SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAŞAKŞEHİR ÇAM VE SAKURA ŞEHİR HASTANESİ
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

FRANSIZ SAHİL ÇAMI KABUĞU ÖZÜTÜ (PİKNOGENOL) İLE YÜKLÜ LİPOZOMAL JEL FORMÜLASYONUNUN İMİKİMOD İLE İNDÜKLENEN FARE PSÖRİAZİS MODELİNDE TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Dr. Anıl Temiz

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL / 2025

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAŞAKŞEHİR ÇAM VE SAKURA ŞEHİR HASTANESİ
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

FRANSIZ SAHİL ÇAMI KABUĞU ÖZÜTÜ (PİKNOGENOL) İLE YÜKLÜ LİPOZOMAL JEL FORMÜLASYONUNUN İMİKİMOD İLE İNDÜKLENEN FARE PSÖRİAZİS MODELİNDE TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Dr. Anıl Temiz

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zafer Türkoğlu

Yardımcı Danışman: Doç. Dr. Ayşe Nilhan Atsü

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL / 2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve çalışmam boyunca yol göstericiliği, sabrı ve bilimsel katkılarıyla bana rehberlik eden klinik sorumlumuz tez danışmanım değerli hocam sayın Prof. Dr. Zafer Türkoğlu'na, yardımcı tez danışmanlığı görevini büyük bir özveriyle sürdüren, değerli katkıları ve bilimsel bakış açısıyla çalışmama önemli katkılarda bulunan Doç. Dr. Ayşe Nilhan Atsü'ye, ayrıca tecrübelerinden faydalandığım, beraber çalışmaktan çok keyif aldığım ve desteklerini her aşamada hissettiğim sayın hocalarım Prof. Dr. Derya Uçmak, Prof. Dr. Göknur Özaydın Yavuz, Doç. Dr. İbrahim Halil Yavuz ve Dr. Öğretim Üyesi Nazlı Caf'a,

Uzmanlık eğitimimin başlangıcından itibaren her zaman yanımızda olan, bilgi ve tecrübeleriyle yolumuzu aydınlatan, bizlere bir anne şefkatiyle yaklaşan ve mesleki gelişimimize değerli katkılarda bulunan Dr. Öğretim Üyesi Harbiye Dilek Canat'a,

Kendileriyle birlikte çalışmaktan gurur duyduğum, eğitim hayatımda tecrübelerinden faydalandığım Doç. Dr. Esma İnan Yüksel, Dr. Öğretim Üyesi Ozan Erdem, Uzm. Dr. Bilgen Erdoğan, Uzm. Dr. Şenay Ağırgöl, Uzm. Dr. Yusuf Kelleci, Uzm. Dr. Meryem Ayşit, Uzm. Dr. Armağan Kutlay, Uzm. Dr. Gizem Pınar Sun ve Uzm. Dr. Gülşah Koçak'a,

Tez çalışmam süresince bilgilerinden faydalandığım, desteklerini yanımda hissettiğim ve beraber çalışmaktan keyif aldığım Prof. Dr. Burcu Gemici Başol, Prof. Dr. Fatmagül Kuşku Çabuk, Doç. Dr. Ecz. İsmail Aslan, Uzm. Dr. Elif Gökçe Devecioğlu Gürşen, Dr. Engin Sümer ve Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi veteriner hekimleri ve değerli Teknopark İstanbul SFA AR-GE laboratuvar çalışanlarına,

Asistanlığım süresince bilgi ve birikimlerinden yararlandığım, desteğini bizden esirgemeyen büyüklerim, Uzm. Dr. Baran Cayhan, Uzm. Dr. Yunus Meydan, Uzm. Dr. Meltem Hüdaverdi, Uzm. Dr. Cem Hekimoğlu, Uzm. Dr. Görkem Oruç Adalı, Uzm. Dr. Kübra Kılıçparlar, Uzm. Dr. Sefa Yüksel ve Uzm. Dr. Ozan Yıldırım'a,

Asistanlık dönemimde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli meslektaşlarım Dr. Burak Ünlü, Dr. Osman Gökdeniz, Dr. Kamer Faruk Coşkun, Dr. Elif Çetinkaya, Dr. Rumeysa Nur Algan Coşkun, Dr. Büşra Zıplar, Dr. Yunus Kaplan, Dr. Dilay Baştuğ, Dr. Murat Doğan, Dr. Burak Yıldız, Dr. Ali Mert Gök, Dr. Berçem İrem Doğan ve Dr. İkram Kevser Atilla'ya,

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve uzmanlık eğitimim boyunca çalışma ortamımızı güzelleştiren değerli hemşirelerimiz Zeynep Portakal, Asya Yünkül, Hacer Acar ve tıbbi sekreterlerimiz Yusuf Uyman, Bilal Yıldırım, Tuğçe Gedik ve Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Dermatoloji Kliniği'nde olan diğer tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan ve üniversite yıllarından bu yana desteğini her daim hissettiğim, varlığı güven veren can dostum Uzm. Dr. Mehmet Kaya'ya,

Doğduğum günden beri üzerime titreyen, hiçbir zaman hakkını ödeyemeyeceğim, beni yetiştiren ve bugünlere gelmemi sağlayan canım anneme ve babama,

Hayata gözlerimi açtığım günden beri yanımda olan değerli ikizim aynı zamanda en yakın arkadaşım, ailemizin diş hekimi Aylin Temiz Konuş ve değerli eşi Dr. Fırat Konuş'a; ayrıca hayatımıza neşe, anlam ve tarifsiz bir sevgi katan; gülüşüyle yorgunluğumu unutturan, minik kalbiyle bana kocaman bir dünyanın kapılarını aralayan aslan yeğenim Yiğit Aren'e

Son olarak da meslektaş olmayı dört gözle beklediğim canım kardeşim Sudenaz'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Anıl Temiz

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
SİMGELER VE KISALTMALAR vi
TABLO LİSTESİ ix
ŞEKİL LİSTESİ x
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ 1
2.GENEL BİLGİLER 3
2.1. PSÖRİAZİS 3
2.1.1 Tanım 3
2.1.2 Tarihçe 3
2.1.3 Epidemiyoloji 3
2.1.4 Etiyoloji 4
2.1.5 Patogenez 6
2.1.6 Klinik 9
2.1.7 Tanı 13
2.1.8 Ayırıcı Tanı 14
2.1.9 Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi 14
2.1.10 Tedavi 15
2.2. PİKNOGENOL 20
2.2.1 Tarihçesi 21
2.2.2 Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Özellikleri 21
2.2.3 Farmakolojik Etkileri 22
2.2.4 Yan Etkileri ve Güvenlik Verileri 26
2.3. LİPOZOM 26
2.3.1 Lipozomların Hazırlanması 28
2.3.2. Lipozomların Karakterizasyonu 29
2.4. JEL ve JEL SİSTEMLERİ 30
2.5. LİPOZOMAL JEL 32
2.6. FARE PSÖRİAZİS MODELLERİ 33
2.6.1 İmikimod ile İndüklenmiş Fare Psöriazis Modeli 33
3.GEREÇ VE YÖNTEM 35

3.1. ETİK KURUL ONAYI VE ALINAN DESTEKLER 35
3.2. DENEY HAYVANLARI 35
3.3. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR 36
3.4. PİKNOGENOL YÜKLÜ LİPOZOMAL JELİN ÜRETİMİ 37
3.4.1 Lipozom Veziküllerinin Hazırlanması 37
3.4.2 Piknogenol Yüklü Lipozom Veziküllerinin Hazırlanması 38
3.4.3 Taşıyıcı Baz Jel Hazırlanması 39
3.4.4 Lipozom Veziküler Taşıyıcı Jel Hazırlanması ve Karakterizasyon Tayini 39
3.4.5 Piknogenol Yüklü Lipozomal Jel Hazırlanması ve Karakterizasyon Tayini 39
3.5. FARE PSÖRİAZİS MODELİNİN OLUŞTURULMASI VE DENEY GRUPLARININ BELİRLENMESİ 40
3.5.1 Deney Grupları 41
3.6. FARE PSÖRİAZİS MODELİNDE MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRMELER 43
3.6.1 Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksinin (PAŞİ) Hesaplanması ve Görüntülenmesi 43
3.6.2 Kulak Kalınlıklarının Ölçümü ve Görüntülenmesi 44
3.6.3 Dalak Ağırlık ve Uzunluk Ölçümlerinin Belirlenmesi 44
3.7. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER 45
3.7.1 Sırt Derisi Histopatolojik İnceleme 45
3.7.2 Sırt Derisi Epidermal Kalınlık Ölçümleri 47
3.7.3 Dalak Histopatolojik İnceleme 47
3.8. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEMELER 47
3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER 49
3.10. ÇIKAR ÇATIŞMASI 49
4.BULGULAR 50
4.1. JEL FORMÜLASYONLARININ FİZİKOKİMYASAL VE YAPISAL KARAKTERİZASYONU 50
4.1.1 Lipozomal Jel Bazının Karakterizasyonu 50
4.1.2 Piknogenol Yüklü Lipozomal Jelin Karakterizasyonu 51
4.2. FARE PSÖRİAZİS MODELİNDE MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRMELER VE SONUÇLARI 53
4.2.1 PAŞİ Skorunun Değerlendirilmesi 53

4.2.2 Sağ Kulak Kalınlık Ölçüm Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Görüntüleri 59
4.2.3 Dalak Uzunluk ve Ağırlık Ölçümlerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi 62
4.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMELER VE SONUÇLARI 64
4.3.1 Sırt Derisinin Histopatolojik Değerlendirilmesi ve Sonuçları 64
4.3.2 Sırt Derisi Epidermal Kalınlık Ölçüm Sonuçlarının Değerlendirilmesi 66
4.3.3 Dalak Dokusunun Histopatolojik Değerlendirilmesi ve Sonuçları 69
4.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRMELER VE SONUÇLARI 71
4.4.1 TNF-α Antikoru ile Yapılan İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları .. 71
4.4.2 IL-17 Antikoru ile Yapılan İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları 73
5.TARTIŞMA 76
6.SONUÇLAR 92
KAYNAKLAR 93
EKLER 103
EK 1. TEZ KONUSU ONAY FORMU 103
EK 2. ETİK KURUL KARARI 104
EK 3. LİPOZOMAL JEL BAZI ANALİZ RAPORU 105
EK 4. %5 PİKNOGENOL YÜKLÜ LİPOZOMAL JEL ANALİZ RAPORU 107
ÖZGEÇMİŞ 109

SİMGELER VE KISALTMALAR

CD: Yüzey Farklılaşma Antijeni

CLO: Klobetazol propiyonat

cP: Centipoise, akışkanlık birimi

DGD: Doktor Global Değerlendirmesi (Physicians Global Assessment)

DH: Dentritik Hücre

DLS: Dinamik Işık Saçılımı Tekniği (Dynamic Light Scattering Technique)

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DYKİ: Dermatolojik Yaşam Kalite İndeksi (Dermatology Life Quality Index)

e-NOS: endotelyal-Nitrik Oksit Sentaz

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi

Foxp3: Forkhead kutusu proteini P3 (Forkhead box protein P3)

FTU: Parmak Ucu Ünitesi (Finger Tip Unit)

GPP: Generalize Püstüler Psöriazis

H&E: Hematoksilen & Eozin

HaCaT: İnsan erişkin keratinosit kökenli ölümsüz hücre hattı

HIV: İnsan İmmün Yetmezliği Virüsü (Human Immunodeficiency Virus)

HLA-C: İnsan Lökosit Antijeni Sınıf (Human Leucocyte Antigen, Class)

ICAM-1: Hücrelerarası Adhezyon Molekülü-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1)

IFN: İnterferon

IL: İnterlökin

IMQ: İmikimod (Imiquimod)

İHK: İmmünohistokimyasal

LJB: Lipozomal jel bazı

LL37: Leucine-Leucine 37

M.Ö: Milattan önce

M.S: Milattan sonra

mDH: Miyeloid Dendritik Hücreler

MHC: Majör doku uyumluluk kompleksi (Major Histocompatibility Complex)

MLV: Çok Tabakalı Vezikül (Multi Lamellar Vesicles)

mM: Milimolar

MMP: Matriks Metalloproteinazlar

mRNA: Haberci Ribonükleik Asit (Messenger Ribonucleic Acid)

MTX: Metotreksat

mV: Milivolt

NC: Negatif kontrol (Negative Control)

NF-κB: Nükleer Faktör-Kappa

NK: Doğal Katil (Natural Killer)

NKT: Doğal Katil T Hücreleri

nm: Nanometre

p: İstatistiksel anlamlılık göstergesi

PAŞİ: Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi

pDH: plazmositoid Dentritik Hücreler

Pdl: Polidispersite indeksi

PSORS1: Psöriazis duyarlılık gen lokusu 1

PUVA: Psoralenli ultraviyole A

PYC: Piknogenol (Pycnogenol)

RAR: Retinoik Asit Reseptör

RNA: Ribonükleik Asit

ROR: Retinoik asit ilişkili yetim reseptör (Retinoic acid-related Orphan Receptor)

SUV: Küçük Tek Tabakalı Vezikül (Small Unilamellar Vesicles)

Th: T yardımcı

TKS: Topikal Kortikosteroid

TLR: Toll-Benzeri Reseptör (Toll -Like Receptor)

TNF: Tümör Nekroz Faktör

Treg: T regülatör

USP-NF: Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi-Ulusal Formüller

UV: Ultraviyole

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü:

VYA: Vücut Yüzey Alanı (Body Surface Area)

α: Alfa

β: Beta

γ: Gama

μm: Mikrometre

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Psöriaziste gözlenen klinik fenomenler ve tanımları 10
Tablo 2. Lipozomların tabaka sayısı ve boyutlarına göre sınıflandırılması 27
Tablo 3. Lipozomların içerik ve hücre içi ilaç taşıma mekanizmalarına göre sınıflandırılması 28
Tablo 4. Lipozom hazırlama yöntemleri ve bu yöntemlerin avantajları, dezavantajları 29
Tablo 5. Lipozomlarda kullanılan karakterizasyon parametreleri ve analiz yöntemleri 30
Tablo 6. Deney esnasında ve sonrasında kullanılan kimyasal madde, cihazlar ve kullanım amaçları 36
Tablo 7. Formülasyonların Fiziksel Karakterizasyonunun Tespitinde Kullanılan Yöntemler ve Cihazlar 40
Tablo 8. Deney grupları ve uygulama özellikleri 42
Tablo 9. Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) Skor Tablosu 43
Tablo 10. Baker Skor Tablosu 46
Tablo 11. İmmünohistokimyasal boyanma skor tablosu 49
Tablo 12. Lipozomal jel bazına ait karakterizasyon verileri 51
Tablo 13. %5 Piknogenol yüklü lipozomal jel bazına ait karakterizasyon verileri 52
Tablo 14. Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi parametrelerinin günlere göre değişiminin incelenmesi 54
Tablo 15. Psöriazis Alan ve Şiddeti İndeksi, eritem ve skuam parametrelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması 55
Tablo 16. Psöriazis Alan Şiddeti İndeksi indurasyon ve toplam PAŞİ skorunun gruplar arası ikili karşılaştırması 56
Tablo 17. Farelerin sağ kulak kalınlıklarının günlere göre değişiminin incelenmesi 59
Tablo 18. Farelerin sağ kulak kalınlıklarının gruplar arası ikili karşılaştırması 60
Tablo 19. Farelerin dalak uzunluk ve ağırlık ölçümlerinin incelenmesi 63
Tablo 20. Farelerin dalak uzunluk ve ağırlıklarının gruplar Arası ikili karşılaştırması 63
Tablo 21. Farelerin histopatolojik Baker skor değerlerinin incelenmesi 66
Tablo 22. Farelerin sırt derisi epidermal kalınlıklarının incelenmesi 67
Tablo 23. Farelerin dalak dokusunun histopatolojik incelenmesi ve gruplar arası ikili karşılaştırması 69
Tablo 24. Fare sırt deri dokularında TNF-α antikoru ile yapılan IHK boyamaya ait istatistiksel bulgular 72
Tablo 25. Fare sırt deri dokularında IL-17 antikoru ile yapılan İHK boyamaya ait istatistiksel bulgular 74

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Yaygın kullanılan yenilikçi jel bazlı ilaç taşıma sistemleri 31
Şekil 2. Deneyde kullanılan bazı malzemeler. 37
Şekil 3. Dijital hassas kumpas (Mitutoyo) ile farelerin sağ kulak kalınlıklarının ölçülmesi. 44
Şekil 4. Doku örneklerinin formalin kabından alınarak numaralandırılmış doku kasetlerine yerleştirilmesi. 46
Şekil 5. Ventana BenchMark ULTRA tam otomatik immünohistokimya boyama cihazı. 48
Şekil 6. Lipozomal jel bazına ait zeta potansiyel ve parçacık boyutu dağılım grafiği. 51
Şekil 7. %5 piknogenol yüklü lipozomal jel bazına ait zeta potansiyel ve parçacık boyutu dağılım grafiği. 52
Şekil 8. Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi skor grafikleri. 57
Şekil 9. Farelerin sırt derilerinin deney süresince günlere bağlı değişiminin makroskobik görüntüleri. 58
Şekil 10. Farelerin sağ kulak iç bölgelerinin deneyin son gününe ait makroskobik görüntüleri. 61
Şekil 11. Farelerin sağ kulak kalınlıklarının günlere bağlı değişim grafiği. 61
Şekil 12. Farelerin dalak dokularına ait makroskobik görüntüleri. 63
Şekil 13. Gruplara ait dalak uzunluklarının grafiği. 64
Şekil 14. Gruplara ait dalak ağırlıklarının grafiği 64
Şekil 15. Baker skorlama sisteminde değerlendirilen histopatolojik parametreleri yansıtan H&E boyalı mikroskobik deri kesitleri. 65
Şekil 16. Farelerin Baker skor değerlerinin grafiği. 66
Şekil 17. Farelerin sırt derisi epidermal kalınlıklarının grafiği. 68
Şekil 18. Fare sırt derisinden alınan dokulara ait epidermal kalınlıkları gösteren hematoksilen-eozin (H&E) boyalı histolojik kesitler. 68
Şekil 19. Fare dalak dokularına ait hematoksilen-eozin (H&E) ile boyanmış histolojik kesitler. 70
Şekil 20. Gruplara ait Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%) grafiği. 70
Şekil 21. Gruplara ait fare sırt deri dokularında TNF-α antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonuçlarının analizi. 72
Şekil 22. Gruplara ait TNF-α antikoru ile immünohistokimyasal olarak boyanmış doku kesitleri. 73
Şekil 23. Gruplara ait fare sırt deri dokularında IL-17 antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonuçlarının analizi. 74
Şekil 24. Gruplara ait IL-17 antikoru ile immünohistokimyasal olarak boyanmış doku kesitleri. 75

ÖZET

Fransız Sahil Çamı Kabuğu Özütü (Piknogenol) ile Yüklü Lipozomal Jel Formülasyonunun İmikimod ile İndüklenen Fare Psöriazis Modelinde Tedavi Edici Etkisinin İncelenmesi

Amaç: Psöriazis, etyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış, kronik immün yanıt aracılı inflamatuar bir deri hastalığıdır. Psöriaziste mevcut tedavilerin sınırlı etkinliği ve yan etkileri, daha güvenli ve etkili alternatiflerin araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu doğrultuda, patofizyolojik benzerlikleri nedeniyle imikimod ile indüklenen fare psöriazis modeli, deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir. Fransız sahil çamı (*Pinus pinaster*) kabuğu özütünden elde edilen Pycnogenol® (PYC), literatürde güçlü antioksidan ve antiinflamatuar özellikleri ortaya konmuş bir bileşik olup, kronik inflamatuar hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ajan olarak değerlendirilmektedir. Günümüzde ilaç taşıyıcı sistemler, yeni topikal ajan geliştirilmesinde önemli rol oynamakta; lipozomal formülasyonlar ise deriye penetrasyonu artırmak ve yan etkileri azaltmak amacıyla sıklıkla araştırılmaktadır. Bu bağlamda, bu çalışmada piknogenolün %5 konsantrasyonunun topikal lipozomal jel formülasyonu geliştirilmiş ve bu formülasyonun fare psöriazis modelinde klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerle tedavi etkinliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Elde edilen verilerle literatüre bilimsel katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 35 adet dişi BALB/c fare negatif kontrol (NC), psöriazis kontrol (IMQ), piknogenol yüklü lipozomal jel (IMQ+PYC), klobetazol propiyonat (IMQ+CLO) ve aktif madde içermeyen lipozomal jel bazı (IMQ+LJB) grupları olmak üzere rastgele 5 eşit gruba ayrılmıştır. Çalışma kapsamında, piknogenolün %5'lik konsantrasyonda yüklendiği lipozomal jel formülasyonu laboratuvar ortamında hazırlanmış ve stabilize edilmiştir. NC dışındaki tüm gruplardaki farelerin sırt ve kulak derilerine 8 gün boyunca topikal %5 imikimod krem uygulanarak psöriazis modeli indüklenmiş ve eş zamanlı olarak ilgili tedaviler topikal olarak uygulanmıştır. Klinik değerlendirmede Psöriazis Alan Şiddet İndeksi (PAŞİ) skorlaması kullanılmıştır. Deney boyunca kulak kalınlıkları ölçümleri de

yapılmış olup deney sonunda hayvanların sırt derisi örnekleri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiş; epidermal kalınlık, Baker skoru ve TNF-α ile IL-17 ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. Ayrıca sistemik immün yanıt göstergesi olarak dalak ağırlığı ve uzunluğu karşılaştırılmış; beyaz pulpa oranı histolojik olarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Hazırlanan %5 piknogenol yüklü lipozomal jel, uygun fizikokimyasal özellikler göstermiş olup formülasyonun partikül boyutu, zeta potansiyel, pH, ve viskozite değerleri topikal uygulamaya uygun aralıklarda bulunmuş; homojen dağılım ve fiziksel stabilite gözlenmiştir. IMQ grubunda psöriazis benzeri lezyonlar belirgin şekilde izlenirken, tedavi gruplarında klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerde iyileşme kaydedilmiştir. IMQ+PYC grubunda PAŞİ skoru, kulak kalınlığı, epidermal kalınlık, Baker skorları ve TNF-α ve IL-17 ekspresyonlarında anlamlı derecede azalma tespit edilmiş ($p<0,05$); bazı parametrelerde IMQ+CLO ile benzer düzeyde, bazı parametrelerde ise daha üstün etkiler saptanmıştır. Ayrıca IMQ+PYC grubunda dalak ağırlığı ve uzunluğu anlamlı şekilde azalmış ($p<0,05$); beyaz pulpa oranı da NC grubuna yakın değerlere ulaşmıştır. IMQ+LJB grubu ise sınırlı ancak istatistiksel olarak anlamlı düzeyde iyileşmeler göstermiştir ($p<0,05$).

Sonuç: %5 piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonu, imikimod ile indüklenen psöriazis benzeri fare modelinde klinik, histopatolojik ve immünolojik düzeyde anlamlı iyileşmeler sağlamış olup hem lokal hem sistemik düzeyde antiinflamatuar ve immünmodülatör etkiler göstermiştir. Elde edilen veriler, %5 piknogenol yüklü lipozomal jelin psöriazis tedavisinde etkili ve umut vadeden yeni bir topikal ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Imiquimod, Lipozom, Piknogenol, Psöriazis

ABSTRACT

Evaluation of the Therapeutic Efficacy of a French Maritime Pine Bark Extract (Pycnogenol)-Loaded Liposomal Gel Formulation in an Imiquimod-Induced Mouse Model of Psoriasis

Objective: Psoriasis is a chronic inflammatory skin disease with an unclear etiopathogenesis, primarily mediated by immune responses. The limited efficacy and potential side effects of current treatment options highlight the need for safer and more effective therapeutic alternatives. Due to its pathophysiological similarity to human psoriasis, the imiquimod-induced mouse model is frequently preferred in experimental studies. Pycnogenol® (PYC), a patented extract obtained from the bark of the French maritime pine (*Pinus pinaster*), has demonstrated potent antioxidant and anti-inflammatory properties in the literature and is considered a potential therapeutic agent for chronic inflammatory diseases. Drug delivery systems play a critical role in the development of new topical agents today, with liposomal formulations being widely investigated to enhance skin penetration and minimize adverse effects. In this context, the present study aimed to develop a topical liposomal gel formulation containing 5% pycnogenol and to evaluate its therapeutic effects in a mouse model of psoriasis through clinical, histopathological, and immunohistochemical parameters. The ultimate goal was to contribute to the scientific literature based on findings.

Materials and Methods: Thirty-five female BALB/c mice were randomly divided into five groups: negative control (NC), psoriasis control (IMQ), pycnogenol-loaded liposomal gel (IMQ+PYC), clobetasol propionate (IMQ+CLO), and liposomal gel base (IMQ+LJB). 5% pycnogenol-loaded liposomal gel formulation was prepared and stabilized in the laboratory. Except for the NC group, 5% imiquimod cream was topically applied to the dorsal and auricular skin of the mice for 8 consecutive days to induce a psoriasis-like model. Simultaneously, the relevant topical treatments were administered. Clinical evaluation was performed using the Psoriasis Area and Severity Index (PASI), and ear thickness measurements were recorded throughout the study. At the end of the experiment, dorsal skin samples were subjected to histopathological and immunohistochemical analysis, assessing epidermal thickness, Baker score, and TNF-

α and IL-17 expression levels. Additionally, spleen weight and length were compared as indicators of systemic immune response, and white pulp ratio was evaluated histologically.

Results: The prepared 5% pycnogenol-loaded liposomal gel exhibited suitable physicochemical properties, including optimal particle size, zeta potential, pH, and viscosity for topical application, along with homogeneity and physical stability. While prominent psoriatic lesions were observed in the IMQ group, treatment groups showed improvements in clinical, histopathological, and immunohistochemical parameters. In the IMQ+PYC group, significant reductions were detected in PASI score, ear thickness, epidermal thickness, Baker scores, and TNF-α and IL-17 expression levels ($p<0,05$). Some parameters showed comparable or superior outcomes to the IMQ+CLO group. Additionally, spleen weight and length were significantly reduced in the IMQ+PYC group ($p<0,05$), and the white pulp ratio approached those observed in the NC group. The IMQ+LJB group exhibited limited but statistically significant improvements ($p<0,05$).

Conclusion: The 5% pycnogenol-loaded liposomal gel formulation provided significant improvements in clinical, histopathological, and immunological parameters in an imiquimod-induced mouse model of psoriasis. It exhibited anti-inflammatory and immunomodulatory effects both locally and systemically. These findings suggest that the 5% pycnogenol-loaded liposomal gel may serve as a promising novel topical therapeutic option for the treatment of psoriasis.

Keywords: Imiquimod, Liposome, Pycnogenol, Psoriasis

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Psöriazis; altta yatan sebeplerin hala tam olarak anlaşılamadığı, genetik ve birçok immünolojik faktörün eşlik ettiği, immün yanıt aracılı kronik inflamatuar bir deri hastalığıdır. Dünya genelinde psöriazisin yetişkin nüfustaki prevalansının yaklaşık %2–3 olduğu belirtilmektedir (1). Ülkemizde ise Küresel Psöriazis Atlas verilerine göre genel psöriazis prevalansı %0,49 olarak rapor edilmiştir (2).

Psöriazis; klinik olarak simetrik dağılım gösteren, keskin sınırlı, eritemli zeminde sedef renginde skuamlı papül ve plaklar ile karakterizedir. Bu lezyonlar hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemekte ve hastalarda fiziksel ve psikolojik olarak ciddi etkilere neden olmaktadır (3).

Günümüzde psöriazis hastalığının tedavisinde topikal tedaviler, fototerapi, sistemik konvansiyonel ilaçlar ve biyolojik ajanlar sıklıkla kullanılmaktadır (4). Hafif şiddetli hastalıkta kullanılan topikal tedavilerin etkinliği sınırlı olmakla beraber orta şiddetli hastalıkta kullanılan tedavilerde ise yan etkiler, tedavi direnci, yüksek maliyetler, düşük hasta uyumu ve bireyler arasında klinik yanıt değişkenliği gibi zorluklar devam etmektedir (5,6). Bu nedenle daha güvenli ve etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ile yeni terapötik ajanların araştırılması önem arz etmektedir.

Psöriazis tedavisinde yeni farmasötik formülasyonların ve terapötik yaklaşımların geliştirilmesinde hayvan deneyleri önemli bir araştırma aracı olarak öne çıkmakta olup, literatürde imikimod ile indüklenen fare psöriazis modellerinin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir (7). Bu modelin avantajları arasında, insan psöriazis lezyonlarıyla yüksek düzeyde benzerlik göstermesi, kullanım kolaylığı, inflamatuar yanıtın hızlı bir şekilde ortaya çıkması, pratik uygulanabilirliği ve düşük maliyetli olması yer almaktadır (8,9).

Fransa'nın güneybatı sahillerinde yetişen *Pinus pinaster'den* elde edilen Fransız sahil çamı kabuğu özütü olan piknogenol (PYC), flavonoit/polifenol yapısında bir bitki ekstresidir. Piknogenol, çam kabuğundan elde edilen prosiyanidinlerin özel

bir karışımını ifade etmekte olup "Pycnogenol (PYC) (Horphag Research Ltd, UK, Geneva, İsviçre)" adı altında patentli bir üründür (10).

Piknogenolün etkileri çok sayıda klinik ve deneysel çalışmalarda araştırılmıştır. Çalışmaların sonuçlarında piknogenolün özellikle inflamasyon ve/veya oksidatif stres patofizyolojisine olumlu yönde katkıda bulunduğunu gösterdiğinden, çeşitli kronik inflamatuar hastalık durumlarında yararlı bir etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür (10,11). Tipik olarak piknogenol preparatları kapsül veya tablet formunda oral yoldan alınmaktadır ancak yapılan çalışmalarda deriden de kolaylıkla absorpsiyona uğrayabilmektedir. Bu, piknogenolün dermal preparatlar için de uygun olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada topikal %5 piknogenol jelin yara iyileşme sürecini en çok hızlandıran konsantrasyon olduğu görülmüştür (12,13).

Dermatolojide topikal uygulamalar alanında güncel yaklaşımlar, veziküler sistemler (örneğin lipozomlar, etozomlar vb.) gibi ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanımına odaklanmaktadır. Lipozomlar; kolesterol ve fosfolipitlerden sentezlenebilen, topikal uygulama için yaygın ve kapsamlı bir şekilde kullanılan küresel, veziküler ilaç taşıma sistemleridir (14,15). Jel bazlı lipozomal sistemler ise klasik krem/merhem formlara kıyasla daha stabil bir yapı sağlayarak ilaç etkinliğini iyileştirme, toksisiteyi azaltma, biyoyararlanımı artırma ve terapötik indeksin genişletilmesi gibi ek faydalar sunmaktadır. Bu sebeple, topikal lipozomal jel formülasyonların geliştirilmesine yönelik çalışmalar oldukça hız kazanmıştır (15).

Literatürde, psöriazis tedavisine yönelik piknogenol içeren topikal bir formülasyonun geliştirilmesine ilişkin herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, güçlü antiinflamatuar potansiyele sahip olduğu bildirilen piknogenolün, cilt dokusuna daha etkili şekilde iletilmesini sağlamak amacıyla topikal lipozomal jel formülasyonu geliştirilmesi ve bu formülasyonun imikimod ile indüklenmiş fare psöriazis modelinde tedavi edici etkinliğinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışma kapsamında, piknogenol yüklü jel formülasyonunun psöriatik lezyonlar üzerindeki etkisi, klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler ile incelenecek olup literatüre bilimsel katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. PSÖRİAZİS

2.1.1 Tanım

Psöriazis; dünya genelinde her yaş grubunda görülebilen, bireylerin yaşam kalitesini ciddi oranda etkileyen ve psöriatik artrit, psikiyatrik, kardiyovasküler ve hepatik hastalıklar gibi çeşitli morbiditelerle ilişkili, ömür boyu süren kronik immün yanıt aracılı inflamatuar bir cilt hastalığıdır (16). Psöriazis hastalığı Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2014 yılında "kürü olmayan, kronik, ağrılı, görünümü bozan, engelleyici ve übulaşıcı olmayan bir hastalık" olarak tanımlanmıştır (17). Klinik olarak simetrik dağılım gösteren, keskin sınırlı, eritemli zeminde sedef renginde skuamlı papül ve plaklar ile karakterizedir (18,19).

2.1.2 Tarihçe

Psöriazis hastalığının tarihçesi çok eskilere dayanmakla birlikte ilk çağlara kadar uzanmaktadır. Hipokrat (M.Ö 460-377) tarafından tanımlanan ve Yunanca bir kelime olan "psora" kelimesi ile kaşıntılı cilt lezyonları ifade edilmiştir (20). Daha sonra Galen (M.S. 133-200) bu tanımlamayı göz kapaklarının ve skrotumun pullanması ile karakterize bir hastalık için kullanmıştır ancak bu hastalığın daha çok seboreik dermatit lehine olduğu düşünülmektedir (21). Robert Willian (1757-1812) ise psöriazisi lepranın bir formu olarak tanımlamıştır ve hastalığı lepradan tam olarak ayıramamıştır (20). 1841 yılında ise Ferdinand Von Hebra, psöriazis hastalığını lepradan ayrı bir hastalık olarak klinik özelliklerini tanımlayan ve psöriazis terimini bu hastalıkta kullanan ilk kişi olmuştur (22).

2.1.3 Epidemiyoloji

Psöriazisin küresel ölçekte yetişkin nüfustaki prevalansının yaklaşık %2–3 olduğu belirtilmekle beraber psöriazis prevalansı etnik coğrafyaya ve ülkelere göre

farklılık göstermektedir. Psöriazisin prevalansının Doğu Asya'da %0,14, yüksek gelirli Güney Latin ve Kuzey Amerika'da %1,1-1,5, Orta ve Batı Avrupa'da %1,83-92 ve Avustralya/ Yeni Zelanda'da %1,99 aralığında olduğu rapor edilmiştir. Veri kaynakları ağırlıklı olarak gelişmiş ülkelerden sağlanmakta olup az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yapılan prevalans araştırmalarına ilişkin veriler oldukça kısıtlıdır (1). Psöriazis, kadın ve erkek bireylerde benzer sıklıkta görülmekte olup, hastalığın başlangıç yaşı genellikle iki farklı dönemde pik yapmaktadır: ilk pik 30–39 yaş aralığında, ikinci pik ise 50–69 yaş aralığında gözlenmektedir. Çocukluk çağında ise psöriazisin prevalansı ve insidansı, yetişkin bireylere kıyasla daha düşük düzeydedir (23).

2.1.4 Etiyoloji

2.1.4.1 Genetik faktörler

Psöriazis hastalarının yaklaşık %30-40'ında birinci dereceden akrabalarında da bu hastalığın görüldüğü tespit edilmiştir. İkizler üzerinde yapılan araştırmalarda, çift yumurta ikizlerinde her iki bireyde de psöriazis görülme oranı %15-30, tek yumurta ikizlerinde ise %65-72 gibi yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir (24).

Genom genelinde gerçekleştirilen araştırmalar, psöriazisin ortaya çıkışıyla bağlantılı 80'den fazla genetik lokusun belirlenmesini sağlamış ve genetik etkenlerin psöriazis gelişiminde temel bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur (25). Kromozom 6p21 üzerinde yer alan majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) içerisindeki psöriazis hastalığı duyarlılık gen lokusu (PSORS1), genetik faktörler arasında en önemli belirleyici olarak kabul edilmektedir (26). Ayrıca bu bölgede lokalize insan lökosit antijeni sınıf (human leucocyte antigen class, HLA-C) genleri ile psöriazis arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır ve ailesel yatkınlıkla ilişkilendirilen HLA-Cw*0602 en önemli risk alleli olarak bu bölgede tespit edilmiştir (27).

2.1.4.2 Tetikleyici faktörler

a) Enfeksiyonlar:

Bakteriyel enfeksiyonlar, psöriazisin ortaya çıkmasını tetikleyebilir veya hastalığı daha da kötüleştirebilir. Özellikle streptokokal enfeksiyonların psoriasis hastalığında önemli rol oynadığı görülmektedir. Guttat psöriazisli hastaların yaklaşık üçte ikisinde boğaz ağrısı görülür ve yakın geçmişte streptokok enfeksiyonu geçirdiklerini gösteren serolojik kanıtlar bulunmaktadır (28). Bunun dışında HIV (+) hastalarda gözlemlenen CD4 (+) regülatör T lenfositlerin azalması psöriazis hastalığında alevlenmelere yol açmaktadır (29). Ayrıca psöriazisi tetiklediği kanıtlanmış diğer patojenler arasında Staphylococcus aureus, Helicobacter pylori, Human papilloma virüsü (HPV), Malassezia ve Candida enfeksiyonları da bulunur (30).

b) İlaçlar:

Psöriazisi şiddetlendiren veya ilk kez ortaya çıkmasına neden olan birçok ilaç rapor edilmiştir. Bu ilaçlar arasında antimalaryal ilaçlar, beta blokörler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, digoksin, amiodaron, lityum, non-steroid antiinflamatuar ilaçlar, anjiyotensin reseptör blokörleri, imikimod, gemfibrozil, fluoksetin, karbamazepin, doksisiklin, olanzapin ve penisilinler yer almaktadır (31,32). Ayrıca sitokin salınım dengesizliğine neden olarak psöriazis tedavisinde kullanılan TNF-α inhibitörleri, IL-17 ve IL-23 monoklonal antikorlar gibi biyolojik ajanların da paradoksal şekilde psöriazisi tetiklediği gösterilmiştir (30).

c) Alkol, sigara ve obezite:

Psöriazisin ortaya çıkması ve şiddetlenmesinde rol oynayan diğer önemli risk faktörleri arasında sigara ve aşırı alkol tüketimi bulunmaktadır (33). Armstrong ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sigara içmenin psöriazis hastalığının gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olduğuna ve sigara kullanan bireylerin, sigara kullanmayan bireylere göre psöriazis geliştirme olasılıklarının daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmışlardır (34).

Psöriazis aşırı kilo ve obezite ile yakından ilişkili bir deri hastalığıdır. Obez bireylerde çeşitli mekanizmalar yoluyla salınan kronik düşük seviyeli inflamatuar

sitokinlerin hastalığın lezyonlarını artırdığı düşünülmektedir. Obezite tedavisiyle birlikte psöriazis lezyonlarında iyileşme gözlenmiştir (35).

d) Stres ve Mekanik Travma:

Psöriazis ve stres arasındaki bağlantılar oldukça karmaşıktır. Birçok araştırma, stres faktörünün psöriazisin başlangıcında ve şiddetlenmesinde önemli bir rol oynadığını vurgulamaktadır (36).

Lokal travmayı takiben lezyonsuz ciltte psöriazis lezyonlarının ortaya çıkması Alman dermatolog Heinrich Koebner tarafından Koebner fenomeni (izomorfik yanıt) olarak tanımlanmış olup psöriazis hastalarının yaklaşık %25'inde görülmektedir (37). Fiziksel travmanın yanı sıra Koebner fenomenine yol açan nedenler arasında; friksiyon, böcek ısırıkları, yanıklar, alerjik ve tahriş edici reaksiyonlar, cerrahi insizyon ve radyasyona maruz kalma da yer almaktadır (38).

2.1.5 Patogenez

Psöriazis, geçmişte primer bir keratinizasyon bozukluğu olarak düşünülürken, son yıllardaki araştırmalar sonucunda immün sistemin ve özellikle Th17 hücreleri ile IL-23/IL-17 aksının disregülasyonu sonucu gelişen bir IL-23/IL-17 aksı hastalığı olarak nitelenmiştir. Günümüzde bu immün sistemi aktive eden mediatörlerin büyük bir kısmının keratinositler ve derinin dendritik hücreleri (DH) tarafından üretildiğini destekleyen birçok bulgu bulunmaktadır. Bu bulgular ışığında, hastalığın deri ile immün sistemin (doğal ve edinsel) karşılıklı etkileşimi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Ortama salınan sitokinlerin başlıca kaynağı dendritik hücreler ve keratinositler iken; T lenfositler, nötrofiller ve makrofajlar da hastalıkta etkin rol oynamaktadır (39,40).

2.1.5.1 Doğal immün sistem hücrelerinin rolü ve keratinositler

a) Keratinositler:

Travma, enfeksiyon vb. nedenlerle hasarlanma sonucu epidermal keratinositlerden açığa çıkan "self" DNA ve RNA'nın, psöriazisin nedeni olabileceği

ileri sürülen otoantijenlerden olduğu düşünülmektedir. LL37 ve S100 gibi antimikrobiyal peptidler, keratinositlerin hasar veya uyarı sonrasında açığa çıkardıkları moleküller arasında yer alır ve TLR uyarılmasına katkı sağlayıp derideki plazmasitoid dendritik hücrelerin (pDH) aktivasyonunu başlatmaktadırlar (40,41).

b) Dendritik hücreler (DH):

Dendritik hücreler, bulundukları dokudan yabancı antijeni alıp lenf nodlarına taşıyan ve bu antijenlere karşı en uygun T lenfosit yanıtının gelişmesinde rol oynayan doğal bağışıklık sistemi hücreleridir. DH türleri arasında psöriazis oluşumunda önemli rol oynayan ve dermiste yer alan miyeloid dendritik hücreler (mDH) ve plazmositoid dendritik hücreler (pDH) bulunmaktadır (42).

Plazmositoid dendritik hücreler viral enfeksiyonlara karşı IFN-α üreterek yanıt vermektedir. Günümüzde TLR-7 aracılığıyla kullanılan imikimod ilacında da benzer şekilde IFN-α cevabının tetiklendiği bildirilmiştir. Artan IFN-α yanıtının T lenfositler ve mDH'ler aracılığıyla stimülan etki göstererek psöriazisi tetiklediği düşünülmektedir. İmikimod ile uyarım sonrası fare psoriasis modelinde de bu mekanizma temel alınmaktadır (43). Psöriaziste mDH sayısında da 30 kat artış olduğu gösterilmiştir ve mDH'ler naif T hücreleri ile etkileşime girerek yüksek oranda TNF-a, IL-23, IL-12 üretilmesini sağlar ve T hücrelerde aktivasyona ve farklılaşmaya neden olur. Aktive olan Th1 ve Th17 ise IL-17 ve TNF-α sentezlenmesine katkıda bulunur (42). Bu şekilde inflamasyon kaskadı devam eder. Psöriazis hastalığının etkin tedavisi sonrası bu dendritik hücrelerin sayılarının normal seviyelere gelmesi patogenezdeki etkilerini açıkça göstermektedir (44).

c) Nötrofiller:

Psöriazis hastalığının erken evrelerinde rol oynayan ve kronik süreçte sayıları azalan nötrofillerin; epidermisin spinöz tabakada birikimleri Kogoj mikropüstüllerini, korneum tabakasında birikimleri ise Munro mikroapselerini oluşturmaktadır. Ayrıca psöriazis gelişiminde temel sitokinlerden olan IL-17'nin, nötrofiller tarafından da salınabildiği gösterilmiştir (45).

d) Makrofajlar:

Doğal bağışıklık sisteminin başka bir hücresel elemanı olan makrofajların sayısı, psöriazis deri lezyonlarında üç kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. TNF-α ve VEGF'yi bol miktarda ürettikleri için, inflamasyon ve anjiyogeneze katkı sağladıkları düşünülmektedir (46).

e) Doğal katil hücreler ve doğal katil T hücreleri:

Doğal katil (NK) hücrelerinin psöriazis deri lezyonlarında sayılarının artmış olduğu bilinmektedir. NK hücrelerinin psöriazis patogenezinde etkili olan IFN-γ ve TNF-α'nın salınımını tetiklediği bilinmektedir (47). Doğal katil T (NKT) hücreleri ise aynı zamanda α ve β zincirlerinden oluşan bir T-hücre reseptörünü (TCR) ifade eder. NKT hücreleri, salgıladıkları IFN-γ ile psöriazis lezyonlarında görülen CDld ekspresyonundaki artıştan sorumludur (48).

2.1.5.2 Edinsel immün sistem hücrelerinin rolü

a) T lenfositler:

Psöriazis patogenezinde edinsel bağışıklık sisteminin en önemli hücrelerinden biri olan T hücrelerinin rolü oldukça iyi tanımlanmıştır. Th1, Th2, Th17, Th22 ve düzenleyici T (Treg) hücreleri gibi T hücresi alt kümelerinin işlev bozukluğunun psöriazis patogenezinde etkili olduğu gösterilmiştir (49).

Yapılan çalışmalarda psoriatik deri lezyonlarından alınan örnekler hücresel belirteçler kullanılarak incelendiğinde CD4 (+) T lenfositlerin sayıca daha fazla, CD8 (+) T lenfositler ve NK hücrelerinin ise sayıca daha az oranda olduğu bildirilmiştir (50). CD4 (+) T lenfositlerin alt gruplarından biri olan Th17 hücreleri, psöriazis ile en yakın ilişkiye sahip lenfosit grubu olarak belirlenmiştir. Th17 hücreleri; IL-1, IL-6, IL-21 ve TGF-β1 aracılığıyla naif T hücrelerinden farklılaşarak oluşmaktadır ve Th17 hücrelerinden üretilen IL-17A, IL-17F, IL-22 gibi sitokinler de epidermis üzerinde matürasyon inhibisyonuna ve hiperplaziye yol açmaktadır. Th17 yönünde farklılaşan hücrelerin aktivasyonları ve proliferasyonlarının devam etmesi için ortamda IL-23 ve IL-21 bulunması şarttır. IL-23, monositler, keratinositler ve langerhans hücreleri tarafından üretilir ve en önemli işlevi, Th17 hücrelerinin varlığını sürdürmek ve IL-17A ile IL-17F sitokinlerinin üretimini sağlamaktır. CD4+ Th17 hücreleri IL-17'nin

ana kaynağı olarak düşünülse de epidermal CD8+ T lenfositler, nötrofiller ve makrofajlar gibi hücrelerin de bu üretime katkıda bulunduğu gösterilmiştir (51,52)

Psöriazis patogenezinde inflamasyonu baskılayan Treg hücrelerinin fonksiyonlarının bozulması da rol almaktadır. Treg hücrelerinin, temel transkripsiyon faktörleri olan Foxp3'ü sergileme özelliklerini kaybettikleri ve ve yüksek oranda ROR aktivitesine sahip olduklarını göstermiştir. Bu ROR aktivitesi Treg lenfositlerin yapısal aktivitesini değiştirmekte ve klonların Th17 hücreleri yönünde farklılaşmasını uyardığı düşünülmektedir (53).

2.1.6 Klinik

Psöriazis değişken morfoloji, dağılım, şiddet ve seyir gösteren bir hastalık olup klinik tablo hastadan hastaya farklılık gösterebilmektedir. En sık karşılaşılan form hastaların yaklaşık %90'ında görülen psöriazis vulgaris olarak da bilinen plak tipi psöriazistir (16,19). Psöriazis vulgaris terimi kronik plak psöriazis, eritrodermik psöriazis ve guttat psöriazisi kapsamaktadır. Klinik yelpazesi geniş olan psöriazisin klinik alt tiplerin belirlenmesinde çok sayıda değişkenden yararlanılır. Hastalığın başlangıç yaşı, lezyonların şekli, yaygınlığı, belli anatomik bölgelerin hastalıktan etkilenmesi bunlar arasında sayılabilir.

2.1.6.1. Kronik plak psöriazis

Kronik plak psöriazisinde lezyonlar; simetrik dağılım gösteren, keskin sınırlı, üzerinde hastalığa ismini veren sedef (gümüş) renginde skuamların bulunduğu somon pembesi renginde eritemli plaklarla karakterizedir (16,19). Genel olarak vücudun her bölgesini etkileyebilse de sıklıkla saçlı deri, gövde, gluteal bölge, diz ve dirseklerin ekstensör kısımlarında görülür. Başlangıçta, genellikle 1-5 mm çapında ve üzerinde çok az skuam bulunan eritemli makül veya papüller ortaya çıkar. Bu lezyonlar, zamanla birleşerek geniş ve farklı şekillerde, infiltre ve hiperkeratotik plaklara dönüşür (5).

Genellikle kronik bir seyir gösterir. Tedavi sonrası iyileşen kronik plak psöriazis lezyonlarının çevresinde, halka biçiminde hipopigmente bir alan görülebilir. Genellikle ultraviyole veya katran ve antralin tedavilerinin ardından gelişen bu durum "Woronoff halkası" olarak adlandırılır (54).

Klinik tanıda Tablo 1'de gösterildiği gibi yardımcı bazı fenomenlerden ve bulgulardan yararlanılır (55,56).

Tablo 1. Psöriaziste gözlenen klinik fenomenler ve tanımları (55,56).

Koebner Fenomeni	Travma sonrası klinik olarak normal görünen deride psöriatik lezyonların ortaya çıkması durumudur.
Ters Koebner Fenomeni	Psöriatik lezyonların travma sonrası regresyona uğraması ya da kaybolmasıdır.
Auspitz Fenomeni	Psöriatik plak kazındığında dermal papillalardaki kapillerlere bağlı alttan punctiform (noktasal) kanama odaklarının görülmesidir.
Mum Lekesi Fenomeni	Psöriatik plakların künt bir cisimle kazınmasıyla mum parçası kazınıyor hissi uyandıran parlak beyaz lameller halinde dökülmesidir
Son Zar Fenomeni	Mum lekesi fenomeninden sonra kazımaya devam edildiğinde altta lezyona yapışık parlak ve nemli bir zarın ortaya çıkmasıdır.

2.1.6.2 Guttat psöriazis

İlk kez 1916 yılında Winfield tarafından tanımlanan guttat psöriaziste "guttat" terimi, Latince "gutta" kelimesinden türemiş olup "damla" anlamına gelmektedir. Guttat psöriazis, genellikle iyi prognozlu ve akut başlangıçlı olmakla beraber çocuklarda, ergenlerde ve genç erişkinlerde görülmektedir. Sıklıkla beta hemolitik streptekoklara bağlı üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonraki birkaç hafta içinde genellikle gövde, ekstremite proksimalleri, saçlı deri veya yüzde görülebilmektedir (57). Hastalarda sıklıkla HLA-Cw*0602 birlikteliği gözlenmiştir (56).

2.1.6.3 Eritrodermik psöriazis

Eritrodermik psöriazis, psöriazis vulgarisin nadir görülen, sistemik semptomların eşlik edebildiği, ciddi seyirli bir alt tipidir. Vücut yüzeyinin %90'ından fazlasında eritem, ayrıca skuam, eksüdasyon ve eksfoliyasyon gözlenir. Hastaların çoğunda, kendilerinde veya ailelerinde psoriasis öyküsü mevcuttur. Sistemik kortikosteroid kullanımı ya da topikal kortikosteroidlerin aniden kesilmesi, en sık rastlanan nedenler arasındadır. Tümör nekroz faktör-α inhibitörleri, lityum, antimalaryal ilaçlar, interferon (IFN)-α, trimetoprim-sulfametoksazol, bupropion, kontrast maddeler ve topikal katran da tetikleyici ilaçlar arasında yer alır. Deri travması, güneş yanığı, duygusal stres, alkolizm ve enfeksiyonlar (özellikle HIV), eritrodermik psoriasisin gelişimine yol açabilir (58,59).

Hastalarda ateş, üşüme, halsizlik, taşikardi, dehidratasyon, artralji ve lenfadenopati gibi sistemik belirtiler görülebilir. Sıvı, elektrolit ve protein kaybı mevcut olup, ayaklarda ve pretibial bölgede ödem görülür. Özellikle yaşlı hastalarda yüksek debili kalp yetmezliği riski bulunmaktadır (58,59).

2.1.6.4 Püstüler psöriazis

Psöriazisin steril püstüllerle seyreden klinik alt tipidir. Generalize püstüler psöriazis (GPP) ve lokalize püstüler psöriazis olarak iki ayrı formu vardır. Bu formların da kendi içinde alt tipleri bulunmaktadır (60).

a) Generalize püstüler psöriazis:

Psöriazisin yaygın eritem ve steril püstüllerle seyreden ve nadir görülen bir klinik alt tipidir. Histopatolojik olarak nötrofil infiltrasyonunun belirgin olduğu bu hastalık, Baker ve Ryan'ın yaptığı bir çalışmada klinik özelliklerine göre dört farklı varyantta sınıflandırılmıştır. Bu varyantlar aşağıda açıklanmıştır (61).

Von Zumbusch tipi: Aniden ortaya çıkan eritem ve püstül ataklarıyla ayırt edilen, yaygın tutulum gösteren bir kliniktir. Püstüller, tırnak yatakları ve palmoplantar bölge dahil olmak üzere gövde ve ekstremitelerde yerleşim gösterir. Püstüllerin etrafındaki eritem yaygın hale gelerek eritrodermi tablosuna sebep olabilir.

Anüler tip: Bu tipte lezyonlar genişlerken lezyonların merkezinde iyileşme gözlenir. Böylece lezyonların aktif kenarında belirgin püstül, eritem ve skuamın bulunduğu anüler bir görünüm oluşmaktadır.

Ekzantematik tip: Sistemik semptomların eşlik etmediği genelde bir ilaç veya enfeksiyon sonucu ani gelişip birkaç gün içinde de iyileşme gösteren, tekrarlama eğilimi olmayan GPP varyantıdır.

Lokalize tip: Kronik plak psöriazis lezyonlarının üzerinde veya kenarında gelişen püstüllerle karakterizedir. Genellikle lokal irritan madde kullanımı sonrası ortaya çıkar.

Ayrıca GPP'nin hamilelik ile tetiklenmesi sonucu genellikle gebeliğin son üç ayında oluşan ve son derece nadir olan hamileliğin yaygın püstüler psöriazisi, impetigo herpetiformis olarak adlandırılmaktadır (62).

b) Lokalize püstüler psöriazis:

Lokalize püstüler psöriazis akrodermatitis kontinua Hallopeau ve palmoplantar püstüloz olarak ikiye ayrılmaktadır (63).

Akrodermatitis kontinua Hallopeau: Bir veya daha fazla el veya ayak parmaklarının eritemli cilt üzerinde püstüller ile karakterize olan hastalığıdır (64). Hastalık genellikle ön kol ve ayağa yayılır. Paronişi, onikodistrofi ve el ve ayak parmaklarının distal falanks̨larının osteolizi eşlik edebilir (65).

Palmoplantar psöriazis: Püstüler psöriazisin en sık görülen şeklidir. Avuç içi ve ayak tabanlarında steril püstüllerin erüpsiyonu ile karakterize olup hiperkeratoza ve deride çatlak alanlarının oluşmasına yol açar (66).

2.1.6.5 Psöriazis özel bölge tutulumları:

a) Saçlı deri psöriazisi:

Saçlı deri psöriazisi keskin sınırlı, eritemli ve skuamlı plaklar ile karakterizedir. Seboreik dermatit birlikteliğinde görülebildiği gibi klinik ve histopatolojik olarak seboreik dermatit ile de karıştırılabilmektedir (67).

b) İnvers psöriazis:

Psöriazisin daha sık yerleştiği lokalizasyonların farklı olarak fleksural bölgeleri tutmasıyla giden psöriazis formudur. Koltuk altı, kasık, meme altı, göbek, göbek altı kıvrımı, retroauriküler, intergluteal bölgeler tutulabilir. Tutulan alanlardaki nem fazlalığı sebebiyle genellikle skuam beklenmeyen bir bulgudur (68).

c) Mukoza ve yüz tutulumu:

Psöriaziste mukoza tutulumu nadirdir. Tutulum farklı şekillerde olabilmekle birlikte oral mukoza tutulumu görülebilmektedir (69). Mukoza tutulumunun aksine yüz tutulumu oldukça sıktır. Yüz tutulumu olan hastalarda ailede de psöriazisin görüldüğü, hastalığın erken yaşlarda başladığı ve tedaviye daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (70).

d) Tırnak psöriazisi:

Deri tutulumu olan hastaların %40-45'inde tırnak tutulumu görülmektedir. Bu oran psöriatik artritli hastalarda %87'ye kadar yükselmektedir. Hastaların yaklaşık %5'inde ise deri bulguları görülmeden sadece tırnak psoriasisi izlenmektedir (71). Tırnağın tutulan bölgesine göre farklı klinik bulgular karşımıza çıkabilir. Sık izlenen bulgular arasında pitting (çukurlaşma), lökonişi (beyazlaşma), lunulada kırmızı lekelenme, onikomadezis, beau çizgileri, subungual hiperkeratoz, yağ lekesi, transvers oluklanma, onikoliz (tırnak yatağı ayrışması) ve splinter hemorajiler bulunmaktadır (72).

2.1.7 Tanı

Psöriaziste tanı için genellikle klinik ve histopatolojik bulgular yeterli olup laboratuvar testlerinin yeri oldukça kısıtlıdır (73).

2.1.7.1 Histopatoloji

Psöriaziste ilk gözlenen histopatolojik değişiklik papiller dermişte kıvrıntılı, dilate olmuş kapiller damarlar ve ödemdir. Bu duruma hafif perivasküler infiltrasyon

da eşlik eder. Nötrofil birikimleri gözlenen alanlar mevcuttur. Stratum korneum tabakasındaki nötrofilik birikim "Munro mikroapsesi" olarak adlandırılırken, spinöz katmandaki nötrofilik birikim "Kogoj'un spongioform püstülü" olarak bilinir. Tipik psöriazis histopatolojisinde rete kenarlarında uzama ve düzenli akantoz görülür. Suprapapiller incelme mevcuttur. Hücre döngüsünün hızlandığı psöriaziste aynı zamanda klinikte skuam olarak karşımıza çıkan parakeratoz görülür. Granüler tabaka çok incelmiş veya kaybolmuştur. Çok hafif düzeyde spongioz olabilir. Psöriazisin farklı klinik tiplerinde benzer histopatolojik bulgular olmakla beraber bazı farklı bulgular gözlemlenebilmektedir (74).

2.1.8 Ayırıcı Tanı

Psöriaziste ayırıcı tanılar psöriazisin morfolojisine ve tutulum bölgesine göre farklılık gösterebilir.

Saçlı deri tutulumunda seboreik dermatit, tinea capitis liken planoplaris ayrıcı tanıda düşünülmesi gereken hastalıklardandır. Plak tipi veya guttat psöriaziste ve gövde tutulumunda pitriazis rosea, makülopapüler ilaç döküntüsü, pitriazis rubra pilaris, sifiliz, tinea korporis, mikozis fungoides, numuler dermatit, subakut kutanöz lupus eritematozus gibi hastalıklar ayırıcı tanıda düşünülebilir. Püstüler psöriaziste subkorneal püstüler dermatoz, püstüler ilaç erüpsiyonları ve IgA pemfigusu akılda tutulması gereken hastalıklardandır. İnvers psöriazis tipinde ve intertrijinöz bölge tutulumunda ise mikotik veya kandidal intertrigo, kontakt dermatit, hailey-hailey ayırıcı tanıda düşünülebilir. Palmoplantar veya tırnak tutulumlu pröriaziste ise onikomikozlar, liken planus, tinea manum ve palmoplantar keratodermalar ayırıcı tanıya alınabilecek hastalıklardır.

2.1.9 Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi

Psöriazis hastalık şiddetinin değerlendirilmesi tedavinin planlanması, etkinliğinin değerlendirilmesi ve günlük klinik pratikte kullanımı açısından oldukça değerlidir. Aynı zamanda ilaç araştırmalarında da ilaç etkinliğinin değerlendirilmesi için başvurulan yollardan biridir. Psöriaziste hastalığın değerlendirilmesinde öznel

veya nesnel ölçümleri içeren birçok ölçek oluşturulmuştur ancak henüz üzerinde uzlaşılmış, global tek bir ölçek bulunmamaktadır (75).

Psöriazis hastalığının şiddetinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan ölçekler arasında Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) (Psoriasis Area and Severity Index), Doktorun Global Değerlendirmesi (DGD) (Physicians Global Assessment), Dermatolojik Yaşam Kalite İndeksi (DYKİ) ve tutulan Vücut Yüzey Alanı (VYA) (Body Surface Area) bulunmaktadır (76).

2.1.9.1 Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi

Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) hastalıkta en çok kullanılan ölçekler arasındadır. İlaç çalışmalarında, deneysel araştırmalarda, bilimsel yayınlarda ve tedaviye yanıt durumunun belirlenmesinde oldukça önem arz etmektedir (77).

PAŞİ ölçeğinde baş, üst ekstremiteler, gövde ve alt ekstremitelerde psöriazis şiddeti ve yüzey alanı tutulumuna bir skorlama sistemi mevcuttur. Bir vücut bölgesinde psöriazis şiddeti o vücut bölgesindeki eritem (E), deskuamasyon (D) ve indurasyon (I) puanlarının toplamıdır ve her biri dört puanlık ölçeğe göre değerlendirilmektedir (0: belirti yok, 1: hafif şiddetli, 2: orta şiddetli, 3: belirgin şiddetli, 4: çok belirgin şiddetli). Bir vücut bölgesinde yüzey alanı tutulumu ise altı puanlık ölçekte sınıflandırılmaktadır (1: <%10 tutulum, 2: %10-29 tutulum, 3: %30-49 tutulum, 4: %50-69 tutulum, 5: %70-89 tutulum, 6: %90-100 tutulum). Bu değerlendirmeler sonrasında bulunan değerler her bir vücut bölgesi için belirlenmiş katsayı ile çarpılıp 0-72 puan aralığında değişen toplam PAŞİ skoru elde edilmektedir (77).

2.1.10 Tedavi

Psöriaziste tedavi seçenekleri planlanırken hastalık şiddeti, yaygınlık derecesi, tutulum bölgesi ve eklem tutulumu göz önünde bulundurulmalıdır. Planlanan tedavinin etkinliği, güvenirliği, hasta uyumu, uygulamanın kolaylığı da bu aşamada göz ardı edilmemelidir. Psöriaziste belli ölçeklere göre hastalık şiddeti

sınıflandırılabilmekte ve buna göre tedavi planı oluşturulabilmektedir. PAŞİ>10, VYA>%10, DYKİ>10 orta-şiddetli psöriazis olarak tanımlanır. Hafif şiddetli plak tip psöriaziste tedavi seçenekleri olarak genellikle topikal tedavi veya dirençli durumlarda fototerapi tercih edilmektedir. Orta şiddetli ve belirgin şiddetli psöriaziste tedavi seçenekleri sistemik konvansiyonel tedaviler, kombinasyon tedavileri veya biyolojik tedavilerdir (4).

Tedaviden sonra aynı zamanda tedavi başarısını değerlendirmek için de bazı ölçeklerden faydalanılmaktadır. Uzlaşılmış bir görüş olmamakla beraber Avrupa kılavuzları hastaların indüksiyon aşamasından sonra (tipik olarak 16-24 hafta) değerlendirilmesini ve PAŞİ'de %75 iyileşme veya PAŞİ'de en az %50 iyileşme ve DYKİ skorunun 5 veya daha düşük olması durumunda tedavinni başarılı olaral tanımlanmasını önermektedir. Ulusal Psöriazis Vakfı ise değerlendirme ölçütü olarak VYA'yı önermiş ve %3 veya daha az VYA tutulumu veya VYA'da %75 veya daha fazla iyileşme olmasını başarılı bir tedavi yanıtı olarak değerlendirmiştir (78,79).

2.1.10.1 Topikal tedaviler

a) Topikal kortikosteroidler:

Hafif şiddetli psöriaziste ilk basamakta ve orta şiddetli psöriaziste sistemik tedavilerin yanında kombine tedavi olarak kullanılabilen topikal kortikosteroidler (TKS), psöriazis tedavisinde en çok kullanılan tedavi seçeneklerinden biridir (80). Nükleer faktör-κB ve aktivatör protein 1 gibi diğer transkripsiyon faktörleriyle de etkileşime girerek inflamasyonu engelleyici etki gösterirler (81,82). Dünya Sağlık Örgütü tarafından TKS'ler vazokonstriktif özelliklerine göre düşükten süper potent etki gücüne doğru ayrılmış 4 ana grup olmak üzere 7 sınıfta değerlendirilmektedir (83). Hastalığın şiddetine, lokalizasyonuna ve hastanın yaşına göre uygun topikal kortikosteroid seçimi yapılmalıdır. TKS'lerin kullanımında miktarı belirlemede parmak ucu ünitesi [Finger Tip Unit (FTU)] uygun bir metottur. Bir parmak ucu ünitesi yaklaşık 0,5 gramdır (84). Uzun süreli kullanımlarında deride atrofi, telenjiektazi, strialar, hipertrikoz, akneiform erüpsiyonlar ve pigmentasyonda değişiklikler görülebilmektedir (85).

b) Vitamin D analogları:

D vitamini analoglarının hafif şiddette psöriazis tedavisinde tek başına veya topikal kortikosteroidlerle kombinasyonları yaygın olarak kullanılan tedavi seçeneklerinden biridir (86). Ülkemizde en çok kullanılan topikal D vitamini analoğu kalsipotriol olup etkisini vitamin D reseptörlerine bağlanarak keratinosit proliferasyonunu inhibe ederek göstermektedir (87). En sık karşılaşılan yan etkileri irritasyon, yanma hissi ve kaşıntı olup tedavinin devamında bu yan etkiler giderek azalmaktadır. Topikal kortikosteroidlerle birlikte kullanımı da bu yan etkilerin görülme sıklığını azaltmaktadır (86).

c) Kalsinörin inhibitörleri:

Topikal kalsinörin inhibitörleri nükleusta başta IL-2 olmak üzere pek çok inflamatuar sitokinin sentezini baskılamakta ve bu etkisini kalsinörin tarafından aktive edilen T hücrelerinin nükleer transkripsiyon faktörünün defosforilasyonunu engelleyerek gerçekleştirmektedir (88). Topikal kalsinörin inhibitörlerinden takrolimus ve pimekrolimus özellikle yüz yerleşimli ve intertriginöz psöriaziste alternatif tedavi seçenekleridir (89). En sık görülen yan etkileri, hafif kaşıntı ve yanma hissidir. Ayrıca tartışmalı olan ve istenmeyen bir diğer etkisi ise uzun süreli kullanımlarının lenfoma ve malignite gelişimine neden olabileceğidir ancak yapılan çalışmalar bu durumu desteklememektedir (90).

d) Tazoraten**:**

Tazaroten, aktif formu olan tazarotenik asite dönüşen bir retinoid türevidir. Aktif formu, retinoik asit reseptörlerine (RAR-β/-γ) bağlanarak inflamatuar yolaklar üzerinde düzenleyici etki gösterir (91). Tazarotenin en sık karşılaşılan yan etkisi lokal irritasyondur. Nemlendiricilerle birlikte veya kombine tedavilerde bu yan etki azalabilir. Ayrıca tazoraten teratojenik bir retinoid olup gebelerde kullanılmamalıdır (92,93).

2.1.10.2 Foto(kemo)terapi

Fototerapi; topikal tedavilere yanıt vermeyen veya vücut yüzey alanının %10'undan fazla alanda tutulumu olan veya şiddetli palmoplantar psöriazisi mevcut hastalarda daha sıklıkla tercih edilmektedir. Psöriaziste fototerapi tedavisiyle keratinositler, melanositler ve dendritik hücrelerde absorbsiyon gerçekleşir. Bunun sonucunda fotokimyasal reaksiyonlar gelişir ve T hücrelerinde apoptoz tetiklenir (94). İlk olarak geniş bant ultraviyole B (290-320nm) ışığı kullanılmış olup daha sonra etkisinin daha fazla olduğu gösterilmiş olan dar bant ultraviyole B (311nm) ışığı geliştirilmiştir (95). Psoralen ultraviyole A (PUVA) fotokemoterapisi ise psoralen gibi bir fotoduyarlandırıcı ile ultraviyole A (320-400nm) ışığının kombinasyonu sonucu geliştirilmiş bir tedavi yöntemidir. PUVA tedavisi, psoralenin uygulama şekline göre sistemik (oral PUVA) veya deriye doğrudan uygulamalar (banyo/krem PUVA) ile yapılabilmektedir (96).

Fototerapi tedavisinde erken dönemde, fototoksik reaksiyonlar, eritem, kseroezis, veziküler lezyonlar, kaşıntı, ağrı ve hassasiyet görülebilir. Uzun dönem yan etkileri arasında ise fotoyaşlanma, katarakt ve fotokarsinogenez riskinde artış görülebilmektedir (97).

2.1.10.3 Sistemik Konvansiyonel Tedaviler

a) Metotreksat:

Metotreksat (MTX), dihidrofolat redüktazı inhibe eden bir folik asit antagonistidir. Bu ilaç, nükleotid ve aminoasit sentezini engelleyerek DNA sentezini baskılar, hızlı çoğalan hücrelerin proliferasyonunu ve mitozu durdurur**.** 1972 yılında Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onayı alan MTX, psöriazis tedavisinde 50 yılı aşkın bir süredir kullanılan etkili bir tedavi seçeneğidir. Tedavi yöntemi olarak oral tablet şeklinde veya subkutan yolla uygulanabilmektedir. MTX'in yan etkileri arasında gastrointestinal yan etkiler, halsizlik, saç dökülmesi, karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme, stomatit, hepatotoksisite ve kemik iliği baskılanması gibi yan etkiler yer almaktadır. Ayrıca immünsüpresif etkisi düşünüldüğünde tüberküloz, hepatit ve lenfomaların yeniden aktivasyonununa neden olabilir (98,99).

b) Asitretin:

Asitretin, 2. Jenerasyon bir retinoid olup etretinatın aktif metabolitidir (100). İmmünsüpresif olmaması ve etkinliği nedeniyle psöriaziste önemli bir tedavi seçeneğidir. 1996 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı almıştır. Asitretin retinoik asit reseptörlerinden (RAR) α, β ve γ'ya bağlanmaktadır ve psöriaziste antiinflamatuar, immünomodülator, anti-anjiyojenik etkilerinin yanında keratinosit proliferasyonunu azaltarak etkisini göstermektedir. Asitretinin yan etkileri arasında; keilit, cilt kuruluğu, konjonktivit, saç dökülmesi, hiperlipidemi, transaminazlarda bozulma ve osteoporoz yer almaktadır. Ayrıca teratojenite riski nedeniyle doğurganlık potansiyeli olan kadınlar hastalarda dikkatli olunmalıdır (101).

c) Siklosporin:

Siklosporin bir kalsinörin inhibitörü olup, hızlı etki gösteren ve orta şiddetli plak psöriaziste oldukça etkili bir tedavi seçeneğidir. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 1997 yılında psöriazis tedavisi için onay almıştır. Etkisini T lenfositler üzerinden gösterir ve özellikle IL-2 başta olmak üzere birçok sitokinin salınımını azaltır. Yan etkileri arasında nefrotoksisite, hipertansiyon, hipertrikoz, elektrolit bozuklukları ve malignite gelişimi bulunmaktadır. Kılavuzlarda önerilen dozlarda, uygun takip ve kısa süreli kullanımında yan etki görülme riski büyük oranda düşmektedir (102).

2.1.10.4 Biyolojik Tedaviler

Biyolojik tedaviler, orta ve şiddetli psöriaziste sistemik konvansiyonel tedavilerle yanıt alınamayan veya bu tedavilerin yan etki profili veya kontrendikasyonu sebebiyle kullanılamayan hastalarda tercih edilen tedavi seçeneğidir. Biyolojik tedaviler öncesi hastadan detaylı anamnez alınmalı ve gerekli laboratuvar tetkikleri yapılmalıdır. Hastaya daha önce uygulanmış tedaviler ve bu tedavilere ait doz, süre, yanıt, yan etki bilgileri bilinmelidir. Hasta; akut ve kronik enfeksiyonlar, tüberküloz, malignite öyküsü, inflamatuar bağırsak hastalıkları,

konjestif kalp yetmezliği, demyelinizan hastalıklar, gebelik durumu ve psikiyatrik hastalıklar açısından sorgulanmalıdır (103).

Psöriazis patogenezindeki mekanizmalar ve bu mekanizmalardaki yolaklardan sorumlu mediatörler anlaşıldıkça bu mediatörlere yönelik geliştirilen biyolojik tedavi çeşitliliği de artmaktadır. Biyolojik ajanlar, özellikle psöriazis lezyonlarının gelişiminde ve kronikleşmesinde oldukça önemli IL-23/Th17 ekseni ve TNF-α sinyalizasyon yollarını hedeflemektedir (104). Psöriazis patogenezinde önemli rol oynayan TNF-α inhibitörleri arasında infliksimab, etanercept, adalimumab ve sertolizumab-pegol gibi biyolojik ajan tedavileri bulunmaktadır. IL-12 ve IL-23 ortak alt ünitesi p40 bölgesini bağlayan ustekinumab, insan monoklonal antikoru olan biyolojik tedavilerden biridir. IL-23 sitokininin P19 alt ünitesine bağlanarak etki gösteren biyolojik tedaviler arasında tildrakizumab, guselkumab ve risankuzimab yer alırken; IL-17A'yı seçici olarak inhibe eden biyolojik ajanlar arasında ise sekukinumab ve iksekizumab bulunmaktadır. Brodalumab, IL-17 reseptör A (IL-17RA)'ya yüksek afiniteyle bağlanan insan monoklonal antikorudur. IL17A ve IL17F'ye yönelik geliştirilen biyolojik ajan ise bimekizumab olarak karşımıza çıkmaktadır (5). Ek olarak IL-36 reseptörlerine spesifik bağlanan spesolimab, generalize püstüler psöriazis tedavisinde kullanılabilen monoklonal antikor yapısında biyolojik tedavi ilacıdır (105).

2.2. PİKNOGENOL

Fransa'nın güneybatı sahillerinde yetişen *Pinus pinaster'den* elde edilen Fransız sahil çamı kabuğu özütü olan Pycnogenol® (çalışmanın devamında "piknogenol" veya "PYC" olarak anılacaktır.), flavonoit/polifenol yapısında bir bitki ekstresidir. Piknogenol terimi, eski Yunancada yoğunlaştırılmış anlamına gelen 'puknos' ve aile, tür anlamındaki 'genos' kelimelerinden türemiştir. Bu terim başta flavan-3-ol türevlerinden oluşan tüm bir flavonoid sınıfını tanımlamak için kullanılmıştır ancak şimdi çam kabuğundan elde edilen ve "Pycnogenol (PYC) (Horphag Research, Ltd. UK, Cenevre, İsviçre)" ticari adı altında patentli olan prosiyanidinlerin belirli bir karışımını ifade etmektedir (10).

2.2.1 Tarihçesi

1947 yılında Bordeaux Üniversitesi Biyoloji ve Tıp Fakültesi öğrencisi olan Jacques Masquelier doktora tezinde, yer fıstığının kırmızı iç kabuğunun zehirli olup olmadığının yanıtı için bir dizi deney gerçekleştirmiştir. Araştırmalarının oldukça erken bir döneminde, yer fıstığı kabuğunun zehirli olmadığını tespit edebilmiştir. Ancak araştırmaları sırasında, yer fıstığı kabuğunda daha fazla inceleme yapılmasını gerektiren renksiz bir maddeye rastlamıştır. 1948 yılında, yer fıstığı kabuğundan oligomerik proantosiyanidin adlı bu maddeyi izole etmeyi başarmış ve bu maddenin vazoprotektif potansiyele sahip olduğunu tespit etmiştir. Pek çok olası kaynak arasında gezindikten sonra, kereste endüstrisinin atık ürünü olan ve genellikle bahçelerde malç olarak kullanılan Landes çam ağaçlarının kabuğunda aradığını bulmuş ve ardından Avrupa sahil çamı ağacının (P. pinaster) kabuğundan proantosiyanidinleri çıkarmayı başarmıştır. 1979 yılında Masquelier, bu son derece karmaşık kimyaya sahip maddeler için "piknogenol" kelimesini kullanmıştır (10).

2.2.2 Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Özellikleri

Kırmızı-kahverengi renkte, kuru toz formunda ve ısıya karşı dirençli olan çam kabuğu özütü, kuru ve karanlık bir ortamda stabil kalabilmektedir. Yapısındaki yüksek proantosiyanidin oranı sayesinde suda çözünürlüğü oldukça yüksektir. Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi-Ulusal Formüller (USP-NF) monografisine göre "Sahil Çamı Özütü"nün diyet takviyeleri bölümündeki kalite özelliklerine uygundur. Bu monografiye uygun şekilde hazırlanan standart piknogenol ekstresi, %65-75 oranında kateşin ve epikateşin alt ünitelerini içeren prosiyanidinlerden oluşur. Piknogenolün tanımında kullanılan ve analizinde kabul edilen bileşenler; prosiyanidinler, taksifolin, ferulik asit, kateşin ve kafeik asittir.(10,106). Piknogenol preparatları kapsül veya tablet şeklinde ağızdan alınır. Piknogenol içme solüsyonlarına da eklenebilir (13). Piknogenol alımından sonra, bileşenler ve metabolitler kan hücrelerinde, sinovyal sıvıda ve tükürükte de tespit edilmiştir. Bileşenlerinin ve metabolitlerinin ana atılım yolu böbrek yoluyla olmaktadır (106).

Sağlıklı gönüllülerde oral alımdan sonra farmakokinetik özelliklerini ele alan kapsamlı bir çalışmada, bileşenlerinin çoğunun iyi emildiği, yüksek biyoyararlanıma

sahip olduğu, önemli ölçüde metabolize edildiği ve dokulara hızla dağıldığı tespit edilmiştir (107,108). Transdermal biyoyararlanım, %5 Piknogenol içeren sıvı bir preparat kullanılarak insan derisi ile in vitro bir model sisteminde araştırılmıştır. Bileşenlerinden kateşin, taksifolin, prokateşik asit gibi çeşitli küçük polifenoller hızla emilmiştir. Bu, piknogenolün dermal preparatlar için de uygun olduğunu göstermektedir (12).

2.2.3 Farmakolojik Etkileri

Piknogenolün farmakolojik etkileri üzerine birçok çalışma yapılmış olup kanser, diyabet, inflamatuar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, immün sistem hastalıkları, erkek infertilitesi ve ödem gibi çeşitli patolojik durumlarda piknogenolün etkili olduğu rapor edilmiştir (10,11).

2.2.3.1 Antioksidan etkileri

Piknogenolün yapısında bulunan fenolik asit, polifenoller ve flavonoitlerle oluşan güçlü antioksidan etki birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu etkiyi serbest oksijen radikallerini ve nitrojen monooksit üretimini azaltarak göstermektedir (10,109). Piknogenolün yapısında bulunan kateşin, süperoksit aktivitesini baskılamakta olup, M1 metabolitinin in vitro ortamda askorbik asitten daha güçlü antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir. Piknogenolün aynı zamanda matriks metalloproteinazlar (MMP) üzerinde de etkileri araştırılmış ve MMP 1, 2 ve 9'un salınımını baskıladığı gösterilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda, piknogenolün MMP'lerin aşırı artışıyla ilişkili pulmoner fibrozis, astım, kıkırdak hasarı ve artrit gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavi sürecine olumlu katkı sağlayabileceği öngörülmektedir (110,111). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada radyoterapi sonucu oluşan oksidatif hasarın, piknogenolün antioksidan etkisi ile önlenebileceği ileri sürülmüştür (112).

2.2.3.2 Antiinflamatuar etkileri

Piknogenolün doz bağımlı antiinflamatuar etkisi ve kronik inflamatuar hastalıklardaki tedavi edici rolü, çeşitli çalışmalar tarafından doğrulanmıştır (108,113). Piknogenolün proinflamatuar sitokinlerin gen ekspresyonu üzerindeki etkisini değerlendiren bir in vitro çalışmada, NF-κB ve aktivatör protein-1 gibi faktörleri baskılayarak IL-1 beta ve mRNA seviyelerini doz bağımlı olarak düşürdüğü, ayrıca IL-2 gen ekspresyonunu engellediği gösterilmiştir (114). Piknogenol, inflamatuar bağırsak modeli oluşturulan deneysel bir hayvan çalışmasında makroskobik hasarı hafifletmiş ve miyeloperoksidaz aktivitesini doz bağımlı düşürmüştür (115). Piknogenolün antiinflamatuar etkisi sayesinde ağrıyı hafifletebileceği düşünülmüş ve klinik çalışmalar dismenore, kas ve kramp ağrılarında piknogenol takviyesinin belirgin bir ağrı azalması sağladığını ortaya koymuştur (116,117).

2.2.3.3 Antibakteriyel ve antiviral etkileri

Piknogenolün aynı zamanda antibakteriyel ve antiviral etkilerinin de gösterildiği birçok çalışma yapılmıştır. Piknogenolün, Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı büyümeyi durdurucu etkisiyle birlikte Candida gibi mikroorganizmaların çoğalmasını engellemesi, ağız ve cilt sağlığını destekleyici bir bileşen olabileceğini de göstermektedir (118). Yapılan bir in vitro çalışmada, mangan süperoksit dismutaz ekspresyonunu artırarak Human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) replikasyonunu baskıladığı ve bu özelliğiyle yeni bir anti-HIV-1 ajanı olarak kullanılabileceği düşünülmüş olup ayrıca diğer virüs kaynaklı hastalıklarda da koruyucu ve tedavi edici potansiyelde olabileceği öngörülmüştür (119). Piknogenolün gastrik hücreler üzerindeki Helicobacter pylori etkisini inceleyen bir diğer çalışmada ise doz bağımlı bakterinin çoğalmasını, gelişimini ve gastrik hücrelere yapışmasını engellediği belirlenmiştir (120).

2.2.3.4 Antikanser ve antidiyabetik etkileri

Ovaryum hücrelerinde gerçekleştirilen bir in vitro çalışmada, talk ile tetiklenen neoplastik süreçte piknogenolün hücre çoğalmasını yavaşlattığı ve neoplazm içeren

koloni sayısını azalttığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, piknogenolün ovaryum kanseri gelişimini önleyici bir potansiyele sahip olabileceğini düşündürmektedir (121). Bunun yanı sıra, piknogenolün meme kanseri hücreleri ve insan promiyeloid lösemi hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü (apoptozu) artırdığı gösterilmiştir (122,123).

Deneysel ve klinik çalışmalar, piknogenolün tip 2 diyabetli bireylerde kan şekeri düzenlemesine yardımcı olabileceğini ve diyabete bağlı komplikasyonların hafifletilmesinde etkili olabileceğini ortaya koymaktadır. İn vitro çalışmalarda, tip 2 diyabetli bireylerde artış gösteren alfa glukozidaz enzim seviyesinin piknogenol etkisiyle azaldığını ve kan glukoz seviyelerinin düştüğünü ortaya koymuş, ancak insülin sekresyonu üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (124). Streptozosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 14 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanan 10 mg/kg piknogenolün diyabetik hayvanlarda katarakt oluşumunu azalttığı ayrıca retina glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir. Bu bulgular piknogenolün diyabetik retinopati ve katarakt tedavisinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (125).

2.2.3.5 Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri

Piknogenolün, hücre içi glutatyon peroksidaz, disülfid redüktaz, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini artırarak serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirdiği ve böylelikle kardiyovasküler hastalıklarda damar endotelini hasara karşı koruyabileceği düşünülmektedir (126). İn vitro çalışmalar, piknogenolün asetilsalisilik asit ile birlikte kullanıldığında platelet agregasyonunun inhibisyonunda sinerjik bir etki sağladığını ortaya koymuştur (127). Aterosklerozda ise piknogenolün güçlü antioksidan etkisine ek olarak, nitrik oksit sentaz aracılığıyla endotel bağımlı vazodilatasyonu destekleyerek endotel fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (108,128). Başka bir çalışmada, nitrik oksit sentez aktivitesi baskılanarak kalp yetmezliği oluşturulan farelere dört hafta boyunca oral olarak 300 mg/kg piknogenol uygulandığında, hipertansiyonun ve kardiyak hipertrofisinin belirgin şekilde azaldığı

gözlemlenmiştir. Bu etkinin, MMP-9'un aktivitesinin düşürülmesiyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (129).

2.2.3.6 Üreme ve sinir sistemi üzerine etkileri

Piknogenolün sperm morfolojisi ve işlevleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmış çalışmalar mevcuttur. Subfertil bireylerde gerçekleştirilen bir klinik çalışmada, piknogenol tedavisinin sperm morfolojisini iyileştirdiği ve mannoz reseptör bağlanmasını artırdığı görülmüştür (130). Piknogenolün ayrıca endotelyal nitrik oksit sentaz (e-NOS) aktivasyonu ile nitrik oksit üretimini artırdığı ve vazodilatasyon ile erektil disfonksiyon tedavisinde etkili olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışma piknogenol ve L-arginin kombinasyonunun erkeklerde sperm kalitesini ve erektil disfonksiyonu iyileştirmede faydalı olduğunu ileri sürmektedir (131). Sinir sistemi üzerine yapılmış bir çalışmada ise piknogenol kullanımı ile dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu olan çocuklarda katekolamin düzeylerinin normal düzeye geldiği görülmüştür (132).

2.2.3.7 Cilt üzerine etkileri

Cilt sağlığını korumaya yönelik beslenme stratejileri giderek daha fazla ilgi görmektedir. Başlangıçta, ultraviyole radyasyonun neden olduğu hasarı önlemek amacıyla antioksidan içeren besin takviyelerine yönelim olsa da son yıllarda yapılan çalışmalar bu takviyelerin yararlı etkilerinin fotokoruma ile sınırlı kalmayıp daha geniş kapsamlı olduğunu ortaya koymaktadır. Piknogenolü ele alan çalışmalarda piknogenolün sadece foto koruma sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda ciltte hiperpigmentasyonu azaltma, cilt bariyer fonksiyonunu güçlendirme ve hücre dışı matris homeostazını destekleme potansiyeline sahip olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (133). Yapılan farklı bir çalışmada ise piknogenolün serbest radikalleri baskıladığı, antitirozinaz etkisi bulunduğu ve melanin biyosentezini inhibe ettiği görülmüştür (134). Piknogenolü konu alan yara iyileşme çalışmaları da literatürde mevcut olup yapılan deneysel bir rat çalışmasında piknogenolün farklı konsantrasyonlarda olan topikal formunun yara üzerindeki etkileri incelenmiştir. %1

piknogenol içeren jel formülasyonun, yalnızca jel ile tedavi edilen grupla karşılaştırıldığında yara iyileşme süresini 1,6 gün kısalttığı görülmüştür. %2 piknogenol uygulaması iyileşme süresini neredeyse 3 gün azaltırken, %5 piknogenol jel ise yara iyileşme sürecini en çok hızlandıran uygulama grubu olmuştur (135). Klinik çalışmalar, oksidatif stresin tetiklediği inflamatuar dermatozların topikal tedavisinde de piknogenolün etkili olabileceğini göstermektedir (10).

2.2.4 Yan Etkileri ve Güvenlik Verileri

Piknogenol, bağımsız toksikoloji uzmanları tarafından klinik güvenlik ve klinik öncesi toksikoloji verilerinin değerlendirilmesine dayanarak geleneksel gıdalarda kullanım için "genel olarak güvenli olarak kabul edilir" [generally recognized as safe (GRAS)] olarak onaylanmıştır. Piknogenolün bilinen bir kontrendikasyonu bulunmamaktadır. Piknogenolün olası yan etkilerine yönelik yapılan araştırmalarda, uzun süreli kullanımının güvenli ve etkili olduğu, hatta oldukça yüksek dozlarda dahi ciddi akut veya kronik toksisiteye sebep olmadığı gösterilmiştir. Klinik araştırmalar neticesinde piknogenolün en sık rastlanan yan etkilerinin gastrointestinal rahatsızlıklar, baş dönmesi, baş ağrısı ve bulantı olduğu bildirilmiştir (136).

2.3. LİPOZOM

Lipozomlar 1965 yılında Bangham tarafından biyolojik membran modelleme çalışmaları yapılırken keşfedilmiştir (137). Biyolojik olarak aktif bileşikler ve ilaçlar için en etkili taşıyıcı sistemlerden biri olarak sürekli araştırılmıştır. Lipozomlar, polar lipid tabakalarından ve bu tabakalar arasında yer alan sulu fazdan oluşan, genellikle küresel morfolojiye sahip veziküllerdir. Partikül boyutları nanometre ile mikrometre arasında değişen lipozomlar, biyomimetik özellikleri sayesinde doğal hücre membranlarının yapay halleri olarak değerlendirilebilir. Fosfolipitler, kolesterol ve belirli yüklü bileşenler içeren bu sistemler, hücre membran yapısıyla yüksek derecede benzerlik göstererek biyolojik sistemlerle oldukça uyumlu bir yapı sergilemektedir (14,138).

Lipozomlar, biyoaktif molekülleri farklı bölgelerinde taşıyabilmektedirler. Biyolojik sistemlerdeki hücre membranlarına benzer şekilde, hidrofilik ilaç etken maddeleri lipozomların iç kısmında kapsüllenebilirken; lipofilik bileşikler ve amfifilik moleküller ise membran kısmında tutulabilmektedir. Lipozomlar, bu özelliği sayesinde biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda oldukça değerli taşıyıcı sistemler haline gelmektedir (15,139).

Lipozomal taşıyıcı sistemler yaygın olarak tercih edilmekte olup, sahip oldukları çeşitli avantajlar nedeniyle dikkat çekmektedir. Yüksek biyouyumlulukları, hücre zarında da bulunan fosfolipit içeriklerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca biyouyumlu olmaları neticesinde sistemik toksisite ve sitotoksisite düzeyleri düşüktür. Lipozomlar hem hidrofilik hem de lipofilik bölgeleri sayesinde farklı ilaç etken maddelerini taşıma kapasitesine sahiptir. Kontrollü ilaç salınımı mekanizmasına olanak tanıyarak, plazma ilaç konsantrasyonunun belirlenen süre boyunca istenilen seviyede tutulmasını sağlayabilmektedir. Ayrıca farklı boyut ve yüzey özelliklerine sahip olacak şekilde üretilebilen lipozomlar, etken maddenin hedef bölgeye aktif ve/veya pasif yolla yönlendirilmesine imkân tanımaktadır. Oral, topikal, nazal, pulmoner, intramüsküler, intravenöz, subkutan ve oküler uygulama gibi çeşitli ilaç veriliş yolları ile kullanılabilirler. Lipozomal formülasyonlar, etken maddeyi enzimatik bozulmaya karşı koruyarak ilaç stabilitesini artırma avantajı da sunmaktadır (14,15,139).

Lipozomlar, Tablo 2 ve 3'te gösterildiği gibi büyüklükleri, bileşim özellikleri ve hücre içi ilaç taşıma mekanizmalarına göre sınıflandırılabilmektedir (140).

Tablo 2. Lipozomların tabaka sayısı ve boyutlarına göre sınıflandırılması(140).

SUV (Small unilamellar vesicles)	Tek tabakalı küçük veziküller (20 – 100 nm)
LUV (Large unilamellar vesicles)	Tek tabakalı büyük veziküller (> 100 nm)
GUV (Giant unilamellar vesicles)	Tek tabakalı çok büyük veziküller (> 1 μm)
OLV (Oligolamellar vesicles)	Oligolameller veziküller (0,1 – 0,5 μm)
MLV (Multilamellar vesicles)	Çok tabakalı veziküller (> 0,5 μm)
MVV (Multivesicular vesicles)	Çok vezikülden oluşan veziküller (> 1 μm)

Tablo 3. Lipozomların içerik ve hücre içi ilaç taşıma mekanizmalarına göre sınıflandırılması(138,140).

Lipozom türü	İçerik	Özellik
Geleneksel lipozomlar	Nötral ya da negatif yüke sahip fosfolipidler ve kolesterol	Retiküloendotelyal sistem hedeflendirmesi yapılabilir. Doz bağımlı farmakokinetik.
pH duyarlı lipozomlar	Fosfatidil etanolamin, dioleil fosfatidil etanolamin ile kolesterol hemisüksinat, oleik asit	Zayıf bazların ve makromoleküllerin hücre içerisine taşınmasında kullanılır.
Katyonik lipozomlar	Katyonik lipitler	Negatif yüklü makromoleküllerin taşınması için uygun sistemlerdir. Yüksek dozlarda toksisite gösterirler ve yapısal olarak stabil olmayan sistemlerdir.
İmmünolipozomlar	Geleneksel ya da dolaşımda uzun süre kalma yeteneğine sahip lipozomların yüzeyine antikor veya ligand bağlanması ile oluşurlar.	Hedef dokuya yönelik bağlanma ve hedef bölgede salım.
Uzun süre dolaşımda kalan lipozomlar	Yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip nötral lipidler.	Hidrofilik yüzey kaplama: düşük opsonizasyon ve bu nedenle RES tarafından eliminasyonu zordur. Uzun süre dolaşımda kalma ve dozdan bağımsız farmakokinetik.

2.3.1 Lipozomların Hazırlanması

Lipozomların üretimi için çeşitli yöntemler kullanılmakta olup, geleneksel yöntemler arasında mekanik yöntemler, çözücü dispersiyon yöntemleri ve deterjan uzaklaştırma yöntemleri gibi teknikler yer almaktadır. Bununla birlikte, son on yılda geliştirilen yenilikçi üretim teknikleri sayesinde, farklı fizikokimyasal ve morfolojik özelliklere sahip lipozomlar elde edilebilmektedir (138,141). Bu yöntemlerden bazıları Tablo 4'te özet şeklinde sunulmuştur.

Tablo 4. Lipozom hazırlama yöntemleri ve bu yöntemlerin avantajları, dezavantajları (138,141).

Yöntem	Avantajlar	Dezavantajlar
İnce Film Hidratasyon Yöntemi (Bangham Yöntemi)	Uygulama kolaylığı, en sık tercih edilen yöntem	Organik çözücü kullanımı, partikül boyutu kontrolünün zor olması, zaman sorunu, sterilizasyon problemleri
Deterjan Uzaklaştırma Yöntemi	Basit tasarım, homojen ürün, partikül büyüklüğü kontrolü	Organik çözücü kullanımı, deterjan kalıntı riski, zaman sorunu, düşük enkapsülasyon etkililiği.
Ters Faz Uzaklaştırma Yöntemi	Basit tasarım, uygun enkapsülasyon etkinliği	Organik çözücü kullanımı, zaman sorunu, sterilizasyon problemleri
Enjeksiyon Yöntemleri	Tek aşamalı işlem	Organik çözücü kalıntı riski, gözenek tıkanma riski, sterilizasyon problemleri
Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Yöntemi	Büyük hacimde üretim imkânı, basit tasarım, 100 nm partikül boyutu	Organik çözücü kalıntı riski, sterilizasyon problemleri
Mikroakışkan Kanal Yöntemi	Partikül boyutu kontrolü.	Büyük ölçekte üretimde zorluk, organik çözücü kalıntısı riski
Membran Kontaktör Teknolojisi	Partikül boyutu kontrolü, endüstriyel anlamda kullanılabilirlik, 100 nm partikül boyu, yüksek enkapsülasyon etkinliği	Organik çözücü kullanımı
Süperkritik Akışkan Teknolojisi	Partikül boyutu kontrolü, yerinde sterilizasyon imkânı, düşük miktarda organik çözücü gereksinimi	Karmaşık sistem, maliyet sorunları.

2.3.2. Lipozomların Karakterizasyonu

Lipozomların analizlerinde; boyut dağılımı, zeta potansiyeli, polidispersite indeksi ve termodinamik özellikler gibi fiziksel karakterizasyon yöntemlerinin yanı sıra; kolesterol oto-oksidasyonu, antioksidan ve aktif bileşen degradasyonu gibi kimyasal stabilite değerlendirmeleri gerçekleştirilmektedir. Ayrıca, farmakope bazlı mikrobiyal analizler ile temel karakterizasyon çalışmaları kapsamında pH, osmolarite, organik çözücü kalıntıları ve ağır metal tayini gibi parametreler incelenmektedir (138). Lipozomlarda kullanılan bazı karakterizasyon ve analiz yöntemleri tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Lipozomlarda kullanılan karakterizasyon parametreleri ve analiz yöntemleri (138).

PARAMETRELER	ANALİZ YÖNTEMİ
Temel Parametreler	
pH	pH metre
Osmolarite	Osmometre
Organik çözücü kalıntısı	Nükleer Manyetik Rezonans, Gaz Kromatografisi
Fosfolipit içeriği	İnce Tabaka Kromatografisi, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Fiziksel Parametreler	
Zeta potansiyel	Elektroforetik hareket
Boyut (Mikron ve mikron altı ölçümler)	Dinamik Işık Saçılımı Statik Işık Saçılımı Lazer Difraksiyonu Coulter Sayacı
Kimyasal Parametreler	
Fosfolipit hidrolizi	İnce Tabaka Kromatografisi, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Kolesterol oto-oksidasyonu	
Antioksidan degredasyonu	
Mikrobiyolojik Parametreler	
Sterilite	Farmakope yöntemleri
Endotoksin ölçümleri (pirojenite)	Farmakope yöntemleri

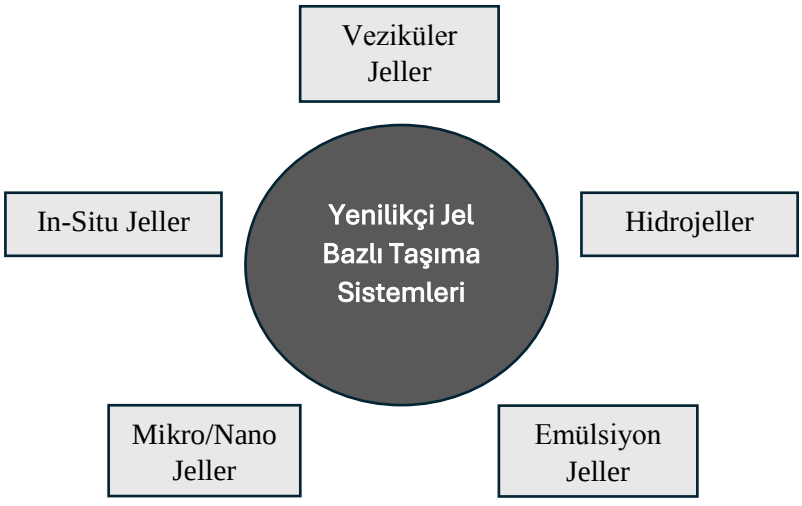
2.4. JEL ve JEL SİSTEMLERİ

Jeller, polimerik matrislerden oluşan üç boyutlu, yarı katı sistemlerdir. Katı sistemler gibi davranış sergilemelerine rağmen, katı dispersiyonlara kıyasla daha yüksek oranda sıvı bileşen içermektedirler. Jel sistemleri, belirli noktalarda tersinir bağlarla birbirine bağlı uzun ve düzensiz zincirlerden oluşmakta olup, en az iki bileşenden meydana gelen temelde bütünlük arz eden kolloidal dispersiyon sistemleri olarak tanımlanmaktadır. Bu sistemlerin bileşenleri, dispersiyon ortamı ve dağıtılmış faz olarak adlandırılmakta olup, sistem içerisinde homojen bir şekilde dağılmaktadır (142).

Jeller, genellikle şeffaf veya yarı saydam bir görünüme sahip olup, yüksek oranda çözücü içermektedir. Uygun bir çözücü kullanıldığında, kolloidal ağ yapısı oluşur ve bu yapı, sıvı hareketini sınırlandırarak çözücü moleküllerinin immobilizasyonunu sağlamaktadır (143).

Jeller, esas olarak eritme (füzyon) tekniği veya jelleştirici ajanların kullanımıyla hazırlanmakta olup, fiziksel durumlarına göre organojeller ve hidrojeller olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Hidrojeller, dağılabilir kolloidler ve suya çözünebilen bileşenlerden oluşurken, organojeller ise lipofilik ve yağ bazlı bileşenlerden oluşmaktadır. Çözücü özelliklerine göre ise jel sistemleri, kserojeller ve sulu jeller olarak alt sınıflara ayrılmaktadır (142,144).

Günümüzde, geliştirilen yenilikçi jel sistemleri, içerdikleri terapötik ajanların kontrollü ve uzun süreli salınımını sağlayabilmesiyle ilaç taşıyıcı sistemler olarak geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. Bu yenilikçi jel bazlı sistemler arasında veziküler jeller, hidrojeller, emülsiyon jeller, in-situ jeller mikrojeller ve nanojeller bulunmaktadır. Şekil 1'de yaygın olarak kullanılan yenilikçi jel bazlı ilaç taşıma sistemleri gösterilmektedir (142).



Şekil 1. Yaygın kullanılan yenilikçi jel bazlı ilaç taşıma sistemleri (142).

2.5. LİPOZOMAL JEL

Lipozomal jeller, yenilikçi jel bazlı ilaç taşıma sistemlerinden olup dermatoloji alanında tedavilerde belirgin avantajlar sunmaktadır. Jel bazlı lipozomal sistemler klasik krem/merhem formlara kıyasla daha stabil bir yapı sağlayarak ilaç etkinliğini iyileştirme, toksisiteyi azaltma, biyoyararlanımı artırma ve terapötik indeksin genişletilmesi gibi faydaları beraberinde getirmektedir (15). Ekonazol yüklü antifungal lipozomal jel, 1994 yılında İsviçre'de tasarlanan ilk topikal lipozom formülasyonu olmuştur (145).

Son yıllarda lipozomal jellerin psöriazis, akne vulgaris, atopik dermatit gibi dermatolojik hastalıkların tedavilerindeki rolünü inceleyen çok sayıda araştırma ve klinik çalışma yayınlanmıştır (15). Akne vulgaris tedavisinde yapılan klinik çalışmalarda, lipozomal tretinoin jel kullanan gruplarda geleneksel jellere kıyasla yaklaşık 1,5 kat daha fazla lezyon iyileşmesi ve belirgin daha yüksek etkinlik elde edilmiştir (146). Benzer biçimde, psöriaziste antralin yüklü etozomal/lipozomal jellerin klasik antralin preparatlarına kıyasla etkinliği arttırırken, ciltte görülen istenmeyen etkileri de önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur (147). Ayrıca topikal steroidler, retinoidler ve antimikrobiyaller gibi çeşitli ilaçların lipozomal jel formülasyonları üzerinde yürütülen güncel çalışmalar, daha iyi klinik sonuçlar ve hasta memnuniyeti bildirmektedir (15,146).

Lipozomal jellerin etkinliğinde sadece taşıdıkları aktif madde değil, bizzat lipozomun yapısında bulunan fosfolipitlerin kendisi de rol oynayabilir. Fosfolipit bazlı lipozomlar ciltle uyumlu biyomalzemeler olup stratum corneum lipidlerine benzer yapıda oldukları için cilt bariyerine nüfuz edip nemlendirme ve onarım sağlayabilirler. Literatürde, boş (aktif madde içermeyen) lipozomların bile yaraları iyileştirmede ve cilt hasarını azaltmada etkili olabileceğine dair veriler mevcuttur. Örneğin, doğal gliserofosfolipitlerden oluşan soya ve yumurta lesitininden hazırlanan saf lipozomların antioksidan etkileri ve yara iyileşmesine katkılarını araştıran bir çalışmada; hazırlanan lipozomal jel sonuçlarda dramatik bir iyileşme göstermiştir (148).

Sonuç olarak, lipozomal jeller dermatoloji alanında yenilikçi ve umut vadeden bir yaklaşım olup, gelecekte daha fazla klinik çalışma ve ürün geliştirme ile rutin uygulamada önemli bir yere sahip olması beklenmektedir.

2.6. FARE PSÖRİAZİS MODELLERİ

İnsan psoriasis patogenezi hakkında yeni genetik, hücresel ve moleküler bilgiler ortaya çıktıkça, geliştirilen psöriazis benzeri fare modellerinin sayısı önemli ölçüde artmıştır. Bu modeller, insan psöriazis hastalığının tekli veya multifaktöriyel bileşenlerini modellemeye yönelik olsa da bugüne kadar hiçbiri hastalığın patogenezini veya karmaşıklığını tam anlamıyla yansıtmayı başaramamıştır fakat psöriazisin temel histopatolojik özelliklerini gösterebilmeleri sebebiyle birçok çalışmada başarıyla kullanılmışlarıdır. Fare psöriazis modelinin indüklenmesinde kullanılan yöntemler arasında spontan, ksenograft, transgenik/knockout, intradermal sitokinlerinlerin enjeksiyonu ve imikimodun topikal uygulaması yöntemleri yer almaktadır (9).

2.6.1 İmikimod ile İndüklenmiş Fare Psöriazis Modeli

İmikimod (IMQ), Toll benzeri reseptör 7 (TLR7) agonistidir. IMQ ile indüklenmiş model, Van der Fits ve arkadaşları tarafından 2009 yılında yayımlanan öncü çalışmadan bu yana, psöriazis benzeri kutanöz inflamasyonun en yaygın kullanılan akut fare modeli haline gelmiştir (8). Bu modelin başlıca avantajları arasında uygulama kolaylığı, inflamatuar yanıtın hızlı bir şekilde ortaya çıkması, pratik uygulanabilirliği ve düşük maliyetli olması yer almaktadır. Bununla birlikte, yöntemin bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Bunlar arasında; topikal uygulamanın beklenmedik sistemik etkileri, aşırı kullanım sonucu ortaya çıkabilecek advers etkiler, gözlemci önyargısına bağlı değerlendirme hataları, histolojik verilerin yanlış yorumlanma riski ve modelin insan psöriazisinin yalnızca belirli yönlerini yansıtması sayılabilir. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular, IMQ ile indüklenen dermatitin fenotipik ve histopatolojik olarak insan psöriazis lezyonlarına büyük ölçüde benzerlik gösterdiğini ve bu lezyon gelişiminin IL-23/IL-17 sinyal yolaklarına kritik düzeyde bağımlı olduğunu ortaya koymuştur (8,9).

Farelerde imikimod kaynaklı lezyonlar yapılan çalışmaların çoğunda tek bir ırk olacak şekilde gerçekleştirilmektedir. Bu ırk genellikle B6 veya BALB/c ırkı

olmaktadır. Ayrıca psöriazis gibi inflamatuar hastalıklarda biyolojik değişkenliği azaltmak ve daha güçlü inflamatuar yanıt alınmak istendiğinde genellikle dişiler olmak üzere tek bir cinsiyet üzerinde çalışmalar yapılabilmektedir (149,150). İmikimod model oluşturma sırasında farelerin tıraşlanmış sırt ve kulak derilerine genellikle 5-7 gün uygulanmaktadır. İmikimod uygulamasının başlamasından 2 veya 3 gün sonra, farelerin sırt derisinde eritem, pullanma ve kalınlaşma belirtileri görülmeye başlamaktadır. İmikimod aynı zamanda farelerde splenomegaliyi de tetiklemektedir (8).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ETİK KURUL ONAYI VE ALINAN DESTEKLER

Tez konusu T.C. Sağlık Bakanlığı Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Eğitim Planlama Kurulu (EPK) tarafından onaylanmıştır (EK 1.).

Bu çalışmada kullanılan deney hayvanlarına uygulanacak işlemler için Yeditepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 01.11.2024 tarihli 2024-31 protokol numaralı ve 2024/05-02 numaralı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır (EK 2.). Proje Numarası: 2025002 olan 'Fransız Sahil Çamı Kabuğu Özütü (Piknogenol) ile Yüklü Lipozomal Jel Formülasyonunun İmikimod ile İndüklenmiş Fare Psöriazis Modelinde Tedavi Edici Etkisinin İncelenmesi' başlıklı bu çalışma İstanbul Kent Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

3.2. DENEY HAYVANLARI

Fareler, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (YÜDETAM) tarafından temin edilmiş olup deney protokolü yine aynı uygulama merkezinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 10-12 haftalık 20-30gr ağırlığında 35 adet dişi BALB/c ırkı fareler kullanılmıştır. Deney sürecinde hayvanlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsüne uygun şekilde, yeterli havalandırmaya sahip, %50 ± 5 bağıl nem oranında, 22 ± 1°C oda sıcaklığında, standart diyet ve su ile ad libitum olarak beslenmenin sağlandığı bireysel fare kafeslerinde tutulmuştur. Deneysel çalışma, Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS 123) uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

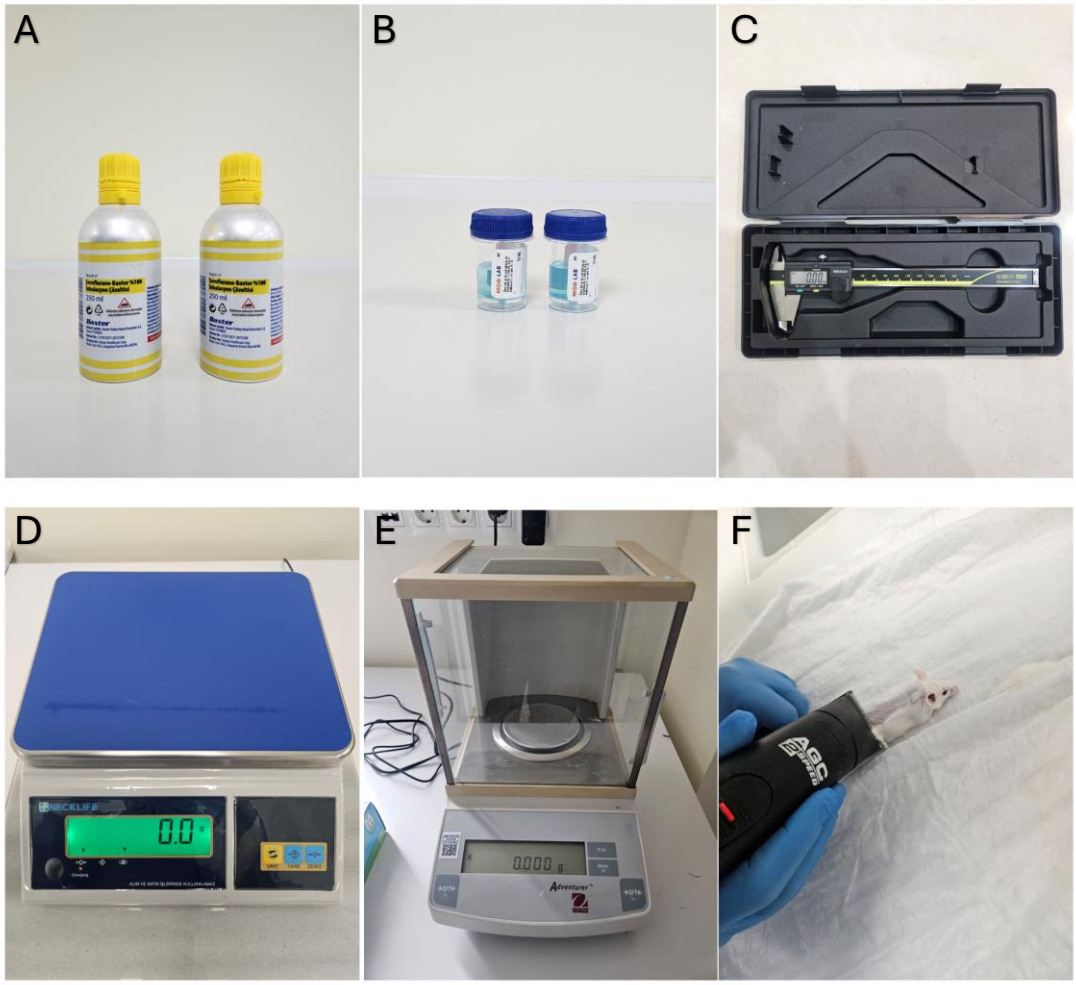
Deney hayvanlarına uygulanacak jel formülasyonu Teknopark İstanbul SFA ARGE ve ÖZEL SAĞLIK HİZMETLERİ TİC. LTD. ŞTİ. laboratuvarlarında geliştirilmiştir. Deney sonunda hayvanlardan elde edilen örnekler Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında incelenmiştir.

3.3. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR

Tez çalışması kapsamında formülasyon üretimi sonrası deney esnasında ve sonrasında kullanılan bazı cihazlar, cihazların marka ve modeli, kimyasal maddeler, ticari isimleri, üretici firma bilgileri ve kullanım amaçları Tablo 6'da belirtilmiştir**.**

Tablo 6. Deney esnasında ve sonrasında kullanılan kimyasal madde, cihazlar ve kullanım amaçları

Kimyasal Madde/Ticari isim/Üretici Firma veya Cihaz adı/Markası/Modeli	**Kullanım Amacı**
İmikimod/ALDARA ® %5 krem/Viatris	Fare psöriazis modeli oluşturma
Klobetazol Propiyonat/Dermovate ® %0,05 Merhem/GlaxoSmithKline	Pozitif kontrol grubu-Standart tedavi
Piknogenol/Pycnogenol ® /Solgar	Piknogenol yüklü lipozomal jelin hazırlanması
Petrolatum Jel/Vaseline ® /Unilever	Pare psöriazis modelinde negatif kontrol grubunda kontrol jeli
Dijital kumpas/Mitutoyo/500-181-30	Farelerin kulak kalınlığı ölçümü
Hematoksilen/ Mayer's Hematoxylin/Merck	Histokimyasal boyama
Eosin/Eosin Y/Merck	Histokimyasal boyama
IL-17 Antibody (G-4) /Santa Cruz/sc-374218	İmmünohistokimyasal boyama
TNF alpha Antibody (52B83) /Santa Cruz/sc-52746	İmmünohistokimyasal boyama
Sevofluran/SEVOFLURANE-BAXTER ® /Baxter Healthcare Corporation	Farelerin inahalasyon yoluyla anestezisi
%10 Formalinli Örnek Kabı/MOSLAB/BPFK00001	Doku materyali fiksasyonu
Hassas Terazi/Ohaus/AR3130	Dalak ağırlık ölçümü
Terazi/Necklife/JZC-TSC	Fare vücut ağırlığı ölçümü
Tıraş Makinesi/Andis/AGC 2 Speed	Farelerin tüylerinin tıraş edilmesi
Işık Mikroskobu/Nikon/ECLIPSE Ci	Histopatolojik ve immünohistokimyasal kesitlerin mikroskobik değerlendirilmesi
Otomatik İHK boyama cihazı/ Ventana Medical Systems Inc., Roche/BenchMark ULTRA	TNF-α ve IL-17 antikorları ile İHK boyama işleminin otomatik olarak gerçekleştirilmesi



Şekil 2. Deneyde kullanılan bazı malzemeler. A) Sevofluran-baxter inhalasyon çözeltisi, B) %10 formalinli örnek kabı, C) Dijital hassas kumpas (Mitutoyo), D) Terazi (Necklife), E) Hassas Terazi (Ohaus), F) Farelerin tıraş makinesi ile tüylerinin alınması.

3.4. PİKNOGENOL YÜKLÜ LİPOZOMAL JELİN ÜRETİMİ

3.4.1 Lipozom Veziküllerinin Hazırlanması

Lipozom dispersiyonları ince film hidrasyon yöntemi tekniği kullanılarak hazırlanmıştır (137,151). Uygun molar oran kombinasyonları hazırlanan optimum formülasyonlardan hazırlanan lipozomlar volumetrik 100-250 ml hacmindeki ölçü balonlarında 0,1 mM konsantrasyon aralığında istenen hacimde, 5 mg lipid/1 ml organik solvent olmak üzere kloroform/metanol karışımı ile 3/1 (hacim/hacim) oranında çözücü ile iyice çözülmüştür. İnce film veya kuru film metoduyla hazırlanıp

100-400 mBar basınç altında rotavapor yardımıyla 100-200 rpm dönüş hızında 30-40 °C sıcaklıkta organik solvent, ortamdan iyice uzaklaştırılmış ve ardından azot gazından geçirilen kurutulmuş balonun içerisinde kalıntı solventin ortamdan tamamen uzaklaştırılması amacıyla vakumlu etüv (25-30 °C) içerisinde 1 gün süreyle bekletilmiştir (over night process).

Sulandırma aşamasında piknogenol içermeyen boş lipozomlarla pH: 7.4 phosphate buffer çözelti, kuru film içeren balona konmuştur. Vakumlu etüvde lysophosphatidyl choline oluşmasını engellemek için 1 gece tutulan lipozomlar, alındıktan sonra su fazı ilavesi sürecine geçilmiştir. Lipozomların sulandırılmasında faz geçiş sıcaklığı üzerinde çalışmak gerektiği için çalıştığımız fosfolipidin tipine göre ve faz geçiş sıcaklığına göre 25-60 °C aralığında ve faz geçiş sıcaklığının 10-20 °C üzerinde çalışılmıştır. Filmin yüzeyden küresel şekilde ayrılabilmesi için halı şeklinde katlanıp çok tabakalı veziküller (multi lamellar vesicles, MLV) oluşması için 1-3 mm çapında şeffaf cam boncuklar kullanılmıştır. Oluşturulan MLV'lerin süt görünümünde ve ortalama 1–5 μm boyutunda olması beklenmiştir. Ancak hedef bölge beyin olduğundan ve kan beyin bariyeri yaklaşık 200-220 nm geçirgenliğe sahip aralıkta olması sebebiyle veziküllerin çaplarını küçültmek ve çok tabakalı vezikülleri tek tabakalı hale getirmek gerekmektedir. Yapılan çalışmalar fiziksel ajitasyon (vorteksleme gibi), banyo ve tip sonikasyon enerjisi uygulama, ekstrüzyon uygulayarak soğan soyucu etki (onion peeling effect) ile küçük tek tabakalı veziküllerin (small unilamellar vesicles, SUV) oluşabileceğini ve vezikül boyutlarının 50-150 nm arasına getirilebileceğini göstermiştir. Bu amaçla sırasıyla vorteksleme, tip sonikasyon (buz banyosu içinde aşırı ısınmayı önlemek ve vezikülleri korumak amacıyla) ve ekstrüzyon (50-100 nm gözenek çaplı polikarbonat membran filtrelerden 8-10 kez geçirilmek suretiyle) işlemi uygulanmış ve lipozomlar hazırlanmıştır.

3.4.2 Piknogenol Yüklü Lipozom Veziküllerinin Hazırlanması

Piknogenol yüklü lipozom veziküllerinin hazırlanmasında yukarıda anlatılan işlemlerden farklı olarak piknogenolü lipozoma yüklemeden önce suda yeterli düzeyde çözünebilen piknogenolün her kapsül içerisinde 30 mg bulunan formu (Pycnogenol®, Solgar), %5 konsantrasyona denk gelecek şekilde buffer içinde çözdürülmekte ve

çözünmeyen laktoz vs. dolgu maddelerinden uzaklaştırmak için pileli süzgeç kâğıdından süzdürülmektedir. Piknogenol tamamen pH: 7.4 phosphate buffer çözelti çözeltisi içinde kalır ve sonrasında kuru lipid filmler ile hidrate edilmiştir. Daha sonra lipozom veziküllerin hazırlanmasında yapılan işlemler tekrarlanmış olup %5 piknogenol yüklü lipozom vezikülleri hazırlanmıştır.

3.4.3 Taşıyıcı Baz Jel Hazırlanması

Çalışmada sıvı süt görünümünde olan lipozom dispersiyonlarını taşıması için Carbopol Ultrez 21 jel yapıcı polimer olarak kullanılmıştır (152). Burada çözelti içinde %0,5 konsantrasyonda Ultrez 21 serpilerek 5 dakika dağılması beklenmiş ve pH 7.4'e kadar trietanolamin ilave edilerek jelleşme sağlanmıştır.

3.4.4 Lipozom Veziküler Taşıyıcı Jel Hazırlanması ve Karakterizasyon Tayini

Piknogenol içermeyen lipozom dispersiyonlarının jel haline gelebilmesi ve lezyon üzerinde kalıcılığının artırılması amacıyla 1:1 eşit oranda içerisinde piknogenol içermeyen lipozom ve jel formülasyonu yavaş bir şekilde karıştırılarak lipozom veziküler taşıyıcı jel hazırlanmıştır. Elde edilen lipozomal taşıyıcı jel formülasyonunun fiziksel karakterizasyonu kapsamında viskozite, pH, parçacık boyutu ve zeta potansiyel tayinleri gerçekleştirilmiştir.

3.4.5 Piknogenol Yüklü Lipozomal Jel Hazırlanması ve Karakterizasyon Tayini

Piknogenol yüklü lipozom dispersiyonlarının jel haline gelebilmesi ve lezyon üzerinde kalıcılığının artırılması amacıyla 1:1 eşit oranda içerisinde piknogenol yüklü lipozom ve jel formülasyonu yavaş bir şekilde karıştırılarak piknogenol yüklü lipozomal jel hazırlanmıştır. Elde edilen piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun fiziksel karakterizasyonu kapsamında viskozite, pH, parçacık

boyutu ve zeta potansiyel tayinleri lipozomal veziküler taşıyıcı jel hazırlanmasında da olduğu gibi Tablo 7'de gösterilen cihaz ve yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7. Formülasyonların Fiziksel Karakterizasyonunun Tespitinde Kullanılan Yöntemler ve Cihazlar

Analizler	Yöntem	Kullanılan Ortam-Cihaz
Viskozite Tayini	Viskozimetrik Yöntem	Brookfield DV3T HA
pH	Potansiyometrik Yöntem	Mettler Toledo Seven Excellence
Parçacık Boyutu	Dinamik Işık Saçılımı Tekniği (DLS)	Malvern Zetasizer Nano
Zeta Potansiyel	Elektroforetik Işık Saçılımı Tekniği	Malvern Zetasizer Nano

3.5. FARE PSÖRİAZİS MODELİNİN OLUŞTURULMASI VE DENEY GRUPLARININ BELİRLENMESİ

Literatüre bakıldığında bazı çalışmalarda, dişi farelerin inflamatuar yanıtlarının erkeklere kıyasla daha güçlü olduğu ve bu nedenle preklinik inflamasyon modellerinde daha belirgin semptomların gözlenebildiği belirtilmiştir (150). Yapılan deneysel çalışmalar genellikle tek bir ırk olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve ırk olarak genellikle B6 veya BALB/c ırkı fareler kullanılmıştır (149,150). Bu sebeple gerçekleştirdiğimiz çalışmada, 10-12 haftalık olmak üzere toplamda 35 adet dişi BALB/c ırkı fare, rastgele olarak oluşturulan ve her biri 7 adet fare içeren 5 eşit gruba ayrılmıştır.

Fare psöriazis modeli için ilgili literatüre bakıldığında imikimodun farelerin tıraşlanmış sırt ve kulak derilerine genellikle 5-7 gün süre uygulandığı görülmektedir (8). Çalışmada topikal uygulama alanı olarak farelerin 4x2 cm² alan sırt derisi ve sağ kulak iç derisi seçilmiştir. Daha sonra tüm fareler gram cinsiden tartılıp tüm farelere sevofluran inhalasyon anestezisi uygulanarak sırt derisi tıraşlanmış ve tüylerden arındırılmıştır.

Fare psöriazis modeli oluşturmak amacıyla negatif kontrol grubu hariç diğer tüm gruplara 8 gün (0.-7. Gün) boyunca 62,5 mg/gün %5 imikimod (IMQ) krem (%5 Aldara krem) farelerin tıraş edilen sırt derisine ve sağ kulak iç deri bölgesine her bölgeye eşit miktarlarda ve steril şartlarda topikal olarak uygulanmıştır. Tedavi

gruplarında kullanılan ilaçlar, imikimodun optimal emilim süresi göz önünde bulundurularak 8 saatlik bir bekleme süresinin ardından uygulanmıştır. Deney sonunda fareler anestezi altında servikal dislokasyon ile ötanazi edilerek sakrifiye edilmiş ve ardından tüm farelerden dalak ve sırt derisi doku materyalleri toplanmıştır.

3.5.1 Deney Grupları

Çalışmada, 35 adet dişi BALB/c ırkı fare rastgele olarak her bir grupta 7 adet fare içeren 5 eşit gruba ayrılmıştır. Tüm gruptaki farelerin ağırlığı, her gün topikal uygulamalar başlamadan önce hassas terazi ile tartılmış olup tüm gruptaki farelerin sağ kulak kalınlıkları her gün topikal uygulamalar başlamadan önce hassas dijital kumpas ile ölçülmüştür. Makroskobik değerlendirme aşamaları ve bu değerlendirmeler sırasında yapılan fotoğraf çekimleri her gün topikal uygulamalar başlamadan önce yapılmıştır. Deney sonunda, fareler yüksek doz anestezi ile ötanazi edilerek sakrifiye edilmiş ve ardından tüm farelerden dalak ve sırt derisi doku materyalleri toplanmıştır.

Deney grupları ve gruplara uygulanan işlemler aşağıda detaylı olarak açıklanmış olup Tablo 8'de özet olarak verilmiştir.

Grup 1: Negatif kontrol (NC) grubu n=7. Sağlıklı negatif kontrol grubudur. Farelerin sırt derileri tıraş edildikten sonra deney süresince sırt derilerine ve sağ kulak iç bölge derilerine kontrol jeli olarak petrolatum jel (vazelin jel) uygulanmıştır.

Grup 2: Psöriazis kontrol/İmikimod (IMQ) grubu n=7. Fare psöriazis model oluşumu teyit edilen indüksiyon grubudur. Farelerin sırt derileri tıraş edildikten sonra sırt ve sağ kulak iç bölge derilerine 8 gün boyunca (0.-7.gün) 62,5 mg/gün %5 IMQ krem topikal olarak uygulanmıştır.

Grup 3: İmikimod+piknogenol yüklü lipozomal jel (IMQ+PYC) grubu n=7. %5 piknogenol yüklü lipozomal jelin psöriazis modelinde etkisinin incelendiği gruptur. Gruba, farelerin sırt derileri tıraş edildikten sonra sırt ve sağ kulak iç bölge derilerine 8 gün boyunca (0.-7.gün) 62,5 mg/gün %5 IMQ kreme ek olarak %5 piknogenol yüklü lipozomal jel uygulanmıştır.

Grup 4: Pozitif kontrol grubu/İmikimod+klobetazol propiyonat merhem (IMQ+CLO) grubu n=7. Fare psöriazis modelinde standart tedavinin etkisinin incelendiği gruptur. Bu gruba, farelerin sırt derileri tıraş edildikten sonra sırt ve sağ kulak iç bölge derilerine 8 gün boyunca (0.-7.gün) 62,5 mg/gün %5 IMQ kreme ek olarak standart tedavide kullanılan %0,05 klobetazol propiyonat merhem 50 mg dozda topikal olarak uygulanmıştır.

Grup 5: İmikimod+lipozomal jel bazı (IMQ+LJB) grubu n=7. Aktif madde içermeyen lipozomal jel bazının psöriazis modelinde etkisinin incelendiği gruptur. Bu gruba, farelerin sırt derileri tıraş edildikten sonra sırt ve sağ kulak iç bölge derilerine 8 gün boyunca (0.-7.gün) 62,5 mg/gün %5 IMQ kreme ek olarak aktif madde içermeyen lipozomal jel bazı topikal olarak uygulanmıştır.

Tablo 8. Deney grupları ve uygulama özellikleri

Gruplar	Uygulanacak madde	Hayvan sayısı(n)	Uygulama yapılan alanlar	Doz uygulama günleri	Doz adedi
GRUP 1 (NC)	Petrolatum jel	7	Sırt Derisi, Sağ Kulak İç Bölge Derisi	0.,1.,2.,3.,4.,5.,6. ve 7.günler	Günde 1 kez
GRUP 2 (IMQ)	%5 İmikimod krem	7	Sırt Derisi, Sağ Kulak İç Bölge Derisi	0.,1.,2.,3.,4.,5.,6. ve 7.günler	Günde 1 kez
GRUP 3 (IMQ+PYC)	%5 İmikimod krem ve %5 piknogenol yüklü lipozomal jel	7	Sırt Derisi, Sağ Kulak İç Bölge Derisi	0.,1.,2.,3.,4.,5.,6. ve 7.günler	Günde 1 kez
GRUP 4 (IMQ+CLO)	%5 İmikimod krem ve %0,05 klobetazol propiyonat merhem	7	Sırt Derisi, Sağ Kulak İç Bölge Derisi	0.,1.,2.,3.,4.,5.,6. ve 7.günler	Günde 1 kez
GRUP 5 (IMQ+LJB)	%5 İmikimod krem ve Lipozomal jel bazı	7	Sırt Derisi, Sağ Kulak İç Bölge Derisi	0.,1.,2.,3.,4.,5.,6. ve 7.günler	Günde 1 kez

3.6. FARE PSÖRİAZİS MODELİNDE MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRMELER

3.6.1 Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksinin (PAŞİ) Hesaplanması ve Görüntülenmesi

Deney süresince imikimod ile indüklenen fare psöriazis modelinde sırt derisinde oluşan psöriatik lezyonların şiddetini değerlendirmek için bir skorlama sistemi olan Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) skorlama sistemi kullanılmıştır. Fare psoriasis modelinde klasik PAŞİ'den farklı olarak yüzey alanı değerlendirilmeksizin bir modifiye PAŞİ ölçeği kullanılmaktadır (8,153).

Modifiye PAŞİ ölçeğinde kullanılan parametrelerden eritem (kızarıklık), skuam (pullanma) ve indurasyon (kalınlık) birbirlerinden bağımsız iki araştırmacı tarafından deney süresince her 24 saatte bir değerlendirilerek birbirlerinden ayrı şekilde 0-4 arası bir ölçekte (0-yok; 1-hafif şiddetli; 2-orta şiddetli; 3-belirgin şiddetli; 4-çok belirgin şiddetli) sınıflandırılmıştır. Ayrıca 0., 2., 4., 6., ve 8. günlerde sırt derisi fotoğrafları çekilmiştir. Her bir fare için bu puanların toplamı ile 0-12 puan arasında oluşan kümülatif skor sonucu, total PAŞİ skorunu oluşturmuş olup psöriazis hastalığının şiddetinin ve klinik inflamasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (8,153). Değerlendirmede kullanılan puanlama sistemi Tablo 9'da açıklanmıştır.

Tablo 9. Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) Skor Tablosu (8).

Klinik Bulgular	Puan
Yok	0
Hafif şiddetli	1
Orta şiddetli	2
Belirgin şiddetli	3
Çok belirgin şiddetli	4

3.6.2 Kulak Kalınlıklarının Ölçümü ve Görüntülenmesi

Deney süresince, işlemlere tabi tutulan farelerin sağ kulak iç yüzeyine ait deri kalınlığı, sırt derisinin yanı sıra psöriatik inflamasyon şiddetinin bağımsız bir göstergesi olarak değerlendirilmiş ve her 24 saatte bir Mitutoyo marka hassas dijital kumpas (Şekil 3) kullanılarak ölçülmüştür (8,154). Deneyin 0., 4. ve 8. günlerinde, işlemlere tabi tutulan farelerin sağ kulak iç yüzeyinde meydana gelen morfolojik değişiklikler fotoğraflanmıştır.



Şekil 3. Dijital hassas kumpas (Mitutoyo) ile farelerin sağ kulak kalınlıklarının ölçülmesi.

3.6.3 Dalak Ağırlık ve Uzunluk Ölçümlerinin Belirlenmesi

İmikimod ile indüklenmiş fare psöriazis modellerinde dalak ağırlık ve boyut değişimleri, immün yanıtta görevli hücreler ile bağlantılı bulunmuş olup inflamatuar yanıtın sistemik etkilerini değerlendirmek için önemli bir göstergedir (155). Deney sonunda, ötenazi işleminin ardından tüm farelerin dalak dokuları dikkatli şekilde çıkarılmıştır. Dalak ağırlıkları, hassas dijital terazi (Ohaus) kullanılarak gram (g) cinsinden ölçülmüş; uzunluk ölçümleri ise milimetre (mm) cinsinden standart cetvel yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

3.7. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

3.7.1 Sırt Derisi Histopatolojik İnceleme

Deneyin sonunda, tüm gruplardaki fareler anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi edilerek sakrifiye edilmiştir. Ötenazi sonrası elde edilen sırt derisi ve dalak örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda 48 saat süreyle fikse edilmiştir. Fiksasyonun ardından numaralandırılmış kasetlere yerleştirilen dokular (Şekil 4), tespit solüsyonunun uzaklaştırılması amacıyla 12 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkanmıştır. Daha sonra, yarı otomatik doku takip cihazında sırasıyla %70, %80, %95 ve %100 alkol ile dehidratasyon; ksilol ile şeffaflandırma ve parafinizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Takip işlemleri tamamlanan sırt derisi ve dalak örnekleri parafin bloklara gömülmüş, mikrotom ile 5 μm kalınlığında kesitler hazırlanmıştır. Kesitlerin bir kısmı histopatolojik inceleme, bir kısmı ise immünohistokimyasal analizler için poly-L-lysine kaplı lamlara aktarılmıştır. Boyama öncesinde lamlar 60 °C'de 1 saat etüvde bekletilmiştir. Takiben, ksilol ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek deparafinizasyonu yapılan kesitler 5 dakika distile suda yıkandıktan sonra Hematoksilen ile 2 dakika boyanmış, akarsu altında durulanmıştır. Ardından 1 dakika Eozin ile karşı boyama yapılmış ve yeniden alkol serilerinden geçirilerek ksilol ile transparan hale getirilmiştir. Kurutma sonrasında kesitler entellan ile kapatılmış ve dijital kamera ile entegre Nikon ECLIPSE Ci model ışık mikroskobu yardımıyla patolog tarafından mikroskobik olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada, sırt derisinin histopatolojik değerlendirilmesinde, 0 ile 10 puan aralığında derecelendirilen Baker skorlama sistemi kullanılmıştır. Bu skorlama sisteminde dikkate alınan parametreler ve her bir parametreye karşılık gelen skorlar Tablo 10'da sunulmuştur. Her bir fareye ait iki farklı doku kesiti, 4X, 20X ve 40X objektifler kullanılarak incelenmiş; her kesitte 6 farklı sırt derisi bölgesinden elde edilen histopatolojik bulgular, Baker skorlama sistemine göre değerlendirilmiştir (156,157).



Şekil 4. Doku örneklerinin formalin kabından alınarak numaralandırılmış doku kasetlerine yerleştirilmesi.

Tablo 10. Baker Skor Tablosu (156,157).

Deri Katmanları	Özellikler	Skor
KERATİN	Munro apsesi	2.0
	Hiperkeratoz	0.5
	Parakeratoz	1.0
EPİDERMİS	Papilla üzerinde incelme	0.5
	Rete sırtlarının uzaması	1.5
	Akantozis	0.5
	Granüler tabaka eksikliği	1.0
DERMİS	**Lenfosit İnfiltrasyonu**	
	Hafif	0.5
	Orta	1.0
	Belirgin	2.0
	Papiller konjesyon	0.5

3.7.2 Sırt Derisi Epidermal Kalınlık Ölçümleri

Psöriazis histopatolojisinde tespit edilen bulgulardan biri de epidermal kalınlık artışıdır (158). Tüm gruplardaki her bir fare için 6 farklı histolojik sırt derisi örneğinde, 20X büyütmeli objektif altında üç farklı alandan epidermal kalınlık ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, Nikon ECLIPSE Ci model ışık mikroskobuna entegre dijital kamera ile elde edilen görüntüler üzerinden, ToupTek Photonics tarafından geliştirilen ToupView görüntü analiz yazılımı kullanılarak mikrometre (μm) cinsinden yapılmıştır.

3.7.3 Dalak Histopatolojik İnceleme

İmikimod ile indüklenen fare psöriazis modellerinde, dalaktaki beyaz pulpa alanlarının genişlediği gözlemlenmiştir. Beyaz pulpa alanlarında meydana gelen bu artış, psöriazis patogenezinde önemli rol oynayan immün yanıt mekanizmalarının aktivasyonu ve ilgili hücresel popülasyonların proliferasyonu ile ilişkilendirilmiştir (159). Beyaz pulpa alanı ve dalak total alanı, her bir fareye ait iki farklı Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanmış dalak doku kesitleri üzerinden, 4X ve 10X objektif büyütmesiyle elde edilen görüntüler kullanılarak ToupView (ToupTek Photonics) görüntü analiz yazılımı ile mikrometre (μm) cinsinden ölçülmüştür. Elde edilen veriler doğrultusunda, beyaz pulpa alanlarının toplam dalak alanına oranı yüzdelik (%) değer olarak hesaplanmıştır.

3.8. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEMELER

İmmünohistokimyasal (İHK) incelemeler psöriaziste patogenezde rol alan inflamatuar sitokinlerin ekspresyonlarının belirlenmesinde güçlü bir yöntemdir. Çalışmada, TNF-α ve IL-17 antikorları ile İHK boyama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Histopatolojik incelemeler kısmında anlatıldığı üzere, deney sonunda sakrifiye edilen farelerden alınan sırt deri örnekleri %10'luk nötral formalin içerisinde 48 saat boyunca fikse edilmiş, ardından rutin histolojik doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömülmüştür. Mikrotom ile 5 μm kalınlığında kesitler elde edilmiş ve bu kesitler poly-L-lysine kaplı lamlara aktarılmıştır. TNF-α ve IL-17 antikorları ile

immünohistokimyasal boyama işlemleri, Ventana BenchMark ULTRA (Ventana Medical Systems, Roche, ABD) otomatik boyama cihazı kullanılarak, üretici firmanın protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 5). Boyama sonrası preparatlar entellan ile kapatılarak mikroskobik incelemeye hazır hale getirilmiştir.

İmmünohistokimyasal incelemede değerlendirme yapılırken sadece inflamatuar hücrelerdeki boyanmalar dikkate alınmış olup TNF-α ve IL-17 ekspresyonlarının değerlendirilmesi için yarı kantitatif (semikantitatif) bir skorlama yöntemi uygulanmıştır. Değerlendirme, beş mikroskop alanı üzerinden pozitif boyanmış hücrelerin yüzdesi ile boyanma yoğunluğunun çarpımı sonucu elde edilen total skora dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Tablo 11'de İHK boyanma skor tablosu gösterilmiştir. Boyanan hücre yüzdesi 0-3 puan (0= %0 boyanan hücre, 1=%1-32 boyanan hücre, 2=%33-65 boyanan hücre, 3=%66-100 boyanan hücre) arasında skorlanmıştır. Boyanma yoğunluğu 0-3 puan (0=boyanma yok, 1=hafif derecede boyanma, 2= orta derecede boyanma, 3= belirgin derecede pozitif boyanma) arasında skorlanmıştır (160).



Şekil 5. Ventana BenchMark ULTRA tam otomatik immünohistokimya boyama cihazı.

Tablo 11. İmmünohistokimyasal boyanma skor tablosu

Puan	Boyanan Hücre Yüzdesi (%)	Boyanma Yoğunluğu
0	0	Yok
1	1-32	Hafif
2	33-65	Orta
3	66-100	Belirgin

3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Araştırmaya alınan verilerin analizleri SPSS (Statistical Program in Social Sciences) 27 programı ile gerçekleştirilmiştir.

Veri setinin normal dağılıma uyum gösterip göstermediğini belirlemek için Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. Sürekli değişkenler medyan ve min-max olarak hesaplanmıştır.

Bağımlı gruplarda wilcoxon işaret testi ve Friedman testi, bağımsız gruplarda Mann whitney U testi ve Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

3.10. ÇIKAR ÇATIŞMASI

Tezi yazan kişi ve tez danışmanı, çalışmanın değerlendirme süresince, karar verme biçimini etkileyecek maddi veya manevi herhangi bir destek almamıştır. Tezin hazırlanma aşamasında; verilerin toplanması, sonuçların yorumlanması ve makalenin yazılması aşamalarında herhangi bir çıkar çatışması alanı bulunmamaktadır.

4.BULGULAR

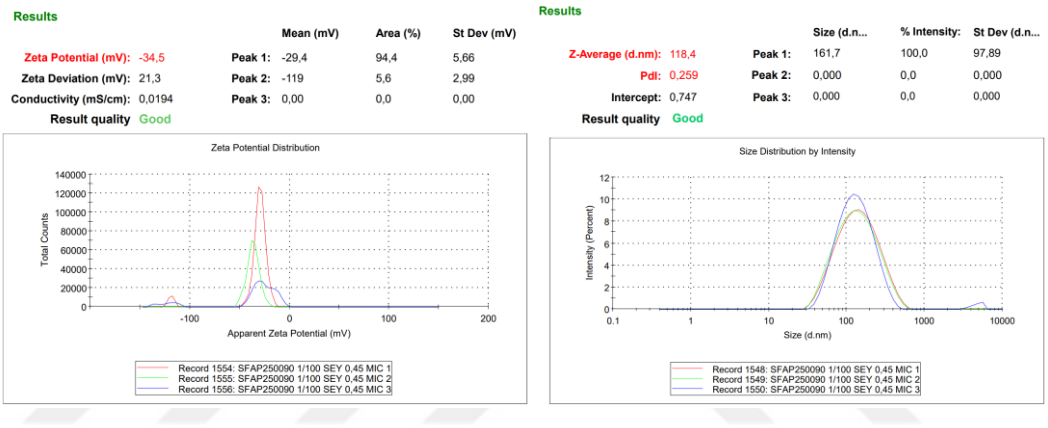
4.1. JEL FORMÜLASYONLARININ FİZİKOKİMYASAL VE YAPISAL KARAKTERİZASYONU

4.1.1 Lipozomal Jel Bazının Karakterizasyonu

Hazırlanan lipozomal jel bazının fiziksel özelliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan karakterizasyon çalışmaları kapsamında; viskozite, pH, parçacık boyutu ve zeta potansiyel analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda; viskozite değeri 90300 cP, pH değeri 6,625 olarak belirlenmiştir. Parçacık boyutu analizi dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemiyle yapılmış olup ortalama partikül çapı 118,4 nm, zeta potansiyel ise elektroforetik ışık saçılımı yöntemiyle ölçülerek –34,5 mV olarak tespit edilmiştir. Lipozomal jel bazına ait sonuç analiz raporu Ekler bölümünde (EK 3.) ayrıntılı olarak sunulmuş olup özet bilgiler Tablo 12'de gösterilmiştir. Formülasyona ait zeta potansiyel değeri Şekil 6'da gösterilmiş ve "Good" kalite olarak değerlendirilmiştir. Bu, formülasyonun fiziksel açıdan yüksek stabiliteye sahip olduğunu, agregasyon riskinin düşük olduğunu ve ölçümlerin güvenilir yapıldığını göstermektedir. Ek olarak ortalama parçacık boyutu, dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi ile belirlenmiş olup yapılan analiz sonucunda ortalama partikül çapı 118,4 nm, polidispersite indeks değeri (PdI) ise 0,259 olarak ölçülmüştür ve Şekil 6'da gösterilmiştir. PdI değerinin 0,3'ün altında olması, sistemin homojen bir dağılıma sahip olduğunu ve partikül büyüklüklerinin dar bir aralıkta yoğunlaştığını göstermektedir. Cihaz tarafından "Good" olarak belirtilen ölçüm kalitesi, verilerin güvenilirliğini desteklemektedir.

Tablo 12. Lipozomal jel bazına ait karakterizasyon verileri

Parametre	**Sonuç**
Viskozite	90300 cP
pH	6,625
Parçacık boyutu (size)	118,4 nm
Zeta potansiyel	-34,5 mV



Şekil 6. Lipozomal jel bazına ait zeta potansiyel ve parçacık boyutu dağılım grafiği. (Mean (mV): Ortalama zeta potansiyel değeri Area (%): Her bir zeta potansiyel pikine karşılık gelen yoğunluk yüzdesi St Dev (mV): Standart sapma, Peak: Ölçümde tespit edilen zeta potansiyel pikleri, Size: Partikül boyutu, % Intensity: Yüzdesel yoğunluk, SEY: Seyreltme yapılmış numune MIC: Mikron filtre ile filtrelenmiş numune PdI**:** Polidispersite indeksi, SFAP250090: Numune kayıt numarası mV: milivolt, mS/cm: miliSiemens/santimetre, nm:nanometre)

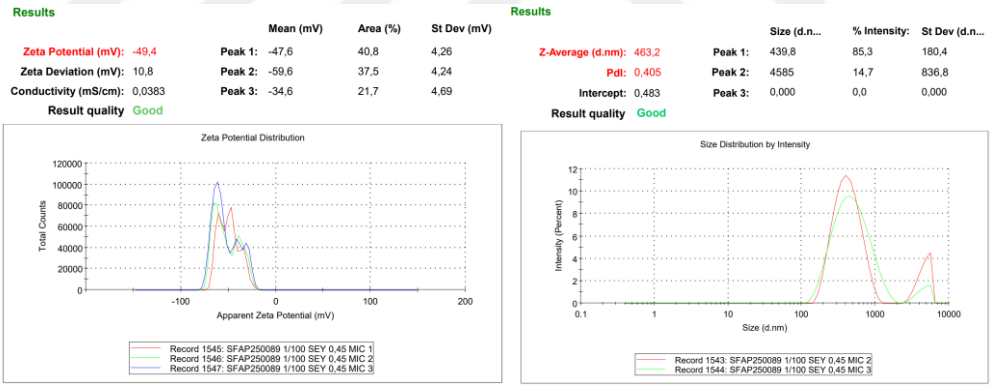
4.1.2 Piknogenol Yüklü Lipozomal Jelin Karakterizasyonu

Hazırlanan %5 piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun fiziksel karakterizasyonu kapsamında viskozite, pH, parçacık boyutu ve zeta potansiyel analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda formülasyonun viskozite değeri 3450 cP, pH değeri 5,168, ortalama parçacık boyutu 463,2 nm ve zeta potansiyel değeri –49,4 mV olarak belirlenmiştir. Formülasyona ait sonuç analiz raporu Ekler bölümünde (EK 4.) ayrıntılı olarak sunulmuş olup özet bilgiler Tablo 13'te gösterilmiştir. Formülasyona ait zeta potansiyel değeri Şekil 7'de gösterilmiş ve

ölçüm kalitesi cihaz tarafından “Good” (iyi) olarak değerlendirilmiştir. Piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun ortalama parçacık boyutu, dinamik ışık saçılımı (Dynamic Light Scattering – DLS) yöntemi ile belirlenmiştir. Ölçüm sonucunda Z-average değeri 118,4 nm, polidispersite indeksi (PdI) ise 0,259 olarak bulunmuştur ve Şekil 7’de gösterilmiştir. Ayrıca "Good" olarak belirtilen analiz kalitesi, cihaz tarafından güvenilir bir veri elde edildiğini ortaya koymuştur.

Tablo 13. %5 Piknogenol yüklü lipozomal jel bazına ait karakterizasyon verileri

Parametre	**Sonuç**
Viskozite	3450 cP
pH	5,168
Parçacık boyutu (size)	463,2 nm
Zeta potansiyel	-49,4 mV



Şekil 7. %5 piknogenol yüklü lipozomal jel bazına ait zeta potansiyel ve parçacık boyutu dağılım grafiği. (Mean (mV): Ortalama zeta potansiyel değeri Area (%): Her bir zeta potansiyel pikine karşılık gelen yoğunluk yüzdesi St Dev (mV): Standart sapma, Peak: Ölçümde tespit edilen zeta potansiyel pikleri, Size: Partikül boyutu, % Intensity: Yüzdesel yoğunluk, SEY: Seyreltme yapılmış numune MIC: Mikron filtre ile filtrelenmiş numune PdI**:** Polidispersite indeksi, SFAP250090: Numune kayıt numarası mV: milivolt, mS/cm: miliSiemens/santimetre, nm:nanometre)

4.2. FARE PSÖRİAZİS MODELİNDE MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRMELER VE SONUÇLARI

4.2.1 PAŞİ Skorunun Değerlendirilmesi

Çalışmada 35 adet BALB/c ırkı fare kullanılmış olup 35 adet fare ile tamamlanmıştır. Çalışmada yer alan farelerin Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) eritem, skuam ve indurasyon özelliklerindeki değişimin skorlanması sonucunda elde edilmiştir. Skorlama sonuçlarına göre IMQ, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB gruplarında sırt derilerindeki eritem, skuam ve indurasyon özelliklerinin skorlarının anlamlı düzeyde arttığı görülmektedir ($p<0,05$).

Tablo 14'te skor sonuçlarının günlere göre değişimleri görülmektedir. Çalışmada yer alan farelerin sırt derilerindeki eritem, skuam ve indurasyon özelliklerinin skorlarının medyan(min-max) değerleri Tablo 14'te yer almaktadır.

IMQ grubunda; NC, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB gruplarına kıyasla sırt derilerindeki eritem, skuam ve indurasyon özelliklerinin skorlarının anlamlı düzeyde arttığı görülmektedir ($p<0,05$).

Tablo 15 ve 16'da çalışmada bakılan parametrelerde elde edilen skorlara göre gruplar arasında farklılık olup olmadığının sonuçları yer almaktadır. Elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde birinci günden deney sonuna kadar NC grubu ile diğer gruplar arasında eritem, skuam, indurasyon ve toplam PAŞİ skoru indeksleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur ($p<0,05$). IMQ+CLO ve IMQ+LJB grupları arasında deney sonunda eritem, skuam, indurasyon ve toplam PAŞİ skoru parametrelerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır. IMQ+PYC grubu ile IMQ, IMQ+CLO, IMQ+LJB grupları arasında ise deney sonunda eritem, skuam, indurasyon parametrelerinde ve toplam PAŞİ skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir.

IMQ kaynaklı sırt derilerinde eritem, skuam ve indurasyon parametrelerinde gerçekleşen artışın, PYC, CLO ve LJB uygulamaları ile istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Şekil 8.). Bulgular değerlendirildiğinde

IMQ kaynaklı sırt derilerinde eritem, skuam ve indurasyon parametrelerinde gerçekleşen artışı en fazla engellemede PYC uygulamasının olduğu görülmektedir.

Farelerin deney süresince sırt derilerindeki makroskobik değişimleri 0., 2., 4., 6., ve 8. günlere ait makroskobik görüntüleri Şekil 9'da gösterilmiştir.

Tablo 14. Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi parametrelerinin günlere göre değişiminin incelenmesi

Grup	Günler									p*
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	
ERİTEM										
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
IMQ	0	1	1	1(1-2)	1(1-2)	2(2-3)	2(2-3)	3(2-4)	3(2-4)	**,001**
IMQ+PYC	0	1	1	1(1-2)	1	1(1-2)	1	1	1	**,001**
IMQ+CLO	0	1	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	2(1-3)	2(1-3)	2(1-3)	2(1-4)	**,001**
IMQ+LJB	0	1	1	2(1-3)	2(1-2)	2(1-3)	2(2-3)	2(2-3)	2(2-3)	**,001**
p**		**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	
SKUAM										
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
IMQ	0	1(1-2)	1(1-2)	2(1-2)	2(2-3)	3(2-3)	3(3-4)	3(3-4)	4(3-4)	**,001**
IMQ+PYC	0	1	1	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	1	1	**,001**
IMQ+CLO	0	1	1(1-2)	1(1-2)	2(1-2)	2(1-3)	2(1-4)	2(1-4)	2(1-4)	**,001**
IMQ+LJB	0	1	1	2(1-3)	2(2-3)	2(2-4)	2(1-4)	2(2-4)	2(2-4)	**,001**
p**		**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	
İNDURASYON										
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
IMQ	0	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	2(2-3)	3(2-3)	3	3(3-4)	4(3-4)	**,001**
IMQ+PYC	0	1	1	1	1	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	**,001**
IMQ+CLO	0	1	1(1-2)	1(1-2)	2(1-2)	2(1-3)	2(2-4)	2(1-4)	2(1-4)	**,001**
IMQ+LJB	0	1	1	2(1-3)	2(2-3)	2(2-4)	2(2-4)	2(2-4)	2(2-4)	**,001**
p**		**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	
TOPLAM PAŞİ SKORU										
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
IMQ	0	3(3-5)	3(3-5)	4(3-6)	5(5-8)	8(6-9)	8(8-10)	9(8-11)	11(8-12)	**,001**
IMQ+PYC	0	3	3	3(3-5)	3(3-4)	3(3-5)	4(3-5)	3(3-4)	3(3-4)	**,001**
IMQ+CLO	0	3	3(3-6)	3(3-6)	5(3-6)	6(3-9)	6(4-11)	6(3-11)	6(3-12)	**,001**
IMQ+LJB	0	3	3	6(3-9)	6(6-8)	7(6-11)	6(5-11)	6(6-11)	6(6-11)	**,001**
p**		**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	**,001**	

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
*: Friedman testi, **: Kruskal Wallis H testi

Tablo 15. Psöriazis Alan ve Şiddeti İndeksi, eritem ve skuam parametrelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması

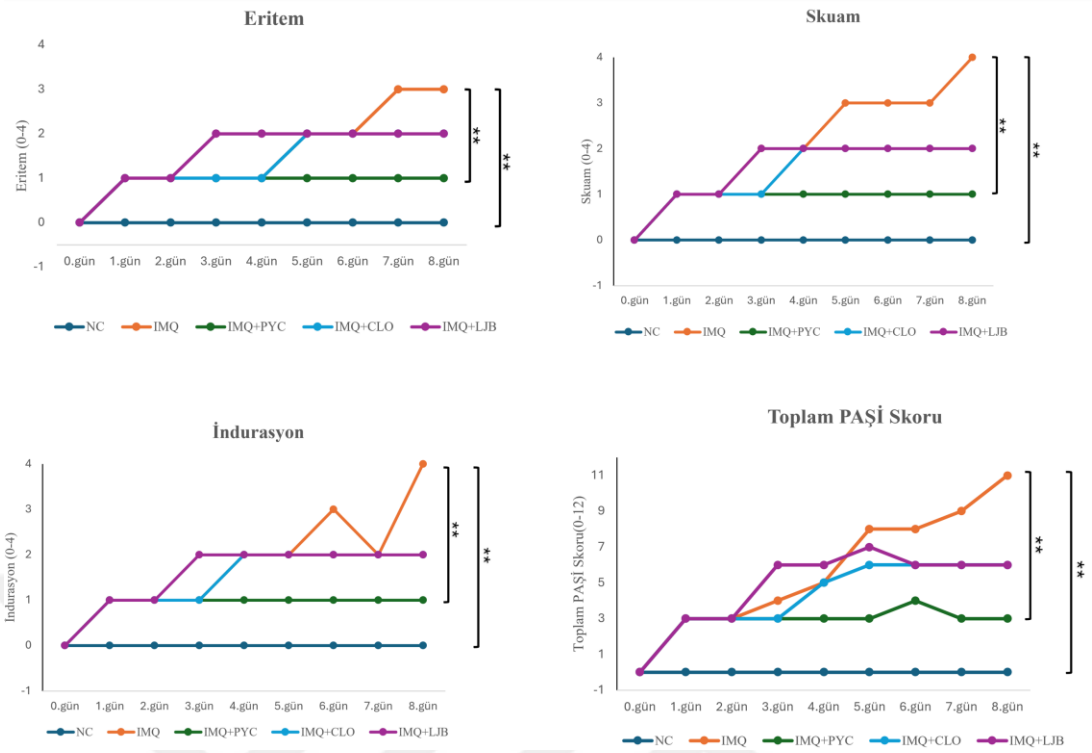
Grup	Eritem				Skuam			
	NC p	IMQ p	IMQ+PYC p	IMQ+CLO p	NC p	IMQ p	IMQ+PYC p	IMQ+CLO p
Başlangıç								
IMQ	1,00				1,00			
IMQ+PYC	1,00	1,00			1,00	1,00		
IMQ+CLO	1,00	1,00	1,00		1,00	1,00	1,00	
IMQ+LJB	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	1,00			**,001**	,141		
IMQ+CLO	**,001**	1,00	1,00		**,001**	,141	1,00	
IMQ+LJB	**,001**	1,00	1,00	1,00	**,001**	,141	1,00	1,00
2.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	1,00			**,001**	,141		
IMQ+CLO	**,001**	,060	,060		**,001**	,530	,317	
IMQ+LJB	**,001**	1,00	1,00	,060	**,001**	,141	1,00	,317
3.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	,591			**,001**	**,**107		
IMQ+CLO	**,001**	,530	,254		**,001**	,298	,530	
IMQ+LJB	**,001**	,100	,225	**,035**	**,001**	,424	**,035**	,100
4.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	,060			**,001**	**,002**		
IMQ+CLO	**,001**	1,00	,060		**,001**	**,030**	**,037**	
IMQ+LJB	**,001**	,107	**,002**	,107	**,001**	1,00	**,002**	**,030**
5.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,002**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	,202	**,035**		**,001**	**,035**	**,026**	
IMQ+LJB	**,001**	,334	**,010**	,653	**,001**	,275	**,005**	,351
6.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	,174	**,002**		**,001**	**,038**	,059	
IMQ+LJB	**,001**	,254	**,001**	,593	**,001**	,087	**,041**	,731
7.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	**,030**	**,002**		**,001**	**,023**	**,003**	
IMQ+LJB	**,001**	**,035**	**,001**	,593	**,001**	**,041**	**,001**	,476
8.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	,172	**,003**		**,001**	**,010**	**,003**	
IMQ+LJB	**,001**	**,035**	**,001**	,873	**,001**	**,014**	**,001**	,476

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
p: Mann Whitney U testi

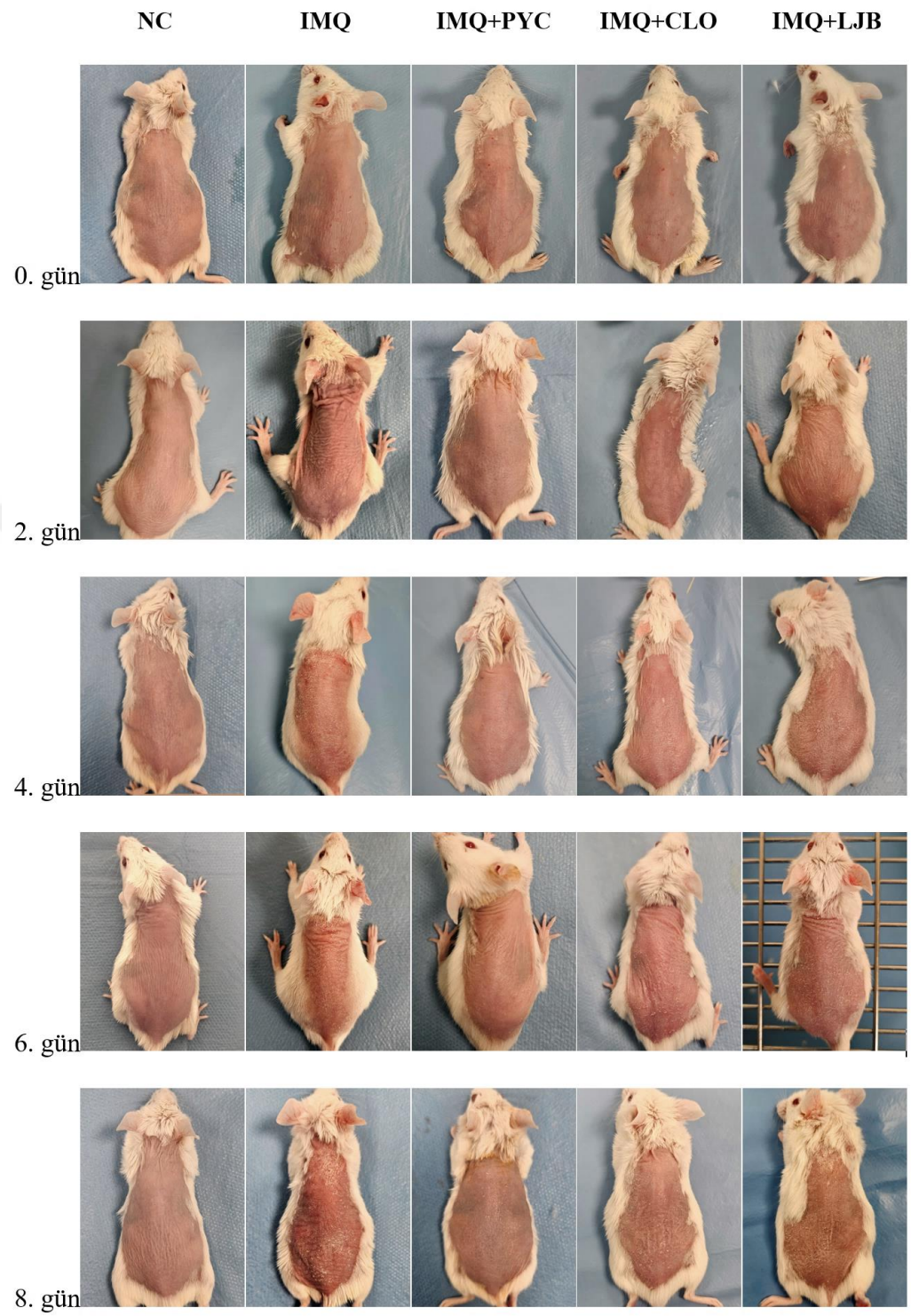
Tablo 16. Psöriazis Alan Şiddeti İndeksi indurasyon ve toplam PAŞİ skorunun gruplar arası ikili karşılaştırması

Grup	İndurasyon				Toplam PAŞİ Skoru			
	NC p	IMQ p	IMQ+PYC p	IMQ+CLO p	NC p	IMQ p	IMQ+PYC p	IMQ+CLO p
Başlangıç								
IMQ	1,00				1,00			
IMQ+PYC	1,00	1,00			1,00	1,00		
IMQ+CLO	1,00	1,00	1,00		1,00	1,00	1,00	
IMQ+LJB	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	,141			**,001**	,141		
IMQ+CLO	**,001**	,141	1,00		**,001**	,141	1,00	
IMQ+LJB	**,001**	,141	1,00	1,00	**,001**	,141	1,00	1,00
2.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	,141			**,001**	,141		
IMQ+CLO	**,001**	,530	,317		**,001**	,709	,061	
IMQ+LJB	**,001**	,141	1,00	,710	**,001**	,141	1,00	,061
3.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	,141			**,001**	**,447**		
IMQ+CLO	**,001**	,530	,317		**,001**	,317	,708	
IMQ+LJB	**,001**	,244	,073	,096	**,001**	,255	,061	,072
4.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	**,018**	**,023**		**,001**	,149	**,019**	
IMQ+LJB	**,001**	,254	**,001**	,044	**,001**	,504	**,001**	**,007**
5.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	**,010**	**,010**		**,001**	**,036**	**,011**	
IMQ+LJB	**,001**	,275	**,002**	,155	**,001**	,088	**,001**	,201
6.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	**,042**	**,006**		**,001**	**,023**	**,004**	
IMQ+LJB	**,001**	**,042**	**,006**	1,00	**,001**	**,042**	**,002**	,841
7.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	**,038**	**,010**		**,001**	**,022**	**,005**	
IMQ+LJB	**,001**	**,035**	**,002**	,709	**,001**	**,022**	**,001**	,523
8.gün								
IMQ	**,001**				**,001**			
IMQ+PYC	**,001**	**,001**			**,001**	**,001**		
IMQ+CLO	**,001**	**,006**	**,032**		**,001**	**,020**	**,007**	
IMQ+LJB	**,001**	**,009**	**,006**	,378	**,001**	**,011**	**,001**	,732

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
p: Mann Whitney U testi



Şekil 8. Psöriazis Alan ve Şiddet İndeksi skor grafikleri. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p <0,05



Şekil 9. Farelerin sırt derilerinin deney süresince günlere bağlı değişiminin makroskobik görüntüleri. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)

4.2.2 Sağ Kulak Kalınlık Ölçüm Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Görüntüleri

Çalışmada yer alan IMQ, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB gruplarındaki farelerin sağ kulak kalınlıklarının medyan(min-max) değerleri Tablo 17'de yer almaktadır. IMQ, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB grubundaki farelerin sağ kulak kalınlıklarının günlere göre anlamlı düzeyde arttığı görülmektedir ($p<0,05$). Tablo 17'de farelerin sağ kulak kalınlıklarının günlere göre değişimi görülmektedir.

IMQ grubunda, NC, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB gruplarına kıyasla sağ kulak kalınlıklarının anlamlı fark olacak şekilde arttığı görülmektedir ($p<0,05$). (Şekil 11). Tablo 18'de ise sağ kulak kalınlıklarının gruplar arası ikili karşılaştırmasının sonuçları yer almaktadır. Elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, sağ kulakta kalınlık artışının en fazla IMQ grubunda gerçekleştiği görülmüş olup en az değişimin olduğu grupların ise IMQ+PYC ve IMQ+CLO grupları olduğu tespit edilmiştir. IMQ kaynaklı sağ kulak kalınlık artışının PYC uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı fark olacak seviyede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Farelerin deneyin son gününe ait sağ kulak makroskobik görüntüleri şekil 10'da gösterilmiştir.

Tablo 17. Farelerin sağ kulak kalınlıklarının günlere göre değişiminin incelenmesi

Grup	**Günler**									
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	p*
NC	0,21 (0,19-0,24)	0,21 (0,19-0,24)	0,21 (0,19-0,24)	0,23 (0,20-0,24)	0,21 (0,19-0,22)	0,20 (0,20-0,21)	0,21 (0,20-0,22)	0,21 (0,21-0,22)	0,22 (0,21-0,23)	,120
IMQ	0,21 (0,18-0,22)	0,21 (0,18-0,23)	0,22 (0,20-0,23)	0,22 (0,21-0,23)	0,27 (0,23-0,31)	0,29 (0,25-0,31)	0,32 (0,29-0,34)	0,35 (0,31-0,41)	0,37 (0,34-0,41)	**,000**
IMQ +PYC	0,20 (0,20-0,21)	0,20(0,20-0,21)	0,21 (0,20-0,22)	0,21 (0,20-0,22)	0,24 (0,20-0,25)	0,23 (0,20-0,23)	0,22 (0,21-0,23)	0,25 (0,22-0,25)	0,25 (0,22-0,25)	**,000**
IMQ +CLO	0,18 (0,18-0,20)	0,18 (0,18-0,20)	0,19 (0,18-0,20)	0,20 (0,19-0,23)	0,23 (0,20-0,25)	0,20 (0,19-0,23)	0,20 (0,19-0,23)	0,21 (0,20-0,25)	0,22 (0,21-0,25)	**,000**
IMQ +LJB	0,21 (0,18-0,22)	0,20 (0,18-0,22)	0,20 (0,19-0,24)	0,21 (0,20-0,26)	0,24 (0,23-0,36)	0,23 (0,21-0,34)	0,26 (0,23-0,37)	0,27 (0,23-0,38)	0,27 (0,24-0,39)	**,000**
p**	**,020**	**,015**	**,014**	**,046**	**,001**	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**	

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
*: Friedman testi, **: Kruskal Wallis H testi

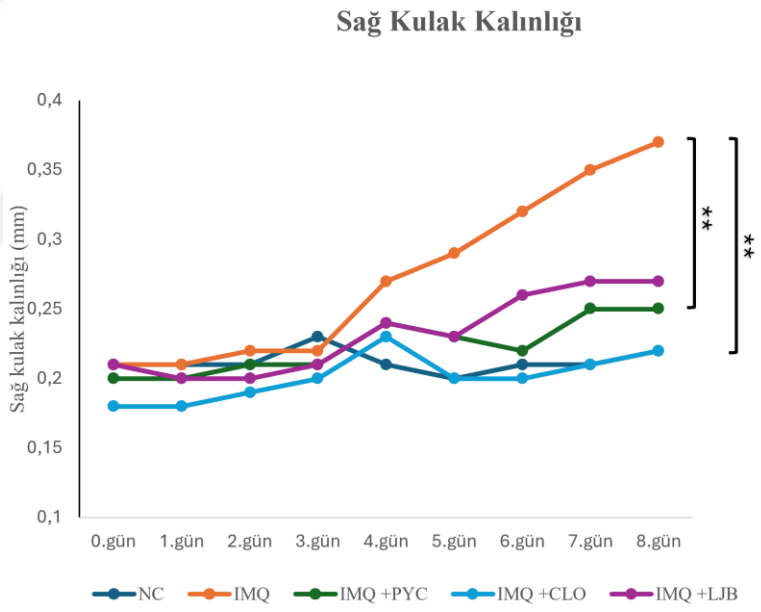
Tablo 18. Farelerin sağ kulak kalınlıklarının gruplar arası ikili karşılaştırması

Grup	**Sağ Kulak Kalınlığı**			
	NC	IMQ	IMQ+PYC	IMQ+CLO
	p	p	p	p
Başlangıç				
IMQ	,474			
IMQ+PYC	,301	,315		
IMQ+CLO	**,005**	**,026**	**,003**	
IMQ+LJB	,270	,805	,842	**,040**
1.gün				
IMQ	,518			
IMQ+PYC	,301	,261		
IMQ+CLO	**,005**	**,021**	**,003**	
IMQ+LJB	,172	,296	,686	**,047**
2.gün				
IMQ	1,00			
IMQ+PYC	,501	,181		
IMQ+CLO	**,007**	**,003**	**,007**	
IMQ+LJB	,189	,171	,432	,201
3.gün				
IMQ	,430			
IMQ+PYC	,066	,081		
IMQ+CLO	**,025**	**,022**	,272	
IMQ+LJB	216	,145	,841	,139
4.gün				
IMQ	**,002**			
IMQ+PYC	,019	,052		
IMQ+CLO	,105	**,017**	,362	
IMQ+LJB	**,002**	,604	,217	**,049**
5.gün				
IMQ	**,001**			
IMQ+PYC	**,016**	**,001**		
IMQ+CLO	,890	**,002**	,064	
IMQ+LJB	**,004**	**,039**	,204	**,017**
6.gün				
IMQ	**,002**			
IMQ+PYC	**,039**	**,002**		
IMQ+CLO	,430	**,002**	**,050**	
IMQ+LJB	**,002**	**,024**	**,005**	**,003**
7.gün				
IMQ	**,001**			
IMQ+PYC	**,004**	**,001**		
IMQ+CLO	,537	**,002**	**,016**	
IMQ+LJB	**,001**	**,012**	,213	**,007**
8.gün				
IMQ	**,001**			
IMQ+PYC	**,012**	**,001**		
IMQ+CLO	,688	**,002**	,053	
IMQ+LJB	**,002**	**,010**	,058	**,006**

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel baz
p: Mann Whitney U testi



Şekil 10. Farelerin sağ kulak iç bölgelerinin deneyin son gününe ait makroskobik görüntüleri. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)



Şekil 11. Farelerin sağ kulak kalınlıklarının günlere bağlı değişim grafiği. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)

4.2.3 Dalak Uzunluk ve Ağırlık Ölçümlerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Farelerin dalak boyutlarının gruplar arasındaki değişimini incelemek için Kruskal Wallis H testi uygulanmıştır (Tablo 19). Bu testin sonucunda gruplar arasında dalak boyutları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Tablo 19'da farelerin dalak boyutlarının gruplara göre dağılımları yer almaktadır.

Dalakların uzunluk ve ağırlıkları değerlendirildiğinde; en uzun dalak IMQ grubunda en kısa dalak ise IMQ+CLO grubunda yer almakta olup, en ağır dalak IMQ grubunda ve en hafif dalak IMQ+CLO grubunda yer almaktadır.

Çalışmada yer alan farelerin dalak boyutlarının gruplar arası ikili karşılaştırması Tablo 20'de gösterilmiştir.

Dalak uzunluğu için NC ile IMQ arasında, NC ile IMQ+CLO arasında, NC ile IMQ+LJB arasında, IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO arasında, IMQ+PYC ile IMQ+CLO grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 13.).

Dalak ağırlığı için NC ile IMQ arasında, NC ile IMQ+CLO arasında, IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO ve IMQ+LJB arasında, IMQ+PYC ile IMQ+CLO, IMQ+CLO ile IMQ+LJB grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir. ($p<0,05$) (Şekil 14.).

Bulgular değerlendirildiğinde IMQ uygulamasının dalak boyutlarında artışa sebep olduğu görülmüştür. IMQ+PYC ve IMQ+LJB gruplarının dalak ağırlıkları açısından NC grubuna benzer olduğu görülmüş olup anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). IMQ+CLO grubunun ise diğer gruplara göre istatistiksel olarak dalak boyutlarında anlamlı bir düşüklük gözlenmiştir ($p<0,05$).

Deneyin son gününe ait dalak makroskobik görüntüleri Şekil 12'de gösterilmiştir.

Tablo 19. Farelerin dalak uzunluk ve ağırlık ölçümlerinin incelenmesi

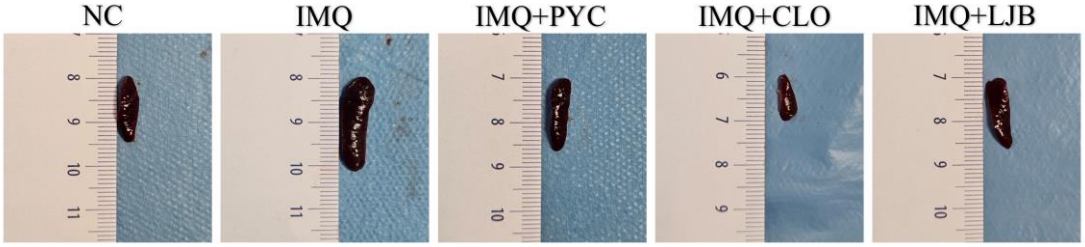
Grup	Dalak Boyutları	
	Uzunluk(mm) M(min-max)	**Ağırlık(gr) M(min-max)**
NC	14(12-17)	0,09(0,06-0,11)
IMQ	17(17-21)	0,11(0,09-0,18)
IMQ+PYC	16(14-18)	0,08(0,06-0,09)
IMQ+CLO	12(10-13)	0,03(0,02-0,04)
IMQ+LJB	16(15-20)	0,09(0,07-0,11)
p**	**,000**	**,000**

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
**: Kruskal Wallis H testi

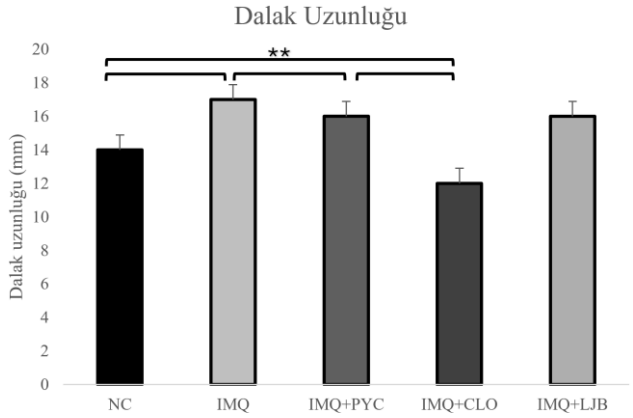
Tablo 20. Farelerin dalak uzunluk ve ağırlıklarının gruplar Arası ikili karşılaştırması

Grup	Uzunluk				Ağırlık			
	NC p	IMQ p	IMQ+PYC p	IMQ+CLO p	NC p	IMQ p	IMQ+PYC p	IMQ+CLO p
IMQ	**,003**				**,030**			
IMQ+PYC	,061	**,033**			,405	**,002**		
IMQ+CLO	**,011**	**,001**	**,002**		**,002**	**,002**	**,002**	
IMQ+LJB	**,039**	,101	,695	**,002**	,655	**,013**	,565	**,002**

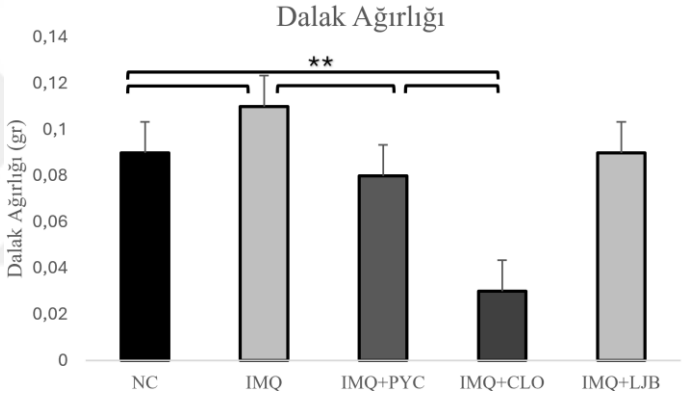
NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
p: Mann Whitney U testi



Şekil 12. Farelerin dalak dokularına ait makroskobik görüntüleri. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)



Şekil 13. Gruplara ait dalak uzunluklarının grafiği. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p<0,05



Şekil 14. Gruplara ait dalak ağırlıklarının grafiği. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p<0,05

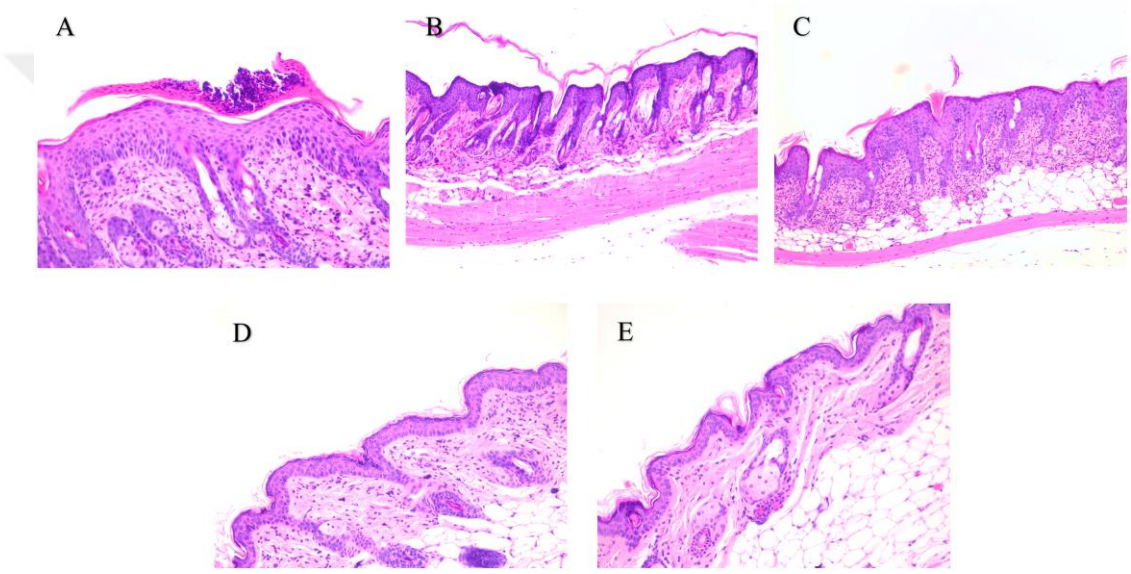
4.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMELER VE SONUÇLARI

4.3.1 Sırt Derisinin Histopatolojik Değerlendirilmesi ve Sonuçları

Farelerin histopatolojik değerlendirme sonucunda oluşan Baker skorlarının değişimini incelemek için Kruskal Wallis H testi ve gruplar arası ikili karşılaştırma için Mann Whitney U testi uygulanmıştır (Tablo 21). Bu testlerin sonucunda gruplar arasında baker skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0,005).

Baker skorları için NC ile IMQ, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında; IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında; IMQ+PYC ile IMQ+CLO, IMQ+LJB grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplar arasında en yüksek Baker skoru IMQ grubunda görülürken en düşük Baker skorları NC ve IMQ+PYC gruplarında olduğu görülmektedir (Şekil 16.).

Baker skorlama sisteminde değerlendirilen histopatolojik parametreleri yansıtan H&E boyalı mikroskobik deri kesitleri Şekil 15'te gösterilmiştir.

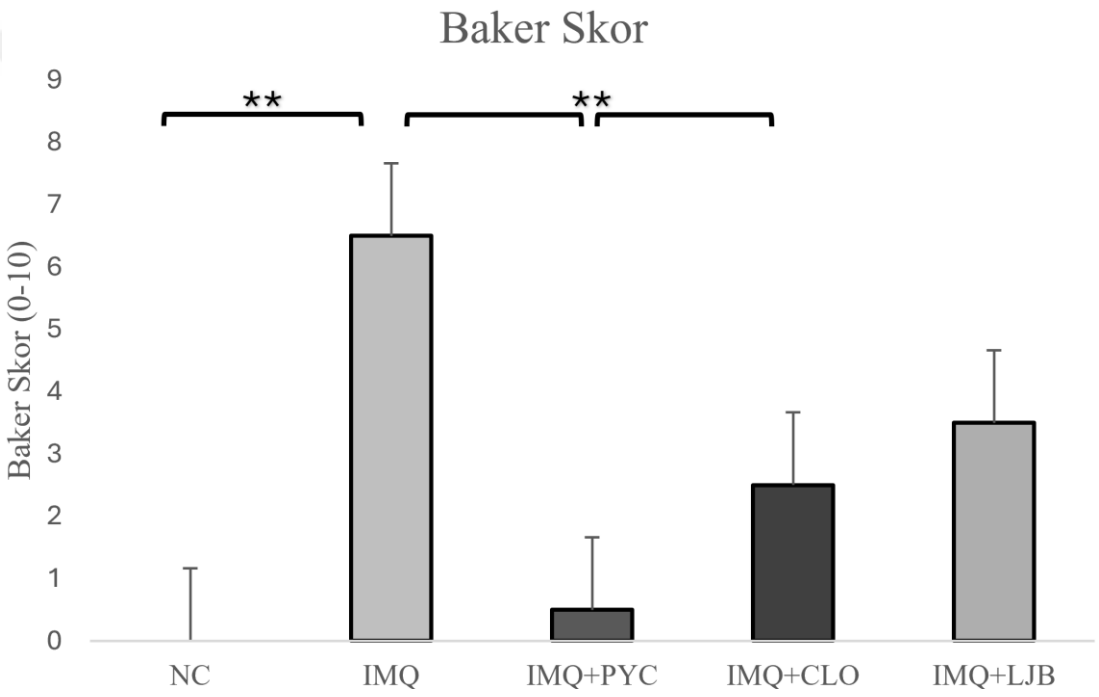


Şekil 15. Baker skorlama sisteminde değerlendirilen histopatolojik parametreleri yansıtan H&E boyalı mikroskobik deri kesitleri. **(A)** IMQ grubuna ait kesitte belirgin hiperkeratoz, parakeratoz ve stratum korneum içerisinde nötrofilik hücre kalıntıları izlenmektedir (20×). **(B)** IMQ grubuna ait epidermal rete çıkıntılarında belirgin uzamayı gösteren bir kesit alanı (10×). **(C)** IMQ grubuna ait fokal parakeratoz, fokal granüler tabaka kaybı, rete çıkıntılarında belirgin uzama ve yoğun lenfosit infiltrasyonunun eşlik ettiği kesit alanı (10×). **(D)** NC grubuna ait, epidermal ve dermal yapıları normal sınırlarda gösteren kesit alanı (20×). **(E)** IMQ+PYC grubuna ait hafif düzeyde hiperkeratoz dışında ek bulgu saptanmayan kesit alanı (20×).

Tablo 21. Farelerin histopatolojik Baker skor değerlerinin incelenmesi

Grup	**Baker Skor M(min-max)**		NC p*	IMQ p*	IMQ+PYC p*	IMQ+CLO p*
NC	0(0-1,5)	NC	1,00			
IMQ	6,5(3-9)	IMQ	**,001**	1,00		
IMQ+PYC	0,5(0,5-1)	IMQ+PYC	**,042**	**,001**	1,00	
IMQ+CLO	2,5(0,5-5,5)	IMQ+CLO	**,005**	**,004**	**,019**	1,00
IMQ+LJB	3,5(1,5-4)	IMQ+LJB	**,002**	**,008**	**,001**	,477
p**	**,000**					

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
**: Kruskal Wallis H testi, *: Mann Whitney U test



Şekil 16. Farelerin Baker skor değerlerinin grafiği. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p<0,05

4.3.2 Sırt Derisi Epidermal Kalınlık Ölçüm Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Farelerin sırt derisi epidermal kalınlıkları değişimini incelemek için Kruskal Wallis H testi ve gruplar arası ikili karşılaştırma için Mann Whitney U testi

uygulanmıştır (Tablo 22). Bu testlerin sonucunda gruplar arasında sırt derisi epidermal kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0,05).

Sırt derisi epidermal kalınlıkları için NC ile IMQ, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında; IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında; IMQ+PYC ile IMQ+LJB grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Gruplar arasında en yüksek sırt derisi epidermal kalınlıklarının IMQ grubunda olduğu görülmektedir.

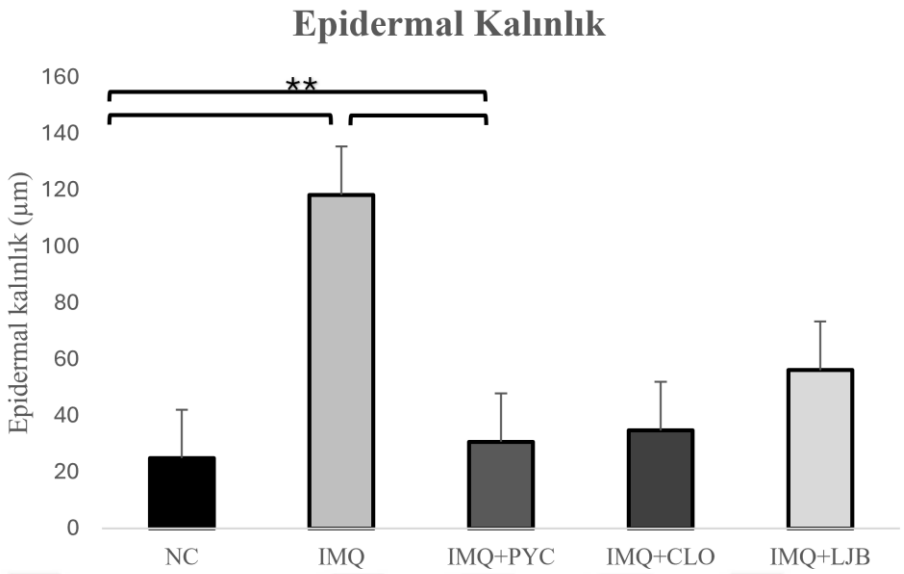
Genel olarak bakıldığında IMQ kaynaklı sırt derisi epidermal kalınlık artışının en fazla PYC uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı tespit edilmiştir (p<0,05).

Fare sırt derisinden alınan dokulara ait epidermal kalınlıkların grafiği ve hematoksilen-eozin (H&E) boyalı histolojik kesitler sırasıyla Şekil 17 ve 18'de gösterilmiştir.

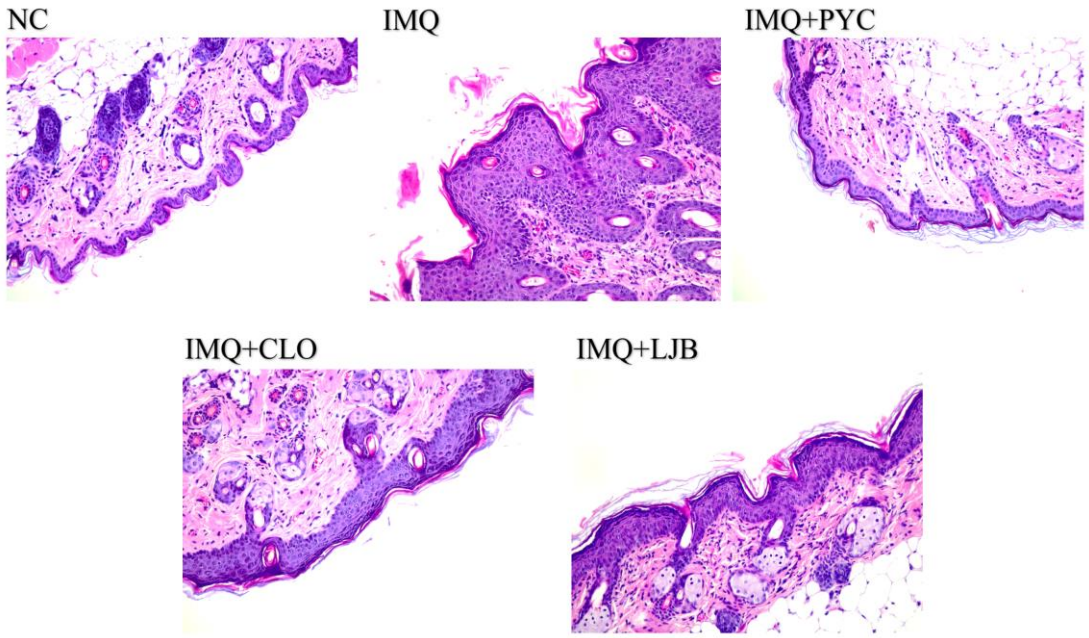
Tablo 22. Farelerin sırt derisi epidermal kalınlıklarının incelenmesi

Grup	**Epidermal Kalınlık(µm) M(min-max)**		NC p*	IMQ p*	IMQ+PYC p*	IMQ+CLO p*
NC	24,88(18,75-26,67)	NC	1,00			
IMQ	118,3(75,6-127,8)	IMQ	**,002**	1,00		
IMQ+PYC	30,7(24,8-40,9)	IMQ+PYC	**,009**	**,002**	1,00	
IMQ+CLO	34,8(30,4-84,7)	IMQ+CLO	**,002**	**,003**	,085	1,00
IMQ+LJB	56,2(42,1-68,8)	IMQ+LJB	**,002**	**,002**	**,002**	,142
p**	**,000**					

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
**: Kruskal Wallis H testi, *: Mann Whitney U test



Şekil 17. Farelerin sırt derisi epidermal kalınlıklarının grafiği. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p<0,05



Şekil 18. Fare sırt derisinden alınan dokulara ait epidermal kalınlıkları gösteren hematoksilen-eozin (H&E) boyalı histolojik kesitler. Büyütme: 20× (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)

4.3.3 Dalak Dokusunun Histopatolojik Değerlendirilmesi ve Sonuçları

Çalışmada farelerin dalak histopatolojik değerlendirilmesinde Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%) hesaplanmış olup elde edilen sonuçların gruplar arasındaki değişimini incelemek için Kruskal Wallis H testi ve gruplar arası ikili karşılaştırma için Mann Whitney U testi uygulanmıştır (Tablo 23.). Bu testlerin sonucunda gruplar arasında sırt derisi epidermal kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Dalak histopatolojik değerlendirmede NC ile IMQ, IMQ+PYC, IMQ+LJB arasında; IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında; IMQ+PYC ile IMQ+CLO grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplar arasında en yüksek Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%) sonuçlarının IMQ grubunda olduğu görülmektedir (Şekil 20.).

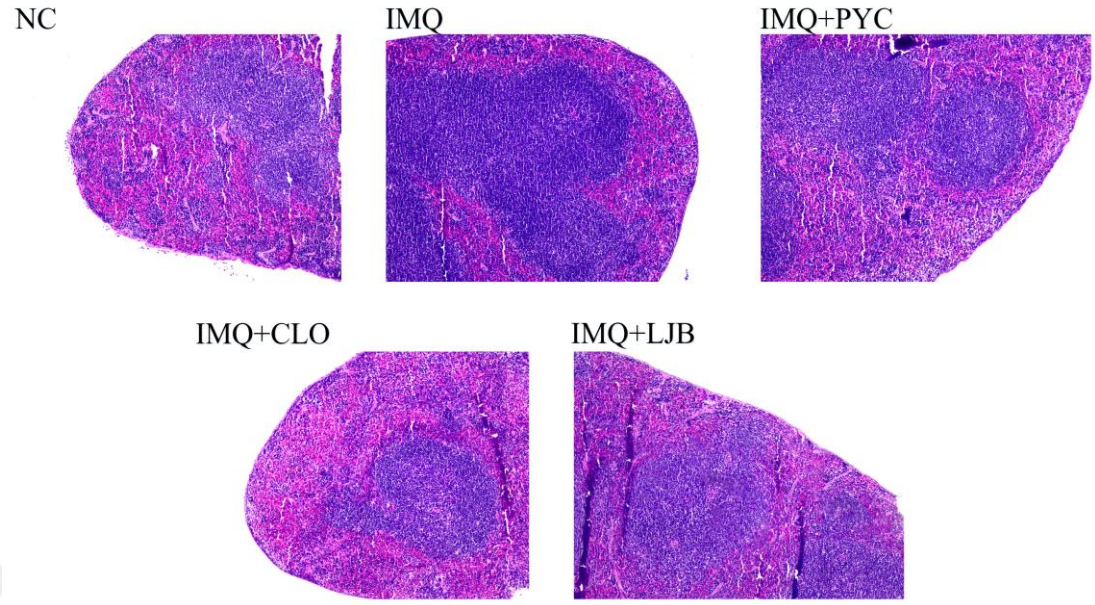
Genel olarak IMQ kaynaklı artışın olduğu Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%) en fazla CLO uygulaması ile azalmıştır. IMQ+PYC ve IMQ+LJB gupları oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Farelerin dalak dokularına ait hematoksilen-eozin (H&E) ile boyanmış histolojik kesitleri Şekil 19'da gösterilmiştir.

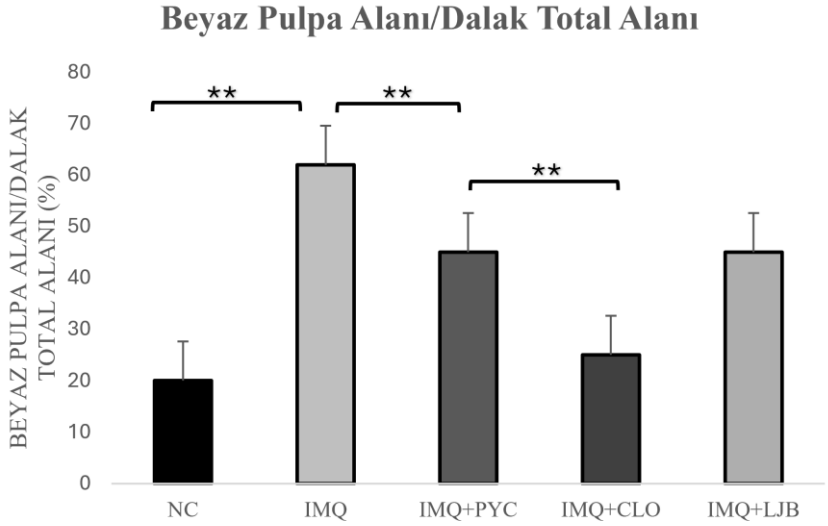
Tablo 23. Farelerin dalak dokusunun histopatolojik incelenmesi ve gruplar arası ikili karşılaştırması

Grup	**Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%)**	p	NC p*	IMQ p*	IMQ+PYC p*	IMQ+CLO p*
NC	20(15-25)	NC	1,00			
IMQ	62(44-66)	IMQ	**,002**	1,00		
IMQ+PYC	45(40-55)	IMQ+PYC	**,002**	**,013**	1,00	
IMQ+CLO	25(23-40)	IMQ+CLO	,102	**,002**	**,002**	1,00
IMQ+LJB	45(45-60)	IMQ+LJB	**,001**	**,033**	,506	**,002**
p**	**,000**					

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
**: Kruskal Wallis H testi, *: Mann Whitney U test



Şekil 19. Fare dalak dokularına ait hematoksilen-eozin (H&E) ile boyanmış histolojik kesitler. Büyütme: 10× (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)



Şekil 20. Gruplara ait Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%) grafiği. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)

4.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRMELER VE SONUÇLARI

4.4.1 TNF-α Antikoru ile Yapılan İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları

TNF-α antikoru ile gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyama sonucunda, sitokin ekspresyon düzeylerini değerlendirmek için pozitif boyanmış hücrelerin yüzdesi ile boyanma yoğunluğunun çarpımı sonucu elde edilen total skora dayalı olarak gruplar arasındaki değişimi ve gruplar arası ikili karşılaştırmaları incelemek için istatistiksel analiz testleri uygulanmıştır (Tablo 24). Bu teslerin sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir($p<0,005$).

TNF-α antikor ile imminohistokimyasal boyanma değerlendirildiğinde NC ile IMQ, IMQ+CLO arasında; IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında; IMQ+PYC ile IMQ+CLO grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0,05$). Gruplar arasında en yüksek boyanma oranı IMQ grubunda olduğu görülmektedir.

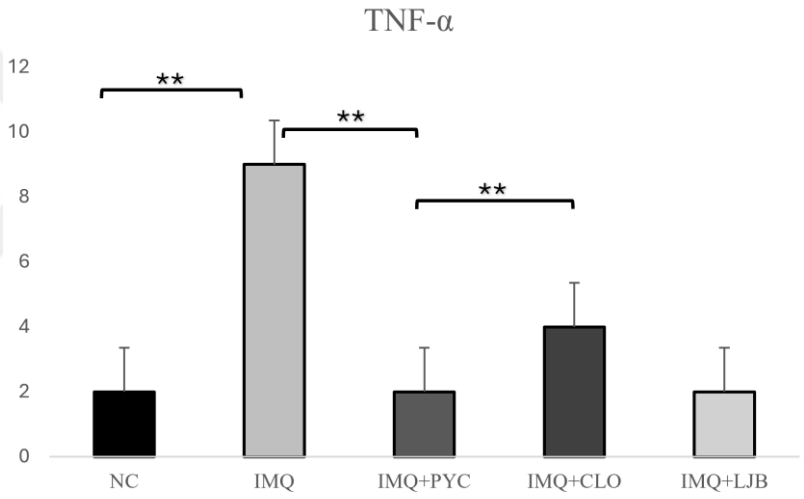
IMQ+PYC ve IMQ+ LJB grupları arasında anlamlı fark görülmemiş olup genel olarak IMQ kaynaklı artış gösteren boyanma miktarının en fazla PYC ve LJB uygulamaları ile azaldığı tespit edilmiştir.

Gruplara ait TNF-α antikoru ile immünohistokimyasal olarak boyanmış doku kesitleri ve boyama sonuçlarının analizi Şekil 21 ve 22'de gösterilmiştir.

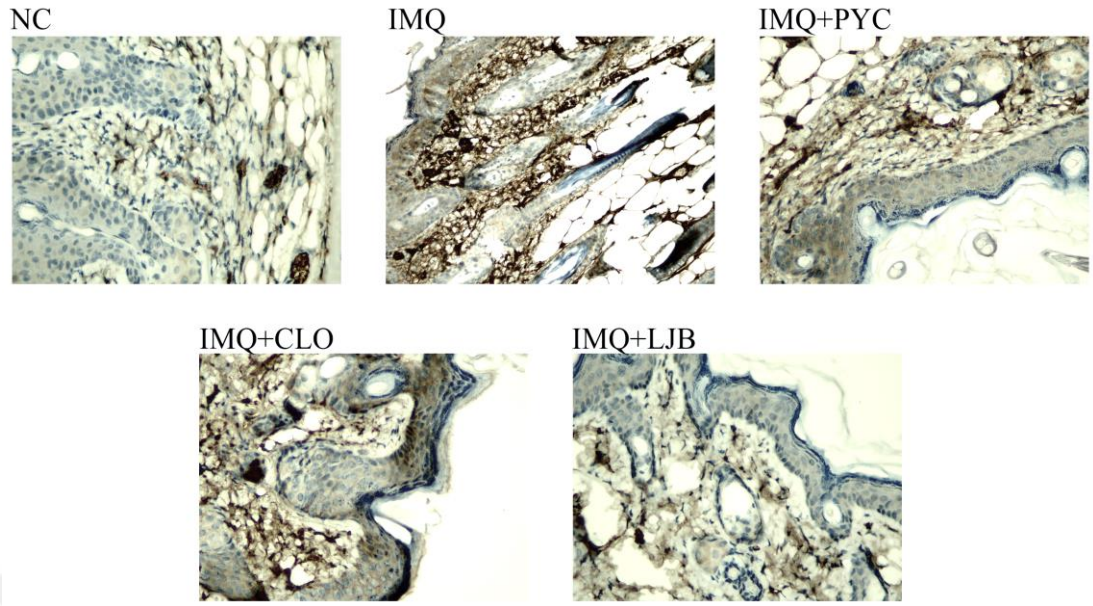
Tablo 24. Fare sırt deri dokularında TNF-α antikoru ile yapılan IHK boyamaya ait istatistiksel bulgular

Grup	**TNF-α M(min.-max.)**		NC p*	IMQ p*	IMQ+PYC p*	IMQ+CLO p*
NC	2(1-4)	NC	1,00			
IMQ	9(4-9)	IMQ	**,002**	1,00		
IMQ+PYC	2(2-4)	IMQ+PYC	,473	**,002**	1,00	
IMQ+CLO	4(2-6)	IMQ+CLO	**,027**	**,005**	**,032**	1,00
IMQ+LJB	2(2-6)	IMQ+LJB	,240	**,003**	,496	,207
p**	**,000**					

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
**: Kruskal Wallis H testi, *: Mann Whitney U test



Şekil 21. Gruplara ait fare sırt deri dokularında TNF-α antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonuçlarının analizi. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p<0,05



Şekil 22. Gruplara ait TNF-α antikoru ile immünohistokimyasal olarak boyanmış doku kesitleri. Büyütme: 40× (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)

4.4.2 IL-17 Antikoru ile Yapılan İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları

IL-17 antikoru ile gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyama sonucunda, sitokin ekspresyon düzeylerini değerlendirmek için pozitif boyanmış hücrelerin yüzdesi ile boyanma yoğunluğunun çarpımı sonucu elde edilen total skora dayalı olarak gruplar arasındaki değişimi ve gruplar arası ikili karşılaştırmaları incelemek için istatistiksel analiz testleri uygulanmıştır (Tablo 25.). Bu testin sonucunda gruplar arasında immünohistokimyasal boyama açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0,005$).

IL-17 antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama analizinde NC ile IMQ, IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında, IMQ ile IMQ+PYC, IMQ+CLO, IMQ+LJB arasında, IMQ+PYC ile IMQ+CLO, IMQ+LJB grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplar arasında en yüksek boyanma oranı IMQ grubunda olduğu görülmektedir.

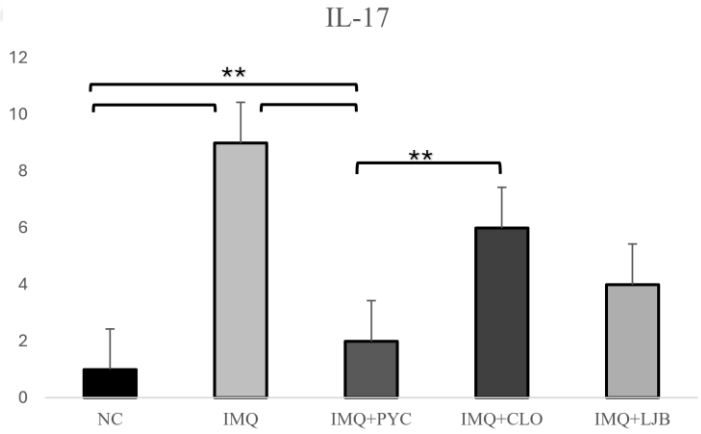
Genel olarak IMQ kaynaklı artış gösteren IL-17 ekspresyonunu PYC, CLO ve LJB uygulamalarının anlamlı seviyede azalttığı tespit edilmiştir (p<0,05). PYC uygulaması IL-17 ekspresyonunu azaltmada en etkili uygulama olmuştur.

Gruplara ait IL-17 antikoru ile immünohistokimyasal olarak boyanmış doku kesitleri ve boyama sonuçlarının analizi Şekil 23 ve 24'te gösterilmiştir.

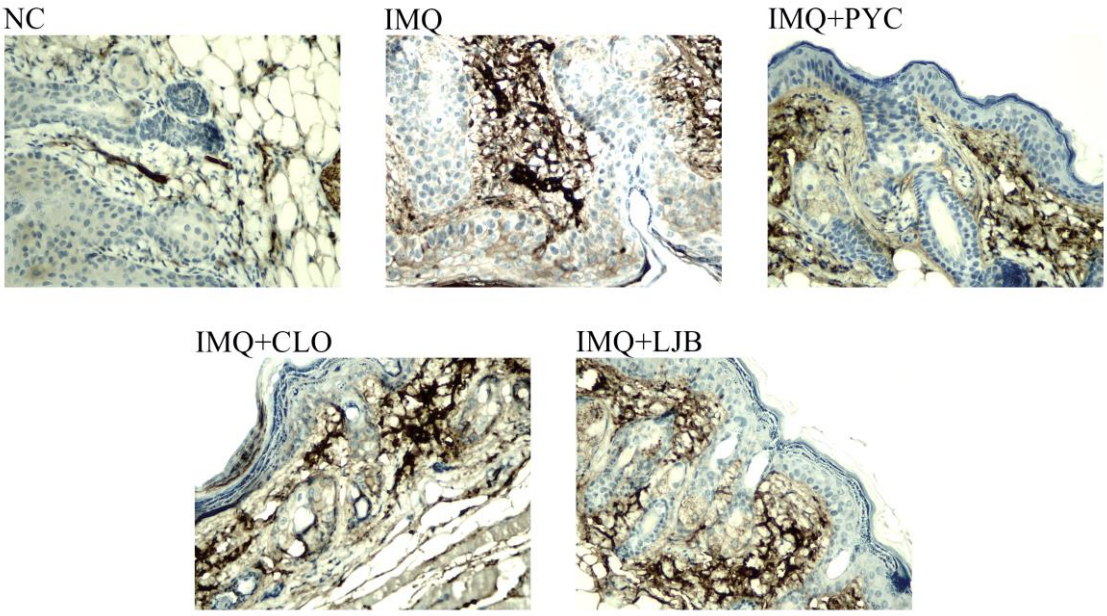
Tablo 25. Fare sırt deri dokularında IL-17 antikoru ile yapılan İHK boyamaya ait istatistiksel bulgular

Grup	**IL-17 M(min.-max.)**		NC p*	IMQ p*	IMQ+PYC p*	IMQ+CLO p*
NC	1(1-1)	NC	1,00			
IMQ	9(6-9)	IMQ	**,001**	1,00		
IMQ+PYC	2(1-4)	IMQ+PYC	**,025**	**,001**	1,00	
IMQ+CLO	6(4-6)	IMQ+CLO	**,001**	**,005**	**,004**	1,00
IMQ+LJB	4(2-6)	IMQ+LJB	**,001**	**,002**	**,050**	,058
p**	**,000**					

NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı
**: Kruskal Wallis H testi, *: Mann Whitney U test



Şekil 23. Gruplara ait fare sırt deri dokularında IL-17 antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonuçlarının analizi. (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı) **p<0,05



Şekil 24. Gruplara ait IL-17 antikoru ile immünohistokimyasal olarak boyanmış doku kesitleri. Büyütme: 40× (NC: Negatif Kontrol, IMQ: İmikimod, IMQ+PYC: İmikimod+Piknogenol yüklü lipozomal jel, IMQ+CLO: İmikimod+Klobetazol propiyonat IMQ+LJB: İmikimod+Lipozomal jel bazı)

5.TARTIŞMA

Psöriazis, her yaş ve cinsiyette görülebilen, dünya genelinde yetişkin nüfustaki prevalansı yaklaşık %2-3 olan, genetik ve birçok immünolojik faktörün eşlik ettiği ancak etyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılmamış, kronik immün yanıt aracılı inflamatuar bir deri hastalığıdır (1). Psöriazis tedavisinde çeşitli terapötik yaklaşımlar kullanılmakla birlikte, topikal tedavilerin sınırlı etkinliği, sistemik konvansiyonel ajanlar ve biyolojik tedavilerin potansiyel yan etkileri, tedaviye karşı direnç gelişimi ve yüksek maliyet gibi faktörler, daha güvenli ve etkili alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik araştırmaların yapılmasına hız kazandırmıştır (5,6).

Bu çalışma, psöriazis gibi kronik inflamatuar bir hastalığın daha etkili ve güvenli tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyduğu gerçeğinden yola çıkılarak tasarlanmış olup bu doğrultuda, Fransız sahil çamı kabuğu özütü (piknogenol) ile yüklü lipozomal jelin imikimod ile indüklenmiş fare psöriazis modelinde tedavi edici etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular, klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametreler açısından detaylı olarak incelenmiştir. Çalışma bulguları, en yüksek terapötik etkinliğin piknogenol (PYC) yüklü lipozomal jel uygulaması ile elde edildiğini göstermiştir. Bu etkinliği; bazı parametrelerde standart tedavi olarak kullanılan klobetazol propiyonat (CLO), bazı parametrelerde ise aktif madde içermeyen lipozomal jel bazı (LJB) izlemiştir.

Piknogenol Fransa'nın güneybatı sahillerinde yetişen *Pinus pinaster* (Fransız sahil çamı) kabuğundan elde edilen flavonoit/polifenol yapısında iyi bilinen ve kapsamlı bir şekilde incelenmiş patentli bir bitki ekstresidir. Piknogenolün, güçlü antioksidan, antiinflamatuar özelliklerinin yanında kan dolaşımı ve ekstraselüler matriks üzerinde olumlu etkileri yapılan in vitro, in vivo ve klinik çalışmalar ile aydınlatılmış olup bu özellikleri sayesinde pek çok dermatolojik hastalıkta ve cilt sağlığı üzerinde umut vadeden bir doğal bileşik haline gelmiştir (10,161).

Belcaro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hafif ila orta şiddette psöriazisi olan hastalara 12 hafta boyunca günlük 150 mg oral piknogenol takviyesi uygulanmış ve tedavi sonunda PAŞİ skorlarında anlamlı bir iyileşme, cilt lezyonlarında azalma ve

yaşam kalitesinde artış rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, piknogenolün psöriazis tedavisinde potansiyel bir destekleyici ajan olabileceğini göstermiştir (162).

Grether-Beck ve arkadaşları tarafından kaleme alınan derleme çalışmasında piknogenolün cilt sağlığı üzerindeki çok yönlü etkileri farklı klinik ve moleküler düzeylerde ele alınmıştır (133).

Derlemede, öncelikle Saliou ve arkadaşlarının yürüttüğü bir insan çalışmasında, 21 açık tenli gönüllüye 1,10–1,66 mg/kg/gün oral piknogenol verilmiş ve 4–8 hafta sonunda UV kaynaklı eritem yanıtında anlamlı azalma gözlemlenmiştir. Çalışmada eritem eşiğinin neredeyse iki katına çıkması, piknogenolün fotokoruyucu etkisinin doza bağımlı olarak geliştiğini göstermiştir (163).

Ni ve arkadaşlarının yaptığı melazmalı 30 Çinli kadında yürütülen bir başka klinik çalışmada, günde 75 mg piknogenol alımı ile hem melazma alan indeksi hem de pigmentasyon yoğunluğu anlamlı biçimde azalmıştır. Bu bulgu piknogenolün hiperpigmentasyon üzerindeki etkisini klinik olarak desteklemektedir (164).

Grether-Beck ve arkadaşlarının referans verdiği en dikkat çekici çalışma ise Marini ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen, 12 hafta boyunca günde 3×25 mg piknogenol takviyesi uygulanan postmenopozal kadınlar üzerinde yapılan moleküler temelli araştırmadır. Bu çalışmada, cilt elastikiyeti ve hidrasyonu artarken, biyopsi örneklerinde hiyalüronik asit ve kolajen senteziyle ilişkili genlerde yukarı regülasyon; melanin biyosenteziyle ilişkili genlerde ise UV ışını uyarımıyla tetiklenen ekspresyonda anlamlı düşüş kaydedilmiştir. Bu bulgular, piknogenolün yalnızca foto koruyucu ve antioksidan değil, aynı zamanda pigment baskılayıcı ve doku yeniden yapılanmasını destekleyici etkiler taşıdığını da göstermektedir (165).

Piknogenolün antiinflamatuar etkileri, sadece oksidatif stresin baskılanması yoluyla değil, aynı zamanda immün yanıtların hücresel düzeyde düzenlenmesiyle de açıklanabilmektedir. Bito ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro bir çalışmada, İnsan erişkin keratinosit kökenli ölümsüz hücre hattı (HaCaT), IFN-γ ile stimüle edilerek ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) ekspresyonu artırılmış ve bu sayede T lenfositlerin keratinositlere bağlanması sağlanmıştır. Ancak hücrelere önceden 50 μg/ml piknogenol uygulanması, hem ICAM-1 ekspresyonunu hem de T

hücre adezyonunu anlamlı biçimde azaltmıştır. Bu bulgular, piknogenolün inflamatuar cilt hastalıklarında yalnızca serbest radikal temizleyici olarak değil, aynı zamanda immün hücrelerin epidermal dokuya migrasyonunu azaltıcı bir mekanizma üzerinden de etkili olabileceğini göstermektedir (166).

Piknogenolün cilt üzerindeki antioksidan ve antiinflamatuar etkilerinin yanı sıra rejeneratif özellikler taşıdığı da bildirilmiştir. Blazsó ve arkadaşları tarafından yürütülen preklinik bir çalışmada, ratlar üzerinde termal hasarla oluşturulan cilt lezyonları üzerine piknogenol içeren jel formülasyonlarının yara iyileşme süreci üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada %1, %2 ve %5 oranlarında piknogenol içeren topikal jeller günde iki kez uygulanmış ve histopatolojik olarak epitelizasyon süresi, granülasyon dokusu oluşumu ve skar gelişimi takip edilmiştir. Bulgulara göre özellikle %5'lik piknogenol formülasyonu, epitelizasyonu belirgin şekilde hızlandırmış, inflamatuar hücre infiltrasyonunu azaltmış ve skar oluşumunu minimal düzeye indirgemiştir. Bu sonuçlar, piknogenolün yalnızca inflamasyonu baskılamakla kalmayıp, aynı zamanda epidermal ve dermal doku yenilenmesini destekleyen bir ajan olarak da değerlendirilebileceğini göstermektedir (135).

Literatürde yer alan bu çalışmalar ile piknogenolün çeşitli dermatolojik hastalıklarda antiinflamatuar, antioksidan ve immünmodülatör etkiler gösterdiği bilgiler ışığında çalışmamızda piknogenolün psöriazis hastalığı üzerindeki etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. Piknogenol psöriaziste kanıtlı bir molekül olmadığından çalışmamız deney hayvanları modeli olarak tasarlanmıştır. Çalışmamızda plak tip psöriazis lezyonunda topikal formülasyon geliştirilmesi amaçlanmış olup piknogenolün topikal formülasyonunda konsantrasyon seçiminde literatürde yer alan ve en optimal etki gösteren %5'lik konsantrasyon seçilmiştir (135). Literatürde piknogenolün topikal formülasyonun psöriaziste etkisini inceleyen bir çalışmanın olmaması ve piknogenolün lipozomal yapıdaki topikal jel formülasyonunun psöriazis modelinde ilk kez incelenecek olması çalışmamızın literatüre olan katkısını önemli ölçüde artırmaktadır.

Çalışmamızda topikal formülasyonun etkisini artırmak için yenilikçi jel bazlı sistemlerinden olan lipozomal taşıyıcı temelli bir jel formülasyonu oluşturulmuştur. Jel bazlı lipozomal sistemler, geleneksel krem ve merhem formülasyonlarına kıyasla

daha stabil bir yapı sunarak, ilaç etkinliğinin artırılması, toksisite düzeylerinin azaltılması, biyoyararlanımın iyileştirilmesi ve terapötik indeksin genişletilmesi gibi farmasötik avantajlar sağlamaktadır (14,15). Çalışmamızda lipozomal sistemin hazırlanmasında ince film hidratasyon yöntemi (thin film hydration) kullanılmıştır. Literatürde en yaygın olarak tercih edilen yöntemlerden biri olan bu teknik, ilk olarak Bangham ve arkadaşları tarafından tanımlanmış ve çok tabakalı vezikül (MLV) oluşumunu sağlayan klasik bir yöntem olarak kabul edilmiştir (137). Bu yöntem, uygulama kolaylığı, farklı lipid sistemleriyle uyumlu çalışabilmesi ve laboratuvar düzeyinde tekrarlanabilirliği nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir.

Formülasyonların fiziksel stabilite, homojenlik ve uygulamaya uygunluk açısından değerlendirilmesi amacıyla; viskozite, pH, parçacık boyutu ve zeta potansiyel gibi karakterizasyon parametreleri çeşitli validasyonlu yöntemler ve cihazlar ile analiz edilmiştir. Aktif madde içermeyen lipozomal jel bazına ait analiz sonuçlarına göre; ortalama parçacık boyutu 118,4 nm, zeta potansiyel değeri –34,5 mV, viskozite değeri 90300 cP ve pH değeri 6,625 olarak belirlenmiştir. Bu değerler, formülasyonun nano boyutta, yüksek viskoziteli, hafif asidik karakterde ve negatif yüzey yüklü partiküller içerdiğini göstermektedir. Zeta potansiyel değerinin –30 mV'nin altında olması, sistemin elektrostatik olarak kararlı olduğunu ve partiküller arasında yeterli itici kuvvetin bulunduğunu düşündürmektedir. Bu durum, lipozomların zamanla aglomere olma riskini azalttığı için fiziksel stabilite açısından olumlu bir göstergedir. Ayrıca parçacık boyutu dağılımının dar (PdI <0,3) olması, sistemin homojen bir yapıya sahip olduğunu ve formülasyon sırasında tutarlı bir partikül oluşumu sağlandığını göstermektedir. Viskozite değerinin oldukça yüksek olması, sistemin topikal uygulamaya uygun, deride tutunabilirliği yüksek bir jel kıvamında olduğunu göstermektedir. pH değerinin 6–7 aralığında olması ise, cilt fizyolojisi ile uyumlu bir yapıda olduğunu desteklemektedir.

%5 piknogenol içeren lipozomal jel formülasyonuna ait fiziksel karakterizasyon analizleri sonucunda ise ortalama parçacık boyutu 463,2 nm, zeta potansiyel değeri –49,4 mV, viskozite değeri 3450 cP ve pH değeri 5,168 olarak belirlenmiştir. Zeta potansiyel değerinin –49,4 mV gibi yüksek bir negatif değerde olması, partiküller arası elektrostatik itmenin oldukça güçlü olduğunu ve sistemin fiziksel olarak yüksek düzeyde stabil bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Bu

değer, lipozomların zamanla birleşerek çökelme riskinin azaldığını ve formülasyonun raf ömrü açısından avantajlı olduğunu düşündürmektedir. Parçacık boyutunun nano boyut sınırları içerisinde kalmasına rağmen, boş lipozomal sisteme kıyasla daha büyük olması, piknogenolün lipozom yapısına entegre edilmesiyle birlikte membran kalınlığının artmasından ya da aktif bileşiğin çekirdek etrafında oluşturduğu birikimden kaynaklanmış olabilir. Ayrıca viskozite değerinin ölçülebilir düzeyde düşük olması, formülasyonun topikal olarak uygulanabilirliğini koruduğunu ancak daha akışkan bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. pH değerinin 5 civarında olması, bu sistemin ciltle fizyolojik uyum açısından güvenli sınırlar içerisinde yer aldığını göstermektedir.

Elde edilen bu fiziksel karakterizasyon verileri, piknogenol yüklü lipozomal jel sisteminin nano ölçekte, stabil, biyolojik uyumluluğa sahip ve uygulamaya elverişli bir formülasyon sunduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda kullanılan imikimod (IMQ) ile indüklenen fare psöriazis modeli, günümüzde deneysel dermatoloji alanında en yaygın şekilde kullanılan non-invaziv, hızlı ve tekrarlanabilir inflamatuar dermatoz modellerinden biridir. Topikal olarak uygulanan imikimod, Toll like reseptör (TLR) 7 üzerinden etki ederek tipik psöriatik inflamasyonu indüklemekte; bu da hem makroskobik düzeyde eritem, skuam ve indurasyon gibi lezyonlara, hem de mikroskobik düzeyde akantoz, parakeratoz, epidermal hiperplazi ve dermal inflamatuar infiltrasyon gibi histopatolojik değişikliklere yol açmaktadır. Dahası bu modelde Th17 hücre aktivasyonu ve buna bağlı olarak IL-17, IL-23 ve TNF-α gibi sitokinlerin aşırı ekspresyonu söz konusudur; bu yönüyle insan psöriazisine oldukça benzer bir immünolojik profil oluşturur. Bu özellikleri nedeniyle IMQ modeli, yalnızca yeni tedavi yaklaşımlarının etkinliğini değerlendirmek için değil, aynı zamanda psöriazisin moleküler mekanizmalarını incelemek amacıyla da sıklıkla tercih edilmektedir (7,8). Van der Fits ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, BALB/c türü farelerin C57BL/6 farelerine kıyasla pirojenik yanıtlarının daha düşük; ancak inflamatuar yanıtlarının daha belirgin olduğu bildirilmiştir (8,149). Ayrıca bazı çalışmalarda, dişi farelerin inflamatuar yanıtlarının erkeklere kıyasla daha güçlü olduğu ve bu nedenle preklinik inflamasyon modellerinde daha belirgin semptomların gözlenebildiği belirtilmiştir (150).

İmikimod (IMQ) ile indüklenen psöriazis fare modelinde, hastalık indüksiyonu sırasında eş zamanlı tedavi uygulaması, inflamatuar sürecin başlangıcından itibaren terapötik ajanların etkinliğini değerlendirmek amacıyla kullanılan yaygın bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım, literatürde de sıklıkla tercih edilen bir yöntem olup tedavinin inflamasyonun erken evrelerindeki etkilerini gözlemlemeye olanak tanır ve klinik uygulamalardaki erken müdahale stratejilerini yansıtarak elde edilen bulguların translasyonel anlamda daha güçlü ve gerçekçi bir karşılık bulmasını sağlamaktadır (7,8,167). İmikimodun topikal uygulanmasıyla inflamatuar yanıt hızlı şekilde başlamakta ve 7–10 gün içerisinde maksimum inflamasyon gözlemlenmektedir. Bu nedenle, tedavilerin bu dönemde uygulanması hem akut inflamasyon sürecinin baskılanması hem de potansiyel koruyucu etkilerin ortaya konulması açısından önemlidir.

Bu bilgiler doğrultusunda, IMQ ile indüklenen fare psöriazis modeli oluşturulan çalışmamızda hem biyolojik değişkenliği azaltmak hem de daha belirgin inflamatuar semptomların gözlenebilmesi amacıyla BALB/c ırkı dişi fareler kullanılmıştır. Çalışmamızda IMQ uygulaması ile eş zamanlı olarak, tedavi gruplarına topikal uygulamalar her gün IMQ uygulamasından 8 saat sonra olacak şekilde yapılmıştır. Böylelikle çalışmamızda IMQ ile oluşturulan bu model üzerinde piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun, psöriazis patofizyolojisine benzer bir inflamatuar zeminde ne ölçüde etkili olabileceği araştırılmıştır.

Çalışmamızda farelerin sırt derisinde oluşan psöriatik lezyonların şiddetini değerlendirmek için bir skorlama sistemi olan Psöriazis Hastalığı Alan ve Şiddet İndeksi (PAŞİ) skorlama sistemi kullanılmıştır. Çalışmamızda toplam PAŞİ skoru, sırt derisinde gözlemlenen eritem, skuam ve indurasyon parametrelerinin her bir gün için ayrı ayrı değerlendirilip toplanmasıyla elde edilmiştir. Bu skor, inflamasyonun klinik şiddetini yansıtan bütüncül bir göstergedir (8,153,154). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak deney sonunda IMQ grubunda toplam PAŞİ skoru yüksek seviyelerde saptanmış ve diğer gruplara kıyasla her bir parametredeki skorların anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür($p<0,05$). Bu durum modelin güçlü inflamatuar yanıt oluşturduğunu ve psöriazis benzeri lezyonların başarıyla indüklendiğini göstermiş olup uygulanan formülasyonların inflamasyonu etkin biçimde azalttığını da ortaya koymuştur.

IMQ+PYC grubunda ise toplam PAŞİ skorunda anlamlı bir azalma gözlemlenmiş ve skor medyan değeri 3 (3–4) düzeyinde sabit kalmıştır ($p<0,05$). Bu bulgu, piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun, inflamasyonun ilerlemesini baskılamakta oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Standart tedavinin uygulandığı grup olan IMQ+CLO grubunda toplam PAŞİ skoru IMQ+PYC grubuna göre daha yüksek seviyelerde seyretmiştir. IMQ+LJB grubunda ise toplam PAŞİ skorlarına bakıldığında aktif madde içermeyen lipozomal taşıyıcı bazın sınırlı ama var olan bir etkisi olduğu söylenebilmektedir. NC grubunda ise PAŞİ skorları beklendiği gibi 0 düzeyinde kalmıştır.

Grupların karşılaştırmalı değerlendirme bulgularına baktığımızda toplam PAŞİ skoru açısından deney sonunda IMQ+PYC ile IMQ+CLO grubu arasında da anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuç, piknogenol jel formülasyonunun klobetazolden daha etkili veya daha stabil bir klinik yanıt sağlayabileceğini düşündürmektedir. IMQ+PYC grubunun hem IMQ hem de lipozomal jel baz grubu olan IMQ+LJB ile olan karşılaştırmalarında anlamlı farklar elde edilmesi, piknogenolün bazdan bağımsız, güçlü bir antiinflamatuar etki ortaya koyduğunu da göstermektedir.

Toplam PAŞİ skorları bakımından hem IMQ+CLO hem de IMQ+LJB gruplarında, yalnızca imikimod uygulanan IMQ grubuna kıyasla anlamlı fark olacak bir düşüş gözlenmiştir ($p<0,05$). Ancak bu iki tedavi grubunun kendi aralarındaki karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu bulgu, klobetazol propiyonatın güçlü antiinflamatuar etkisine rağmen, kısa tedavi süresinin etkinliğini sınırlamış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, aktif madde içermeyen lipozomal jel bazının da inflamasyonu azaltıcı bir etki oluşturabileceği görülmektedir. Bu durum, topikal formülasyonun taşıyıcı sistemi olan lipozomal bazın aktif madde içermese dahi belirli düzeyde terapötik katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Nasab ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, yumurta ve soya lesitini ile hazırlanan boş lipozomal formların hem in vitro antioksidan etkiler gösterdiği hem de in vivo yara iyileşmesini anlamlı düzeyde hızlandırdığı ortaya konmuştur. Araştırmada, bu etkilerin re-epitelizasyon, fibroblast proliferasyonu, kollajen depozisyonu ve neovaskülarizasyon gibi parametrelerde gözlemlendiği hatta

etkinin bazı noktalarda %1 fenitoin kreminden daha güçlü olduğu belirtilmiştir (168). Bu bulgular, yalnızca taşıyıcı sistem olarak kullanılan lipozomların yapısında bulunan fosfolipitlerin kendisi de inflamasyonu modüle edebileceğini ve psöriatik benzeri cilt hasarında kısmi bir iyileştirici etki sağlayabileceğini göstermektedir

Kulak kalınlığı ölçümü literatürde birçok çalışmada psöriazis modelinde bağımsız bir gösterge olarak lokal inflamasyonun şiddetini değerlendiren tamamlayıcı bir parametre olarak kullanılmaktadır (8,149). Çalışmamızda, sırt derisine olduğu gibi sağ kulak içi bölgesine de IMQ ve topikal tedavi ajanları uygulanmış ve inflamatuar sürecin bu bölgede ne ölçüde oluştuğu takip edilmiştir. IMQ grubunda deney sonunda sağ kulak kalınlığı diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark olacak şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Bu artış, IMQ'nun yalnızca sırt bölgesinde değil, daha ince derili kulak bölgesinde de güçlü bir inflamatuar yanıt oluşturduğunu göstermektedir.

IMQ+PYC grubunda, sağ kulak kalınlığı daha düşük ölçülmüş olup, IMQ grubuna kıyasla bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuç, piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun kulak bölgesinde oluşan inflamatuar yanıtı baskılayabildiğini göstermektedir. IMQ+CLO grubunda da sağ kulak kalınlığı grubuna göre anlamlı fark olacak şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). IMQ +PYC ile IMQ+CLO grubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir ($p>0,05$). Bu durum, piknogenolün kortikosteroidlere benzer düzeyde etkinlik gösterebildiğini desteklemektedir. Diğer yandan, IMQ+LJB grubunda sağ kulak kalınlığı değerleri, IMQ grubuna göre anlamlı düşüş gösterse de IMQ+PYC grubuna kıyasla daha yüksek kalmıştır. Bu durum, kullanılan lipozomal jel bazının kendisinin de belirli bir antiinflamatuar etkiye sahip olduğunu; ancak esas etkinin aktif madde olan piknogenolden kaynaklandığını işaret etmektedir.

İmikimod ile indüklenen psöriazis benzeri fare modellerinde, dalak ağırlığı ve boyutundaki değişimler ile histopatolojik yapısal değişikliklerin, immün yanıtın düzenlenmesinde görev alan hücresel bileşenlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle dalak, inflamatuar yanıtın yalnızca lokal değil, aynı zamanda sistemik düzeydeki etkilerini değerlendirmede duyarlı ve anlamlı bir biyolojik gösterge olarak kabul edilmektedir (155).

Na Takuathung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, BALB/c farelerde imikimod ile oluşturulan psöriazis benzeri inflamasyon modelinde dalak büyüklüğü ve yapısal değişiklikler sistemik inflamasyonun göstergesi olarak değerlendirilmiştir. IMQ uygulanan grupta dalak ağırlığında anlamlı bir artış saptanmış ve beyaz pulpa alanında histolojik bozulmalar gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, sistemik inflamasyonun yalnızca ciltle sınırlı kalmadığını, aynı zamanda sekonder lenfoid organları da etkilediğini göstermiştir (169). Van der Fits ve arkadaşlarının 2009 yılında yayımladıkları çalışmada, farelerin sırt derilerine 5 ila 6 gün boyunca topikal olarak imikimod (IMQ) uygulanmasının ardından, dalak kütlesinde yaklaşık iki kat artış gözlemlenmiştir. Bu bulgu, IMQ ile oluşturulan psöriazis benzeri modelin yalnızca lokal değil, aynı zamanda sistemik düzeyde immün aktivasyonu da tetiklediğini ortaya koymaktadır (8).

Yukarda bahsedilen literatürdeki verilerle uyumlu olarak, çalışmamızda da imikimod uygulanan farelerde dalak uzunluğu ve ağırlığında anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Deney sonunda gruplar arası ikili karşılaştırmalarda, IMQ grubunun hem negatif kontrol (NC) hem de diğer tedavi gruplarına göre anlamlı şekilde daha yüksek dalak uzunluğu ve ağırlığına sahip olduğu saptanmıştır. ($p<0,05$). Bu durum, topikal IMQ uygulamasının yalnızca lokal cilt inflamasyonunu değil, aynı zamanda sistemik immün yanıtı da aktive ettiğini göstermektedir. IMQ+PYC grubunda, dalak uzunluğu ve ağırlığı olarak her iki parametre de IMQ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,05$) Bu durum, piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun sistemik inflamasyon üzerinde baskılayıcı bir etki gösterebildiğini ortaya koymaktadır. IMQ+LJB grubunda dalak uzunluğu ve ağırlığının değerleri IMQ grubuna göre daha düşük olsa da IMQ+PYC ve IMQ+CLO gruplarına göre daha yüksek kalmıştır. IMQ+LJB grubunda IMQ grubuna kıyasla ağırlık açısından anlamlı bir fark izlenmiş ($p<0,05$), ancak uzunluk açısından anlamlı bir azalma saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu bulgular; taşıyıcı lipozomal bazın sistemik inflamasyonu sınırlı düzeyde baskılayabildiğini, ancak asıl etkinin aktif bileşen olan piknogenolden kaynaklandığını göstermektedir. IMQ+PYC ve IMQ+LJB grupları arasında dalak ağırlığı bakımından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Bu durum, hem piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun hem de aktif madde içermeyen lipozomal jel bazın, sistemik inflamatuar yanıtta benzer düzeyde baskılayıcı etki gösterebildiğini

düşündürmektedir. Lipozomal bazın tek başına bu etkiyi oluşturabilmesi, taşıyıcı sistemin immünmodülatör potansiyeline işaret etmektedir.

IMQ+CLO grubunda, dalak uzunluğu ve ağırlığı tüm gruplar arasında en düşük seviyede bulunmuştur. IMQ grubuyla yapılan karşılaştırmalarda her iki parametrede de anlamlı fark elde edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca IMQ+PYC grubuna kıyasla da anlamlı farklılık gösterilmesi, klobetazolün piknogenolden daha güçlü sistemik etkiler oluşturduğunu düşündürmektedir. Burada öne çıkan bir diğer bulgu ise dalak uzunluk ve ağırlıkları açısından IMQ+CLO grubunun tedavi verilmeyen sağlıklı grup olan NC grubundan bile anlamlı düzeyde daha düşük olmasıdır ($p<0,05$) Topikal uygulanan klobetazol propiyonat, güçlü bir glukokortikoiddir ve deriden sistemik dolaşıma geçerek periferik bağışıklık organlarında immün süpresyon etkisi oluşturabilir. NC grubuna kıyasla dahi daha düşük dalak uzunluğu ve ağırlığı saptanması, klobetazolün sadece inflamasyonu baskılamada değil, sistemik lenfoid doku hacmini de inhibe edici bir etki gösterebildiğini düşündürmektedir. Bu durum, aşırı immün sistem baskılanması ya da atrofiye eğilimli etkilerin bir yansıması olabilir (170).

Dalak boyutları yanında dalak histopatolojisinin değerlendirilmesi, psöriaziste sistemik immün yanıt üzerindeki etkilerin ve lenfoid organlarda da belirgin histopatolojik değişikliklerin ortaya konulması açısından önem arz etmektedir.

Dalakta yer alan beyaz pulpa bölgeleri, immün yanıtın şekillendiği ve psöriazis patogenezinde rol oynayan lenfoid hücre alt tiplerinin aktivasyonuna aracılık eden kritik germinal merkez yapılarıdır. Zhao ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, psöriazisli hastalardan elde edilen eritrositlerin deneysel fare modellerinde psöriazis benzeri inflamasyonu indükleyebildiği gösterilmiştir. Bu modelde, psöriatik farelerde dalakta hem kırmızı hem de beyaz pulpa alanlarında anlamlı genişleme gözlemlenmiş ve dalak makrofajlarının yaşlanmış eritrositleri tanıma ve fagosite etme kapasitesinin azaldığı gösterilmiştir (159). Bu doğrultuda çalışmamızda dalakta histopatolojik kesitlerde Beyaz Pulpa Alanı / Dalak Total Alanı (%) oranı lenfoid hücre proliferasyonunun göstergesi olarak kabul edilmiş ve gruplar arası değişimler bu metrik üzerinden analiz edilmiştir.

Çalışmamızda yukarıda bahsedilen çalışmaya uyumlu olarak IMQ ile indüklenen psöriazis modeli sonrasında Beyaz Pulpa Alanı/Dalak Total Alanı (%)

oranının anlamlı biçimde arttığı gözlenmiş ve bu artış, özellikle negatif kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum, IMQ'nun sistemik düzeyde immün hücre aktivasyonunu ve splenik lenfoid hiperplaziyi de indüklediğini düşündürmektedir. Klobetazol propiyonat (IMQ+CLO) uygulanan grupta beyaz pulpa oranı, IMQ grubuna kıyasla belirgin düzeyde azalmış ($p<0,05$), NC grubuyla karşılaştırıldığında ise anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Bu bulgular, klobetazolün yalnızca lokal değil, sistemik immün yanıtı da suprese edici potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Piknogenol yüklü lipozomal jel (IMQ+PYC) uygulaması, beyaz pulpa oranını IMQ grubuna göre anlamlı düzeyde azaltmıştır ($p<0,05$). Bu etkinin, piknogenolün polifenolik yapısı nedeniyle sahip olduğu antioksidan ve antiinflamatuar özelliklere atfedilebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, klobetazol grubuna kıyasla daha yüksek beyaz pulpa oranı izlenmiş olup ($p<0,05$), bu durum piknogenolün klobetazolden daha zayıf fakat istatistiksel olarak anlamlı bir immün modülatör etkisi olduğunu göstermektedir.

Aktif madde içermeyen lipozomal jel bazı (IMQ+LJB) uygulanan grupta da IMQ grubuna kıyasla anlamlı bir azalma saptanmış ($p<0,05$), ancak PYC grubuna göre anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Bu durum, taşıyıcı sistemin kendisinin de belirli düzeyde inflamasyonu baskılayıcı veya immünomodülatör etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, beyaz pulpa oranındaki artış psöriazis modelinde sistemik immün aktivasyonun bir yansıması olarak değerlendirilmiş; klobetazolün bu artışı baskılamada en etkili ajan olduğu gösterilmiştir. Piknogenol yüklü lipozomal jel ise bu etkide istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sağlamış, dolayısıyla sistemik inflamasyonu modüle etme potansiyeli ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, taşıyıcı lipozomal bazın da göz ardı edilemeyecek düzeyde etkili olduğu dikkate alınmalı ve bu etki ileri çalışmalarla detaylandırılmalıdır.

Baker ve arkadaşları, immün sistemi baskılanmış çıplak farelere, psöriazisli hastalardan elde edilen cilt greftlerini transplant ederek oluşturdukları hayvan modelinde, epidermal ve dermal düzeyde gözlemlenen histopatolojik değişiklikleri sistematik olarak değerlendirmişlerdir. Bu değerlendirme sırasında; keratin

tabakasında hiperkeratoz/parakeratoz, epidermiste akantoz, dermiste vasküler dilatasyon ve inflamatuar infiltrasyon gibi karakteristik psöriazis bulgularının varlığını ve şiddetini dikkate almışlardır. Bulgular, daha önceki literatürde bu değişikliklerin görülme sıklığına atıfla belirlenmiş önem katsayıları ile çarpılarak sayısal bir skora dönüştürülmüş ve böylece bugün literatürde Baker histopatolojik skorlama sistemi olarak bilinen yarı kantitatif değerlendirme yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde elde edilen skorlar, lezyonlu deri alanlarında yüksek, non-lezyonel alanlarda ise düşük bulunmuştur (156).

Çalışmamızda fare sırt derisi histopatolojik bulgularının objektif şekilde değerlendirilmesi amacıyla kullanılan Baker skorlama sistemi, lezyonların şiddetinin yarı kantitatif olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır (156,157). Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre, IMQ grubu, anlamlı derecede yüksek Baker skorları ile en şiddetli epidermal ve dermal değişimleri sergilemiştir ($p<0,05$). Bu bulgu, IMQ'nun psöriazis benzeri kutanöz inflamasyonu başarıyla indüklediğini ve modelin geçerliliğini ortaya koymaktadır. Buna karşın, piknogenol yüklü lipozomal jel (IMQ+PYC) uygulanan grupta, Baker skoru negatif kontrol (NC) grubuna en yakın düzeyde saptanmıştır. Bu durum, piknogenolün epidermal inflamasyonu baskılamada yüksek terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Klobetazol propiyonat (IMQ+CLO) uygulanan grupta da IMQ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlenmiş olmakla birlikte ($p<0,05$), bu azalma IMQ+PYC grubuna kıyasla daha sınırlı düzeyde kalmıştır Öte yandan, aktif madde içermeyen lipozomal jel bazının (IMQ+LJB) da IMQ grubuna göre anlamlı düzeyde Baker skoru azalttığı ($p<0,05$), ancak IMQ+CLO ve IMQ+PYC gruplarına kıyasla daha az etkili olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, Baker skorlamasına göre elde edilen bulgular, piknogenol yüklü lipozomal jelin sahip olduğu antioksidan ve immün modülatör özelliklerin, yalnızca semptomatik baskılamayla kalmayıp psöriazis benzeri dermal inflamasyonun histopatolojik şiddetini de daha etkili bir şekilde azaltabildiğini düşündürmektedir. Bu etki hem klobetazol hem de taşıyıcı jel bazı ile karşılaştırıldığında daha belirgin olup, piknogenolün tedavi edici potansiyelini destekleyen önemli bir histopatolojik kanıt niteliği taşımaktadır.

Psöriazis patogenezi, epidermal keratinositlerin aşırı proliferasyonu ve diferansiyasyonundaki bozulma ile karakterizedir. Bu durum histopatolojik olarak epidermal kalınlık artışı (akantoz) şeklinde gözlemlenmekte olup, deneysel modellerde inflamasyonun cilt üzerindeki etkisini değerlendirmek için önemli bir morfometrik parametre olarak kullanılmaktadır (158). Çalışmamızda IMQ ile indüklenen psöriazis modelinde, epidermal kalınlık değerleri anlamlı düzeyde artmış ve bu artış negatif kontrol (NC) grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tedavi grupları arasında medyan değerler arasında en dikkat çekici azalma, IMQ+PYC grubunda gözlenmiş olup, bu gruptaki epidermal kalınlık değeri IMQ grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) ve değerler NC grubuna oldukça yakın düzeyde seyretmiştir. Bu durum, piknogenolün antiinflamatuar ve antiproliferatif etkileri sayesinde epidermal hiperplaziyi etkin biçimde baskıladığını ortaya koymaktadır.

Klobetazol propiyonat (IMQ+CLO) uygulanan grupta da epidermal kalınlık IMQ grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış, ancak IMQ+PYC grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu durum piknogenol yüklü lipozomal jel uygulamasının, epidermal kalınlığı azaltmada klobetazol propiyonat ile benzer düzeyde etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir.

IMQ+LJB grubunda ise epidermal kalınlık değeri IMQ grubuna göre anlamlı düzeyde azalma göstermiştir ($p<0,05$). IMQ+CLO grubuna göre epidermal kalınlık yönünden fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$); ancak aritmetik olarak klobetazol grubu, lipozomal baz grubuna göre daha düşük kalınlık göstermektedir. Bu durum, aktif madde içermeyen lipozomal bazın tek başına epidermal hiperplaziyi baskılamada sınırlı bir etkiye sahip olduğunu, fakat taşıyıcı sistemin tamamen etkisiz olmadığını düşündürmektedir. IMQ+PYC grubu ise IMQ+LJB grubuna kıyasla epidermal kalınlık üzerinde anlamlı derecede daha fazla azalma sağlamıştır ($p<0,05$). Bu da piknogenolün aktif bileşen olarak antiinflamatuar ve antiproliferatif etkisini açık biçimde göstermektedir.

Psöriazis hem edinsel hem de kazanılmış bağışıklık sisteminin hücreleri ve mediatörleri tarafından yönlendirilen kronik inflamatuar bir dermatozdur. Bu

bağlamda, TNF-α (Tümör Nekroz Faktörü-alfa) ve IL-17 (Interlökin-17), hastalığın başlatılması ve sürdürülmesinde merkezi rollere sahip olup, tedavi hedefi haline gelen temel sitokinlerdendir (44). Çalışmamızda yapılan boyamalarda TNF-α ile lenfositler, endotel hücreleri, fibroblastlar, sebase ünite (granüler tarzda) ve kıl kökleri (çift cidarlı) boyanmıştır. Literatürde yer alan bilgiye göre TNF-α; keratinositler, T hücreleri ve psöriatik deri lezyonlarında artmış sayıda bulunan inflamatuar dendritik hücreler tarafından sentezlenmektedir (44,171). Bu da TNF-α ile yaygın boyanmayı açıklamaktadır. IL-17 ile yapılan boyamalarda lenfositlerin yanında endotel hücrelerinde ve keratinositlerde ince bal peteği tarzında boyanmalar görülmüştür.

Çalışmamızda değerlendirme yapılırken sadece inflamatuar hücrelerdeki boyanmalar dikkate alınmış olup TNF-α ve IL-17 ekspresyonlarının değerlendirilmesi için yarı kantitatif (semikantitatif) bir skorlama yöntemi uygulanmıştır. Boyanma puanlaması, her fareden alınan deri kesitinde rastgele seçilen beş farklı mikroskobik alanda pozitif boyanma gösteren hücre oranı ile boyanma yoğunluğunun çarpımıyla hesaplanmıştır. Bu iki parametrenin çarpımı ile elde edilen toplam skor, her bir örnek için IHK ekspresyon düzeyini yansıtan sayısal bir ölçüt olarak kullanılmıştır (160).

Çalışmamızda IMQ grubu, TNF-α ekspresyonu açısından en yüksek skorla dikkat çekmiş ve bu artış hem NC grubuna hem de tüm tedavi gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). IMQ+PYC ve IMQ+LJB gruplarının her ikisi de IMQ grubuna göre anlamlı şekilde düşük TNF-α ekspresyonu göstermiştir ($p<0,05$). Ancak bu iki grup birbirleriyle karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır. ($p>0,05$). IMQ+CLO grubu, IMQ grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük TNF-α ekspresyonuna sahipken, IMQ+PYC grubuna kıyasla ise daha yüksek düzeyde ekspresyon göstermiştir. Bu bulgu, piknogenol yüklü lipozomal jelin TNF-α düzeyini klobetazol propiyonattan daha etkin biçimde baskıladığını, dolayısıyla sistemik proinflamatuar yanıt üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

IL-17 antikoru boyanma skoru açısından incelendiğinde IMQ grubu, tüm gruplar arasında en yüksek IL-17 skoru ile dikkat çekmiş ve bu değer negatif kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artış göstermiştir ($p<0,05$). Bu bulgu, IMQ ile indüklenen modelde IL-23/Th17 ekseninin güçlü biçimde aktive olduğunu

göstermektedir. Piknogenol yüklü lipozomal jel (IMQ+PYC) uygulanan grupta IL-17 skorları, IMQ grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış ve NC grubuna en yakın değerlere ulaşmıştır. Bu durum, piknogenolün yalnızca TNF-α değil, aynı zamanda IL-17 aracılı inflamatuar yanıtta da etkili bir baskılayıcı olduğunu göstermektedir. Ayrıca IMQ+CLO grubuna kıyasla daha düşük skorlarla IL-17 ekspresyonunu bastırmış olması, piknogenolün bu eksen üzerinde klobetazolden daha etkili olabileceğini düşündürmektedir. IMQ+LJB grubu ise IL-17 ekspresyonunu IMQ grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaltmıştır; ancak bu etki, aktif bileşen içeren piknogenol yüklü lipozomal jele kıyasla daha zayıf kalmış ve IMQ+PYC grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık sınırında daha yüksek IL-17 boyanma düzeyleri göstermiştir ($p=0,05$). Elde edilen veriler, lipozomal taşıyıcı sistemin IL-17 düzeylerini azaltmada katkı sağlayabileceğini; ancak bu etkinin piknogenol içeriği ile belirgin şekilde güçlendiğini göstermektedir. Bu durum, taşıyıcı sistemin biyoyararlanımı artırıcı rolünü desteklerken, terapötik etkinliğin temel belirleyicisinin aktif bileşen olduğunu da ortaya koymaktadır.

Çalışmamız genel olarak değerlendirildiğinde, piknogenol yüklü lipozomal jel formülasyonunun, imikimod ile indüklenen psöriazis benzeri fare modelinde hem lokal hem de sistemik inflamatuar yanıtı baskılamada yüksek düzeyde etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu deneysel çalışmamız ile piknogenol yüklü lipozomal jel, psöriazis tedavisinde umut vadeden bir topikal ajan olarak öne çıkmış, güçlü antiinflamatuar ve immünmodülatör özellikleri ile hem glukokortikoidlere alternatif hem de lipozomal teknolojilere entegre edilebilecek doğal bir bileşik olarak konumlandırılmıştır. Klinik (PAŞİ skoru, kulak kalınlığı), histopatolojik (Baker skoru, epidermal kalınlık) ve immünohistokimyasal (TNF-α ve IL-17 ekspresyonları) parametrelerin yanında dalak boyutları ve histopatolojisindeki değişimlerle bu bulgular desteklenmiştir. Ayrıca çalışmamızda ilk kez piknogenolün lipozomal yapıdaki topikal formülasyonunun fare psöriazis modelinde değerlendirilmiş olması, literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmakta ve lipozomal formülasyon teknolojisinin terapötik etkinliğe olan katkısını da gözler önüne sermektedir. Lipozomal taşıyıcı bazın, aktif madde içermese dahi sınırlı da olsa antiinflamatuar ve immünmodülatör etki göstermesi, taşıyıcı sistemlerin biyolojik katkılarını da göz önünde bulundurulması gereken bir faktör olarak öne çıkarmaktadır. Bununla birlikte,

çalışmanın bir hayvan modeli üzerinde gerçekleştirilmiş olması, elde edilen sonuçların translasyonel değerini artırsa da insan klinik çalışmalarında benzer etkinliğin gösterilmesi açısından ileri faz değerlendirmelere ihtiyaç olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi süresinin sınırlılığı ve farklı doz/konsantrasyonların test edilmemiş olması, çalışmamızın kısıtlılıklarından olmakla beraber piknogenolün optimal formülasyon parametrelerinin belirlenmesi açısından gelecekte yapılacak çalışmalara zemin hazırlamaktadır. Bu bağlamda; daha uzun süreli, farklı konsantrasyonlarla yürütülecek ileri preklinik ve klinik çalışmalar, piknogenolün dermatolojik tedavi stratejilerindeki yerini netleştirmede belirleyici olması açısından önem taşımaktadır.

6.SONUÇLAR

- Piknogenol yüklü lipozomal jel, imikimod ile indüklenen fare psöriazis modelinde lokal ve sistemik inflamasyonu anlamlı düzeyde baskılamıştır.
- Piknogenol yüklü lipozomal jel uygulaması, klinik (PAŞİ skoru, kulak kalınlığı) ve histopatolojik (epidermal kalınlık, Baker skoru) parametrelerde iyileşme sağlamıştır.
- Piknogenol yüklü lipozomal jel uygulamasıyla TNF-α ve IL-17 düzeylerinde anlamlı azalma saptanmış, böylece proinflamatuar sitokinler üzerinde etkili bir immünmodülatör özellik gösterdiği ortaya konulmuştur.
- Piknogenol yüklü lipozomal jel uygulamasıyla dalak boyutlarında ve beyaz pulpa oranında gözlenen azalma, sistemik immün yanıtın da etkin bir şekilde baskılandığını göstermiştir.
- Lipozomal jel bazı, aktif madde içermese de sınırlı antiinflamatuar etki göstermiş ve bu durum, taşıyıcı sistemlerin de tedavide ek biyolojik katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür.
- Piknogenol yüklü lipozomal jel, antiinflamatuar ve immünmodülatör etkileriyle inflamatuar dermatozlarda umut vadeden bir topikal tedavi ajanı olarak ön plana çıkmıştır.
- Piknogenol yüklü lipozomal jelin klinik pratiğe aktarılabilirliğini desteklemek amacıyla, farklı konsantrasyonlarda, uzun süreli ve insan temelli ileri çalışmalar gereklidir.
- Bu tez çalışması ile bitkisel kaynaklı doğal ve güvenli içeriklerin gelişmiş taşıyıcı sistemlerle birlikte kullanıldığında psöriazis gibi inflamatuar dermatozlarda etkili alternatifler sunabileceği gösterilmiştir**.**

Proje Numarası: 2025002 olan 'Fransız Sahil Çamı Kabuğu Özütü (Piknogenol) ile Yüklü Lipozomal Jel Formülasyonunun İmikimod ile İndüklenen Fare Psöriazis Modelinde Tedavi Edici Etkisinin İncelenmesi' başlıklı bu çalışma İstanbul Kent Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Damiani G, Bragazzi NL, Karimkhani Aksut C, Wu D, Alicandro G, McGonagle D, et al. The Global, Regional, and National Burden of Psoriasis: Results and Insights From the Global Burden of Disease 2019 Study. Front Med (Lausanne). 2021 Dec 16;8.
2. Küresel Sedef Atlası - Sedef hastalığı yaygınlığı ısı haritası [Internet]. [cited 2025 Mar 10]. Available from: https://www.globalpsoriasisatlas.org/en/explore/prevalence-heatmap
3. González-Parra S, Daudén E. Psoriasis and Depression: The Role of Inflammation. Actas Dermosifiliogr. 2019;110(1):12–9.
4. Stiff KM, Glines KR, Porter CL, Cline A, Feldman SR. Current pharmacological treatment guidelines for psoriasis and psoriatic arthritis. Expert Rev Clin Pharmacol. 2018 Dec 2;11(12):1209–18.
5. Armstrong AW, Read C. Pathophysiology, Clinical Presentation, and Treatment of Psoriasis. JAMA. 2020 May 19;323(19):1945.
6. Lee HJ, Kim M. Challenges and Future Trends in the Treatment of Psoriasis. Int J Mol Sci. 2023 Aug 28;24(17).
7. Swindell WR, Johnston A, Carbajal S, Han G, Wohn C, Lu J, et al. Genome-wide expression profiling of five mouse models identifies similarities and differences with human psoriasis. PLoS One. 2011 Apr 4;6(4):e18266.
8. van der Fits L, Mourits S, Voerman JSA, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. J Immunol. 2009 May 1;182(9):5836–45.
9. Gangwar RS, Gudjonsson JE, Ward NL. Mouse Models of Psoriasis: A Comprehensive Review. J Invest Dermatol. 2022 Mar;142(3 Pt B):884–97.
10. D'Andrea G. Pycnogenol: A blend of procyanidins with multifaceted therapeutic applications? Fitoterapia. 2010 Oct;81(7):724–36.
11. Nattagh-Eshtivani E, Gheflati A, Barghchi H, Rahbarinejad P, Hachem K, Shalaby MN, et al. The role of Pycnogenol in the control of inflammation and oxidative stress in chronic diseases: Molecular aspects. Phytother Res. 2022 Jun;36(6):2352–74.
12. Sarikaki V, Rallis M, Tanojo H, Panteri I, Dotsikas Y, Loukas YL, et al. In Vitro Percutaneous Absorption of Pine Bark Extract (Pycnogenol) in Human Skin. J Toxicol Cutaneous Ocul Toxicol. 2005 Jan 9;23(3):149–58.
13. Frontela C, Ros G, Martínez C, Sánchez-Siles LM, Canali R, Virgili F. Stability of Pycnogenol® as an ingredient in fruit juices subjected to in vitro gastrointestinal digestion. J Sci Food Agric. 2011 Jan 30;91(2):286–92.
14. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. Nanoscale Res Lett. 2013 Feb 22;8(1):102.
15. Raina N, Rani R, Thakur VK, Gupta M. New Insights in Topical Drug Delivery for Skin Disorders: From a Nanotechnological Perspective. ACS Omega. 2023 Jun 6;8(22):19145–67.
16. Griffiths CEM, Armstrong AW, Gudjonsson JE, Barker JNWN. Psoriasis. The Lancet. 2021 Apr;397(10281):1301–15.

17. PSORIASIS. 2016 [cited 2025 Mar 1]; Available from: www.who.int

18. Raharja A, Mahil SK, Barker JN. Psoriasis: a brief overview. Clinical Medicine. 2021 May 1;21(3):170–3.

19. Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis. The Lancet. 2015 Sep;386(9997):983–94.

20. Stokar E, Goldenberg G. The History of Psoriasis. Psoriasis Forum. 2014 Dec 30;20a(4):152–6.

21. Cowden A, Van Voorhees AS. Introduction: History of psoriasis and psoriasis therapy. In: Treatment of Psoriasis. Basel: Birkhäuser Basel; 2008. p. 1–9.

22. Glickman FS. Lepra, psora, psoriasis. J Am Acad Dermatol. 1986 May;14(5):863–6.

23. Parisi R, Symmons DPM, Griffiths CEM, Ashcroft DM. Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence. Journal of Investigative Dermatology. 2013 Feb;133(2):377–85.

24. Bowcock AM. THE GENETICS OF PSORIASIS AND AUTOIMMUNITY. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2005 Sep 1;6(1):93–122.

25. Orsmond A, Bereza-Malcolm L, Lynch T, March L, Xue M. Skin Barrier Dysregulation in Psoriasis. Int J Mol Sci. 2021 Oct 7;22(19):10841.

26. Sagoo GS, Tazi-Ahnini R, Barker JWN, Elder JT, Nair RP, Samuelsson L, et al. Meta-Analysis of Genome-Wide Studies of Psoriasis Susceptibility Reveals Linkage to Chromosomes 6p21 and 4q28–q31 in Caucasian and Chinese Hans Population. Journal of Investigative Dermatology. 2004 Jun;122(6):1401–5.

27. Ogawa K, Okada Y. The current landscape of psoriasis genetics in 2020. J Dermatol Sci. 2020 Jul;99(1):2–8.

28. Zhou S, Yao Z. Roles of Infection in Psoriasis. Int J Mol Sci. 2022 Jun 23;23(13):6955.

29. GUDJONSSON JE, JOHNSTON A, SIGMUNDSDOTTIR H, VALDIMARSSON H. Immunopathogenic mechanisms in psoriasis. Clin Exp Immunol. 2003 Dec 16;135(1):1–8.

30. Kamiya K, Kishimoto M, Sugai J, Komine M, Ohtsuki M. Risk Factors for the Development of Psoriasis. Int J Mol Sci. 2019 Sep 5;20(18):4347.

31. Lee EB, Wu KK, Lee MP, Bhutani T, Wu JJ. Psoriasis risk factors and triggers. Cutis. 2018 Nov;102(5S):18–20.

32. Kormeili T, Lowe NJ, Yamauchi PS. Psoriasis: immunopathogenesis and evolving immunomodulators and systemic therapies; U.S. experiences. British Journal of Dermatology. 2004 Jul;151(1):3–15.

33. Kovitwanichkanont T, Chong AH, Foley P. Beyond skin deep: addressing comorbidities in psoriasis. Medical Journal of Australia. 2020 Jun 10;212(11):528–34.

34. Armstrong AW, Harskamp CT, Dhillon JS, Armstrong EJ. Psoriasis and smoking: a systematic review and meta-analysis. British Journal of Dermatology. 2014 Feb 18;170(2):304–14.

35. Hamminga EA, van der Lely AJ, Neumann HAM, Thio HB. Chronic inflammation in psoriasis and obesity: Implications for therapy. Med Hypotheses. 2006 Jan;67(4):768–73.

36. Rousset L, Halioua B. Stress and psoriasis. Int J Dermatol. 2018 Oct 4;57(10):1165–72.

37. Boyd AS, Neldner KH. The Isomorphic Response of Koebner. Int J Dermatol. 1990 Jul 31;29(6):401–10.

38. Sagi L, Trau H. The Koebner phenomenon. Clin Dermatol. 2011 Mar;29(2):231–6.

39. Hawkes JE, Yan BY, Chan TC, Krueger JG. Discovery of the IL-23/IL-17 Signaling Pathway and the Treatment of Psoriasis. J Immunol. 2018 Sep 15;201(6):1605–13.

40. Kamata M, Tada Y. Dendritic Cells and Macrophages in the Pathogenesis of Psoriasis. Front Immunol. 2022;13:941071.

41. Hawkes JE, Gonzalez JA, Krueger JG. Autoimmunity in Psoriasis: Evidence for Specific Autoantigens. Curr Dermatol Rep. 2017 Jun 11;6(2):104–12.

42. Wang A, Bai Y. Dendritic cells: The driver of psoriasis. J Dermatol. 2020 Feb 13;47(2):104–13.

43. Gilliet M, Conrad C, Geiges M, Cozzio A, Thürlimann W, Burg G, et al. Psoriasis Triggered by Toll-like Receptor 7 Agonist Imiquimod in the Presence of Dermal Plasmacytoid Dendritic Cell Precursors. Arch Dermatol. 2004 Dec 1;140(12).

44. Kim J, Krueger JG. The Immunopathogenesis of Psoriasis. Dermatol Clin. 2015 Jan;33(1):13–23.

45. Lin AM, Rubin CJ, Khandpur R, Wang JY, Riblett M, Yalavarthi S, et al. Mast Cells and Neutrophils Release IL-17 through Extracellular Trap Formation in Psoriasis. The Journal of Immunology. 2011 Jul 1;187(1):490–500.

46. Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Zaba LC, Nograles KE, Pierson KC, Mitsui H, et al. A Subpopulation of CD163-Positive Macrophages Is Classically Activated in Psoriasis. Journal of Investigative Dermatology. 2010 Oct;130(10):2412–22.

47. Sweeney CM, Tobin AM, Kirby B. Innate immunity in the pathogenesis of psoriasis. Arch Dermatol Res. 2011 Dec 24;303(10):691–705.

48. Sato Y, Ogawa E, Okuyama R. Role of Innate Immune Cells in Psoriasis. Int J Mol Sci. 2020 Sep 9;21(18):6604.

49. Tseng JC, Chang YC, Huang CM, Hsu LC, Chuang TH. Therapeutic Development Based on the Immunopathogenic Mechanisms of Psoriasis. Pharmaceutics. 2021 Jul 11;13(7).

50. Nikaein A, Phillips C, Gilbert SC, Savino D, Silverman A, Stone MJ, et al. Characterization of Skin-Infiltrating Lymphocytes in Patients with Psoriasis. Journal of Investigative Dermatology. 1991 Jan;96(1):3–9.

51. Chiu HY, Cheng YP, Tsai TF. T helper type 17 in psoriasis: From basic immunology to clinical practice. Dermatologica Sinica. 2012 Dec;30(4):136–41.

52. Boehncke WH. Etiology and Pathogenesis of Psoriasis. Rheumatic Disease Clinics of North America. 2015 Nov;41(4):665–75.

53. Jorn Bovenschen H, van de Kerkhof PC, van Erp PE, Woestenenk R, Joosten I, Koenen HJPM. Foxp3+ Regulatory T Cells of Psoriasis Patients Easily Differentiate into IL-17A-Producing Cells and Are Found in Lesional Skin. Journal of Investigative Dermatology. 2011 Sep;131(9):1853–60.

54. Varma S, Finlay AY. The Woronoff ring in psoriasis. British Journal of Dermatology. 2003 Jan;148(1):170–170.

55. Eyre RW, Krueger GG. Response to injury of skin involved and uninvolved with psoriasis, and its relation to disease activity: Koebner and “reverse” Koebner reactions. Br J Dermatol. 1982 Feb;106(2):153–9.

56. Sarac G, Koca TT, Baglan T. A brief summary of clinical types of psoriasis. North Clin Istanb. 2016;3(1):79–82.

57. KO H, JWA S, SONG M, KIM M, KWON K. Clinical course of guttate psoriasis: Long-term follow-up study. J Dermatol. 2010 Oct;37(10):894–9.

58. Mistry N, Gupta A, Alavi A, Sibbald RG. A Review of the Diagnosis and Management of Erythroderma (Generalized Red Skin). Adv Skin Wound Care. 2015 May;28(5):228–36.

59. Liao W, Singh R, Lee K, ucmak derya, Brodsky M, Atanelov Z, et al. Erythrodermic psoriasis: pathophysiology and current treatment perspectives. Psoriasis: Targets and Therapy. 2016 Jul;Volume 6:93–104.

60. Benjegerdes KE, Hyde K, Kivelevitch D, Mansouri B. Pustular psoriasis: pathophysiology and current treatment perspectives. Psoriasis (Auckl). 2016;6:131–44.

61. Baker H, Ryan TJ. Generalized pustular psoriasis. A clinical and epidemiological study of 104 cases. Br J Dermatol. 1968 Dec;80(12):771–93.

62. Roth MM. Pregnancy dermatoses: diagnosis, management, and controversies. Am J Clin Dermatol. 2011 Feb 1;12(1):25–41.

63. Hoegler KM, John AM, Handler MZ, Schwartz RA. Generalized pustular psoriasis: a review and update on treatment. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2018 Oct 11;32(10):1645–51.

64. Abbas M, Holfeld K, Desjardins D, Zimmer J. Pustular psoriasis complicated with acute generalized exanthematous pustulosis. J Dermatol Case Rep. 2014 Jun 30;8(2).

65. Di Costanzo L, Napolitano M, Patruno C, Cantelli M, Balato N. Acrodermatitis continua of Hallopeau (ACH): Two cases successfully treated with adalimumab. Journal of Dermatological Treatment. 2014 Dec 1;25(6):489–94.

66. Misiak-Galazka M, Wolska H, Rudnicka L. What do we know about palmoplantar pustulosis? Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2017 Jan 13;31(1):38–44.

67. Guenther L. Current management of scalp psoriasis. Skin Therapy Lett. 2015;20(3):5–7.

68. Syed ZU, Khachemoune A. Inverse Psoriasis. Am J Clin Dermatol. 2011 Apr;12(2):143–6.

69. Talaee R, Hajheydari Z, Moghaddam AY, Moraveji SA, Ravandi BF. Prevalence of Oral Mucosal Lesions and Their Association with Severity of Psoriasis among Psoriatic Patients Referred To Dermatology Clinic: A Cross-Sectional Study in Kashan/Iran. Open Access Maced J Med Sci. 2017 Oct 24;5(7):978–82.

70. Young Park J, Hyun Rim J, Beom Choe Y, Il Youn J. Facial psoriasis: comparison of patients with and without facial involvement. J Am Acad Dermatol. 2004 Apr;50(4):582–4.

71. Gladman DD, Anhorn KA, Schachter RK, Mervart H. HLA antigens in psoriatic arthritis. J Rheumatol. 1986 Jun;13(3):586–92.

72. Jiaravuthisan MM, Sasseville D, Vender RB, Murphy F, Muhn CY. Psoriasis of the nail: Anatomy, pathology, clinical presentation, and a review of the literature on therapy. J Am Acad Dermatol. 2007 Jul;57(1):1–27.

73. Lisi P. Differential diagnosis of psoriasis. Reumatismo. 2007;59 Suppl 1:56–60.

74. Ferreli C, Pinna AL, Pilloni L, Tomasini CF, Rongioletti F. Histopathological aspects of psoriasis and its uncommon variants. Italian Journal of Dermatology and Venereology. 2018 Mar;153(2).

75. Weisman S, Pollack C, Gottschalk R. Psoriasis disease severity measures: comparing efficacy of treatments for severe psoriasis. Journal of Dermatological Treatment. 2003 Sep 1;14(3):158–65.

76. Spuls PI, Lecluse LLA, Poulsen MLNF, Bos JD, Stern RS, Nijsten T. How Good Are Clinical Severity and Outcome Measures for Psoriasis?: Quantitative Evaluation in a Systematic Review. Journal of Investigative Dermatology. 2010 Apr;130(4):933–43.

77. Puzenat E, Bronsard V, Prey S, Gourraud P, Aractingi S, Bagot M, et al. What are the best outcome measures for assessing plaque psoriasis severity? A systematic review of the literature. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2010 Apr 4;24(s2):10–6.

78. Mrowietz U, Kragballe K, Reich K, Spuls P, Griffiths CEM, Nast A, et al. Definition of treatment goals for moderate to severe psoriasis: a European consensus. Arch Dermatol Res. 2011 Jan 21;303(1):1–10.

79. HHS, CMS. Quality ID #410: Psoriasis: Clinical Response to Systemic Medications . 2022;

80. Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. J Am Acad Dermatol. 2010 Jan;62(1):114–35.

81. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. New England Journal of Medicine. 2005 Oct 20;353(16):1711–23.

82. Barnes PJ. Corticosteroid effects on cell signalling. European Respiratory Journal. 2006 Feb;27(2):413–26.

83. Elmets CA, Korman NJ, Prater EF, Wong EB, Rupani RN, Kivelevitch D, et al. Joint AAD–NPF Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with topical therapy and alternative medicine modalities for psoriasis severity measures. J Am Acad Dermatol. 2021 Feb;84(2):432–70.

84. LONG CC, FINLAY AY. The finger-tip unit—a new practical measure. Clin Exp Dermatol. 1991 Nov 27;16(6):444–7.

85. Hengge UR, Ruzicka T, Schwartz RA, Cork MJ. Adverse effects of topical glucocorticosteroids. J Am Acad Dermatol. 2006 Jan;54(1):1–15.

86. Reich K, Bewley A. What is new in topical therapy for psoriasis? Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2011 Jun 21;25(s4):15–20.

87. Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, Haussler CA, Hsieh D, Hsieh JC, et al. Molecular Mechanisms of Vitamin D Action. Calcif Tissue Int. 2013 Feb 11;92(2):77–98.

88. Malecic N, Young H. Tacrolimus for the management of psoriasis: clinical utility and place in therapy. Psoriasis: Targets and Therapy. 2016 Dec;Volume 6:153–63.

89. Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. J Am Acad Dermatol. 2009 Apr;60(4):643–59.

90. Siegfried EC, Jaworski JC, Hebert AA. Topical Calcineurin Inhibitors and Lymphoma Risk: Evidence Update with Implications for Daily Practice. Am J Clin Dermatol. 2013 Jun 24;14(3):163–78.

91. Chandraratna R. Tazarotene--first of a new generation of receptor-selective retinoids. Br J Dermatol. 1996 Oct;135 Suppl 49:18–25.

92. Tanghetti E, Lebwohl M, Stein Gold L. Tazarotene Revisited: Safety and Efficacy in Plaque Psoriasis and Its Emerging Role in Treatment Strategy. J Drugs Dermatol. 2018 Dec 1;17(12):1280–7.

93. Ramanunny AK, Wadhwa S, Singh SK, Sharma DS, Khursheed R, Awasthi A. Treatment Strategies Against Psoriasis: Principle, Perspectives and Practices. Curr Drug Deliv. 2020 Jan 15;17(1):52–73.

94. Racz E, Prens EP. Phototherapy and Photochemotherapy for Psoriasis. Dermatol Clin. 2015 Jan;33(1):79–89.

95. Mehta D, Lim HW. Ultraviolet B Phototherapy for Psoriasis: Review of Practical Guidelines. Am J Clin Dermatol. 2016 Apr 12;17(2):125–33.

96. Singer S, Berneburg M. Phototherapy. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. 2018 Sep 4;16(9):1120–9.

97. Zhang P, Wu MX. A clinical review of phototherapy for psoriasis. Lasers Med Sci. 2018 Jan 24;33(1):173–80.

98. Nast A, Jacobs A, Rosumeck S, Werner RN. Efficacy and Safety of Systemic Long-Term Treatments for Moderate-to-Severe Psoriasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. Journal of Investigative Dermatology. 2015 Nov;135(11):2641–8.

99. Menter A, Gelfand JM, Connor C, Armstrong AW, Cordoro KM, Davis DMR, et al. Joint American Academy of Dermatology–National Psoriasis Foundation guidelines of care for the management of psoriasis with systemic nonbiologic therapies. J Am Acad Dermatol. 2020 Jun;82(6):1445–86.

100. Brun P, Yang KJZ, Lee S, Yuen JJ, Blaner WS. Retinoids: Potent regulators of metabolism. BioFactors. 2013 Mar 22;39(2):151–63.

101. Karadağ AS. Psoriasisde Kullanılan Tedavi Seçenekleri. In: Alpsoy E, Ergun T, Şendur N, editors. Tüm Yönleriyle Psoriasis. İstanbul: Galenos yayınevi; 2020. p. 257–75.

102. Amor KT, Ryan C, Menter A. The use of cyclosporine in dermatology: Part I. J Am Acad Dermatol. 2010 Dec;63(6):925–46.

103. Nast A, Gisondi P, Ormerod AD, Saiag P, Smith C, Spuls PI, et al. European S3-Guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris--Update 2015--Short version--EDF in cooperation with EADV and IPC. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2015 Dec;29(12):2277–94.

104. Rendon A, Schäkel K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. Int J Mol Sci. 2019 Mar 23;20(6):1475.

105. Morita A, Okubo Y, Imafuku S, Terui T. Spesolimab, the first-in-class anti-IL-36R antibody: From bench to clinic. J Dermatol. 2024 Nov;51(11):1379–91.

106. Bayer J, Högger P. Review of the pharmacokinetics of French maritime pine bark extract (Pycnogenol®) in humans. Front Nutr. 2024 May 2;11.

107. Grimm T, Skrabala R, Chovanová Z, Muchová J, Sumegová K, Liptáková A, et al. Single and multiple dose pharmacokinetics of maritime pine bark extract (Pycnogenol) after oral administration to healthy volunteers. BMC Clin Pharmacol. 2006 Dec 3;6(1):4.

108. Maimoona A, Naeem I, Saddiqe Z, Jameel K. A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. J Ethnopharmacol. 2011 Jan;133(2):261–77.

109. Packer L, Rimbach G, Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (pinus maritima) bark, pycnogenol. Free Radic Biol Med. 1999 Sep;27(5–6):704–24.

110. Grimm T, Schäfer A, Högger P. Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract (pycnogenol). Free Radic Biol Med. 2004 Mar;36(6):811–22.

111. Grimm T, Chovanová Z, Muchová J, Sumegová K, Liptáková A, Duracková Z, et al. Inhibition of NF-kappaB activation and MMP-9 secretion by plasma of human volunteers after ingestion of maritime pine bark extract (Pycnogenol). J Inflamm (Lond). 2006 Jan 27;3:1.

112. de Moraes Ramos FM, Schönlau F, Novaes PD, Manzi FR, Bóscolo FN, de Almeida SM. Pycnogenol protects against Ionizing radiation as shown in the intestinal mucosa of rats exposed to X-rays. Phytother Res. 2006 Aug;20(8):676–9.

113. Gulati OP. Pycnogenol® in Metabolic Syndrome and Related Disorders. Phytotherapy Research. 2015 Jul;29(7):949–68.

114. Cho K, Yun C, Packer L, Chunga A. Inhibition Mechanisms of Bioflavonoids Extracted from the Bark of Pinus maritima on the Expression of Proinflammatory Cytokines. Ann N Y Acad Sci. 2001 Apr 25;928(1):141–56.

115. Mochizuki M, Hasegawa N. Therapeutic efficacy of pycnogenol in experimental inflammatory bowel diseases. Phytotherapy Research. 2004 Dec;18(12):1027–8.

116. Vinciguerra G, Belcaro G, Cesarone MR, Rohdewald P, Stuard S, Ricci A, et al. Cramps and Muscular Pain: Prevention with Pycnogenol® in Normal Subjects, Venous Patients, Athletes, Claudicants and in Diabetic Microangiopathy. Angiology. 2006 May 1;57(3):331–9.

117. Suzuki N, Uebaba K, Kohama T, Moniwa N, Kanayama N, Koike K. French maritime pine bark extract significantly lowers the requirement for analgesic medication in dysmenorrhea: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. J Reprod Med. 2008 May;53(5):338–46.

118. Torras MAC, Faura CA, Schönlau F, Rohdewald P. Antimicrobial activity of Pycnogenol. Phytother Res. 2005 Jul;19(7):647–8.

119. Feng WY, Tanaka R, Inagaki Y, Saitoh Y, Chang MO, Amet T, et al. Pycnogenol, a procyanidin-rich extract from French maritime pine, inhibits intracellular replication of HIV-1 as well as its binding to host cells. Jpn J Infect Dis. 2008 Jul;61(4):279–85.

120. Rohdewald P, Beil W. In vitro inhibition of Helicobacter pylori growth and adherence to gastric mucosal cells by Pycnogenol. Phytother Res. 2008 May;22(5):685–8.

121. Buz'Zard AR, Lau BHS. Pycnogenol reduces talc-induced neoplastic transformation in human ovarian cell cultures. Phytother Res. 2007 Jun;21(6):579–86.

122. Huynh HT, Teel RW. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF-7) by pycnogenol. Anticancer Res. 2000;20(4):2417–20.

123. Huang WW, Yang JS, Lin CF, Ho WJ, Lee MR. Pycnogenol induces differentiation and apoptosis in human promyeloid leukemia HL-60 cells. Leuk Res. 2005 Jun;29(6):685–92.

124. Schäfer A, Högger P. Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol) effectively inhibit alpha-glucosidase. Diabetes Res Clin Pract. 2007 Jul;77(1):41–6.

125. Kamuren ZT, McPeek CG, Sanders RA, Watkins JB. Effects of low-carbohydrate diet and Pycnogenol treatment on retinal antioxidant enzymes in normal and diabetic rats. J Ocul Pharmacol Ther. 2006 Feb;22(1):10–8.

126. Wei ZH, Peng QL, Lau BH. Pycnogenol enhances endothelial cell antioxidant defenses. Redox Rep. 1997 Aug;3(4):219–24.

127. Golański J, Muchova J, Golański R, Durackova Z, Markuszewski L, Watała C. Does pycnogenol intensify the efficacy of acetylsalicylic acid in the inhibition of platelet function? In vitro experience. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2006;60:316–21.

128. Nishioka K, Hidaka T, Nakamura S, Umemura T, Jitsuiki D, Soga J, et al. Pycnogenol, French maritime pine bark extract, augments endothelium-dependent vasodilation in humans. Hypertens Res. 2007 Sep;30(9):775–80.

129. Zibadi S, Yu Q, Rohdewald PJ, Larson DF, Watson RR. Impact of Pycnogenol on cardiac extracellular matrix remodeling induced by L-NAME administration to old mice. Cardiovasc Toxicol. 2007;7(1):10–8.

130. Roseff SJ. Improvement in sperm quality and function with French maritime pine tree bark extract. J Reprod Med. 2002 Oct;47(10):821–4.

131. Kobori Y, Suzuki K, Iwahata T, Shin T, Sadaoka Y, Sato R, et al. Improvement of seminal quality and sexual function of men with oligoasthenoteratozoospermia syndrome following supplementation with L-arginine and Pycnogenol®. Arch Ital Urol Androl. 2015 Sep 30;87(3):190–3.

132. Dvoráková M, Jezová D, Blazícek P, Trebatická J, Skodácek I, Suba J, et al. Urinary catecholamines in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): modulation by a polyphenolic extract from pine bark (pycnogenol). Nutr Neurosci. 2007;10(3–4):151–7.

133. Grether-Beck S, Marini A, Jaenicke T, Krutmann J. French Maritime Pine Bark Extract (Pycnogenol®) Effects on Human Skin: Clinical and Molecular Evidence. Skin Pharmacol Physiol. 2016;29(1):13–7.

134. Kim YJ, Kang KS, Yokozawa T. The anti-melanogenic effect of pycnogenol by its anti-oxidative actions. Food and Chemical Toxicology. 2008 Jul;46(7):2466–71.

135. Blazsó G, Gábor M, Schönlau F, Rohdewald P. Pycnogenol accelerates wound healing and reduces scar formation. Phytother Res. 2004 Jul;18(7):579–81.

136. Oliff HS, Blumenthal M. Scientific and Clinical Monograph for PYCNOGENOL® M O N O G R A P H FOR PYCNOGENOL. [cited 2025 Mar 6]; Available from: www.herbalgram.org

137. Bangham AD. Surrogate cells or Trojan horses. The discovery of liposomes. Bioessays. 1995 Dec;17(12):1081–8.

138. Maherani B, Arab-Tehrany E, R. Mozafari M, Gaiani C, Linder M. Liposomes: A Review of Manufacturing Techniques and Targeting Strategies. Curr Nanosci. 2011 Jun 1;7(3):436–52.

139. Jesorka A, Orwar O. Liposomes: technologies and analytical applications. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif). 2008;1:801–32.

140. Laouini A, Jaafar-Maalej C, Limayem-Blouza I, Sfar S, Charcosset C, Fessi H. Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art. Journal of Colloid Science and Biotechnology. 2012 Dec 1;1(2):147–68.

141. Huang Z, Li X, Zhang T, Song Y, She Z, Li J, et al. Progress involving new techniques for liposome preparation. Asian J Pharm Sci. 2014 Aug;9(4):176–82.

142. Sastri TK, Gupta VN, Chakraborty S, Madhusudhan S, Kumar H, Chand P, et al. Novel Gels: An Emerging Approach for Delivering of Therapeutic Molecules and Recent Trends. Gels. 2022 May 19;8(5):316.

143. Op 't Veld RC, Walboomers XF, Jansen JA, Wagener FADTG. Design Considerations for Hydrogel Wound Dressings: Strategic and Molecular Advances. Tissue Eng Part B Rev. 2020 Jun 1;26(3):230–48.

144. Du W, Zong Q, Guo R, Ling G, Zhang P. Injectable Nanocomposite Hydrogels for Cancer Therapy. Macromol Biosci. 2021 Nov 6;21(11).

145. Schreier H, Bouwstra J. Liposomes and niosomes as topical drug carriers: dermal and transdermal drug delivery. Journal of Controlled Release. 1994 Apr;30(1):1–15.

146. Dragicevic N, Maibach HI. Liposomes and Other Nanocarriers for the Treatment of Acne Vulgaris: Improved Therapeutic Efficacy and Skin Tolerability. Pharmaceutics. 2024 Feb 22;16(3).

147. Fathalla D, Youssef EMK, Soliman GM. Liposomal and Ethosomal Gels for the Topical Delivery of Anthralin: Preparation, Comparative Evaluation and Clinical Assessment in Psoriatic Patients. Pharmaceutics. 2020 May 11;12(5):446.

148. Nasab ME, Takzaree N, Saffari PM, Partoazar A. In vitro antioxidant activity and in vivo wound-healing effect of lecithin liposomes: a comparative study. J Comp Eff Res. 2019 Jun;8(8):633–43.

149. Flutter B, Nestle FO. TLRs to cytokines: mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis. Eur J Immunol. 2013 Dec;43(12):3138–46.

150. Kong BY, Haugh IM, Schlosser BJ, Getsios S, Paller AS. Mind the Gap: Sex Bias in Basic Skin Research. Journal of Investigative Dermatology. 2016 Jan;136(1):12–4.

151. Gökçe HB, Aslan İ. Novel Liposome-Gel Formulations Containing a Next Generation Postbiotic: Characterization, Rheological, Stability, Release Kinetic, and In Vitro Antimicrobial Activity Studies. Gels. 2024 Nov 15;10(11).

152. ASLAN İ, AYTEKİN AF. Production and characterization of newly developed alcohol-free topical liposome-gel transdermal drug delivery systems containing estradiol (E2)/ estriol (E3) for post-menopausal women. Journal of Research in Pharmacy. 2023;27(5)(27(5)):2190–8.

153. Neu SD, Strzepa A, Martin D, Sorci-Thomas MG, Pritchard KA, Dittel BN. Myeloperoxidase Inhibition Ameliorates Plaque Psoriasis in Mice. Antioxidants (Basel). 2021 Aug 25;10(9).

154. Jabeen M, Boisgard AS, Danoy A, El Kholti N, Salvi JP, Boulieu R, et al. Advanced Characterization of Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Mouse Model. Pharmaceutics. 2020 Aug 20;12(9).

155. Qin S, Wen J, Bai XC, Chen TY, Zheng RC, Zhou GB, et al. Endogenous n-3 polyunsaturated fatty acids protect against imiquimod-induced psoriasis-like inflammation via the IL-17/IL-23 axis. Mol Med Rep. 2014 Jun;9(6):2097–104.

156. Baker BS, Brent L, Valdimarsson H, Powles A V, al-Imara L, Walker M, et al. Is epidermal cell proliferation in psoriatic skin grafts on nude mice driven by T-cell derived cytokines? Br J Dermatol. 1992 Feb;126(2):105–10.

157. Luo DQ, Wu HH, Zhao YK, Liu JH, Wang F. Original Research: Different imiquimod creams resulting in differential effects for imiquimod-induced psoriatic mouse models. Exp Biol Med (Maywood). 2016 Oct;241(16):1733–8.

158. Zhou X, Chen Y, Cui L, Shi Y, Guo C. Advances in the pathogenesis of psoriasis: from keratinocyte perspective. Cell Death Dis. 2022 Jan 24;13(1):81.

159. Zhao Y, Wu Y, Fan D, Deng H, Yao danni, Liu lijuan, et al. Increased abnormal erythrocytes caused by spleen filtration deficiency provide a hypoxic environment for the occurrence of psoriasis. 2022.

160. Morar II, Tabăran FA, Mocan T, Jianu EM, Orăsan MS, Pop AD, et al. Immunohistochemical study of psoriatic plaques and perilesional skin in psoriasis vulgaris patients: A pilot study. Exp Ther Med. 2019 Aug;18(2):888–94.

161. Weichmann F, Rohdewald P. Pycnogenol® French maritime pine bark extract in randomized, double-blind, placebo-controlled human clinical studies. Front Nutr. 2024;11:1389374.

162. Belcaro G, Luzzi R, Hu S, Cesarone MR, Dugall M, Ippolito E, et al. Improvement in signs and symptoms in psoriasis patients with Pycnogenol® supplementation. Panminerva Med. 2014 Mar;56(1):41–8.

163. Saliou C, Rimbach G, Moini H, McLaughlin L, Hosseini S, Lee J, et al. Solar ultraviolet-induced erythema in human skin and nuclear factor-kappa-B-dependent gene expression in keratinocytes are modulated by a French maritime pine bark extract. Free Radic Biol Med. 2001 Jan 15;30(2):154–60.

164. Ni Z, Mu Y, Gulati O. Treatment of melasma with Pycnogenol. Phytother Res. 2002 Sep;16(6):567–71.

165. Marini A, Grether-Beck S, Jaenicke T, Weber M, Burki C, Formann P, et al. Pycnogenol® effects on skin elasticity and hydration coincide with increased gene expressions of collagen type I and hyaluronic acid synthase in women. Skin Pharmacol Physiol. 2012;25(2):86–92.

166. Bito T, Roy S, Sen CK, Packer L. Pine bark extract pycnogenol downregulates IFN-gamma-induced adhesion of T cells to human keratinocytes by inhibiting inducible ICAM-1 expression. Free Radic Biol Med. 2000 Jan 15;28(2):219–27.

167. Hawkes JE, Chan TC, Krueger JG. Psoriasis pathogenesis and the development of novel targeted immune therapies. J Allergy Clin Immunol. 2017 Sep;140(3):645–53.

168. Nasab ME, Takzaree N, Saffari PM, Partoazar A. In vitro antioxidant activity and in vivo wound-healing effect of lecithin liposomes: a comparative study. J Comp Eff Res. 2019 Jun;8(8):633–43.

169. Na Takuathung M, Wongnoppavich A, Panthong A, Khonsung P, Chiranthanut N, Soonthornchareonnon N, et al. Antipsoriatic Effects of Wannachawee Recipe on Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Dermatitis in BALB/c Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2018 Jan 24;2018(1).

170. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. Pharmacol Ther. 2002 Oct;96(1):23–43.

171. Mahil SK, Capon F, Barker JN. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. Semin Immunopathol. 2016 Jan;38(1):11–27.