim spektrofotometre ile kaydedildi. Aktivite (U/l) olarak verildi.

İstatistiksel analiz:

İstatistiksel analizler windows için SPSS program ile yapıldı. Gruplar arasındaki farkın gösterilmesinde varyansın ANOVA tek-yön analizi ve post-hoc çoklu karşılaştırma testi

kullanıldı (en az anlamlı fark). Two-tailed significance değerleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

Aktif dönemdeki MDA (aktif: $2,927 \pm 0,292$ $\mu\text{mol} / \text{L}$, inaktif: $2,145 \pm 0,188$ $\mu\text{mol} / \text{L}$) ve NO (aktif: $115,03 \pm 3,28$ $\mu\text{mol} / \text{L}$, inaktif: $78,20 \pm 5,33$ $\mu\text{mol} / \text{L}$) seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). GSH-Px (aktif: $89,170 \pm 5,83$ U / L, inaktif: $140,99 \pm 11,10$ U / L) ve SOD (aktif: $6,094 \pm 0,467$ U / L, inaktif: $7,688 \pm 0,429$ U / L) aktivitelerinde ise aktif dönemde, inaktif dönem ile kıyaslandığında anlamlı azalma tespit edildi ($p < 0,05$) (Şekil.1).

Tartışma

BH hastalığının patogenezi hastalığın intermitan yapısı ve tedaviye tatmin edici cevap vermemesi yüzünden iyi anlaşılammıştır. Bununla beraber enfeksiyöz ajanlar (15), genetik (16), immun sistem bozukluğu ve enflamatuar mediyatörler (17), lipid peroksidasyonu (LPO) ve oksidatif stress (18) etiyopatogeneze etkili olduğu düşünülen muhtemel faktörlerdir. Sebep ne olursa olsun histopatolojik olarak görülen bulgu, perivasküler dokuları ve vasküler duvarı tutan vaskülitir. Buna ek olarak BH hastalığının karakteristik özelliği olan endotelial disfonksiyon bu lezyonların meydana gelmesinde merkezi bir rol oynar.

Endotelin NO sentezi gibi önemli fonksiyonları olduğu bilinmektedir. NO üretimi, sitokinler, IF- γ , lipopolisakaritler ve endotoksinler (19) gibi immünolojik, enfeksiyöz ve enflamatuar uyaranlar ile endotel tarafından yapılır ve endotelial fonksiyonları, thrombozu, homeostazi, enflamasyonu ve immune cevabı düzenler (20). Diğer taraftan, NO'nun kardivasküler, immünolojik, nörolojik, enfeksiyonlar ve kanser gibi bazı patolojilere katkı sağladığı bilinmektedir (21).

Serbest oksijen radikali olan NO'nun fazla üretimi sonucunda; NO molekülünün direkt toksik etkisi ile veya süperoksid radikali ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan peroksinitrit molekülünün toksik etkisi ile endotelde hasar meydana gelir (6). NO, üveal enflamasyonun önemli bir mediyatörüdür ve NO sentaz aktivitesi deneysel olarak üveal dokuda gösterilmiştir (22).

Kırza ve ark. (23), Evereklioğlu ve ark (24). çalışmalarında da olduğu gibi bu çalışmada da NO seviyelerinin aktif dönemde, inaktif dönem ile kıyaslandığında, anlamlı olarak arttığı görüldü. Başka bazı çalışmalarda ise NO

seviyelerinin BH hastalarında azaldığı bulunmuştur (25, 26).

Orem ve ark. (27) yaptığı çalışmada, BH'nin aktif döneminde inaktif dönem ile kıyaslandığında NO seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Yazarlar bu durumu BH'da görülen endotelial disfonksiyon ile açıklamışlar ve BH'da NO miktarındaki azalmanın, trombotik olayların veya diğer patofizyolojik değişikliklerin meydana gelmesinde kritik bir rolü olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda NO'nun BH'nin seyrindeki rolü ile ilgili veriler artmaktadır. Bu çalışmalarda, BH'da serum (18) ve eritrosit (28) NO seviyelerinin arttığı ve bunun hastalığın aktivitesi ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Bu sonucu destekleyen benzer bulgular başka çalışmalarda da gösterilmiştir (29, 30). Buna ek olarak, aköz hüümörde NO seviyelerinin BH'da arttığı gösterilmiştir (31).

Tüm bu bulgular BH'da NO miktarı artışının, hastalığıdaki enflamatuar süreçten sorumlu olabileceğini ve NO seviyelerinin hastalığın şiddeti ve aktivitesi üzerinde önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir.

Membran lipidlerinin oksidasyonu oksidatif hücrel hasarda primer bir olaydır. ROS tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonun derecesinin belirlenmesi en sık olarak MDA gibi yıkım ürünlerinin ölçülmesi ile belirlenir (18,32). Türkmen ve ark. (33) ve Köse ve ark. (34) çalışmalarında belirtildiği gibi bu çalışmada da, aktif dönemdeki hastalarda MDA seviyeleri inaktif dönem ile kıyaslandığında artmış olarak bulundu. MDA seviyesindeki bu artış BH'daki oksidatif stres varlığını destekler ve aktif dönemdeki hastalarda düşük olarak bulunan GSH-Px plazma aktivitesini açıklar.

Süperoksit anyon fazla üretimi, adenozin deaminaz aktivitesinin (ADA) artması (nötrofil fonksiyon aktivasyonun, kemotaksisin ve fagositozun göstergesidir), bununla beraber hidrojen peroksit ile indüklenmiş hidroksil radikalleri, özellikle hastalığın alevlenme döneminde, nötrofil kaynaklı immüniteyi ve artmış ROS üretiminin göstergesidir (35, 36).

BH'da, SOD ve GSH-Px aktivitelerinin hem arttığını hem azalttığını gösteren çalışmalar vardır (18, 37). Bazı çalışmalarda da bu enzim aktivitelerinde anlamlı değişiklik bulunamamıştır (33). Bizim çalışmada ise SOD ve GSH-Px aktivitelerinde inaktif dönem ile kıyaslandığında aktif dönemde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, bu bulgular BH'da ROS üretiminin arttığını, oksidan/antioksidan dengesinin bozulduğunu ve oksidatif stress olarak

adlandırılan durumun oluştuğunu desteklemektedir. BH şiddeti de bozulmuş olan antioksidan mekanizmaya bağlı olabilir. Antioksidanlarla tedavi antioksidan savunma sisteminin güçlenmesini ve klinik semptomlarda düzelmeyi sağlayabilir. Bu bulgular hastalığın patogenezi ve prognozu ile bilgilere katkı sağlamaktadır ve konu ile ilgili yeni çalışmalara olan ihtiyacı göstermektedir.

Kaynaklar

1. Dilsen N. History and development of Behcet's disease. *Rev Rhum Engl Ed* 1996; 63:512-9.
2. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behcet's Disease. *N Engl J Med* 1999;341:1284-91.
3. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997;82:291-5.
4. Niwa Y, Miyake S, Sakane T, Shingu M, Yokoyama M. Auto-oxidative damage in Behcet's disease – endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. *Clin Exp Immunol* 1982;49:247-55.
5. Stichtenoth D, Frolich JC. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *Br J Rheumatol* 1998;37:246-57.
6. Beckman J, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996;271:C1424-37.
7. Noyan T, Sahin I, Sekeroglu MR, Dulger H. The serum vitamin C levels in Behcet's disease. *Yonsei Med J* 2003;44:771-8.
8. Disease ISGFs. Criteria for diagnosis of Behcet's disease. *Lancet* 1990;335:1078-80.
9. Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A, Uz E, Var A, Ozyurt H, Akyol O. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res* 2000;28:360-3.
10. Totan Y, Cekic O, Borazan M, Uz E, Sogut S, Akyol O. Plasma malondialdehyde and nitric oxide levels in age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1426-8.
11. Cortas N, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36:1440-3.
12. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990;186:407-21.
13. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.
14. Paglia D, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.
15. Direskeneli H. Behcet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis* 2001;60:996-1002.
16. Saenz A, Ausejo M, Shea B, Wells G, Welch V, Tugwell P. In: *Pharmacotherapy for Behcet's syndrome (Cochrane Review)* In: The Cochrane Library. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.; 2004.
17. Ghate J, Jorizzo JL. Behcet's disease and complex aphthosis. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:1-18.
18. Aydin E, Sogut S, Ozyurt H, Ozugurlu F, Akyol O. Comparison of serum nitric oxide, malondialdehyde levels, and antioxidant enzyme activities in Behcet's disease with and without ocular disease. *Ophthalmic Res* 2004;36:177-82.
19. Moshage H. Nitric oxide determinations: Much ado about NO-thing. *Clin Chem* 1997; 43:553-6.
20. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Pharmacol Rev. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. 1991;43:109-42.
21. Evereklioglu C. Current Concepts in the Etiology and Treatment of Behcet Disease. *Surv Ophthalmol* 2005;50:297-350.
22. Parks D, Cheung MK, Chan CC, Roberge FG. The role of nitric oxide in uveitis. *Arch Ophthalmol* 1994;112:544-6.
23. Kiraz S, Ertenli I, Calguneri M, Ozturk MA, Haznedaroglu IC, Altun B, Erman M, Celik I. Interactions of nitric oxide and superoxide dismutase in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:25-9.
24. Evereklioglu C, Turkoz Y, Er H, Inaloz HS, Ozbek E, Cekmen M. Increased nitric oxide production in patients with Behcet's disease: is it a new marker? *J Am Acad Dermatol* 2002; 46:50-4.
25. Gunduz K, Ozturk G, Sozmen EY. Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and plasma nitrite and nitrate levels in patients with Behcet disease and recurrent aphthous stomatitis. *Clin Exp Dermatol* 2004;29:176-9.
26. Yapislar H, Aydogan S, Borlu M, Ascioğlu O. Decreased nitric oxide and increased platelet aggregation levels in patients with Behcet's disease. *Thromb Res* 2007;119:461-5.
27. Orem A, Vanizor B, Cimsit G, Kiran E, Değer O, Malkoc M. Decreased nitric oxide production in patients with Behcet's disease. *Dermatology* 1999;198:33-6.
28. Evereklioglu C, Cekmen M, Ozkiris A, Karabas L, Calis M. The pathophysiological significance of red blood cell nitric oxide

-
- concentrations in inflammatory Behcet's disease. *Mediators Inflamm* 2003;12:255-6.
29. Akdeniz N, Esrefoglu M, Keles MS, Karakuzu A, Atasoy M. Serum interleukin- 2, interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and nitric oxide levels in patients with Behcet's disease. *Ann Acad Med Singapore* 2004;33:596-9.
30. Sancak B, Onder M, Oztas MO, Bukan N, Gürer MA. Nitric oxide levels in Behcet's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:7- 9.
31. Yilmaz G, Sizmaz S, Yilmaz ED, Duman S, Aydın P. Aqueous humor nitric oxide levels in patients with Behcet disease. *Retina* 2000;22:330-5.
32. Taysi S, Kocer I, Memisogullari R, Kiziltunc A. Serum oxidant/antioxidant status in serum of patients with Behcet's disease. *Ann Clin Lab Sci* 2002; 32:377-82.
33. Turkmen S, Ayabakan HB, Buldanlioglu S, Yenice N, Vardar M, Dogan S, Mercan E. Nitric oxide, lipid peroxidation and antioxidant defence system in patients with active or inactive Behcet's disease. *British Journal of Dermatology* 2005; 153:526-30.
34. Kose K, Yazici C, Cambay N, Ascioglu O, Dogan P. Lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in patients with Behcet's disease. *Tohoku J Exp Med* 2002; 197:9-16.
35. Erkilic K, Evereklioglu C, Cekmen M, Ozkiris A, Duygulu F, Dogan H. Adenosine deaminase enzyme activity is increased and negatively correlates with catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in patients with Behcet's disease: original contributions/clinical and laboratory investigations. *Mediators Inflamm* 2003;12:107-16.
36. Sogut S, Aydın E, Elyas H, Aksoy N, Ozyurt H, Totan Y, Akyol O. The activities of serum adenosine deaminase and xanthine oxidase enzymes in Behcet's disease. *Clin Chim Acta* 2002; 325:133-8.
37. Akar A, Arca E, Serdar MA, Akay C, Aydın A, Tastan HB, Gur AR. Correlation between erythrocyte antioxidant activity, lipid peroxidation, and disease activity in patients with Behcet's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:482-3.
-
-