

T.C  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**GUİNEA PİG'LERDE TOPIKAL E VİTAMİNİNİN  
ULTRAVİYOLE B'YE KARŞI KORUYUCU ETKİSİ  
VE SERBEST RADİKALLERİN ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.BELKİZ UYAR

ELAZIĞ-1998

## TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği bulunan hocalarım Y. Doğ. Dr. İbrahim K kam, Y. Doğ. Dr. Yunus Saral, Y. Doğ. Dr. Hayri Akseki'ye, ayrıca bu tezin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Doğ. Dr. Mustafa Nazıroğlu, Y. Doğ. Dr. Rasim Moğulkoç, Y. Doğ. Dr. Bilal Üstündağ, Dr. Őule Yılmaz, Dr. Ali Yılmaz, Dr. İhsan Sami Uyar, Dr. Serpil Eseoğlu ve Dr. Ağa Koç'a teőekk r ederim.

Dr Belkız Uyar

## TEZ İÇİNDE KULLANILAN KISALTMALAR

ADP:	Adenozin difosfat
ATP:	Adenozin trifosfat
CCI:	Triklormetil
EDTA:	Etilendiamin tetra asetik asit
FAD:	Flavin adenin dinükleotid
G6PD:	Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
GR:	Glutatyon redüktaz
GSH:	Redükte glutatyon
GSHPx:	Glutatyon peroksidaz
GSSG:	Okside glutatyon
GST:	Glutatyon-S-transferaz
HCl:	Hidroklorik asit
HO <sub>2</sub> :	Perhidroksi radikali
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Hidrojen peroksit
I.N.T:	P-iyodonitrotetrazolium violet
J:	Joule
L <sup>+</sup> :	Lipid radikali
LOO:	Lipid peroksi radikali
LOOH:	Lipidhidroperoksit
LPO:	Lipid peroksit
MDA:	Malondialdehyde
MED:	Minimum eritem dozu
mJ:	Mikrojoule
NADP <sup>+</sup> :	Okside nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH:	Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO <sup>•</sup> :	Nitrikoksit
O <sub>2</sub> <sup>•</sup> :	Süperoksit radikali
<sup>1</sup> O <sub>2</sub> :	Singlet oksijen
OH <sup>•</sup> :	Hidroksil radikali

ONOO <sup>-</sup> :	Peroksinitrit
PLGSHPx:	Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
R <sup>•</sup> :	Karbon merkezli radikaller
RH:	Protoksin
RO <sup>•</sup> :	Alkoksi radikali
ROO <sup>•</sup> :	Peroksi radikalleri
ROOH:	Lipidhidroperoksit
ROS:	Reaktif oksijen türleri
RS <sup>•</sup> :	Thiyl radikali
RSO <sup>•</sup> :	Sülfenil
RSO <sub>2</sub> <sup>•</sup> :	Thiyl peroksit
SOD:	Süperoksit dismutaz
TAA:	Tümörle ilişkili antijen
TBA:	Tiobarbütirik asit
TCA:	Triclor asetik asit
Toc-OH:	Tokoferol
UV:	Ultraviyole
UVA:	Ultraviyole A
UVB:	Ultraviyole B
UVC:	Ultraviyole C
UVR:	Ultraviyole radyasyonu

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>I. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>II. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
A.Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri.....	3
A.1.Süperoksit radikali .....	6
A.2. Hidrojen peroksit .....	6
A.3. Hidroksil radikali .....	7
A.4. Singlet oksijen .....	7
B.Serbest radikallerin biyomoleküller ve doku componentleri üzerine etkileri 8	
B.1. Lipid peroksidasyonu .....	10
B.2. Proteinlere etkileri .....	13
B.3. DNA oksidasyonu .....	14
B.4. Kalsiyum dengesi .....	14
B.5. Hücre dışı etkiler .....	14
C.Antioksidan savunma sistemleri .....	15
C.1. Endojen antioksidanlar .....	15
C.1.a. Enzimatik antioksidanlar .....	16
C.1.a1. Sitokrom oksidaz sistemi .....	16
C.1.a2. Süperoksit dismutaz.....	16
C.1.a3. Katalaz .....	18
C.1.a5. Glutasyon redüktaz .....	19
C.1.a6. Glutasyon peroksidaz .....	19
C.1.a7. Glutasyon -S- transferaz .....	20
C.1.b. Enzimatik olmayan antioksidanlar .....	21
C.1.b1. E vitamini .....	21
C.1.b2. Beta karoten .....	25
C.1.b3. Vitamin C .....	25
C.1.b4. Glutasyon .....	25
C.1.b5. Diğer enzimatik olmayan endojen ajanlar .....	28

C.2. Eksojen antioksidanlar .....	28
D. Ultraviyole radyasyonu .....	28
E. Derinin yapısı .....	30
E.1. Epidermis .....	30
E.2. Dermis .....	30
E.3. Subkutan yağ dokusu .....	31
F. Ultraviyolenin deri ile etkileşimi .....	31
G. Deride serbest radikallerin önemi .....	32
H. Ultraviyolenin deride akut ve kronik etkileri .....	34
H.1. Akut etkileri .....	34
H.1.a. Güneş yanığı reaksiyonu .....	34
H.1.b. Erken pikmentasyon .....	35
H.1.c. Geç bronzlaşma .....	35
H.1.d. Hiperplazi .....	36
H.1.e. Vitamin D sentezi .....	36
H.2. Geç etkileri .....	36
H.2.a. Pseudoporfiria .....	36
H.2.b. Foto yaşlanma .....	36
H.2.c. Fotokarsinogenez .....	37

### **III. GEREÇ VE YÖNTEM**

A. Hayvan çalışmaları .....	40
B. Kimyasal maddelerin belirlenmesi .....	42
B.1. Doku örneklerinin hazırlanması .....	42
B.2. Plazma ve eritrositlerin hazırlanması .....	43
B.3. Plazma ve eritrosit MDA tayini .....	43
B.4. Protein taini .....	44
B.5. Eritrosit ve deride GSH tayini .....	44
B.6. Eritrosit ve deride GSHPx miktar belirtimi .....	45
B.7. Eritrosit ve deride SOD taini .....	46
C. Bulguların değerlendirilmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler .....	49

<b>IV. BULGULAR</b> .....	<b>50</b>
<b>V. TARTIŞMA</b> .....	<b>63</b>
<b>VI. SONUÇ</b> .....	<b>72</b>
<b>VII. ÖZET</b> .....	<b>74</b>
<b>VIII. KAYNAKLAR</b> .....	<b>76</b>



## GİRİŞ VE AMAÇ

Doymamış yağ asitlerinin yapısına moleküler oksijenin girmesi sonucu doymamış yağ asitleri peroksidasyona uğrar. Bu olay lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Dokularda lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından oluşturulur. Serbest radikaller ortaklaşmamış elektron içerdiklerinden dolayı çok aktif ve kısa ömürlüdürler. Karşılaştıkları molekülleri oksitleyerek membran lipidlerinin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişikliğe yol açabilirler (1,2).

Deri yüksek oksijen gerilimine ve sık olarak (UVR) maruz kaldığından oksidatif hasarın potansiyel hedef organıdır (3). UVR'nin faydalı etkilerinin yanı sıra özellikle deride zararlı birçok etkileride vardır. Bunlar; çillenme, deride pigmentasyon değişiklikleri ve güneş yanıklarından derinin erken yaşlanmasına ve çeşitli cilt kanserlerine kadar değişen olaylardır (4,5,6).

Deri biyolojik olay sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin zararlı etkilerinden özellikle etkilenir. Serbest radikallerin deri yaşlanması ve deri kanserleri gibi hastalıkların gelişiminde önemli rolleri vardır. Epidermis serbest radikallere karşı savunmanın ilk basamağını oluşturur ve değişik antioksidanlar içerir. Bunlar lipide çözünen antioksidanlar vitamin E ve karotenoidler, suda çözünün antioksidanlar vitamin C ve glutatyon ve süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, ve glutatyon peroksidaz enzimleridir (7). Bu antioksidanlar serbest radikalleri uzaklaştırırlar. Böylece bunların zararlı etkilerini önlerler. Bundan dolayı lipid peroksidasyonunu önleyen ajanlar kullanılarak serbest radikallerle ilgili deri hasarını önlemek mümkündür (5).

Çalışmalar UVR'nin derideki antioksidan sistemi zayıflattığını göstermiştir. UVR'den sonra vitamin E konsantrasyonunda bir azalma olur. Bu UVR'ye bağlı serbest radikal oluşumunun başlaması sonucu artan oksidatif strese bağlı olmaktadır (8).

Trevithick ve arkadaşları (5) skh-1 fare derisine UVB radyasyonundan sonra topikal tokoferol asetat uygulanması ile sıklıkla UVB'ye bağlı güneş yanığı ile ilişkili olarak artan eriteminin, deri hassasiyetinin ve deri kalınlığının azaldığını göstermişlerdir.



Bu çalışmada bir antioksidan ajan olan E vitaminin tek doz UVR'den sonra topikal olarak uygulandığında derinin antioksidan kapasitesini ne ölçüde değiştireceği deneysel olarak araştırılması amaçlandı. E vitaminin UVR'den hemen sonra uygulanmasıyla güneş yanığına karşı tedavi edici etkisi ve UVR'den önce 3 hafta süreyle uygulanması ile profilaktik etkisi araştırılmaya çalışıldı. Bunu değerlendirmek amacıyla plazma, eritrosit, karaciğer ve deride lipid peroksidaz, hemoglobin ve deride süperoksid dismutaz (SOD), deri ve eritrositlerde glutatyon peroksidaz (GSHPx), redükte glutatyon (GSH) parametreleri proje kapsamına alındı.



## II. GENEL BİLGİLER

### A. SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklaşmamış elektron ihtiva eden atom ya da moleküllerdir (9,10). Bu atom veya molekül çiftleşmemiş elektronunu bir başka moleküle vererek veya başka bir molekülden elektron alarak daha stabil hale gelme eğilimindedir. Bundan dolayı serbest radikaller oldukça reaktif özellik taşırlar (9,10). Protein, lipid ve karbonhidratlar gibi organik ve inorganik kimyasal maddelerle özellikle de membranlardaki nükleik asitlerle reaksiyona girerler. Ayrıca serbest radikaller kendileriyle reaksiyona giren moleküllerin serbest radikallere dönüştürerek hasar zincirinin yayılması yolu ile otokatalitik reaksiyonları başlatırlar (11).

Tüm canlılarda metabolik işlemler sırasında serbest radikaller üretilmektedir. Normal hücresel metabolik reaksiyonların bir ürünü olan serbest radikaller biyolojik bir bozukluk olarak değerlendirilmemelidir. Hücrenin farklı yerlerindeki metabolik olaylar farklı derecede radikal oluşumuna katılmaktadır. Hücre zarında, mitekondride, sitozolde ve endoplazmik retikulumda oluşan metabolik reaksiyonlar serbest radikal oluşumundan sorumludurlar. Serbest radikaller doğal olarak normal biyolojik işlemler sırasında oluştuğu gibi organizmada hastalık oluşturabilecek veya yabancı madde etkisi gösterecek maddeler alınınca da az veya çok miktarlarda oluşurlar (12,13,14).

Başlıca endojen ve eksojen serbest radikal kaynakları aşağıda gösterilmiştir.

1. Serbest radikallerin endojen kaynakları.

A- Fagositler

B- Mitokondrial elektron transport sistemi

C- Mikrozomal elektron transport sistemi

D- Ksantin oksidaz

E- Araşidonik asit metabolizması

F- Endojen ve eksojen substratların otooksidasyonu

G- Solubl oksidaz enzimler

H- Geçiş metalleri

2. Serbest radikallerin eksojen kaynakları

A-Radyasyon

- C. Hava kirliliği
- D. Sigara dumanı
- E. Hiperoksit çevre
- F. Farmakolojik bazı etmenler(15)

Aerobik metabolizma sırasında hücreler enerji üretirken moleküler oksijen suya indirgenir. Bu reaksiyon mitokondrial bir enzim olan sitokrom C oksidaz tarafından katalizlenir. Ara ürünler oluşurken oksijen 4 elektronunu transfer eder. Reaktif oksijen türleri (ROS) oksijenin suya indirgenmesi sırasında oluşan oksidan ürünlerdir(9,11). ROS'dan spinlerinde çiftleşmemiş elektron taşıyan moleküller serbest radikal olarak adlandırılırlar (13). En önemli üç ROS; süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil iyonlarıdır ( $OH^{\bullet}$ ) (11). Oksijen kaynaklı olmayan radikaller de vardır. (Tablo 1).

**Tablo 1:**Biyolojik sistemlerde en sık rastlanan ROS ve oksijen kaynaklı olmayan radikaller

Reaktif oksijen türleri	Oksijen kaynaklı olmayan serbest radikaller
A)Radikaller	A) Karbon kaynaklı serbest radikaller
Hidroksil ( $OH^{\bullet}$ ) radikali.	Triklormetil (CCI)
Alkoksi ( $RO^{\bullet}$ ) radikali	B) Sülfür kaynaklı serbest radikaller
Peroksil ( $ROO^{\bullet}$ ) radikali	Thiyl( $RS^{\bullet}$ ) radikali
Süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ) radikali	C) Nitrojen kaynaklı serbest radikaller
B) Radikal olmayan türler	Nitrik oksit ( $NO^{\bullet}$ )
Singlet oksijen ( $^1O_2$ )	Fenildiazin ( $C_6H_2N:N$ )
Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )	D) Geçiş metal kompleksleri
Hidrojen peroksit( $H_2O_2$ )	$Fe^{+3} / Fe^{+2}$
	$Cu^{+3} / Cu^{+2}$

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ( $R^{\bullet}$ ), peroksi radikalleri ( $ROO^{\bullet}$ ), alkoksi radikalleri( $RO^{\bullet}$ ), thiyl radikalleri ( $RS^{\bullet}$ ) gibi önemli

serbest radikaller meydana gelir. Bunlardan özellikle poliansatüre yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Thiyl radikalleri ise oksijenle tekrar reaksiyona girip sülfenil (RSO•) veya thiyl peroksil (RSO<sub>2</sub>•) gibi radikalleri meydana getirirler (9).

ROS oluşumu hücrelerin redoks aktivitelerini değiştirir. Redoks potansiyeline duyarlı enzim sistemleri üzerine çok büyük sekonder etkiye sahip olabilir. Örneğin mitokondri içinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) azalması ve okside nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP<sup>+</sup>) oluşumu oksidatif strese maruz bırakır (13).

ROS'un zararlı etkileri uzun zamandır bilinmektedir ancak organizmada bazı biyolojik işlevlerde yararlı oldukları gösterilmiştir (14).

Belirli bir miktarın üzerine çıktıklarında veya ortamda metal iyonları bulunduğu veya antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında zararlı olmaktadır (14)

Organizmaya yararlı oldukları bazı haller ise fagositoz olayında aktive nötrofillerden salınarak bakterilerin etkisiz hale getirilmesi, hücre bütünlüğünün korunması, mitokondriyal oksidasyon, hemoglobinin oksijen taşıması, nonsiklooksijenaz yoluyla prostoglandinlerin oluşumu ve DNA replikasyonu şeklinde özetlenebilir. Son yıllarda serbest radikallerin bazı hastalıkların patogenezinde rollerinin olabileceği öne sürülmektedir. Özellikle kardiovasküler sistem, inflamatuvar hastalıklar, kanser, katarakt, fotodermatozlar ve yaşlanma gibi durumlardaki rolleri üzerinde durulmaktadır. Yine de reaktif moleküllerle ilgili görünen bu değişiklikler hastalığın nedeni olmaktan ziyade sonucu olabilir. Biyolojik sistemlerde oksijen kaynaklı radikallerin oluşumu diğer serbest radikallerden daha fazla orandadır. Reaktif oksijen ürünleri olarak tanımlanan bu metabolitler dışında ayrıca çeşitli metal iyonları, karbon, kükürt ve nitrojen kaynaklı radikallerde oksijen işlevi görmektedirler (14,15).

Oksijen elektronları o şekilde dağılmıştır ki bu elektronlardan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir 'diradikal' olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle daha yavaş reaksiyona girer (9).

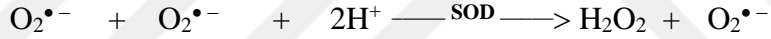
### A.1.Süperoksit Radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

Oksijen molekülünün bir elektron almasıyla süperoksit radikali oluşur (16). Süperoksit anyonları hemen hemen tüm aerobik hücrelerde fizyolojik olarak üretilmektedir (10). Süperoksit radikali başlıca mitokondrilerde ve endoplazmik retikulumda bulunan hücresel elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinden moleküler oksijene sızan elektronlarla oto-oksidasyon esnasında oluşur. Ayrıca aktive edilen beyaz kan hücrelerinden, ksantin-ksantin oksidaz sisteminden, sitokrom P<sub>450</sub> ve diğer oksidazlar gibi stoplazmik enzimlerle enzimatik yoldan oluşurlar(10,11).



Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgenmesidir (10).

İnvivo oluşan O<sub>2</sub><sup>•-</sup> anyonu kendiliğinden yada daha hızlı olarak SOD enzimi ile inaktive edilir ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oluşur (10,11).



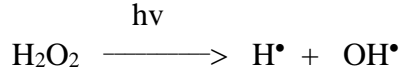
### A.2. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Süperoksit radikaline ikinci elektron ilavesi ile peroksit iyonu oluşur. Hidrojen peroksit, Süperoksit'in dismutasyon reaksiyonu ile ya da bir çok organda bulunun ve katalaz taşıyan organeller olan peroksizomlarda direk olarak oluşur (9,11). Hidrojen peroksit üreten sistemler arasında en önemlileri glikolat- glikolat oksidaz, üret-ürat oksidaz ve ksantin-ksantin oksidaz sistemleridir. Bu sistemlerin aktiviteleri sistemler arasında farklılıklar gösterir (10). Hidrojen peroksit ROS arasında anılır fakat çiftleşmemiş elektron içermediği için gerçekte serbest radikal değildir (1,9,10). Bununla birlikte demir, bakır gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit radikali ile reaksiyona girer ve bilinen en etkin oksidan ajan olan hidroksil radikalini meydana getirir (10).

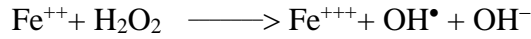
### A.3. Hidroksil Radikali (OH•)

Hidroksil radikalleri en reaktif ve hasar verici ROS'dur. İnvivo olarak hidroksil radikali yapımına neden olan önemli tepkimeler şunlardır.

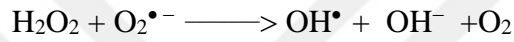
- 1) İyonlaştırıcı radyasyonun suya etkisi ile



- 2) Fenton reaksiyonunda özellikle geçiş metal iyonları ( demir, bakır gibi) ile etkileşerek,



- 3) Süperoksidin hidrojen peroksit ile direk reaksiyonu olan Haber-Weiss reaksiyonu invivo olarak OH• üretimi bakımından en önemli tepkimedir.



- 4) Ozona elektron transferi ile OH• oluşabilir. Bu nedenle ozon toksitesinde OH• nin rolü vardır.

- 5) Hidrojen peroksitin fotolizi ile.

- 6) Radikal tepkimeleri ile oluşabilen bir organik radikal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tepkimeye girerek OH• üretebilir (9,11,17).

Toksik oksijen zedelenmesinde demir özellikle önemlidir. Serbest demirin çoğu ferrik (Fe<sup>+++</sup>) durumdadır. Fe<sup>+++</sup> Fenton reaksiyonunda aktif şekil olan, ferröz (Fe<sup>++</sup>) forma indirgenir. Bu indirgenme süperoksitle artırılabilir. Bundan dolayı süperoksit iyonu OH• oluşumunda önemlidir (9,11,16,18).

OH• radikali son derece reaktif ve kısa ömürlü bir radikaldir. Hücredeki hemen her molekülle reaksiyona girerek harabiyet oluşturabilir (10).

### A.4. Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

<sup>1</sup>O<sub>2</sub> oksijenin elektronlarından birinin enerjisi alarak kendi spininin ters yönünde oluşan başka bir orbitale yer değiştirmesi ile oluşur. Ortaklaşmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasında sebep olur (9,19).

İnvivo olarak <sup>1</sup>O<sub>2</sub> üretimine neden olan başlıca tepkimeler şunlardır.

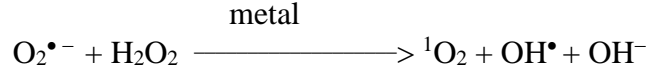
- 1) Süperoksit radikali üretilen ortamda kendiliğinden dismutasyon ile



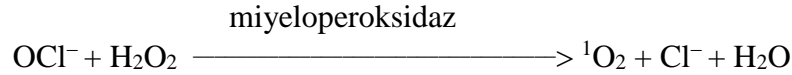
2)  $\text{O}_2^{\bullet-}$  ile OH nin etkileşmesi ile



3) Haber-Weiss tepkimesi ile



4) Fagositoz yapan hücrelerde fagositoz sırasında  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve halojen bağımlı miyeloperksidaz enzimi ile



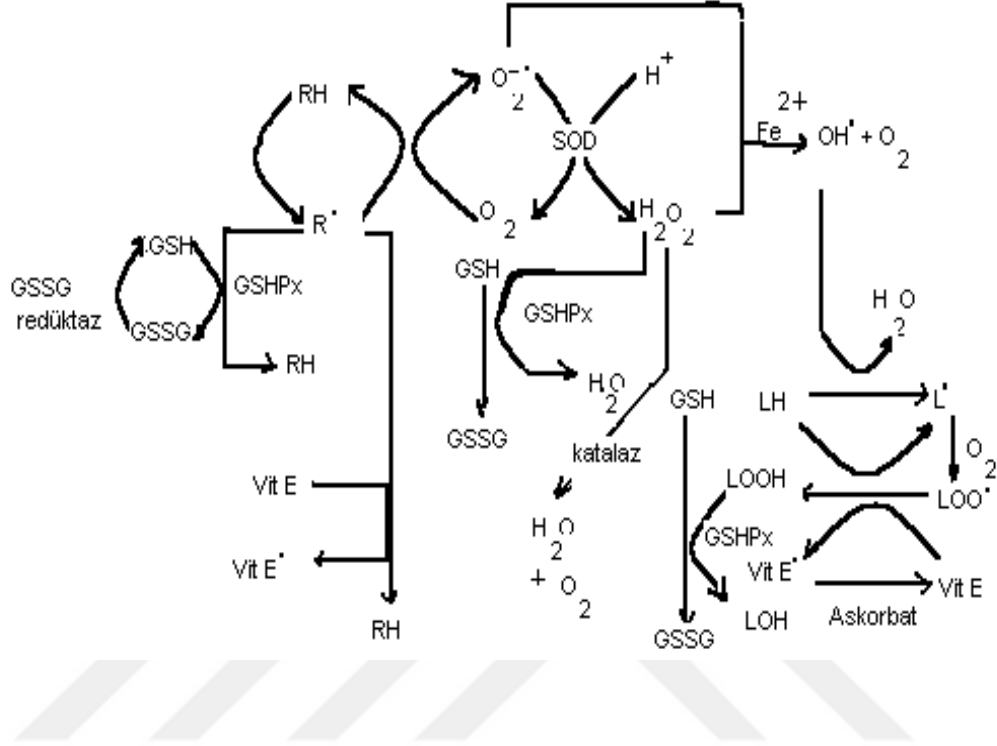
Yukardaki tepkimelerde görüldüğü gibi, singlet oksijen ve hidroksil radikallerinin üretimi tümüyle ortamda  $\text{O}_2^{\bullet-}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  'nin birikmesine bağlıdır. Bu iki bileşiğin anında uzaklaştırıldığı durumda, iki molekülün birbirine rastlaması  ${}^1\text{O}_2$  ve  $\text{OH}^{\bullet}$  üretimi için yeterlidir (17).

## **B. SERBEST RADİKALLERİN BİYOMOLEKÜLLER VE DOKU KOMPONENTLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Oksijenle yaşayan tüm canlılarda normal metabolik işlemler sırasında serbest oksijen radikalleri kaçınılmaz bir şekilde üretilmektedir. Bu nedenle normal metabolizma sırasındaki oksido-redüksiyon reaksiyonlarının ürünleri olan serbest oksijen radikallerinin oluşması, biyolojik bir bozukluk olarak değerlendirilmemelidir. Ancak hiperoksit, inflamasyon, iskemi, radyasyon ve antibiyotik tedavisi gibi bazı hücrel metabolik durumlarda üretilen serbest oksijen radikalleri; membranlar, enzimler, nükleik asitler ve polisakkaritler üzerinde toksik etkiler yaparak çeşitli doku hasarlarına neden olmaktadır (11,12).

Serbest radikal reaksiyonları, ilerleyerek hücrel harabiyetle sonuçlanabilir. Bu tür reaksiyonlar sonsuz olarak sürebildiği gibi serbest radikalleri ortadan kaldıracı bir dizi bileşiklerle sona erdirilebilir (Şekil 1). Bu bileşiklerin bir kısmı hücrel bütünlük içinde temel olan ve etkinlikleri azaldığı takdirde sitotoksositeye yol açabilen bileşiklerdir. Diğer bir grup serbest radikal temizleyiciler antioksidan savunma yapan

bileşikler olarak adlandırılır ve serbest radikallerin zararlı etkilerine maruz kalan organizmanın canlılığını sürdürmesine yardımcı olurlar (15).



**Şekil 1:** Serbest radikallerin hücre hasarına olan etkileri ve hücresel savunma mekanizmaları görülmektedir.

Hücre hasarına yol açan pek çok kimyasal bileşik ve durum serbest radikal oluşumuyla birlikte. Bütün bunlar, ortamda  $Fe^{++}$  varlığında protoksinin (RH) yıkılmasından veya moleküler oksijenin  $OH^{\bullet}$  radikaline aktivasyonu ile artar. Bu radikaller, ortamda oksijen varlığında daha sonra lipid peroksi radikallerine dönüşecek olan membran lipidlerinin peroksidasyonunu başlatabilme ve lipid radikalleri üretme ( $L^{\bullet}$ ) potansiyeline sahiptir. Peroksi radikallerinin aşırı lipid ile reaksiyonu membran lipidlerinin de tüketimine yol açan olaylar zincirine yol açar. Bununla birlikte hücresel savunma sistemlerinin bir kısmı lipid peroksidasyonunu önleyebilir. Bunlar arasında,  $Fe^{++}$  iyonunun çok düşük konsantrasyonlarda tutulması,  $H_2O_2$ , lipid peroksidatları ve serbest radikallerin ( $R^{\bullet}$ ) glutayon peroksidaz tarafından detoksifiye edilmesi,  $H_2O_2$  'nin katalazla detoksifiye edilmesi ve radikal zincir uzamasının E vitamini ve askorbat ile sonlandırılması sayılabilir (20).



ROS, aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında biyomoleküller ve doku komponentlerine zarar verirler. Özellikle hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidat ve enzimleri serbest radikaller için hedef yapılarıdır (9,14).

ROS' un biyomoleküller ve doku komponentleri üzerine etkileri aşağıdaki mekanizmalarla gerçekleşmektedir.

1. Lipid peroksidasyonu
2. Proteinlere etkisi
3. DNA oksidasyonu
4. Kalsiyum dengesi üzerine olan etkileri
5. Hücre dışı etkileri

### **B.1. Lipid Peroksidasyonu**

Hücre membranlarındaki lipidler doymamış yağ asitlerince zengin olduklarında serbest radikal hasarına oldukça duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu, membranda bulunan (fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan) poliansature yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonu sonucunda biyolojik membranların geçirgenliği etkilenir ve membran bütünlüğü bozulur (12,14).

Lipid peroksidasyonu, ölmekte olan hücrelerdeki normal koruyucu mekanizmaların başarısızlığı sonucunda olmaktadır (20).

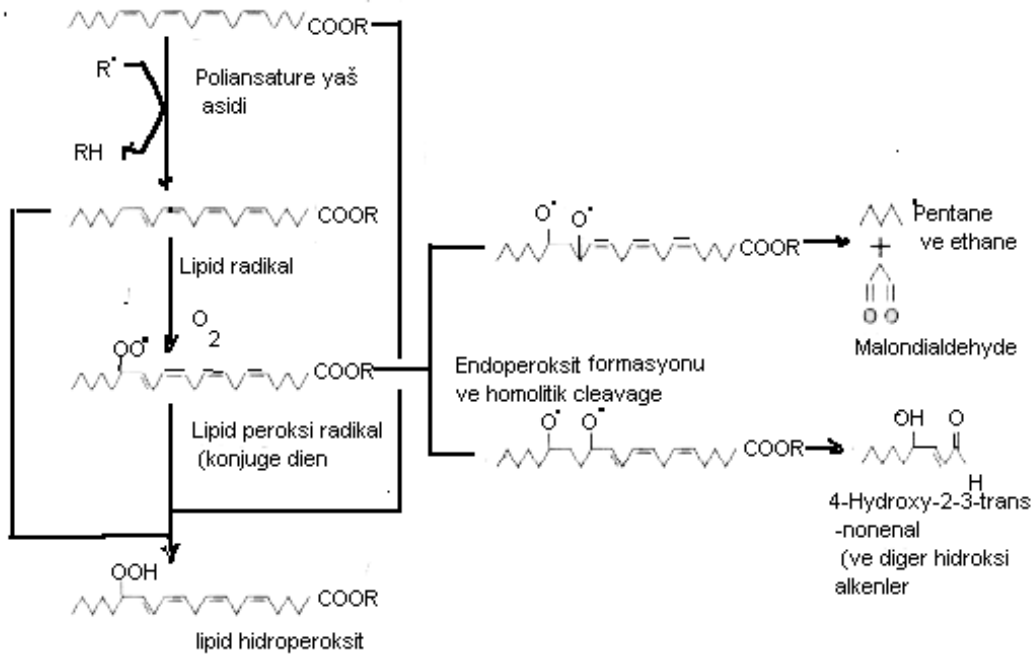
Lipid peroksidasyonu, başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları şeklinde değerlendirilebilir (12).

**Başlama:** Lipid peroksidasyonu; kuvvetli yükseltgen bir radikal tarafından zar yapısındaki poliansature yağ asidi zincirindeki  $\alpha$  metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Lipid peroksidasyonunu başlatan bu radikalın esas olarak hidroksil  $\text{OH}^\bullet$  radikali olduğu kabul edilmektedir. Demir ve bakır gibi çiftleşmemiş elektronlara sahip olan geçiş metal iyonlarının varlığı peroksidasyonun başlaması için gereklidir (12).

Serbest radikal etkisi ile yağ asidi zincirinden hidrojen atomu uzaklaşması, yağ asidi zincirinin radikal hale dönüşmesine yol açmaktadır. Oluşan bu lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve molekül içi çift bağ aktarılması sonucunda dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipid radikalının moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu, lipid peroksid radikali meydana gelmektedir(11,12).

Yayıma: Bu peroksi radikali, diğer bir peroksi radikalleriyle birleşebilir ya da membran proteinleriyle etkileşebilir. Fakat en önemlisi peroksi radikallerinin membranlardaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarındır. Böylece her defasında lipid hidroperoksitleri ve yeni bir peroksi radikali oluşmaktadır. Peroksidasyon birkere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zincirleri, lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (11.12.13.20).

Detoksifikasyondan kurtulan serbest radikaller lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Oluşan peroksi radikali, daha fazla lipitle reaksiyona girerek, membran lipitlerinin tüketilmesine yol açan reaksiyonun ilerlemesine neden olur (Şekil 2) (20).



**Şekil 2:** Lipit peroksidasyonuna yol açan lipit radikallerinin oluşumu ve artışı.

Yayıma zincirinin uzunluğu membrandaki lipid/protein oranına, yağ asidi bileşimine, oksijen konsantrasyonuna ve vitamin E gibi zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığına bağlıdır (12).

Sonlanma: Demir ve bakır iyonları ya da bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit kelatlar ( $Fe^{++}$  -ADP), hem, hemoglobin ve miyoglobini de içeren bazı demir proteinleri, lipid hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadırlar. Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan ürünler: Etan, pentan gibi hidrokarbon gazları, ROOH, RCOOH, ROH ve RCHO gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir (12).

Glutasyon peroksidaz ve E vitamini lipid peroksitlerini ve peroksi radikallerini oldukça etkili bir şekilde detoksifiye ederler. Her ne kadar lipid peroksidasyonu stotoksik hidroksialkenalların özellikle de hidroksinenenalin serbest bırakılmasına yol açsa da bunlar hemen glutasyon ile konjuge olarak ve glutasyon S transferazla katalizlenerek detoksifiye edilirler. Redoks-aktif dipirydilyum bileşikleri, diquat, diquat radikalleri oluşturmak üzere redüktazlar tarafından özellikle NADPH-sitokrom P<sub>450</sub> redüktaz tarafından hemen indirgenir. Bu radikal  $O_2^{\bullet -}$  ve tekrar indirgenebilen diquat vermek üzere  $O_2$  ile reaksiyona girer. Diquat böylece aktif oksijen türlerinin üretiminin büyük oranda olduğu redoks siklusunda birikir (7).

Lipid peroksidasyonu direk olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir (9). Lipid hidroperoksitleri ve lipid peroksidikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi, aynı hücrenin birçok komponentleriyle reaksiyona girerek, sellüler ve metabolik fonksiyonlar üzerine toksik etkilerini gösterirler (12).

Lipid hidroperoksitleri ve lipid peroksi radikallerinin hücrel ve metabolik fonksiyonlar üzerine etkileri

1. Membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açarlar.
2. Membranın sekretuar fonksiyonunun kaybına neden olurlar.
3. Transmembran iyon gradiyentini bozarak  $Ca^{++}$  gibi iyonlara karşı nonspesifik permeabiliteyi artırır.
4. Lipid peroksidasyon ürünlerinden bazıları ( malonaldehid ve 4 hidroksinonenal) buldukları membranların permeabilitesini ve zedelenebilirliğini arttırırlar. Mitokondri membranları bu tür hasarlardan özellikle etkilenirler. Bu belki

de mitokondrilerde poliansature C=C bağların fazla olması ile birlikte mitokondrilerde oksijen ve metalloproteinler nispeten yüksek konsantrasyonda olması nedeniyledir (13). Ayrıca lipid peroksidasyon ürünleri mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler, mikrozomal enzim aktivitelerinde değişikliklere yol açarlar, subzellüler organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına neden olurlar (12).

5. Bir lipid peroksidasyon ürünü olan (MDA), membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi determinantlarının aggregasyon durumugibi intrinsek membran özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca, diffüze olabildiğinden DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilmektedir. MDA bu özelliklerinden dolayı, mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir (12,15).

## **B.2. Proteinlere etkileri.**

Özellikle kükürt içerenler daha fazla olmak üzere tüm amino asitler serbest radikal hasarına duyarlıdır. Proteinlerde kırılmalar, çapraz bağlanmalar ve agregasyonlar oluşabilir. Proteinlerdeki bu değişiklikler biyokimyasal ve fizyolojik işlevlerde aksamalara neden olurlar (14). Hücrede bilhassa inaktive edici enzimlerde özellikle de sülfhidril enzimlerde hasar oluşur (11). Sitoplazmik proteinler ve membran proteinleride okside edici ajanlara maruz kaldıklarında, örneğin ozon, dimerler ve büyük agregatlar oluşur. İnter-protein disülfid oluşumu ya da serbest radikal ile amino asit kalıntıları arasında daha irreversibl reaksiyonlar nedeni ile sözü edilen yapılar meydana gelir (15).

Prolin, lizin gibi amino asitler ve protein yapısını oluşturan peptid bağları, indirgenmişoksijen türevlerinden etkilenebilir. Örneğin süperoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit açığa çıkaran reaksiyon ortamında prolin ve lizin hidroksilasyonu non enzimatik olarak oluşabilir (15).

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Protein hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir (15).

### **B.3. DNA Oksidasyonu**

Reaktif oksijen tek iplikçikli DNA hasarı yapar ve iplikçiklerin kırılmasına neden olur ve cross-linking sebebidir (13). DNA üzerine serbest radikal (özellikle hidroksil) saldırısını takiben sarmal ayrılması, yakımı ile baz ve deoksiriboz fragmentasyonu bildirilmiştir. Sonuçta sitotoksiste, mutasyon ve maling değişim potansiyeli meydana gelir (15,21).

### **B.4. Kalsiyum dengesi**

Peroksidasyon hasarından özellikle tiol içeren proteinler etkilenirler. Plazma membranlarındaki Ca-ATP' az ve Na-K ATP- az tiol içeren proteinler olduğundan bunlar hücrel iyon dengesinin bozulmasında özel bir öneme sahiptirler(13,14). NADPH/NADP<sup>+</sup> oranının değişmesi kalsiyumun mitokondriden sitoplazmaya göçüyle sonuçlanır. İntrasellüler iyon göçü hücre zedelenmesinde oldukça önemlidir. Böylece özel olarak ROS membran permeabilitesini artırır, katyon pompasını önler. ATP azalır. Ve sitozoldeki serbest kalsiyumu artırır (13).

Yine iskemi sırasında ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza çeviren ve serbest radikal üretimine neden olan enzim de kalsiyuma bağımlı bir enzimdir (14).

### **B.5. Hücre dışı etkiler**

ROS'in oksidatif hasarından en fazla etkilenen hücre dışı doku komponentleri kollejen ve hiyalüronik asittir (9,14,15). Kollejen, süperoksit radikalının jelasyonu engellemesi sonucu harap olur. Süperoksit dismutaz, eriyebilir kollejeni süperoksit radikallerinin jelasyonu inhibe edici etkilerinden korur. Eklemden, sinovial sıvının viskozitesini sağlayan hiyalüronik asit, süperoksit radikali tarafından depolimerize edilebilir; radikalleri ortadan kaldıran enzimler söz konusu depolarimazyona engel olurlar. Ekstrasellüler sıvılar çok az miktarda süperoksit ismutaz içerdiğinden indirgenmiş oksijen türevlerinin eser miktarları bile bu kompartmanda büyük harabiyete yol açabilir (15).

## C. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Canlı organizmada değişik metabolik yollarla serbest radikal üretimi devam ettiğinden organizmada kendini korumak için bu toksik ürünlere karşı antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Sağlıklı bir organizmada oksidan ve antioksidanlar arasında hassas bir denge vardır. Patolojik durumlarda be denge oksidatif tarafa kayabilir ve sonuçta kontrolsüz, potansiyel olarak letal oksidatif hasar meydana gelir (14).

Serbest radikaller kendiliklerinden azalabilirler. Örneğın süperoksid stabil değildir ve kendiliğinden oksijen ve hidrojen peroksida dönüşür. Bunla birlikte serbest radikal reaksiyonlarını inaktive eden ya da sonlanmasına yardım eden çeşitli sistemler vardır (11).

Antioksidanlar genel olarak endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere iki grupta incelenir (14,22).

### **C.1. Endojen Antioksidanlar**

Enzimatik ve non enzimatik olarak iki grupta ele alınırlar.

#### **Enzimatik antioksidanlar**

Sitokrom oksidaz sistemi

Süperoksit Dismutaz

Katalaz

Glutatyon peroksidaz

Glutatyon Redüktaz

Glutatyon-S transferaz

#### **Non enzimatik antioksidanlar**

Glutatyon

E Vitamini

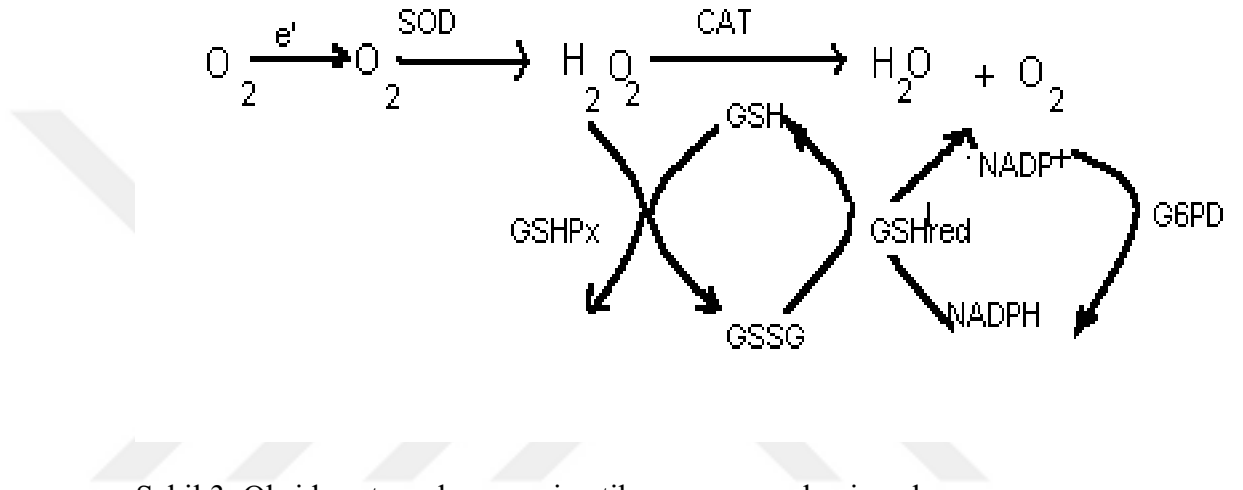
Beta-karoten

C vitamini

Diğer non enzimatik antioksidanlar

### C.a. Enzimatik Antioksidanlar

Savunmada öncelikle etkili olanlar enzim sistemleridir. Antioksidan savunmanın önemli bir kısmını süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' yi temizleyen özel enzimler oluşturur. Bunlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzimleridir. ( Şekil 3). Bu enzimlerin aktivitesi, serbest radikallerin sentez ve yıkılma hızına, beslenme ile eser elementlerin ( Mn, Fe, Zn, Cu) alınmasına bağlıdır (22).



Şekil 3: Oksidan strese karşı enzimatik savunma mekanizmaları

#### C.1.a.1. Sitokrom Oksidaz Sistemi

Hücredeki oksijenin %95-99 kadarını etkisiz hale getirir. Bu sistem içerisinde enerji dier bir ifade ile ATP sentezi söz konusudur. Yetersiz kaldığı durumlarda diğer enzimler devreye girer (14).

#### C.1.a.2. Süperoksit Dismutaz: (Superoxide: Superoxide Oxidoreductase EC 1.15.1.1)

SOD, süperoksit anyonu serbest radikallerin hidrojen peroksit ve moleküler oksiyene dönüşümünü katalize eder.



Daha sonra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalaz veya peroksidaz enzimlerinin katalitik etkisi ile suya detoksifiye olur (9,14).

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir. SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır (22).

SOD enziminin aerobik hücrelerin tümünde bulunduğu ancak aerobik hücrelerin çoğunda bulunmadığı bilinmektedir (22). SOD mitokondri, matriks, stoplazma ve ekstrasellüler sıvıda bulunur. SOD enziminin 3 majör formu vardır. İnsanda SOD'nin iki tipi bulunmaktadır bakır-çinko içeren ve Mangan içeren. En sık bulunanı Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, MnSOD ise mitokondride bulunur. Üçüncü tip demir içerir ve bakterilerde bulunur (9,14,15,21,23). Cu-Zn SOD 21 nolu kromozomda, MnSOD ise 6 nolu kromozomda lokalizedir (9). Sitozolik Cu-Zn SOD siyanidle inhibe edilirken, mitokondrial Mn SOD inhibe olmaz. Her iki SOD 'un katalizlediği reaksiyon aynıdır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır (9,24).

SOD enziminin katalizlediği reaksiyonun son ürünü olan  $H_2O_2$ ; Cu-Zn SOD ve Fe-SOD izoenzimlerini inaktive etmektedir, ancak  $H_2O_2$ 'nin Mn-SOD üzerine etkisi yoktur (22)

SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku  $pO_2$  artışı ile artar. Bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD 'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (9). Çok az bir sayıda SOD normalde ekstrasellüler sıvıda bulunur (19).

Süperoksit radikalleri spontan olarak dismutasyona urayabilirler. SOD enzimi dismutasyon hızını 10 kez artırır. Böylece  $O_2^{\cdot-}$ 'in başka substratlarla reaksiyona girmesi ve daha toksik etkili  $OH^{\cdot}$  radikallerinin oluşumu SOD tarafından engellenir (22).

SOD fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler alanda öldürülmesinde de rol oynar (9).

SOD uygulaması tipik olarak reperfüze dokuları korumakla birlikte bir noktadan sonra koruyuculuğu ortadan kalkar. Bunun nedeninin SOD'un lipid peroksidasyon olayında oynadığı iki (dual) taraflı etkiden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Yüksek miktarda bulunduğu zararlı olabilmektedir (14).



SOD radyasyonun da bazı toksik etkilerini önler. Ancak radyasyonun süperoksit radikali yanısıra, doğrudan singlet oksijen ve hidroksil radikali de oluşturması nedeniyle tam koruyucu etki gösteremez. Paraquat ve streptonigrin  $O_2^{\bullet-}$  üreterek etkilerini gösterirler ve bunların etkileri de SOD enjekte edilmesi ile önlenir (17).

### C.1.a.3. Katalaz ( $H_2O_2$ : $H_2O_2$ oksido redüktaz, EC 1.11.1.6)

Katalazın görevi hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalamaktır (9,21). Tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan bir hem-enzimidir. %20 oranında stoplazmada ve % 80 oranında peroksizomlarda lokalizedir. 4 alt birimden oluşmaktadır (9,22). Her bir alt birim aktif merkeze bağlı bir hem grubu içerir. Molekülün alt birimlerinin ayrılması enzim aktivitesinin kaybına yol açar. Asid, siyanür, 3-amino-1,2,4 triazol, indirgenmiş glutatyon ve ditiotreitol katalazı inhibe ederler (22).

Katalaz,  $H_2O_2$ 'in oluşum hızının düşük olduğu veya elektron vericisinin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu durumlarda peroksidatif reaksiyonla;

Katalaz



$H_2O_2$ 'in oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik reaksiyonla etkisini gösterir.

Katalaz



Süperoksit radikalleri katalazı inhibe eder. İndirgenmiş glutatyonun da doza bağımlı olarak katalazı inhibe ettiği bildirilmiştir (22).

Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllerle, lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (9).

Katalaz  $H_2O_2$ 'in oluştuğu bütün sellüler komponentlerde bulunmaz, bu da katalazın oksijen radikallerinin oluşumundan korunmada ikinci öneme sahip olduğunu akla getirmektedir (14,21).

**C.1.a4. Glutasyon Redüktaz (NADPH: oxidized- glutathione oxidoreductaze; EC 1.6.4.2)**

Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz (GR), NADPH varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler. Bu oksido redüksiyon enziminin koenzimi NADPH, prostetik grubu ise flavin adenin dinükleotid (FAD)'dir.

GR



Glutasyon redüktaz sitozol ve mitokondride lokalizedir. GR bir flavin enzimi olan FAD ile aktive edilir. GR, oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizlerken, elektronlar önce NADPH' tan FAD yolu ile GSSG' ye daha sonra iki sistein kalıntısı arasındaki disülfid bağlarına en son ise oksitlenmiş glutasyona transfer olmaktadır (22).

**C.1.a5. Glutasyon peroksidaz (Glutasyon: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Oksidoredüktaz, EC1.11.1.9)**

GSHPx hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere 2 farklı tipi vardır. Selenyuma bağımlı olan GSHPx hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'i hem de lipid hidroperoksitlerini metabolize ettiği halde; hücrenin mitokondri (% 30) ve sitazol (% 70) fraksiyonlarında lokalize olan selenyumdan bağımsız GSHPx ise yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir (22). GSHPx aşağıdaki reaksiyonları katalizler (9).

GSH-Px



GSH-Px



GSH-Px sadece hidrojen peroksidi değil diğer organik peroksitleri de etkisiz hale getirir (14).

Katalitik reaksiyon sonucu H<sub>2</sub>O ve oksitlenmiş glutasyon disülfid oluşur. Hücresel GSH'ın eksikliğine yol açan GSSG nin dışarı akışı GSHPx aktivitesindeki artışın bir sonucudur. Eritrosit veya karaciğer hücrelerinde oluşan GSSG' nin az kısmı

hücreler tarafından atılır. Bu miktar hidroperoksit metabolizması sırasında yükselir. GSSG' nin hücre içinde birikimi ve dışarı çıkışı hücrel NADPH/ NADP<sup>+</sup> redoks oranı ile ilişkilidir. Sitazolik NADPH/ NADP<sup>+</sup> oranını azaltan metabolik olaylar GSSG/GSH oranını artırarak hücreden GSSG' nin dışarı akışını hızlandırır (22).

Sitoplazmik ara ürünler olan NADPH ve GSH konsantrasyonları hücrenin redoks durumunun akut değişikliklerini yansıtır. NADPH/ NADP<sup>+</sup> ve GSH/GSSH oranlarındaki değişiklikler akut pro-oksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidirler (22).

Lipozomal membranlardaki fosfolipidler serbest radikallere maruz kalırsa fosfolipid hidroperoksitler oluşur ve çift katlı lipid tabakası bozulur. Oksidize yağ asitleri fosfolipaz A<sub>2</sub> için substrat haline gelirler Yağ asid hidroperoksitleri salındıklarında ise GSHPx enzimi tarafından indirgenir ve zararsız hidroksi yağ asitleri oluşur. Bu nedenle GSHPx enzimi fosfolipaz A<sub>2</sub> enzimi ile birlikte hareket ederek fosfolipid hidroperoksitleri tarafından başlatılan ilave peroksidatif hasarı etkili bir şekilde engeller (14).

Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz da (PLGSH-Px) monomerik selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. GSHPx enziminden farklı olarak membran fosfolipid hidroperoksitleri üzerine direk olarak etki ederler. Fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi uyarmalarına gerek yoktur (14).

Membranlara bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğu zaman PLGSH-Px membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar (9).

E vitamini takviyesi, demir eksikliği, ağır metal iyonları toksisitesi ve hormonal denge GSHPx aktivitesini etkileyen parametrelerdir (22).

GSHPx'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Eritrositlerde de oksidan sisteme karşı en etkili antioksidandır (9).

#### **C.1.a6. Glutatyon-S transferazlar (E.C.2.5.1.18)**

Glutatyon -S- transferaz(GST) herbiri iki alt birimden oluşmuş (dimerik) bir enzimdir. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı GST selenyumdan bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar. Membrandaki lipid peroksidasyonu engellemekle birlikte hidrojen peroksiti detoksifiye edemez (14).

## GST



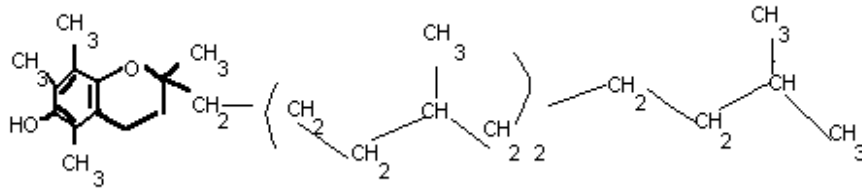
GST üç sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar (9).

### C.1.b. Enzimatik olmayan Antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutan maddelerdir. Bunlar serbest radikallerle direkt olarak reaksiyona girerler ve onları stabil derivelerine çevirirler (14). Düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları lipide eriyebilir özellikte olanlar ve sitoplazmada bulunanlar olmak üzere iki grupta toplayabiliriz. E vitamini ve  $\beta$  karoten lipide eriyebilen özellikte antioksidan vitaminlerdir. Glutasyon, ürik asit, bilirubin ve askorbi asit sitoplazmik yerleşim gösteren antioksidan etkili maddelerdir (22).

#### C.1.b1. E Vitamini

E vitamini; tokoferol yapısında, temelde 2-metil-6 kroman halkası içeren ve 2. karbona bağlı 16 karbonlu fitil yan zinciri ihtiva eden bir grup bileşiktir (Şekil:4) (22).



Şekil 4:  $\alpha$  tokoferol'ün yapısı

D- $\alpha$ -tokoferol doğada yaygın olan ve büyük bir biyolojik aktiviteye sahip maddedir (25,9). Antioksidan etkisi en yüksek olan tokoferol d  $\alpha$ -tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve anti oksidan özelliğide bu gruptan kaynaklanır (9).

E vitamini tüm hücrel membranlarda bulunur (14). Kan, plazma ve membranların en güçlü yağda çözünen antioksidanı olarak hareket eder. Membranlar ya da lipoproteinler içindeki fosfolipidlere nazaran membranlar ve lipoproteinlerdeki E vitamini konsantrasyonu oldukça düşüktür (26). Membranlarda E vitamini konsantrasyonunun membranlardaki toplam fosfolipidlerin %0,1-1 mol arasında oldukça az olduğu bildirilmiştir (27).

Absorbsiyonu diğer yağda eriyen maddelere benzer. Safra tuzlarına bağlanır. Oral olarak alınanın yaklaşık % 70 'i absorbe olur ve büyük bir kısmı adipoz doku, kalp, adrenal korteks, ve kasta bulunur (28). Serum lipoproteinleri ile taşınır (22).

Eğer biriktirilirse tokoferol hava oksidasyonuna uğrar. Fakat asetat esteri tokoferol asetat oksidasyona uğramaz ve stabil kalır.  $\alpha$  tokoferol asetat formunda serbest formundan daha stabildir. Tokoferol asetat ince bağırsak duvarından emilmeden önce bağırsaktaki enzimlerle hidrolize edilir (5). Tokoferol asetat fare derisine topikal olarak uygulandığında ancak %4,5-5 oranında serbest tokoferole hidrolize olduğu gösterilmiştir (28).

E vitamininin plazma lipoproteinleri ve organel fosfolipidleri içindeki düzeyi 4 faktöre bağlıdır.

- 1) Tüketilmekte olan  $\alpha$  tokoferol miktarı
- 2) Diyet içinde bulunan pro- oksidan ve antioksidanların düzeyi
- 3) Diyetle alınan selenyum yeterlilik düzeyi
- 4) İçinde sülfür taşıyan amino asitlerin diyetle alınışı (25).

Hücrelerde membran fosfo lipidlerinin poli- doymamış yağ asitleri (linoleik asid ve araşidonik asid gibi), spontan olarak veya oksidan metabolitlerin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler ve peroksid türevlerine dönüşebilirler. Bu olaya lipid peroksidasyonu veya otooksidasyonu olayı adı verilir. Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü anti oksidan faktör E vitaminidir. Vücudun diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, GSHPx ve  $\beta$ - karoten gibi ) söz konusu olay üzerinde E vitamini kadar etkili değildirler. Antioksidan olarak E vitaminini destekleyen gerideki savunma sistemlerinden GSHPx molekülündeki fonksiyonel önemi olan bir öge selenyum

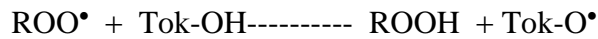
iyonudur (30). GSHPx ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirini tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim teşekkül etmiş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (9).

Bunla beraber yeterli miktarda E vitamini varlığında bile bazı peroksitler oluşur (25). Her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurur (21).

E vitamininin membranlarda zinciri kırıcı antioksidan gibi hareket ettiğine ya da single oksijen yatıştırıcısı olarak hareket ettiğine inanılır. E vitamini phytyl ucu ile membran lipidlerinin acyl zinciriyle yakın olarak membranlarda lokalize olurlar. E vitamini kromonal başı membran yüzeyine yakın gözükmektedir. Uç bölgesinde peroksil radikali oluştuğunda bunun kromonal başın yerleştiği polar bölgeye doğru nonpolar bölgenin zorlandığı ya da dışarıya doğru yönlendiğini düşündürmektedir. Bu kromonal bölgenin okside olabileceği ve muhtemelen aköz bölgedeki C vitamininin E vitamininin kromonal bölgesiyle reaksiyona girip rejenere olabileceği düşüncesi vardır (27,28).

E vitamini lipide çözünürlüğü yüksek olması nedeniyle kolayca membran lipidlerine difüze olabilmekte ve 20 karbonlu doymamış yağ asitlerini indirgeyerek lipid peroksidasyonunu önlemekte, böylece lipid peroksidasyonunu başlangıç aşamasında engellemektedir (22).

E vitamini (Tok-OH), peroksidler üzerindeki nötralize edici etkisini, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikale transfer etmek suretiyle aşağıdaki şekilde iki basamakta yapar (30).



E vitamini singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca hidroksil radikali, peroksi radikali, ve süperoksitlerle direkt olarak reaksiyona girebilir (9,14). Tokoferollerin ve keratonoidlerin singlet oksijeni tutma yetenekleri ile plazma ve doku konsantrasyonları arasında ters bir korelasyon vardır. Bu antioksidanlar tiol bileşiklerini ve askorbatın etkilerini tamamlarlar (22).

E vitamini lipid radikalle reaksiyona girerek onu radikal olmayan bileşik haline dönüştürürken kendisi radikal hale gelir. E vitaminin radikali nisbeten kararlı ve lipid peroksidasyonunu kendi kendine başlatmak için yeterince reaktif değildir. Bu

oksidasyon ürünü, glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. E vitamini, okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce C vitamini ve gulutasyon tarafından redukte edilerek tekrar E vitamini haline gelir (9). Tokoferollerin biyolojik oksidasyon ürünleri de antioksidan aktivite gösterirler (22).

Tokoferol kromanol halkasının phenolik hidroksil serbest olduğunda (esterifiye olmamış) antioksidan olarak fonksiyon görür. Serbest hidroksil serbest radikalleri ya da singlet oksijeni sıklıkla semi kinon yada kinona kendini oksitleyerek temizleme fonksiyonunu görebilir. Bu gurup tokoferol asetatın ya da suksinat esterlerinin antioksidan aktivitelerinin sifıra düşüren asetat ya da suksinat deriveleri gibi esterlere dönüşerek organik asidlerin karboksil gruplarının esterleşmesiyle oksidasyondan korunabilir (5).

$\alpha$  tokoferol serbest radikallerle birleşerek tokoferol kinona dönüşür. Tokoferol kinon bileşiği lipid peroksidasyonunu ve trombosit agregasyonunu inhibe eder (22).

$\alpha$  tokoferol fosfolipaz A<sub>2</sub>, C ve D'nin biyolojik membrandaki zararlı etkilerini önler. İmmun sistem fonksiyonlarını düzenlediği bilinmektedir (22).

Hücrelerin korunması ve işlevlerini yerine getirebilmesi için hücre zarı büyük önem taşır. Fosfolipidlerin lipit kısımları olarak adlandırılan yağ asidi zincirleri zarın iç kısmında bulunurlar. Ayrıca hücre içinde bulunan mitokondriler ve golgi cisimciği gibi organizmalarda büyük ölçüde zarlardan oluşurlar. Hücrenin komuta merkezi olan hücre çekirdeğinde zarla çevrilidir. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olduğu için hücre zarında bulunan yağ ve protein moleküllerinin arasına girerek koruyucu bir tabaka oluşturur. Yağda çözünen antioksidanlardan en önemlisi d-alfa- tokoferol, yani doğal E vitamindir. E vitamininin doğadaki temel görevi yağlı bitkilerin (tahıllar, ceviz, mısır, badem vs. ) dışardan gelecek hasarlara karşı bozulmasını engellemektir. Aynı şekilde insan vücudunda mevcut olan yağlar da E vitamini tarafından korunur (31).

E vitamini ( $\alpha$  tokoferol) ultraviyole irradasyonu 295 nm de maksimum olarak absorbe eder. Böylece E vitamini UVB ışığını absorbe edebilir ve serbest radikal haline dönüşür (phenoxy radical).



Bu yolla E vitamininin phenoxyl radikali diğerk okside edici ajanların yokluğunda oluşabilir (26).

Topikal uygulamalarda E vitamininin deriye çok iyi nüfuz ederek, hücreleri etkin bir şekilde koruduğı görülmüştür. Doğal E vitamini türevlerinin dermatolojik ve toksikolojik standart metotlara göre deriye uygunluğu incelenmiş ve %2 ile %20 konsantrasyonlarında E vitamini ihtiva eden preparatların deriye uyumlu oldukları tesbit edilmiştir (31).

Deri bağdokusu %95 oranında kollejenden oluşur. Serbest radikallerin meydana getirdiğı hasarlar neticesinde, kollejen sertleşerek derinin gevşemesine, kırışmasına ve elastikiyetini kaybetmesine neden olur. E vitamini deride bağ dokularını içten ve dıştan koruyarak, derinin elastikiyetini kaybetmesini engelleyebilir (31).

#### **C.1.b2. Beta-Karoten**

A vitamininin major karotenoid prekürsörüdür. Singlet oksijenin en iyi tutucusudur, ayrıca lipid radikallerini de etkisiz kılabilir. Vitamin E ile sinerjizm gösterdiği bildirilmiştir (14).

#### **C.1.b3. C Vitamini (Askorbik Asit)**

Vücutta sentez edilmediğinden diyetle alınan bir vitamindir. Direk olarak hidroksil, süperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile reaksiyona girebilir. Ayrıca indirgenmiş antioksidan E vitamini formlarının tekrar üretimini sağlar. Geçiş metal iyonları varlığında ise serbest radikallerin üretimini de provoke edebilir (14).

#### **C.1.b4. Glutatyon**

Glutatyon; organizmanın tüm hücrelerinde bulunan, hücrenin protein yapısı dışındaki sülfhidril grubu içeriğinin %90 kadarını oluşturan bir tripeptiddir. Glutamik asid, sistein ve glisin amino asitlerinden γglutamil sistein sentetaz ve glutatyon sentetaz enzimleriyle oluşur (22).

Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan glutatyon hücrenin oksidoredüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı



oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Proteinlerdeki SH gruplarının korunması ve bazı reaksiyonlarda koenzim olarak görev almasının yanı sıra amino asitlerin transportundada rol oynar (1).

Serbest bir sülfhidril grubuna sahip olan GSH hücre içi bir sülfhidril tamponu olarak etkilidir ve hücreleri oksidatif ve toksik hasara karşı korur. Eritrositlerde bulunan GSH hemoglobinin sistein gruplarını ve diğer hücre proteinlerinin tiol gruplarını indirgen şekilde tutar. Böylece hemoglobini oksidasyondan koruyarak hücrenin bütünlüğünü sağlar (22).

Canlıların yaşayabilmesi için yüksek miktarda GSH ve düşük miktarda GSSG gereklidir. GSH oksidasyona karşı iki ana yolla korunma sağlar; Protein sülfidrilleri için substrat olarak girer ve protein sülfidrillerinin oksidasyonunu engeller. Ayrıca GSH protein sülfidrillerinin oksidasyon olayını tersine çevirebilir. Yüksek miktarda GSSG de protein sülfidrilleriyle reaksiyona girerek proteinleri inaktive edebilir. Gerekli olan GSH/GSSG oranı GR ve Glukoz -6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimleri tarafından sağlanır (14,21,22).

Glutasyonun memeli hücrelerindeki konsantrasyonu oldukça yüksektir. Bunun çoğu redükte formdadır. GSH sentezi temini sınırlı olabilen sistein'in mevcudiyetine bağlıdır. GSH'nin GSSG' ye oksidasyonunu takiben tekrar hızlıca NADPH bağlı GSSG, redüktazla geriye redükte olur. Eğer GSSG oluşum oranı çok fazla olursa ya da NADPH oranı sınır seviyeye gelirse o zaman GSSG'nin birikimi olur. Sonra bu plazma membranındaki GSSG'nin stümüle ettiği ATP-az ile hücreden dışarı atılır. Örneğin menadione oksidasyona sebep olur, sonra GSH (GSSG gibi) azalır. Bunu takiben hücre ölümüyle yakından ilişkili olan protein tiolleri azalır (20). Sitolik NADPH/NADP<sup>+</sup> oranını azaltan metabolik olaylar GSSG/GSH oranını artırarak hücreden GSSG dışarı akışının hızlanmasına yol açarlar (22)

GSH düzeyinin sürdürülmesinde biyosentezi, uptake, oksidasyonu ve GSSG'nin hücre dışına atılması işlemlerindeki denge önemlidir. Glutasyon glutasyon S-transferaz ve glutasyon redüktaz aracılığı ile genotoksik ve mutajen elektrofilik maddelerle konjugasyon reaksiyonuna girerek onların detoksifikasyonunda rol oynar (1). GSH çeşitli eksojen toksinlere karşı hücrenin korunmasında esastır. Primer görevi bu bileşiklerin birçoğunu detoksifiye etmektir. Hem nükleofil gibi hareket ederek

electrophilic bileşiklerle beraber konjugatlar oluşturur ya da hidroperoksidlerin, serbest radikallerin ve diğer okside edici ajanların metabolizmasında reduktan gibi hareket ederek bu bileşiklerin çoğunu detoksifiye eder. Son reaksiyon GSH'nin konak defansını ciddi bir şekilde tehlikeye atar. GSH'nin GSSG'ye oksitlenmesiyle sonuçlanır. GSH oksidasyonu; parasetamol, N-acetyl-p-benzoquinoneimine'nin (NABQI) reaktif metabolitleri gibi okside edici türlerle direkt olarak oluşur ya da glutatyon peroksidaz ile peroksidlerin ve tiol transferaz ile disülfidlerle karışmış proteinlerin detoksifikasyonuna bağlı olarak oluşur. Peroksidazın önemi selenyum eksikliğinde oluşan okside edici ajanlara hassasiyetinin artmasıdır. Böylece GSSG oluşma oranı serbest radikale bağlı oluşan oksidatif stresin göstergesi olarak ele alınabilir (20).

Ayrıca glutatyon OH• radikaline dönüşen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipid peroksidasyon ürünlerinden organik peroksidlerin tutulmasında görev alan antioksidan enzimi olan GSH-Px'in aktivitesi içinde gereklidir (1).

Nükleofilik bir yapıya sahip olan indirgenmiş glutatyon elektrophilik karakterdeki karbon atomları ve Zn, Cd, Hg, Cu, Pb gibi atomlarla kompleks oluşturarak ağır metallerin vucuttan atılmasına yardımcı olur (22).

Glutatyon bazı amino asitlerin hücre içine taşınmasında görev yapar. Bu sırada hücre membranından transloke olan glutatyon  $\gamma$  glutamil transferaz enzimi ile parçalanır. Özellikle böbrekte oluşan  $\gamma$  glutamil siklusu olarak tanımlanan bu reaksiyon zinciri sonunda GSH tekrar sentezlenir (22).

Glutatyon, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i lipid peroksitleeri, disülfidleri, askorbatı ve serbest radikalleri indirgeyebilir. Glutatyon'un peroksidlerle ve disülfidlerle reaksiyonu sonucu GSSG oluşur. GSSG konsantrasyonundaki artış oksidan sitresin bir göstergesidir. GSSG tiol içeren proteinlerin konformasyon ve aktivitesi üzerinde zararlı etkileri olan bir maddedir (22).

Glutatyon serbest radikallere karşı savunma sisteminde anahtar bileşendir. Konsantrasyonu ve efluks hızı radikal stresin bir indeksidir. Glutatyon, GST ve glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonların önemli bir kofaktörüdür (22).

Paraquat, nitrofurantoin ve t-butilhidroperoksid GSSG' nin hücre içi seviyesini arttıran maddelerdir. Okside GSH düzeyi konjugasyonla, karışık disülfid oluşumuyla ve safra yoluyla atılımla düzenlenebilir (22).

### **C.1.b5. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar**

Bazı durumlarda ürik asit, sistin, albümin, bilirubin, serüloplazmin, transferrin, laktoferrin ferritin, kreatinin ve katekol östrojenler gibi ufak moleküllerde serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar (14).

Ürik asit Hb'i peroksit oksidasyonundan korur. Bu özellikleri ile urat serbest radikal temizleyici olarak bilinir (22).

Seruloplazmin demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırarak ve hücre dışı süperoksit dismutaza benzer etkinlik göstererek, transferrin demiri, haptogloblin serbest Hb'i ve albümin ise bakırı bağlayarak antioksidan özellik gösterirler (22).

Proteinlerin sülfhidril gruplarının plazmanın antioksidan kapasitesine anlamlı katkıda buldukları ilei sürülmüştür. Ancak bu sülfhidril gruplarının oksidasyonu ise oksidatif hasar etkeni olarak kabul edilebilir (22).

Değişik hormonları yapılarındaki fenolik grup ile antioksidan etki göstererek karaciğer mikrozomal lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (22).

### **C.2. Eksojen Antioksidanlar**

A) Besinlerdeki doğal antioksidanlar; Vitamin A,C,E ve Beta-karoten

B) Besinlere eklenen antioksidanlar; Butylated hydroxytoluen, butylated hydroxyanisole, sodyum benzoat, etoksikuin, propil galate, Fe-süperoksit dismutaz.

C) Diğer antioksidanlar (farmakolojik); beta blokerler, kalsiyum antagonistleri, sülfidril içeren anjiotensin konverting enzyime inhibitörleri ve desferroksamin gibi (14).

## **D. ULTRAVİOLE RADYASYONU**

Güneş dünyanın en büyük enerji kaynağıdır. Güneş ışığı; x ve gamma ışınları, UVR, görülebilir ışık, infrared ışınları ve radyo dalgalarından oluşmaktadır (Tablo 2) (33). Ultraviyole (UV) spektrumu, ultraviyole A (UVA), UVB ve ultraviyole C (UVC)

olmak üzere üç grup ışıktan oluşur. UV, görülebilir ışınlar ve infrared ışınlarının dalga boyları arasındaki sınır kesin değildir (32).

**Tablo 2:** Elektromanyetik spektrumun bölümleri

Dalga boyu (nm)*	Dalga türü
1<	Xışınları
200-400	Ultraviyole
200-290	UVC
290-320	UVB
320-400	UVA
400-800	Görülebilir dalga boyları
800- 100 000	İnfrared
>100 000	Radyo dalgaları

\* Dalga boyunun ölçüm birimi nanometre (nm) olup,  $1\text{nm} = 10^{-9}\text{ m}$  dir.

Ultraviyole ve görülür ışık, elektromanyetik radyasyon spektrumunun küçük bir bölümünü oluşturur (33).

Ultraviyole ışığının dozu genellikle her bir alandaki enerji olarak belirtilir. Örneğin her santimetre kareye düşen joul gibi ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ) (34).

Deri; UV, görülebilir ve infrared ışınlardaki noniyonize elektromanyetik radyasyonun ana hedefi ve ışığa karşı primer bariyeridir (32). UV'nin özellikle 290-400 nm arasındaki dalga boyları deride klinik değişikliklere yolaçar (35).

Güneş ışınları atmosfer içinden geçerken ozon tabakası 290 nm'den kısa tüm dalga boylarını emer. Özellikle deri için zararlı bulunan kısa dalga boyundaki UV ışınları atmosfer tarafından absorbe edilmektedir. U nedenle UV ışınlarının enerji bakımından en zengin kısmı olan UVC yere yakın yerde yaklaşık %0 dır. Enerji yönünden en fakir olan UVA'nın %5,6'sı UVB'nin ise %0,5'i yeryüzüne ulaşmaktadır (32).

## E. DERİNİN YAPISI

Deri epidermis, dermis ve subkutan doku olarak 3 tabakaya ayrılır.

### E.1. Epidermis

Derinin en dış tabakası olan epidermisin temel görevlerinden biri kornifikasyondur. Epidermis öok katlı skuamöz epitelden oluşur. Epidermis sırasıyla stratum korneum, stratum granülozum, stratum spinozum, stratum bazale (germinativum) tabakalarına ayrılır. Malpighi tabakası terimi stratum bazale ve stratum spinozumu içerir. Avuç içi ve ayak tabanlarında stratum granülozum ve stratum korneum arasında beşinci bir tabaka olarak stratum lusidum yer alır (36,37).

Epidermis en ince deri katıdır. Kalınlığı göz kapklarında 0.04 mm, avuç içlerinde 1.6 mm olmakla birlikte ortalama kalınlığı 0,1 mm'dir. Genel olarak, epiermis hücrelerinin bazal tabakadan doğduğuna inanılırsa da, büyüyen hücrelerin %30'nun suprabazal olduğu ve bunların mitotik olarak aktif olduğu görülür (36,37).

Histolojik olarak epidermis en az 4 hücre tipinden oluşur. Epidermis hücrelerinin %95'i keratinositlerdir. Diğer hücreler en çoktan en aza doğru melanositler, langerhans hücreleri ve merkel hücreleridir (36).

Epidermis, periodik asit schiff boyası ile belirgin bir şekilde boyanan, ince bazal membran üzerine yerleşmiştir (36).

### E.2. Dermis

Dermis, epidermisin destekleyici tabakası olup, başlıca fibröz kısım (kollejen ve elastin) ile birlikte temel maddeden oluşmuştur. Dermisteki temel hücreler fibroblastlardır. Elastin, kollejen ve temel madde fibroblastlardan üretilirler. Dermisin içinde epidermal ekler, sinirler, damarlar ve çeşitli hücreler bulunur. Dermis iki bölümden oluşur;

1. Papiller dermis
2. Retiküler dermis

Papiller dermisin üzerinde epidermis, yanlarında epidermal uzantılar, altında ise yüzeyeldamar pleksusu ve retiküler dermis bulunur. Dermisin kalınlığı anatomik

bölgeye bağlı olmak üzere, epiderminin 15-40 katı olabilecek şekilde değişkenlik gösterir (36).

### **E.3. Subkutan Yağ Dokusu**

Subkutan yağ dokusunun (pannikulus), ısı düzenleyici ve mekanik travmalara karşı koruyucu fonksiyonları vardır. Pannikulus dermiş ile fascia arasında yer alır. Lipositler, lobül oluştururlar ve her lobül kan damarları, lenfatikler ve sinir içeren fibröz septumlar ile ayrılmıştır. Hücreler fazla miktarda yağ içerirler. Hücre içindeki yağ, nükleusu stoplazmik membrana doğru iterek sıkıştırır (36,38).

## **F. ULTRAVİYOLENİN DERİ İLE ETKİLEŞİMİ.**

Görülür ışık ve UV'nin yaklaşık %5'i deri yüzeyinden yansıtılır. İyonize olmayan radyasyon deriye ulaştığında bir bölümü yansırken, bir kısmı emilir. 300 nm'nin altındaki UV büyük ölçüde epidermiste, özellikle urokanic asit, DNA, RNA, triptofan, tirozin ve melanin tarafından emilir. 300 nm üzerindeki UV'nin ise bir kısmı kollejen liflerden yansır, bir kısmı da kandaki hemoglobin, dokudaki bilirubin ve yağ dokusundaki beta-karoten tarafından emilir (33). UV etkisiyle oluşan ışık ürünleri, iyon akımlarının çoğalması, DNA replikasyonu, enzimlerin uyarılması veya etkisiz hale getirilmesi gibi çeşitli biyokimyasal olaylardan sorumludur. Bu olaylar sonucunda hücreler proliferasyona ve mutasyona uğrar, hücre yüzey işaretleri değişir, DNA'da hasar meydana gelir (35). Ultraviyole etkisiyle deride serbest radikal oluşumunun da arttığı bilinmektedir (11).

UVR' nin biyolojik etkinliği dalga boyuna bağlıdır. Dalga boyu küçüldükçe tahribat gücü artar. Dalga boyu 300 nm olan UV'nin tahribat etkisi dalga boyu 310 nm olandan 1000 kez ve dalga boyu 320 nm olan dan 10 000 kez daha fazladır (39).

UVR'nin yaşayan sistemler üzerine tahrip edici etkisi UVB'nin canlıların yapı taşları tarafından absorblanması ve bu karşılıklı etkileşim sonucu moleküllerin yapısal değişikliklere uğramasına (foto reaksiyon) bağlıdır (39).

Genetik bilgiyi taşıyan DNA, UVR'ye bağlı olarak gelişen hasardan en çok etkilenen yapıdır (39). Biyolojik etki yönünden DNA absorpsiyon etki spektrumu çok önemlidir. Absorpsiyon maksimum 260 nm'dedir. Kısa dalga boyunda UVR ile oluşan foto reaksiyonlar, nükleik asitler, proteinler ve lipidler açısından önemlidir. UVR

etkisiyle membran lipidlerinin fotokimyasal reaksiyonları sonucu hücre membranları zarar görebilirler. Alınan doza bağlı olarak UVR özellikle gözde, eri ve immün sistemde değişikliklere neden olmaktadır (39).

UVB ışınlarının büyük bir kısmı stratum korneum ve melanin tarafından tutulur. Deri yüzeyine gelen UVB ışınlarının %10 kadarı deri içine ulaşır. Dermis ve epidermis hücre harabiyetine neden olur. Bu dalga boyu, epidermal hücrelerde bazı maddelerin oluşumunu uyararak (örneğin büyüme faktörü alfa) derinin yaşlanmasına neden olur. Non-melanom deri kanserlerine yol açan ışınlardır. Uzun dalga boyulu olanlar ise (UVA) derinin daha derinlerine kadar ulaşabilirler. Doğrudan fibroblastları etkileyebilirler. Elastin ve kollejen yapısında yol açtıkları değişiklikler nedeniyle derinin erken yaşlanmasına yol açarlar. Melanom tipi deri kanseri oluşumunda çok etkili olurlar (40,41)

UVR'nin deri üzerine olumsuz etkileri başlıca iki mekanizma ile gerçekleşmektedir.

1. Kromozomal hasar.
2. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile membranların bozulması.

UVR'nin zararlı etkilerine karşı derinin savunma sistemleri ise;

1. Epidermis özellikle de stratum korneumun kalınlığının artması
2. Melanositik aktivite artışı ile serbest radikaller inaktive edilmeye çalışılması

Ancak feomelanin koruyucu olmaktan çok morötesi ışınlar ile agresif moleküller oluşturabilir.

3. DNA tamir mekanizmaları.
4. Antioksidan enzimler (süperoksid dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi).
5. Bu savunma sistemleri UVR'nin zararlı etkilerine karşı koruyuculuk sağlasa da kişisel tolerans sınırlarının aşılması çok zor değildir (40).

## **G.DERİDE SERBEST RADİKALLERİN ÖNEMİ**

Son yıllarda birçok dermatolojik hastalığın patogeneğinde serbest radikallerin rol oynadıklarına dair kanıtlar mevcuttur (14,42). Doku zedelenmesi sürecine ortaya

ıkan değişiklikler bu reaktif moleküller tarafından oluşturulurlar. Yapılan araştırmalar bu değişikliklerin çoğunun, hasarın sebebi olmaktan ziyade sonucu olduğunu göstermektedir (14,42).

Deri çok sayıda çevresel faktörden özellikle de UV ışınlarından etkilenir. UV ışınları, ozon ve çevresel zararlı etkiler ROS oluşumu aracılığı ile kümülatif hasara yol açarlar. UVR'nin serbest radikal üretimini uyarması ve antioksidan enzimleri azaltarak etkili olduğu düşünölmektedir. ROS deri kanseri oluşumunda inflemasyonda ve fotoyaşlanmada rol oynar. ROS kutanöz inflemasyonu uyardığı gibi kutanöz inflemasyonda ROS oluşumunu artırır. Nötrofiller, inflemasyon alanında çok miktarda ROS salımına neden olarak dokuda oksidatif hasar oluştururlar. Bu yoğun ROS oluşumu kutanöz vaskülit, Behçet hastalığı, akne rozaseve psoriasis gibi çok sayıda nötrofillerle ilişkili hastalıklarla ilgili olabilir (42).

İnflematuar kaynaklı serbest radikallerin oluşturduğu hasardan en çok etkilenen ekstrasellöler doku komponentleri kollejen ve hiyaluronik asittir. Kollejen, süperoksit radikalinin jelasyonu engellemesi sonucu harap olur. Süperoksit dismutaz, kollejeni süperoksit radikalini jelasyonu inhibe edici etkilerinden korur. Deride serbest radikal etkisi ile ilgili diğer bir yapı da melanindir. Melaninin serbest radikal tutucu özelliği vardır. Yaşla birlikte pigment hücrelerinin sayısının azalmasına bağlı olarak, melaninin serbest oksijen radikallerini tutma özelliğide azdır. Böylece ileri yaşlanma ve deri kanserlerine karşı korunma azalır (42).

Serbest radikal hasarı dokularda direkt olarak tayin edilememektedir. Serbest radikallerin yarı ömürlerinin çok kısa olması bunların doku komponentleri ve biyomoleküllerle hızla reaksiyona girmeleri nedeniyle dokulardaki etkilerini yansıtan parametreler indirekt olarak saptanabilir. Bu nedenle dokularda oksidatif hasarın ön ürünlerinden çok, dokularda indirekt olarak antioksidan enzimlerin tayini yapılabilmektedir (14,42).



## **H. ULTRAVİOLENİN DERİDEKİ AKUT VE KRONİK ETKİLERİ**

### **H.1. Akut Etkileri**

#### **H.1.a. Güneş yanığı reaksiyonu**

Güneş yanığı UVR'ye maruz kaldıktan sonra ortaya çıkan derinin akut, gecikmiş ve geçici inflamatuvar cevabıdır (43). İnflamasyon; lokal ısı artışı, kızarıklık, ağrı, ödem ve fonksiyon kaybı gibi klinik bulgularla kendini gösterir. İnflamasyonun şiddeti UV dozuna, maruz kalma süresine ve deri tiplerine bağlı olarak değişir. Farklı dalga boyları kalitatif ve kantitatif olarak değişik etkiler yaratır. UVC ve UVB hem epidermal hem de dermal değişiklikler yaptığı halde UVA sadece dermal değişikliklere neden olur. UVB'ye bağlı eritem insanlarda UV'ye maruz kaldıktan bir kaç saat sonra başlar, 12-24 saat sonra en üst seviyeye ulaşır. Minimum eritem dozu (MED) deride belirgin eriteme neden olan en küçük UV dozu olup, belirli bir birim alana düşen enerjidir.  $mJ/cm^2$  veya  $J/cm^2$  olarak belirtilir. MED'in 4-8 katı UV daha hızlı ve uzun süren bir inflamasyona sebep olur. Eritem genellikle bir kaç gün içinde hafif pikmentasyon ve deskuamasyonla kaybolur. Farklı spektrumlardaki dalga boylarında eritemin doz cevap ilişkisi farklıdır. Örneğin bir MED dozundaki UVC soluk pembe renkte ve daha kısa süreli olan bir eritem oluşturur. UVC dozu yüz kat artırılrsa bile eritem aynı ölçüde artmaz. Hafif bir artış ve kepek görülür. UVB daha kırmızı ve uzun süren eriteme, UVA koyu kırmızı ve genelde hemen ortaya çıkan ve günlerce devam eden bir eriteme neden olur. Bir MED UVA veya UVB eritemi çok daha koyudur 6-8 kat artırılan MED çok şiddetli ve uzun süreli eriteme hatta bül oluşumuna neden olur. UVA ve UVB birlikte verildiği zaman dalga boyları farklı olduğu halde etkileri birbirine eklenir (33,34).

UVB etkisiyle oluşan eritem UVA'dakinden çok daha şiddetlidir. UVA ve UVB'nin neden olduğu eritemin oluşmasında histamin, serotonin, prostoglandinler gibi mast hücrelerinden salınan mediatörlerin yanı sıra lizozomal enzimler, kininler ve stokinlerde eritem cevabını ortaya çıkarırlar. Ayrıca interlökinler de inflamatuvar yanıtta önemli rol alır. Eritemin nedeni prostoglandinlerin etkisiyle dermal damarların genişlemesidir (33,35,44).

Güneş yanığının histojik bulguları özellikle epidermiste izlenir. İlk mikroskopik değişiklikler 30 dakika sonra ortaya çıkar. Karakteristik bulgusu piknotik

nüveli, eozinofilik boyanan, diskeratotik hücreler olan güneş yanığı hücreleridir. Stoplazmaları boş izlenimini veren bu hücreler kümeler halinde spinal tabakada bulunurlar (35,44). Güneş yanığı hücreleri UVB, UVC radyasyonundan sonra olur. Fakat deri furocoumarinle fotosensitize edilmedikçe UVA dan sonra oluşmaz. Bazal tabaka hücrelerinde vakualizasyon vardır. Şiddetli güneş yanığında epidermal hücre nekrozu ve bu alanlarda vezikül oluşumu göze çarpar. Dermiste seyrek mononükleer yada yuvarlak hücre infiltrasyonu görülür. Nötrofiller de görülür fakat daha az belirgindir. Üst dermiste vaza dilatasyon bulunur(35,45). Bunun yanısıra langerhans hücrelerinde azalma, yüzey antijenlerinde kayıp ve düşük ATP-az aktivitesi görülür. Dermiste UVB ışınlanmasından sonra mast hücrelerinde azalma, yüzeyel kan damarlarında endotel şişmesi, kısmı tıkanma ve peri venüler ödem görülür. UVB nin neden olduğu inflamasyonda nötrofiller ve monositler bulunmakla beraber T lenfosit hakimiyeti vardır (44).

#### **H.1.b. Erken Pikmentasyon**

Erken Pikmentasyon 20-120kJ/m<sup>2</sup> civarındaki UVA ya da kısa dalga boylu görülür ışık radyasyonundan sonra dakikalar içinde oluşan bronzlaşmadır. Birkaç saat kadar devam eder. Bu muhtemelen melaninin ve foto-oksidatif koyulaşmasının ve melanositlerden keratinositlere taşınmasının sonucudur (33,44).

#### **H.1.c. Geç Bronzlaşma**

UVB' ye maruz kaldıktan 72 saat sonra, daha uzun dalga boyunda daha erken başlayan ve melanin sentezi ile karakterize uzun süre devam eden pigmentasyon görülür. UV'ye bir kez maruz kalmakla melanositlerin aktivitesi artarken tekrarlayan maruziyet melanositlerin sayısında artışa neden olmaktadır. Melanositlerde tirozinaz aktivitesinde artışının yanısıra dentritik uzantılarda dallanmalar görülür. Melanazomların sayısı ve büyüklükleride artar. 340-400 nm arasındaki UVA (UVA<sub>I</sub>) bazal tabakadaki melanini arttırır. 320-340 nm arasındaki (UVA<sub>II</sub>) ise melanozomların transferini artırır. Bu yönden UVA<sub>I</sub> ile UVB'nin pikmentasyon yapıcı etkileri benzerlik gösterir. UVA'ya bağlı bronzlaşma vasküler harabiyet ve inflamasyona karşı koruyucu rol oynar (33,44)

### **H.1.d. Hiperplazi**

Deri hiperpilazisi, UVB ve UVC den sonra oluşur ve 2 ay kadar devam eder. Genellikle UVA radyasyonundan sonra oluşmaz. Kısa başlangıç inaktivasyon periyodunu takiben normalin yaklaşık yedi katı kadar artan mitoz oranıyla birlikte DNA, RNA ve protein sentezinde belirgin artış görülür. Mitoz artışı birkaç gün devam eder. Epidermis ve dermis kalınlığı artar. Deri kalınlığının özellikle stratum korneumun kalınlığının artması UV' nin zararlarına karşı önemli bir koruma sağlar. Bu etki UV kesildikten sonra bir kaç hafta devam eder. Hiperplaziye sebep olan stimulus bilinmemesine karşın hücrel hasara bağlı olabilir (33).

### **H.1.e. D Vitamini Sentezi**

İki aşamalı olarak gerçekleşir. UVB irradiasyonu orta dozlarda en etkilidir. Önce epidermiste bulunan 7-dehydrocholesterol dalga boyu 320 nm den daha kısa olan UV ışınları tarafından absorbe edilir ve previtamin D<sub>3</sub>' e dönüşür. Bu reaksiyon epidermin bütün katlarında olmakla beraber en yüksek konsantrasyon bazal tabaka ve stratum spinosumda bulunur. İkinci aşamada termal izomerizasyon ile previtamin D<sub>3</sub> vitamini dönüşür, kapillerlerde proteine bağlanır. Previtamin D<sub>3</sub> aynı zamanda UVR absorbe ederek iki foto-ürün oluşturur. Bu foto ürünler lumisterol ve tachysterol'dür. Bu yan ürünler vitamin D toksitesine karşı koruyucu rol oynarlar (33,44)

## **H.2. Geç Etkileri**

### **H.2.a. Pseudoporphyria**

Özellikle açık tenlilerde düzenli olarak derinin özellikle UVA'ya maruz kalması sonucunda bir kaç aydan fazla süren hepatik porfiriyalara benzer şekilde deride bülleşme ve fragilite görülebilir (33). Klinik tablo geriye dönüşümlüdür (33).

### **C.2.b. Fotoyaşlanma**

Kronik yaşlanmadan tamamen farklı bir olaydır. Tekrarlayan uzun süreli UVR' ye maruz kalmayı takiben muhtemelen DNA da birikici hasar nedeniyle kutanöz yapı ve fonksiyonlarda tedrici bozulma olur. Epidermis muhtemelen başlıca UVB' den, dermis ise UVB ve UVA ile etkilenir. Fotoyaşlanma da klinik olarak kuru, gevşek,

elastikiyetini yitirmiş, derin kırışıklıklarla kaplı, benekli pigmantasyon, purpura, kolay çürüme ve atrofilerle kendini gösteren bir cilt görülür. Fotoyaşlanmanın en karakteristik histopatolojik görüntüsü elastozdur. Dejeneratif elastik doku üst dermisde yoğun bir şekilde birikir. Kollejende etkilenir, tip III kollejen artar (33,44)

### **H.2.c. Fotokarsinogenezis**

Fotokarsinogenezisde hem UVA hem de UVB rol oynamaktadır. Lentigo malign melanom hariç diğer melanomların ve skuamöz hücreli karsinomunun etiolojisinde çocukluk çağlarında olan güneş yanıkları ile daha sonraki yaşamda aralıklı olarak yüksek dozda UV ışınlarına maruz kalmak büyük önem taşır. Mesleki nedenlerle uzun süre UV'ye maruz kalanlarda epidermal kalınlığın artışı ve sürekli bronzlaşma melanomaya karşı fotokorunmayı sağlamaktadır. UVB UVA dan daha karsinojeniktir. UVA daha çok fotoyaşlanma potansiyeli taşımaktadır. Tip I ve tip II gibi ışığa duyarlı deri tiplerinde kanser eğilimi çok daha fazladır (33,44). UVR muhtemelen tümörle ilişkili antijenlerin (tumor associated antijens-TAA) belirmesi ile kratinositlerin malign fenotiplere dönüşümünü başlatır. Ayrıca epidermal antijen sunma fonksiyonlarında immünitinin başlaması ile tolerans / süpresyonun başlaması arasındaki dengeyi bozarak değişikliklere neden olur. Belli TAA, henüz başlamakta olan tümörün immünolojik yıkımını önleyen T<sub>s</sub> hücrelerinin oluşması için sunulur (46).

## **I. ULTRAVİYOLE RADYASYONUNA BAĞLI HASTALIKLAR**

Ultraviyole radyasyonuna bağlı hastalıklar; solar radyasyona karşı anormal reaksiyonlar ve solar hasarın indüklediği deri değişiklikleri olarak iki başlık altında sınıflandırılabilir (Tablo: 3,4) (47).

**Tablo 3:** Solar radyasyona karşı gelişen anormal reaksiyonlar

Normal kişilerde	Güneş yanığı reaksiyonlar Erken pigmentasyon Geç pigmentasyon
Dejeneratif ve neoplastik reaksiyonlar	Aktinik hasar Aktinik keratoz Bazal hücreli karsinom Skvamöz hücreli karsinom Malign melanom
İdiopatik reaksiyonlar	Polimorf ışık erüpsiyonu Hidroa aestivale Hidroa vaksiniforme Solar ürtiker
Fotosensitivite	Fototoksik reaksiyonlar Fotoallerji İlaç erüpsiyonları
Işığın alevlendirdiği hastalıklar	Akne Darier hastalığı Dermatomyozit Diskoid lupus eritamatozis Hailey-Hailey hastalığı Herpes simpleks labialis Aktinik liken planus Lenfoganüloma venerum Pemfigus foliaceus Psoriazis Rozase

**Tablo 4:** Solar hasarın indüklediği deri değişiklikleri

Yapısal değişiklikler	Solar elastoz Deri atrofisi Kırışıklık
Pigmentasyon değişiklikleri	Efelid Lentigo Guttat hipomelanozis Kahverengi ve beyaz pigmentasyon Civate'nin Poikiloderması
Vasküler değişiklikler	Diffüz eritem Ekimoz Telenjektazi Venöz göllenme
Papüler değişiklikler	Nevüsler Sarı papüller (solar elastoz) Seboreik keratoz Favre-Racouchot sendromu

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 1998 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fırat Tıp Merkezi Dermatoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

#### A. Hayvan Çalışması

Çalışmaya, ağırlıkları 312-434 gr arasında değişen 56 albino kobay (guinea pig) alındı. Kobaylar Veteriner Araştırma ve Kontrol Enstitüsü Viroloji Bölümünden temin edildi. Kobaylar çalışma süresince standart olarak beslendi. Çalışmada kullanılacak sarf malzemeleri, Fırat Üniversitesi Araştırma Fonu (FÜNAF) tarafından tarafından temin edildi.

Kobaylara 50 mg/kg olmak üzere ketamin hidroklorid (Ketalar 10 ml flakon, Eczacıbaşı) ile intramüsküler olarak anestezi uygulandı. Sonra sırt bölgeleri ortalama 35 cm<sup>2</sup> olacak şekilde tıraşlandı (Resim 1).

Resim 1: Kobaylara anestezi verildikten sonra sırt bölgeleri yaklaşık 35 cm<sup>2</sup> olacak şekilde tıraşlandı.

Kobaylara UVB radyasyonunu, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilimdalı'na ait olan PUVA ve fototerapi cihazı (Dermaligt 6000.Dr Hönle, Germany) ile verildi. Cihazda UVA ve UVB ışıkları tek tip ampul kullanılarak, filtre

kapakları ile elde edilmektedir. PUVA ve fototerapi cihazının gücü 6200 watt'lıktır. İçerisinde 15 adet 400 watt'lık yüksek basınçlı metal halojen ampuller bulunmaktadır.

UV verilen kobaylar zemininde yem vs hiçbir şey bulunmayan plastik kaplar içine dördü beşli gruplar halinde konuldu. Her seferinde bir kap PUVA ve fototerapi cihaz içine yerleştirildi. UV bir kez olacak şekilde 0.9 joule/cm<sup>2</sup> dozunda UVB verildi. UVB verme süresi yaklaşık 30 saniye kadar sürdü.

E vitamini olarak ortalama 8 mg/ cm<sup>2</sup> olacak şekilde topikal olarak  $\alpha$  tokoferol asetat (Ephynal 300; yumuşak jelatin kapsül Roche) uygulandı. Kapsüller bir ucundan iğne ile delinerek traşlanmış deri üzerine iyice boşalacak şekilde sıkıldı ve parmakla düzenli bir şekilde deri üzerine yayıldı.

Hayvanlar herbiri 8 kobaydan oluşan 7 gruba ayrıldı.

**KONTROL GRUBU:** Kobaylar traşlamadan sonra hiç bir işleme tabi tutulmadan giotinle dekapitasyonla öldürüldü.

**UV+24h GRUBU:** Kobaylar UVB verildikten 24 saat sonra dekapitasyonla öldürüldü.

**UV+48h GRUBU:** Kobaylar UVB verildikten 48 saat sonra dekapitasyonla öldürüldü.

**UV+ Evit+ 24h GRUBU:** Kobaylar UVB verildikten hemen sonra (ortalama 1 saat sonra) tek doz topikal olarak E vitamini asetat uygulandı. Kobaylar UVB verildikten 24 saat sonra dekapitasyonla öldürüldü.

**UV+ Evit+ 48h GRUBU:** Kobaylar UVB verildikten hemen sonra (ortalama 1 saat sonra) tek doz topikal olarak E vitamini asetat uygulandı. Kobaylar UVB verildikten 48 saat sonra dekapitasyonla öldürüldü.

**UV+3hf Evit+ 24h GRUBU:** Kobaylara önce 3 hafta süre ile günde bir kez E vitamini asetat uygulayıp, en son uygulanan topikal E vitamini asetat 24 saat sonra UVB verildi. UVB radyasyonundan 24 saat sonra kobaylar dekapite edildi.

**UV+3hf Evit+ 48h GRUBU:** Kobaylara önce 3 hafta süre ile günde bir kez E vitamini asetat uygulayıp, en son uygulanan topikal E vitamini asetat 24 saat sonra UVB verildi. UVB radyasyonundan 48 saat sonra kobaylar dekapite edildi.



Dekapitasyon işlemi ile kan, karaciğer ve deri örneklerini alma işlemleri Fırat Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalına ait olan laboratuarda yapıldı.

Dekapite edilen tüm koyalardan kan, karaciğer ve deri örnekleri alındı. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere yaklaşık 6cc olacak şekilde, karaciğer ve deri ise 1 gr doku olacak şekilde örnekleri alınarak petri kutularına konuldu ve vakit kaybetmeden enzimlerin çalışılması için Veteriner Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarına ulaştırıldı.

Alınan deri, kan, karaciğer örneklerinden GSHPx, GSH ve lipid peroksidaz düzeylerinin belirlenmesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında, SOD ise Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı.

## **B. Kimyasal maddelerin belirlenmesi**

Tiobarbituric asitle (TBA) reaksiyona giren poliansature yağ asit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA Matkovics tarafından modifiye edilen Placer metodu ile belirlendi (48,49). MDA birimi ( nmol/ml plazma).

Redükte glutasyon oranları Sedlak ve Lindsay (50) metotları ile ölçüldü. Glutasyon peroksidaz aktivitesi Lawrence ve Burk (51) ve Matkovics'in (48) kullandığı metodlar spektrofotometrik (Schimadzu 2R/ UV) olarak 37°C ve 412 nm de ölçüldü. Plazma protein oranı Lowry (52) metodu ile ölçüldü.

Kullanılan aletler

1. Schimatsu UV-1201 tip photometer (Japan)
2. Ultra-Turrax T25 Homojenizatör ( Janke ve Kunkel- IKA Labortechnik, Germany )
3. Vibrofix VF1 electronic Vortex mikser ( Janke ve Kunkel- IKA Labortechnik, Germany)
4. Janetzki T32c tip satrifüj (Germany)
5. Sauter terazi (Germany)

### **B.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması**

Karaciğer ve deri örnekleri ayrı ayrı 1 'er gr alındı. Dokular serum fizyolojikle yıkandı. 1/10 oranında redistile su ile dilüe edildi ve -70 °C' de donduruldu. Donmuş

doku homojenizatör ile (Ultra-Turrax T25, Janke ve Kunkel- IKA Labortechnik, Germany ) parçalanarak doku homojenatları hazırlandı.

### **B.2. Plazma Ve Eritrositlerin Hazırlanması**

Dekapitasyonla iki ayrı EDTA'lı tüpe toplam 6 cc kan alındı. Oda sıcaklığında yarım saat bekletildikten sonra 3500-4000 rpm'de 20 dk çevrilerek eritrositlerden ayrılan plazma -70°C de saklandı. Analizden önce oda ısısına gelinceye kadar bekletildi.

Plazma ayrıldıktan sonra eritrositler hacimlerinin 1:5 katı kadar serum fizyolojik (9 gr/L NaCl çözeltisi) ile karıştırıldıktan sonra 3500-4000 rpm'de 10 dk çevrildi. Üstte kalan sıvı atıldı. 1/10 oranında saf su ile sulandırıldı. Bu şekilde üç kez yıkanan eritrositler -70°C de analiz gününe kadar saklandı. Elde edilen numunenin en geç bir ay içinde çalışılmasına özen gösterildi.

### **B.3. Plazma ve Eritrosit MDA Tayini**

Prensip: MDA lipid peroksidasyonununsekonder bir ürünü olup, lipitlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. MDA aerobik şartlarda PH: 2-3,4 de ½ oranında TBA ile -95 °C de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşur. Pembe renkli kompleksin 532 nm' de spektrofotometrik analizi ile MDA miktarı saptanır.

#### **Çözeltiler**

- 1- % 15 triklor asetik asit TCA (w/v)
- 2- % 0.375'lik TBA(w/v)
- 3- 0.25 N Hidroklorik asit HCl

#### **Analiz**

0,25 ml plazma veya eritrosit, 2,25 ml asit ayırıcı ile (%15 TCA, %0,375 TBA, 0,25 N HCl içeren ) karıştırılarak 100°Cde 15 dk kaynatıldı.

Kaynatma sonunda oda ısısında bir süre soğuması beklendi. Aynı işlem kör tüpü içinde tekrarlandı. Farklı olarak kör tüpüne 0,25 ml plazma veya eritrosit yerine

0,25 distile su ilave edildi. Tüpler daha sonra 3500-4000 rpm' de 10 dk santrifüjlenerek üstteki berrak fazın absorbansı 532 nm'de spektrofotometrede ölçüldü.

#### **B.4. Protein Taini**

Lowry metodu, biyolojik örneklerde düşük düzeyde bulunan proteinlerin kantitatif ölçümü için basitleştirilmiş bir metoddur (52).

#### **Ayraçlar**

Alkali Bakır Ayıracı: 10 gr sodyum karbonat 0.1 gr potasyum tartarat ve 0,05 gr bakır sülfat, 0,5 N NaOH (2 gr 100 ml de ) içinde çözülür. Ve 100 ml ye tamamlanır.

Fenol Ayıracı: Günlük olarak hazırlanan 2 N'lik Folin Ciocalreau phenol ayıracından 3,75 ml alınır. Distile su ile 67,5 ml 'ye tamamlanır ( veya 2,5 ml alınır 45 ml'ye tamamlanır).

Standart protein. 50 µgr BSA(sığır serum albumini)/ml

METOD:

	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>Örnek</u>
Protein örneği	—	—	1ml
Protein st	—	1ml	—
Distile su	1ml	—	—
Alkali bakır ayıracı	1ml	1ml	1ml

İyice karıştırılır ve oda ısısında 10 dakika bekletilir. Daha sonra, her birine 4 ml fenol ayıracı eklenip iyice karıştırılır ve 55°C de 5 dk bekletilir. Soğutulur ve 650 nm de okunur.

Hesaplama µgr/ml= [Örnek Abs/ St. Abs(0. 125)] x 50

#### **B.5. Eritrosit ve Deride GSH Tayini**

Prensip: Glutatyondaki sülfhidril gruplarının 5.5'-ditiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile oluşturduğu sarı renkli bileşiğin 412 nm'de absorbansının spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır.

### Çözeltiler

1. Çöktürme çözeltisi: (%10 TCA): 10 gr Trichloroaseticacid alındı. 100 ml saf suda eritilerek hazırlandı.

2. Çözelti Trisbuffer (0.4 M pH: 8,9): 48,46 gr tris-hydroxymethylaminomethane alındı. 1000 ml redistile suda eritilerek HCL ile pH sı 8,9' a ayarlandı.

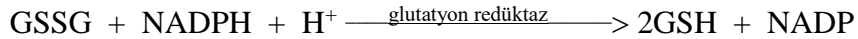
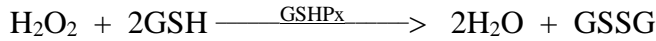
3. DTNB çözeltisi: 40 mg 5.5 ditiobis 82-nitrobenzoik asid) 100 ml % 1'lik sodyum sitritçözeltisi içinde çözülür.

### Analiz

0.1 ml örnek alındı üzerine 0,4 ml TCA solüsyonu konuldu. Vortex mikserde 20 saniye karıştırıldı, 5 dakika 2500 rpm de santrifüj edildi. Üzerinden 0.5 ml süpernatant ayrı bir tüpe alındı. Üzerine 0.9 ml redistile su 2.0 ml trisbuffer ve 0.1 ml DTNB ilave edilerek karıştırıldı. Oda ısısında 5 dakika bekletildi. 412 nm de redistile suya karşı absorbansları belirlendi.

### B.6. Eritrosit ve deride GSHPx Tayini

Prensip: GSHPx reaksiyonu sırasında oluşan oksitlenmiş GSH'un glutatyon redüktaz yardımı ile indirgenmesi ve reaksiyon sırasında NADPH kullanılması prensibine dayanır.



### Çözeltiler

Reaksiyon karışımı

- 50 mMol/L Tris tamponu (pH= 7.6)
- 1mmol Na<sub>2</sub>EDTA
- 2 m mol GSH
- 4 m mol Sodyum Asid
- 1000 U glutatyon redüktaz

$$U/L = \frac{\Delta A / \min \times V_t \times 10^6 \text{ (}\mu\text{mol/mol)}}{\epsilon \times V_s \times P}$$

$\Delta A_{\min}$  = Dakikadaki absorbans değişimi

$V_t$  = Total reaksiyon hacmi

$V_s$  = Serum hacmi

$I$  = Kuvvet genişliği

$\epsilon$  = Ekstinksiyon katsayısı

### **Analiz**

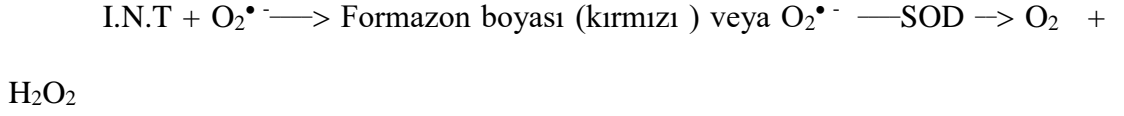
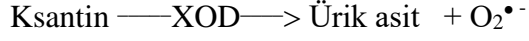
Eritrositler distile su ile hemoliz edildikten sonra gece bozdolabında saklandı ve ertesi gün çözdürüldü. Hücre kalıntılarını uzaklaştırmak üzere santrifüjlendikten sonra, hemolizat Dramkin's ayıracı ile dilüe edildi. 20  $\mu$ l hemolizat 980  $\mu$ l reaksiyon karışımı ile karıştırıldıktan sonra 5 dk 37°C de inkübe edildi. 10  $\mu$ l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilavesi ile reaksiyon başlatıldı ve NADPH'daki azalma 340nm' de spektrofotometrik olarak izlendi. Kör olarak hemolizat yerine distile su içeren karışım kullanıldı. ( $\epsilon = 6.22 \times 10^3$  lt/mol x cm).

### **B.7. Eritrosid ve deride SOD Tayini**

Eritrosit ve deride SOD enzim aktivitesi, Randox firmasının ticari kiti (Ransod; Diamond Rood, Crumin. UK) ile Shimadzu UV-1201 V spektrofotometresi kullanılarak ölçüldü.

Prensip: SOD, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), p- iyodonitrotetrazolium violet (I.N.T.) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksiti ortamdan uzaklaştırarak formazon reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin

şiddeti SOD aktivitesinin büyüklüğü ile ters orantılıdır. Kırmızı renkte azalmanın belirlenmesiyle SOD aktivitesi ölçülür.



### Ayırıcılar

1. Substrat karışımı: Ksantin (0.05 mmol/L), I.N.T. (0.025 mmol/L)
2. CAPS Tamponu: EDTA (0.94 mmol/L), CAPS (50. mmol/L)
3. Ksantin Oksidaz: (80Ü/L)
4. 0,01 M Fosfat Tamponu (pH: 7.0)
5. Standart

### SOD İçin Örneğin Hazırlanması:

Yukarda belirttiğimiz şekilde hazırlanan homojenizat 0.01 M fosfat tamponu (pH:7.0) ile seyreltilerek yüzde inhibisyon %30-60 arasına düşürülür.

### Yöntem:

	<u>Çalışmakörü</u>	<u>Standart</u>	<u>SeyrelmişÖrnek</u>
<b>Seyrelmiş örnek (ml)</b>	-	-	0.05
<b>Standart (ml)</b>	-	0.05	-
<b>Fosfat tamponu (ml)</b>	0.05	-	-
<b>Substrat karışımı (ml)</b>	1.7	1.7	1.7
Küvetler iyice karıştırılır			
<b>Ksantin oksidaz (ml)</b>	0.25	0.25	0.25

Tekrar karıştırıldıktan sonra 30 saniye sonra çalışma körünün, standardın ve örneğin 37° C ce 505 nm’de havaya karşı başlangıç absorbansları (A1) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A2) tekrar okunur.

### Yorum ve Hesaplama:

Çalışma körüne ait değer inhibisyona uğramış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri % 100 olarak alınır. Tüm standart ve örnekler için % inhibisyon değeri ise bunlara ait değerlerin çalışma körüyle oranlanarak 100’den çıkarılması sonucu hesaplanır.

$$\begin{aligned} \text{A/ dakika} &= \frac{A2-A1}{3 \text{ dakika}} \\ \text{Std. \% inhibisyon} &= 100 - \frac{A_{\text{std. / dak}}}{A_{\text{Çalışma körü/dak.}}} \times 100 \\ \text{Örn. \% inhibisyon} &= 100 - \frac{A_{\text{Örnek / dak.}}}{A_{\text{Çalışma körü/ dak.}}} \times 100 \end{aligned}$$

Standart hazırlama tablosunda verilen tüm standart derişimleri, ayrı ayrı çalışarak yüzde inhibisyon değerleri hesaplanır. X eksenine standart SOD derişimleri (Ü/ ml), Y eksenine standartlara ait % inhibisyon değerleri yerleştirilirse SOD’un % inhibisyon - konsantrasyon eğrisi elde edilir.

Daha sonra X eksenine standart SOD derişimlerinin (Ü/ ml) logaritmik dönüşüm değerleri , Y eksenine standartlara ait % inhibisyon değerleri yerleştirilerek bir standart eğri grafiği çizilir.

Örneğe ait hesaplanan % inhibisyon değerlerine karşılık gelen SOD değeri ise eğri kullanılarak bulunur. Eritrosit SOD aktivitesi (Ü/ml), eğride bulunan bu değer

seyreltme faktörüyle çarpımı sonucu elde edilir. SOD aktivitesinin Ü/ gHb biçiminde belirtilmesi ise aşağıdaki şekilde hesaplanarak bulunur.

$$\text{SOD aktivitesi}(\ddot{U}/ \text{gHb}) = \frac{\text{Örneğin SOD aktivitesi} (\ddot{U}/\text{ml})}{\text{Hb Değeri} (\text{g/ml})}$$

### **C. Bulguların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler**

Gruplar arasında anlamlılığın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Alt test olarak LSD testi kullanıldı. Tüm istatistiksel değerlendirmeler SPSS istatistik programında yapılarak anlamlılık düzeyi  $P < 0,05$  olarak alındı.



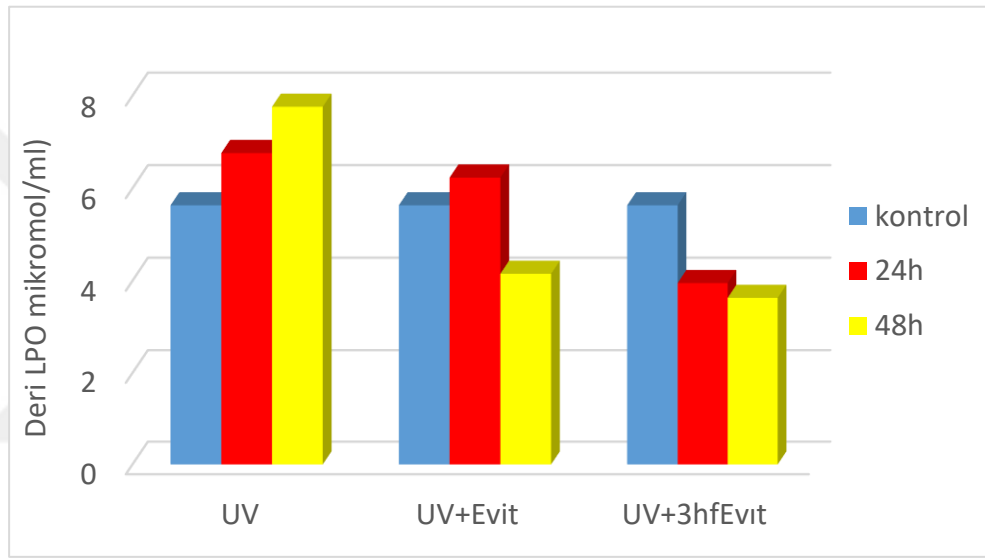
#### IV. BULGULAR

Tüm gruplarda plazma, eritrosit, deri ve karaciğerde lipid peroksit, eritrosit ve deride GSHPx, GSH, düzeylerine, hemoglobin ve deri SOD düzeylerine bakıldı. Deride GSH kullanılan metodla tesbit edilemedi.

Gruplar arasında ağırlık yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $P>0,05$ ).

##### Grupların Deri Lipid Peroksit Sonuçları

Grupların deri lipid peroksit ortalamaları grafik 1’de görülmektedir.



**Grafik 1:** Grupların deri LPO ortalama değerleri

Deri lipid peroksit düzeylerinde, yalnızca UV uyguladığımız gruplarda kontrol grubuna göre artış gözlemlendi. UV+24h grubunda artış istatistiksel olarak anlamsız ( $P>0,05$ ), UV+48h grubunda ise anlamlı bulundu ( $P<0,05$ ). UV’ den sonra tek doz topikal olarak E vitamini uyguladığımız gruplarda ise . UV+Evit+24h grubunda deri lipid peroksit düzeylerinde artış kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsızdı ( $P>0,05$ ). UV+Evit+48h grubunda ise deri lipid peroksit düzeyi UV+Evit+24h grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir ( $P<0,05$ ). Üç hafta topikal E vitamini sürüldükten sonra UV uyguladığımız gruplarda deri lipid peroksit düzeyleri tüm gruplardan daha düşük bulundu. UV+3hfEvit+24h grubunda deri lipid peroksit düzeyi UV+ 24h ve UV+Evit+24h grupları ile

UV+3hfEvit+48h grubunda ise kontrol grubu ve UV +48h grupları ile istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $P<0,05$ ) (Tablo 5)

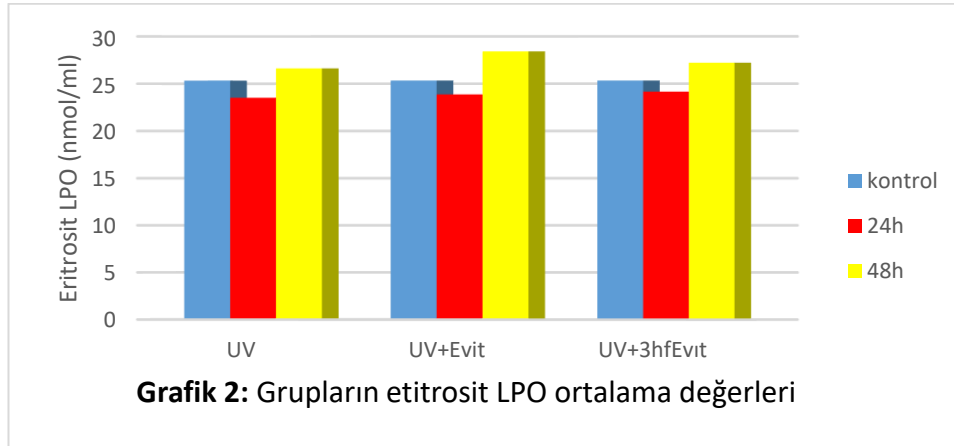
**Tablo 5:** Grupların deri lipid peroksit ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA( $\mu\text{mol/gr}$ )		LSD testi
Kontrol..... UV+24h	5,63 $\pm$ 2,95	6,76 $\pm$ 1,55	$P> 0,05$
Kontrol ..... UV+48h	5,63 $\pm$ 2,95	7,76 $\pm$ 2,19	$P<0,05$
Kontrol ..... UV+Evit+24h	5,63 $\pm$ 2,95	6,23 $\pm$ 2,26	$P> 0,05$
Kontrol .....UV+Evit+48h	5,63 $\pm$ 2,95	4,15 $\pm$ 1,11	$P> 0,05$
Kontrol ..... UV+3hfEvit+24h	5,63 $\pm$ 2,95	3,95 $\pm$ 1,03	$P> 0,05$
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	5,63 $\pm$ 2,95	3,63 $\pm$ 0,35	$P<0,05$
UV+24h ..... UV+48h	6,76 $\pm$ 1,55	7,76 $\pm$ 2,19	$P> 0,05$
UV+24h ..... UV+Evit+24h	6,76 $\pm$ 1,55	6,23 $\pm$ 2,26	$P> 0,05$
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	6,76 $\pm$ 1,55	3,95 $\pm$ 1,03	$P<0,05$
UV+48h ..... UV+Evit+48h	7,76 $\pm$ 2,19	4,15 $\pm$ 1,11	$P<0,05$
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	7,76 $\pm$ 2,19	3,63 $\pm$ 0,35	$P<0,05$
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	6,23 $\pm$ 2,26	4,15 $\pm$ 1,11	$P<0,05$
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	6,23 $\pm$ 2,26	3,95 $\pm$ 1,03	$P<0,05$
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	4,15 $\pm$ 1,11	3,63 $\pm$ 0,35	$P> 0,05$
UV+3hfEvit+24h..... UV+3hfEvit+48h	3,95 $\pm$ 1,03	3,63 $\pm$ 0,35	$P> 0,05$

Tek yönlü ANOVA ( $P<0,0001$ )

### Grupların Eritrosit Lipid Peroksit Sonuçları

Grupların eritrosit lipid peroksit ortalamaları grafik 2'de görülmektedir.



Eritrosit lipit peroksit ortalamaları Yalnızca UV uyguladığımız UV+24h grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma ( $P > 0,05$ ), UV+48h grubunda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamsız ( $P > 0,05$ ), UV+24h grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P < 0,05$ ).

UV den sonra tek doz topikal E vitamini uyguladığımız UV+Evit+24h grubunda eritrosit lipit peroksit düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamsız bir azalma ( $P > 0,05$ ), UV+Evit+48h grubunda kontrol ve UV+Evit+24h gruplarından anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P < 0,05$ ).

Üç hafta topikal E vitamininden sonra UV uyguladığımız gruplarda eritrosit lipit peroksit düzeyinde istatistiksel olarak kontrol grubuna grubuyla anlamlı bir fark gözlemlenmedi ( $P > 0,05$ ). UV+3hfEvit+48h grubunda UV+3 hfEvit+24h grubuna göre eritrosit lipit peroksit düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P < 0,05$ ) ( Tablo 6).

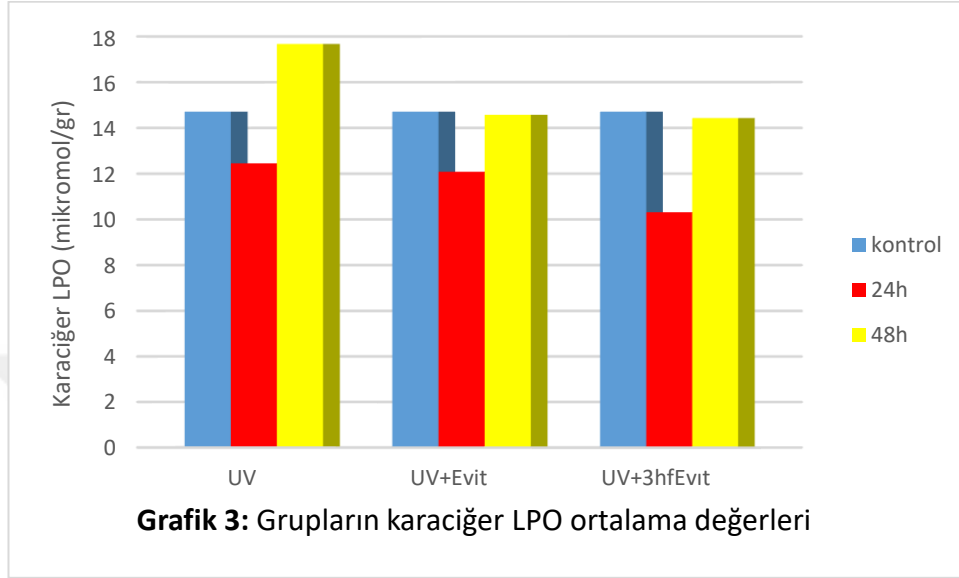
**Tablo 6:** Grupların eritrosit lipit peroksit ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(nmol/gr)		LSD testi
Kontrol..... UV+24h	25,33±1,14	23,51±2,21	$P > 0,05$
Kontrol ..... UV+48h	25,33±1,14	26,62±3,53	$P > 0,05$
Kontrol ..... UV+Evit+24h	25,33±1,14	23,87±2,54	$P > 0,05$
Kontrol .....UV+Evit+48h	25,33±1,14	28,41±2,33	$P < 0,05$
Kontrol ..... UV+3hfEvit+24h	25,33±1,14	24,16±2,44	$P > 0,05$
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	25,33±1,14	27,21±1,71	$P > 0,05$
UV+24h ..... UV+48h	23,51±2,21	26,62±3,53	$P < 0,05$
UV+24h ..... UV+Evit+24h	23,51±2,21	23,87±2,54	$P > 0,05$
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	23,51±2,21	24,16±2,44	$P > 0,05$
UV+48h ..... UV+Evit+48h	26,62±3,53	28,41±2,33	$P > 0,05$
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	26,62±3,53	27,21±1,71	$P > 0,05$
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	23,87±2,54	28,41±2,33	$P < 0,05$
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	23,87±2,54	24,16±2,44	$P > 0,05$
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	28,41±2,33	27,21±1,71	$P > 0,05$
UV+3hfEvit+24h..... UV+3hfEvit+48h	24,16±2,44	27,21±1,71	$P < 0,05$

Tek yönlü ANOVA ( $P < 0,0005$ )

### Grupların Karaciğer Lipit Peroksit Sonuçları

Grupların karaciğer lipit peroksit ortalamaları grafik 3’de görülmektedir.



Karaciğer lipit peroksit ortalamaları yalnızca UV uyguladığımız UV+ 24h grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma ( $P > 0,05$ ), UV+ 48h grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P < 0,05$ ).

UV den sonra tek doz topikal E vitamini uyguladığımız UV+Evit+24h grubunda karaciğer lipit peroksit düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $P < 0,05$ ), UV+Evit+48h grubunda UV+Evit+24h grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P < 0,05$ ). Kontrol grubu ile UV+Evit+48h grupları arasında karaciğer lipit peroksit düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmedi.

Üç hafta topikal E vitamininden sonra UV uyguladığımız UV+3hfEvit+24h grubunda karaciğer lipit peroksit düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ( $P < 0,05$ ). UV+3hfEvit+48h grubunda karaciğer lipit peroksit düzeyinde UV+3hfEvit+24h grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P < 0,05$ ). Kontrol grubu ile UV+3hfEvit+48h grupları arasında karaciğer lipit peroksit düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 7).

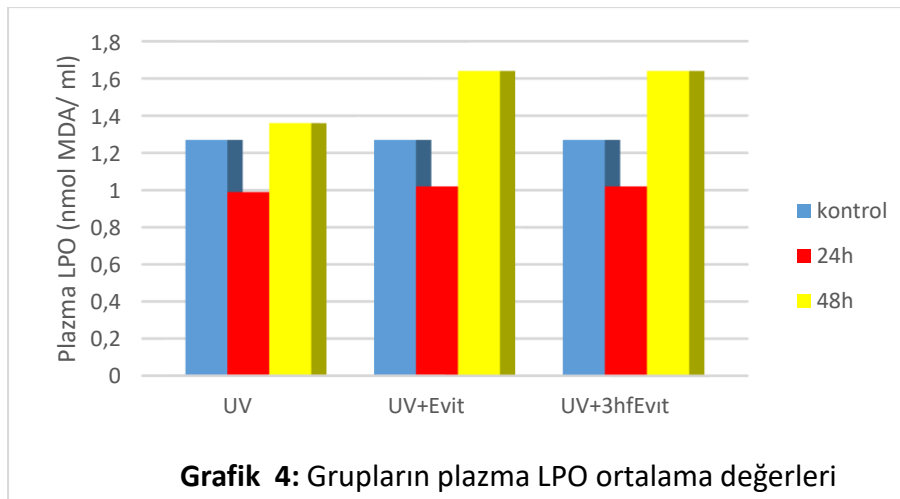
**Tablo 7:** Grupların karaciğer lipit peroksit ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(μmol/gr)		LSD testi
Kontrol..... UV+24h	14,71±3,54	12,45±2,38	P> 0,05
Kontrol ..... UV+48h	14,71±3,54	17,67±2,42	P< 0,05
Kontrol ..... UV+Evit+24h	14,71±3,54	12,08±1,99	P< 0,05
Kontrol .....UV+Evit+48h	14,71±3,54	14,57±2,58	P> 0,05
Kontrol ..... UV+3hfEvit+24h	14,71±3,54	10,31±1,99	P< 0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	14,71±3,54	14,43±1,46	P> 0,05
UV+24h ..... UV+48h	12,45±2,38	17,67±2,42	P<0,05
UV+24h ..... UV+Evit+24h	12,45±2,38	12,08±1,99	P> 0,05
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	12,45±2,38	10,31±1,99	P> 0,05
UV+48h ..... UV+Evit+48h	17,67±2,42	14,57±2,58	P<0,05
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	17,67±2,42	14,43±1,46	P<0,05
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	12,08±1,99	14,57±2,58	P<0,05
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	12,08±1,99	10,31±1,99	P> 0,05
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	14,57±2,58	14,43±1,46	P> 0,05
UV+3hfEvit+24h..... UV+3hfEvit+48h	10,31±1,99	14,43±1,46	P<0,05

Tek yönlü ANOVA (P<0,0001)

### Grupların Plazma Lipit Peroksit Sonuçları

Grupların plazma lipit peroksit ortalamaları grafik 4’de görülmektedir.



**Grafik 4:** Grupların plazma LPO ortalama değerleri

Plazma lipit peroksit ortalamaları yalnızca UV uyguladığımız UV+ 24h grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (P<0,05), UV+ 48h grubunda ise UV+ 24h grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi

(P<0,05). Bu artış kontrol grubundan fazla olmasına karşın aralarında istatistiksel olarak fark yoktu.

UV den sonra tek doz topikal E vitamini uyguladığımız UV+Evit+24h grubunda plazma lipit peroksit düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (P<0,05), UV+Evit+48h grubunda kontrol ve UV+Evit+24h grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (P<0,05). UV den sonra tek doz topikal E vitamini uyguladığımız grupta 48. saatte olan artış yalnız UV verilen gruptaki artışa göre anlamlı derecede daha fazla olmuştur.

Üç hafta topikal E vitamininden sonra UV uyguladığımız UV+3hfEvit+24h grubunda plazma lipit peroksit düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi (P<0,05). UV+3hfEvit+48h grubunda plazma lipit peroksit düzeyinde UV+3hfEvit+24h grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (P<0,05) (Tablo 8).

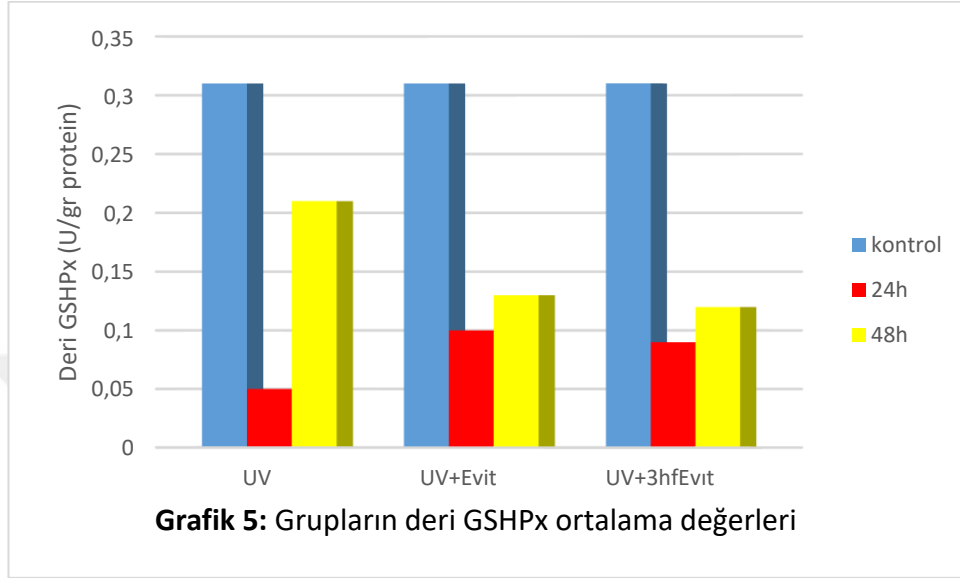
**Tablo 8:** Grupların plazma lipit peroksit ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(nmol MDA/ml)		LSD testi
Kontrol..... UV+24h	1,27±0,08	0,99±0,06	P< 0,05
Kontrol ..... UV+48h	1,27±0,08	1,36±0,17	P> 0,05
Kontrol .....UV+Evit+24h	1,27±0,08	1,02±0,08	P< 0,05
Kontrol .....UV+Evit+48h	1,27±0,08	1,64±0,20	P<0,05
Kontrol.....UV+3hfEvit+24h	1,27±0,08	1,06±0,08	P< 0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	1,27±0,08	1,59±0,20	P<0,05
UV+24h ..... UV+48h	0,99±0,06	1,36±0,17	P<0,05
UV+24h .....UV+Evit+24h	0,99±0,06	1,02±0,08	P> 0,05
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	0,99±0,06	1,06±0,08	P> 0,05
UV+48h ..... UV+Evit+48h	1,36±0,17	1,64±0,20	P<0,05
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	1,36±0,17	1,59±0,20	P<0,05
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	1,02±0,08	1,64±0,20	P<0,05
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	1,02±0,08	1,06±0,08	P> 0,05
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	1,64±0,20	1,59±0,20	P> 0,05
UV+3hfEvit+24h... UV+3hfEvit+48h	1,06±0,08	1,59±0,20	P<0,05

Tek yönlü ANOVA (P<0,0001)

## Grupların Deri Glutasyon Peroksidaz Sonuçları

Grupların deri glutasyon peroksidaz ortalamaları grafik 5’de görülmektedir.



Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda deri glutasyon peroksidaz ortalamalarında azalma görüldü. UV+48h grubu hariç diğer gruplarda bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $P<0,05$ ). Yalnızca UV uyguladığımız gruplarda ve E vitamini verilen gruplarda 24. Saatte olan azalmayı 48. Saatte bir artış takip etmiş ancak hiçbir grupta kontrol grubu seviyesine çıkamamıştır (Tablo 9).

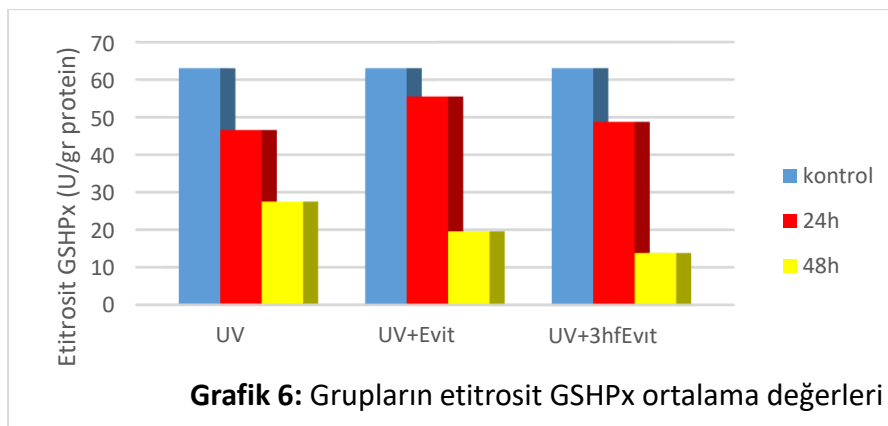
**Tablo 9:** Grupların deri glutatyon peroksidaz ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(IU/gr protein)		LSD testi
Kontrol..... UV+24h	0,31±0,03	0,05±0,00	P< 0,05
Kontrol ..... UV+48h	0,31±0,03	0,21±0,27	P> 0,05
Kontrol ..... UV+Evit+24h	0,31±0,03	0,10±0,01	P< 0,05
Kontrol .....UV+Evit+48h	0,31±0,03	0,13±0,01	P<0,05
Kontrol ..... UV+3hfEvit+24h	0,31±0,03	0,09±0,03	P< 0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	0,31±0,03	0,12±0,01	P<0,05
UV+24h ..... UV+48h	0,05±0,00	0,21±0,27	P<0,05
UV+24h ..... UV+Evit+24h	0,05±0,00	0,10±0,01	P> 0,05
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	0,05±0,00	0,09±0,03	P> 0,05
UV+48h ..... UV+Evit+48h	0,21±0,27	0,13±0,01	P> 0,05
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	0,21±0,27	0,12±0,01	P> 0,05
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	0,10±0,01	0,13±0,01	P> 0,05
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	0,10±0,01	0,09±0,03	P> 0,05
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	0,13±0,01	0,12±0,01	P> 0,05
UV+3hfEvit+24h.....UV+3hfEvit+48h	0,09±0,03	0,12±0,01	P> 0,05

Tek yönlü ANOVA (P<0,0005)

### Grupların Eritrosit Glutatyon Peroksidaz Sonuçları

Grupların eritrosit glutatyon peroksidaz ortalamaları grafik 6’de görülmektedir.



Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda eritrosit glutatyon peroksidaz ortalamalarında azalma görüldü. UV+Evit+24h grubu hariç diğer gruplarda bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0,05). Yalnızca UV



uyguladığımız gruplarda ve E vitamini verilen gruplarda 24. ve 48. saatte gittikçe azalmıştır (Tablo 10).

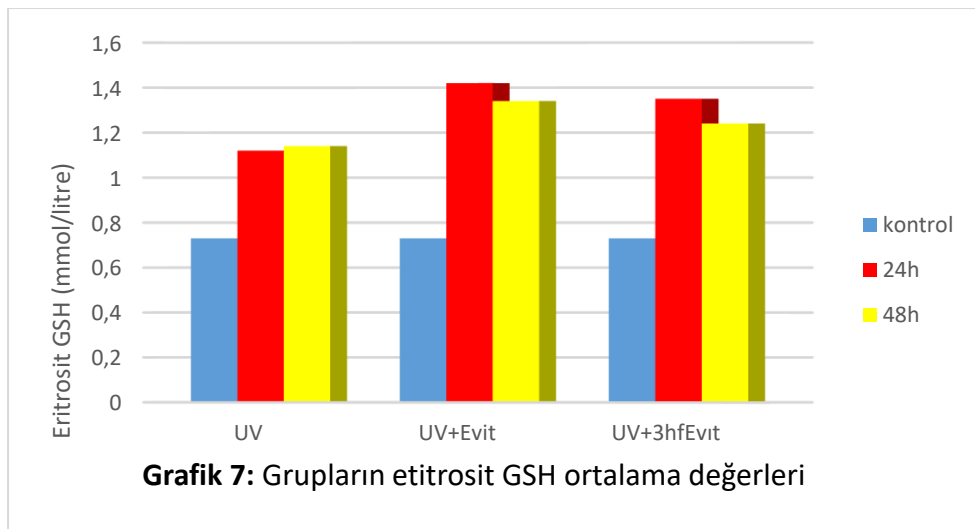
**Tablo 10:** Grupların eritrosit glutatyon peroksidaz ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(IU/gr protein)		LSD testi
Kontrol.....UV+24h	63,05±3,65	46,57±9,50	P< 0,05
Kontrol .....UV+48h	63,05±3,65	27,49±8,38	P< 0,05
Kontrol .....UV+Evit+24h	63,05±3,65	55,49±10,62	P> 0,05
Kontrol .....UV+Evit+48h	63,05±3,65	19,58±3,34	P<0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+24h	63,05±3,65	48,73±12,05	P< 0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	63,05±3,65	13,83±3,42	P<0,05
UV+24h .....UV+48h	46,57±9,50	27,49±8,38	P<0,05
UV+24h .....UV+Evit+24h	46,57±9,50	55,49±10,62	P> 0,05
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	46,57±9,50	48,73±12,05	P> 0,05
UV+48h .....UV+Evit+48h	27,49±8,38	19,58±3,34	P> 0,05
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	27,49±8,38	13,83±3,42	P<0,05
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	55,49±10,62	19,58±3,34	P<0,05
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	55,49±10,62	48,73±12,05	P> 0,05
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	19,58±3,34	13,83±3,42	P> 0,05
UV+3hfEvit+24h.... UV+3hfEvit+48h	48,73±12,05	13,83±3,42	P<0,05

Tek yönlü ANOVA (P<0,0001)

### Grupların Eritrosit Redükte Glutatyon Sonuçları

Grupların eritrosit redükte glutatyon ortalamaları grafik 7’de görülmektedir.



Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda eritrosit redükte glutatyon ortalamalarında ki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $P<0,05$ ) (Tablo 11).

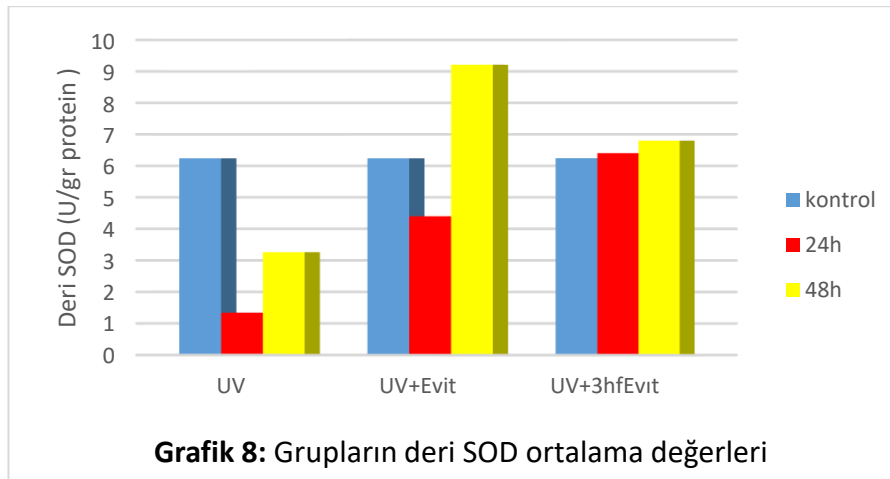
**Tablo 11:** Grupların eritrosit redükte glutatyon ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(mmol/gr)		LSD testi
Kontrol.....UV+24h	0,73±0,09	1,12±0,25	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+48h	0,73±0,09	1,14±0,34	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+Evit+24h	0,73±0,09	1,42±0,26	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+Evit+48h	0,73±0,09	1,34±0,29	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+3hfEvit+24h	0,73±0,09	1,35±0,50	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	0,73±0,09	1,24±0,30	$P< 0,05$
UV+24h .....UV+48h	1,12±0,25	1,14±0,34	$P> 0,05$
UV+24h .....UV+Evit+24h	1,12±0,25	1,42±0,26	$P> 0,05$
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	1,12±0,25	1,35±0,50	$P> 0,05$
UV+48h .....UV+Evit+48h	1,14±0,34	1,34±0,29	$P> 0,05$
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	1,14±0,34	1,24±0,30	$P> 0,05$
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	1,42±0,26	1,34±0,29	$P> 0,05$
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	1,42±0,26	1,35±0,50	$P> 0,05$
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	1,34±0,29	1,24±0,30	$P> 0,05$
UV+3hfEvit+24h.... UV+3hfEvit+48h	1,35±0,50	1,24±0,30	$P> 0,05$

Tek yönlü ANOVA ( $P<0,005$ )

### Grupların Deri Süperoksit Dismutaz Sonuçları

Grupların deri süperoksit dismutaz ortalamaları grafik 8’de görülmektedir.



**Grafik 8:** Grupların deri SOD ortalama değerleri

Deri süperoksit dismutaz ortalamaları yalnızca UV uyguladığımız UV+ 24h grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $P<0,05$ ), UV+ 48h grubunda ise UV+ 24h grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Ancak kontrol grubu seviyesine çıkmadı.

UV den sonra tek doz topikal E vitamini uyguladığımız UV+Evit+24h grubunda deri süperoksit dismutaz düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma ( $P<0,05$ ), UV+Evit+48h grubunda ise artış gözlemlenmiştir. Bu artış kontrol grubu ortalamalarından ve UV+48h grubundan istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Üç hafta topikal E vitamininden sonra UV uyguladığımız gruplarla kontrol grubuna arasında deri süperoksit dismutaz düzeyinde anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Ancak yalnızca UV verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P<0,05$ ) (Tablo 12).

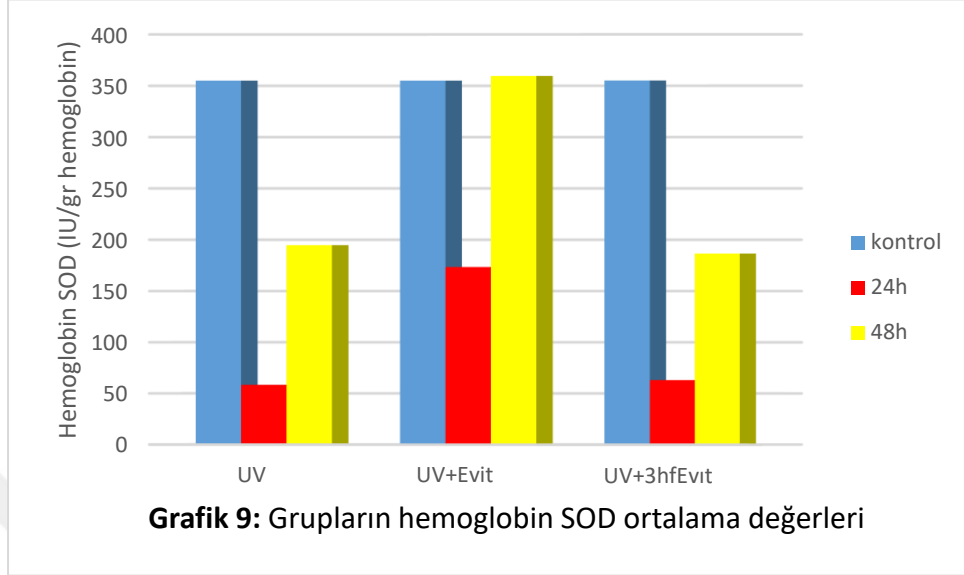
**Tablo 12:** Grupların deri süperoksit dismutaz ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA(IU/gr protein)		LSD testi
Kontrol.....UV+24h	6,24±0,48	1,34±0,18	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+48h	6,24±0,48	3,26±0,38	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+Evit+24h	6,24±0,48	4,40±0,92	$P< 0,05$
Kontrol .....UV+Evit+48h	6,24±0,48	9,21±0,28	$P<0,05$
Kontrol .....UV+3hfEvit+24h	6,24±0,48	6,40±1,00	$P> 0,05$
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	6,24±0,48	6,80±1,22	$P> 0,05$
UV+24h .....UV+48h	1,34±0,18	3,26±0,38	$P< 0,05$
UV+24h .....UV+Evit+24h	1,34±0,18	4,40±0,92	$P< 0,05$
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	1,34±0,18	6,40±1,00	$P< 0,05$
UV+48h .....UV+Evit+48h	3,26±0,38	9,21±0,28	$P< 0,05$
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	3,26±0,38	6,80±1,22	$P< 0,05$
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	4,40±0,92	9,21±0,28	$P< 0,05$
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	4,40±0,92	6,40±1,00	$P< 0,05$
UV+Evit+48h..... ..UV+3hfEvit+48h	9,21±0,28	6,80±1,22	$P< 0,05$
UV+3hfEvit+24h.... .UV+3hfEvit+48h	6,40±1,00	6,80±1,22	$P> 0,05$

Tek yönlü ANOVA ( $P<0,0001$ )

## Grupların Hemoglobini Süperoksit Dismutaz Sonuçları

Grupların hemoglobin süperoksit dismutaz ortalamaları grafik 9’de görülmektedir.



Hemoglobin süperoksit dismutaz ortalamaları yalnızca UV uyguladığımız UV+24h grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $P<0,05$ ), UV+48h grubunda ise UV+24h grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Ancak kontrol grubu seviyesine çıkmadı.

UV den sonra tek doz topikal E vitamini uyguladığımız UV+Evit+24h grubunda hemoglobin süperoksit dismutaz düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $P<0,05$ ), UV+Evit+48h grubunda ise artış görülmüştür. Bu artış kontrol grubu seviyesine kadar çıkmıştır.

Üç hafta topikal E vitamininden sonra UV uyguladığımız UV+3hfEvit+24h grubunda hemoglobin süperoksit dismutaz düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $P<0,05$ ), UV+3hfEvit+48h grubunda ise artış görülmüştür. Bu artış kontrol grubu seviyesine kadar çıkmamıştır (Tablo 13).

**Tablo 13:** Grupların hemoglobin süperoksit dismutaz ortalamaları, standart sapmaları ve istatistik sonuçları

GRUPLAR	ORTALAMA (IU/gr hemoglobin)		LSD testi
Kontrol.....UV+24h	355,00±11,71	58,37±5,13	P< 0,05
Kontrol .....UV+48h	355,00±11,71	194,75±6,03	P< 0,05
Kontrol .....UV+Evit+24h	355,00±11,71	173,47±10,18	P< 0,05
Kontrol .....UV+Evit+48h	355,00±11,71	359,55±8,09	P> 0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+24h	355,00±11,71	63,11±10,22	P< 0,05
Kontrol .....UV+3hfEvit+48h	355,00±11,71	189,53±8,05	P< 0,05
UV+24h .....UV+48h	58,37±5,13	194,75±6,03	P< 0,05
UV+24h .....UV+Evit+24h	58,37±5,13	173,47±10,18	P< 0,05
UV+24h ..... UV+3hfEvit+24h	58,37±5,13	63,11±10,22	P> 0,05
UV+48h .....UV+Evit+48h	194,75±6,03	359,55±8,09	P< 0,05
UV+48h .....UV+3hfEvit+48h	194,75±6,03	186,53±8,05	P> 0,05
UV+Evit+24h .....UV+Evit+48h	173,47±10,18	359,55±8,09	P< 0,05
UV+Evit+24h .....UV+3hfEvit+24h	173,47±10,18	63,11±10,22	P< 0,05
UV+Evit+48h..... UV+3hfEvit+48h	359,55±8,09	186,53±8,05	P< 0,05
UV+3hfEvit+24h.... UV+3hfEvit+48h	63,11±10,22	186,53±8,05	P> 0,05

Tek yönlü ANOVA (P<0,0001)

## V. TARTIŞMA

Son yıllarda serbest radikallerin ve lipid peroksitlerin bazı hastalıkların patogeneğinde rolleri olabileceği öne sürülmektedir. Özellikle kardiovasküler sistem hastalıkları, inflamatuvar hastalıklar, kanser, katarakt, fotodermatozlar ve yaşlanma gibi durumlardaki rolleri üzerinde durulmaktadır (14,53,54).

Deri, göz ve solunum yolları gibi organlar 160 mmHg'ya kadar varan atmosferik oksijene sürekli olarak maruz kalırlar. Bu normal olarak intestisyel sıvıda bulunan basınçtan ( 40mmHg yada daha az ) oldukça fazladır. Ayrıca deri ve göz UVR den etkilenirler (3).

Günümüzde ozon tabakasının delinmesi ile artan UV ışınları, radioaktif ışınlar ve çevreden gelen zararlı maddeler deriye direkt temas ederek „ serbest radikaller oluştururlar. Oluşan serbest radikallerin ilk saldırıları genelde hücre zarında ve hücre içerisinde bulunan yağ asitleri proteinler ve DNA'ya olur. Bu hasarlar neticesinde deri yaşlanması hızlanır. (31). Deri, göz ve akciğerleroksijen radikalleri ya da lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarına oldukça eğilimlidirler (3).

Niwa ve ark. (3), 1986 yılında yaptıkları bir çalışmada aktif inflamatuvar deri hastalığı olan kişilerin derilerinde lipid peroksid seviyelerinin normal kontrollerine göre belirgin derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak SOD aktivitesinin ciddi ve tedaviye direnç gösteren hasta gruplarında hafifçe artmasına karşın, hastalıkları hafif olan topikal steroid tedavisine iyi cevap veren grupta belirgin derecede yükseldiğini görmüşlerdir. Bu sonuçlara göre lipid peroksid seviyelerinin, SOD aktivitesine oranı, yalnızca tedaviye cevap vermeyen grupta yükselmiş olup bu oranın güvenilir bir prognostik gösterge olduğuna karar vermişlerdir.

Fuchs ve ark. (7), 1989' da tek doz 300mJ/cm<sup>2</sup> olacak şekilde UVB radyasyonu uygulanan kılız farelerde GR ve katalaz aktivitesinin anlamlı derecede inhibe olduğunu, GSHPx ve SOD'un etkilenmediğini göstermişlerdir. Glutasyon seviyesinin azaldığını glutasyon disülfid seviyesinin arttığını, total askorbik asit seviyesinin ise değişmediğini göstermişlerdir. Lipofilik antioksidan olan alfa tokoferol, ubiquinol 9 ve ubiquinone 9 belirgin derecede azaldığını ve MDA seviyesinin sabit olarak kaldığını görmüşlerdir. Bu çalışma büyük miktarlarda UV ye maruziyetten hemen sonra derin antioksidanlarının anlamlı derecede azaldığını göstermektedir.

Hashimoto ve ark. (24), 1991' da epidermal SOD aktivitesi ve keratinosit proliferasyonu arasındaki ilişkiyi izah etmek için *invivo* olarak MED'in iki katı olacak şekilde UVB radyasyonu uyguladıkları domuz epidermisinde radyasyonu takiben başlangıç hipoproliferatif faz süresince (ilk 48 saat) SOD aktivitesinde değişiklik gözlememişlerdir. Ancak hiperproliferatif fazında (96. Saatte), başlıca Cu,Zn-SOD aktivitesinin azalmasına bağlı olarak SOD aktivitesine yaklaşık %50 oranında azalma tespit etmişlerdir. Bu çalışma UVB ile oluşan artmış keratinosit proliferasyonunun azalmış SOD aktivitesine eşlik ettiğini göstermiştir.

Pence ve ark. (55), 1990' da yaptıkları bir çalışmada kılısız fare derisine tek doz UVB uygulamasından sonra SOD ve katalaz aktivitesinin 12 saat sonra belirgin derecede azaldığını ve 72 saat süresince depreşe kaldığını, ayrıca deride belirgin hiperplazi olduğu halde xanthine dehydrogenase veya xanthineoxidase da herhangi bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Epidermal ornitin dekarboksilaz düzeyi UV radyasyonundan sonra artmıştır. Bu sonuçlar tek doz UVB radyasyonundan sonra fare epidermiste özellikle antioksidan savunma mekanizması bazında önemli biyokimyasal etkilerin olduğunu göstermiştir.

Nakaguma ve ark. (56), UVB radyasyonundan 48 saat sonra rat derisinde lökotrien B<sub>4</sub> seviyesinde belirgin bir artış bulmuşlar fakat guinea pig yada fare derisinde artış görememişlerdir. Bu sonuçlar UVB ye bağlı olan PMN infiltrasyondaki türlere bağlı değişikliklerle tutarlıdır.

Bisset ve ark. (57), 1989 da yaptıkları bir çalışmada kılısız farelerde UV radyasyonunu uygulandığında dalga boyuna bağlı olarak histolojik, fiziksel ve görülebilir deri değişikliklerinin olduğunu göstermişlerdir. Tüm deri değişikliklerinden sorumlu olarak 285-305 ve 315-360 olmak üzere iki dalga boyu bölgesi tanımlamışlardır.

Iizava ve ark. (53), 1994 de akut ve kronik UV radyasyonundan sonra fare derisinde lipid peroksid, SOD, katalaz, ve GSHPx seviyelerinde ki değişiklikleri uzun süreli olarak takip etmişler. Akut UVB radyasyonundan sonra 18. Saate kadar lipid peroksid seviyesinin arttığını ve 2-3. Günlerde tedricen bazal seviyeye indiğini göstermişlerdir. SOD ve GSHPx ise akut radyasyondan sonra ani olarak düşmüş ve 18. Saatte minimum düzeye ulaşmıştır. Iizava ve ark deneylerine göre şu görüşleri ortaya atmışlardır. 1. Lipid peroksid seviyelerindeki artışı, radyasyona maruz kaldıkta sonra

UVB etkisiyle oluşan ROS etkisine başlamışlardır. 2. Antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma ROS un inaktivasyonu esnasında antioksidan enzimlerin kullanılmasına bağlı olabilir. 3. Lipid peroksid seviyesindeki azalma 18. Saatte artan SOD ve GSHPx'in antioksidan etkilerinden kaynaklanmaktadır. 4. Bu enzimlerin aktivitesindeki artışın nedeni radyasyon sonrası artan lipid peroksid ya da ROS' un bu iki enzimi indüklemelerine bağlamışlardır.

Hasegava ve ark. (58), UVB verdikleri farelerin deri, serum ve karaciğerlerinde lipid peroksid ve antioksidan enzim düzeylerini çalışmışlardır. Radyasyon verilen deride 3-24 saat sonra lipid peroksid düzeyleri artmıştır. SOD, katalaz, GSHP<sub>x</sub>, G6PD ilk 48 saat süresince genellikle düşük olarak bulunmuştur. Serumda lipid peroksidler 3. saatte artış göstermiş fakat enzim aktiviteleri UVB vermeden önceki ihmal edilebilir düzeylerinde kalmışlardır. Karaciğer de lipid peroksid seviyesi deridekine benzer şekilde artış göstermiş. GSHP<sub>x</sub> aktivitesi ilk 24 saat içerisinde azalmıştır. SOD ve katalaz aktivitesi değişiklik görülmemiş, G6PD ise önemli dalgalanmalar görülmüştür.

Kobaylarda yaptığımız çalışmamızda 0,9 J/cm<sup>2</sup> UVB radyasyonundan sonra deride lipid peroksidleri 24 ve 48. saatlerde gittikçe artmıştır. 48. saatte ki artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 5). Bu sonuçlar Iizawa (53) ve Hasegava (58) gruplarının çalışmaları ile uyumludur. 24. saatte eritrosit ve karaciğer lipid perosit seviyelerinde istatistiksel olarak anlamsız, plazma lipid peroksid seviyesinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. 48. saatte kontrol grubuna göre eritrosit ve karaciğerde lipid peroksid seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı, plazmada lipid peroksid seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlenmiştir (Tablo 6,7,8). Karaciğer LPO değerlerindeki 48. Saatte olan artış yine Hasegava (58) ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyumludur. Çalışmamızda UVB uyguladıktan sonra deri lipid peroksid değerlerindeki artış önceki çalışmalarla uyumludur (53,58). 24. saatte eritrosit plazma ve karaciğer lipid peroksid seviyesindeki azalmanın sebebini açıklayamadık. Ancak eritrosit ve karaciğer lipid peroksid düzeyindeki azalma zaten istatistiksel olarak anlamlı değildi ve 48. saatte lipid peroksid düzeyleri kontrol grubu değerlerinin üzerine çıkmıştır.

UVB uygulanan kobayların deri GSHP<sub>x</sub> değerlerinde 24. Saatte kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma, 48. saatte ise kontrol grubu seviyelerine çıkamayan bir artış gözlenmiştir (Tablo 9). Bu sonuçlarda yine



Hasegava'nın çalışmaları ile uyumludur. Eritrosit GSHPx değerleri ise 24. ve 48. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (Tablo 10). UVB radyasyonundan sonra deri ve eritrosit GSHPx seviyelerindeki düşüşü radyasyondan sonra artan lipid peroksitlerin temizlenmesi esnasında GSHPx'in kullanılmasına bağlı olabilir.

Eritrosit GSH seviyesinde 24. Ve 48. Saatlerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 11). Bunun nedeni azalmış GSHPx nedeniyle GSH'ın GSSG'ye dönüştürülememesi ve GSH'ın eritrositlerde birikmesi olabilir.

UVB uygulanan kobayların deri ve hemoglobin SOD değerlerinde 24. Saatte kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma 48. Saatte ise kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ancak 24. Saatte ki sonuca göre anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 12, 13). Bu sonuçlar yine önceki çalışmalarla uyumludur (24,53, 55, 58).

Antioksidan enzimlerden deri GSHPx deri ve hemoglobin SOD değerlerinin 24. saatte azalmasını UVB radyasyonundan sonra artan ROS'un inaktivasyonu sonucu enzimlerin kullanılmasına, 48. Saatte artmalarının nedeni ise muhtemelen artan lipid peroksit ya da oluşan ROS'un bu enzimleri indüklemelerine bağlı olabilir (53). Temelde bu sonuçlar da Hasegava ve ark. çalışmalarıyla uyumludur (58). Zaman açısından farklılıklar ise muhtemelen deney hayvanlarının ve verilen UVB dozunun farklılığına bağlı olabilir (25, 56).

Fuchs ve ark.(8) kılız fareleri 50 cm uzaklıktan tek doz hlinde ultraviyole (UVA) / görülebilen ışığa (>320nm) maruz bırakmışlar, radyasyona maruziyetten hemen sonra bazı deri antioksidanlarında meydana gelen değişiklikleri araştırmışlardır. Deri katalaz ve GR aktivitesinde bozulma olduğunu, SOD ve GSHPx'in ise belirgin olarak etkilenmediğini göstermişlerdir. Katalazın inhibisyonu hidrojen peroksid ve hidroksi radikalleri gibi hidrojen peroksitin reaksiyon ürünlerinin zararlı etkilerine karşı deriyi daha da hassaslaştırır. Kısmen azalmış GR aktivitesi radyasyondan hemen sonra GSH/ GSSG seviyesindeki değişikliklere eşlik etmez. Radyasyondan sonra deri tokoferol, ubiquinol+ubiquinone 9 ve askorbik asit seviyelerinde azalmaya eğilim olduğunu göstermişlerdir.

Potapenko ve ark.(59),  $\alpha$  tokoferol ve analoglarının, 8 metoksipsorolen (8-MOP) 'in deride eritem ve mekanoelektriksel değişiklikler gibi fototoksik etkileri

azalttığını göstermişlerdir. Eğer radyasyon süresince deride antioksidan varsa fototoksik etkiyi azaltıcı etkilerinin olduğunu, radyasyondan sonra uygulandığında bu antioksidanların fototoksik etkiyi azaltıcı özelliklerinin olmadığını göstermişlerdir. Bu antioksidanların koruyucu etkilerinin radyasyon dozuna ve büyük oranda kendi konsantrasyonlarına bağlı olduğunu göstermişlerdir.

Gensler ve ark. (60), 1991 de farelerde UVR den üç hafta önce haftada üç kez ve deney süresince topikal olarak uygulanan 25 mg E vitaminin ilk UVR den 33 hafta sonra deri kanser insidansını %81 den %42 ye kadar düşürdüğünü bildirmişlerdir. Çalışmalarında uzun süreli uygulanan E vitaminin UVR ile oluşan kanser oluşumunu ve immunosüpresyonu etkili bir şekilde azaltabileceğini göstermişlerdir.  $\alpha$  tokoferol oda ısısında stabilitesi sınırlı olduğu için Gensler ve ark. (61), başka bir çalışmalarında  $\alpha$  tokoferolün termo stabil esterleri olan  $\alpha$  tokoferol asetat ve  $\alpha$  tokoferol süksünat UVB radyasyonuna bağlı deri kanserlerinin gelişim riskini ve immunosüpresyon üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. İlk vitamin uygulamasından 16-17 hafta sonra ester formlarının epikutanöz olarak biriktiğini fakat serbest  $\alpha$  tokoferol seviyesinin düşük düzeyde kaldığını göstermişlerdir.  $\alpha$  tokoferol asetat ve  $\alpha$  tokoferol süksünat fotokarsinogenezi önlemede yetersiz kalmışlardır. Üstelik fotokarsinogenezi artırdıklarını görmüşlerdir.  $\alpha$  tokoferol esterlerinin bir çok deri losyonlarına, kozmetiklere ve gün perdelerine katıldığı göz önünde bulundurularak topikal  $\alpha$  tokoferol asetat ve  $\alpha$  tokoferol süksünatın fotokarsinogenezi artırdığı durumları ortaya çıkaracak daha ileri çalışmalara gerek vardır. Gerrish ve Gensler (62), oral olarak alınan  $\alpha$  tokoferol asetatın fotokarsinogenezi ancak  $8.6 \times 10^5 \text{ J/m}^2$  UVB radyasyonu alan farelerde toksik dozlarda önlediğini göstermişlerdir.

Trevithick ve ark. (5), sky-1 fare derisine UVB radyasyonundan sonra topikal tokoferol asetat uygulanması ile 24-48 saat sonra UVB' ye bağlı eritem deri hassasiyeti ve MRI ile tesbit edilen deri kalınlığındaki artışın azaldığını gözlemlemişlerdir.

Rekord ve ark. (6), 1991' de kılız farelerde UV uygulamasına bağlı gelişen deri hasarı üzerinde topikal ve sistemik E vitaminin etkisini araştırmıştır. 3 hafta süreyle E vitamininden fakir diyetle beslenen farelere 1 kez MED' de UVR uygulamasından sonra epidermis lipid peroksidasyonunda ve timidinin DNA'nın yapısına girişinde bariz bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. E vitamininden zengin diyetle beslenmeden sonra lipid peroksidasyon seviyesinin değişmediğini

ancak timidinin DNA yapısına girişte artma olduğunu göstermişlerdir. Radyasyondan 1 ya da 24 saat önce uygulanan etanol içindeki %1 lik topikal E vitamini uygulamasının ise timidin girişini düzelttiğini ve lipid peroksidasyon seviyesini azalttığını tespit etmişlerdir. Sonuçlar diyetle alınan ve topikal olarak uygulanan E vitamininin UVR ile oluşan erken hasara karşı epidermisi korumada etkili olduğunu göstermektedir.

Trevithick ve ark. (29), 1993’de izotopik olarak işaretlenmiş  $\alpha$  tokoferol asetatın fare derisine topikal uygulamadan sonra absorpsiyonun iyi olduğunu ve  $\alpha$  tokoferol asetatın absorpsiyondan sonra lateral olarak deride dağıldığını göstermişlerdir. Absorpsiyonu süresince ya da lateral taşınması esnasında yaklaşık 24 saat içinde  $\alpha$  tokoferol asetatın yaklaşık % 4,5-5 ‘inin serbest tokoferole dönüştüğünü göstermişlerdir.

Norkus, Bryce ve Bhagavan (63), tokoferol asetatın topikal olarak tekrarlayan uygulamalarında Sky-1 farelerde serbest tokoferol konsantrasyonunun yükseldiğini göstermişlerdir. Bu sonuçlar deride  $\alpha$  tokoferol asetatı tokoferole çeviren muhtemelen intrasellüler olarak esterazların varlığına bağlanmaktadır. İntestinal sistemdeki aksine tokoferol asetatın hidrolize olduğu likid ortam deride olmadığından hücre membranlarından stoplazmaya difüzyonla lipid tokoferol asetatın geçtiğini ve burada intrasellüler esteraz ya da/ve lipazlarla hidrolize olabileceği gerçektir.

Çalışmamızda UVB radyasyonundan sonra deride artmış lipid peroksit düzeylerinin radyasyondan sonra tek doz topikal uygulanan E vitamini asetat uygulanan grupta 24. saatte istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma, 3 hafta süresince topikal E vitamini asetat uygulanan grupta ise anlamlı bir azalma gördük. 48. saatte ise beklediğimiz gibi her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenledik (Tablo 5).

Eritrosit ve karaciğer lipid peroksit değerleri ise topikal E vitamini asetat uyguladığımız her iki grupta da 24. ve 48. Saatlerde yalnızca UVB uygulanan grup ile paralellik göstermiştir. Ancak 48. Saatte her iki grupta da karaciğer lipid peroksit değerlerindeki artış yalnızca UVB uygulanan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde az olmuştur. Bu beklediğimiz bir sonuçtur. Gruplar arasında ise anlamlı bir fark yoktu (Tablo 6,7).

Plazma lipid peroksit değerleri ise topikal E vitamini asetat uyguladığımız her iki grupta da 24. ve 48. saatlerde yalnızca UVB uygulanan grup ile paralellik

göstermiştir. Ancak E vitamini uygulanan her iki grupta da 48. saatte yalnızca UVB uygulanan gruptaki artıştan istatikselsel olarak anlamlı şekilde daha fazla olmuştur (Tablo 8).

Deri GSHPx seviyesinde E vitamini uygulanan her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan gruba göre 24. saatte olan azalma beklenildiği gibi daha az olmuştur. Yalnızca UVB uygulanan gruba göre 24. saatte olan azalmanın 48. saatte daha çok bir artış beklerken daha az bir artış kaydedilmiştir. Fakat bunlar istatikselsel olarak anlamlı değildi (Tablo 9). Eritrosit GSHPx değerleri E vitamini uygulanan her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan gruba paralellik göstermiş ancak 24. saatte tek doz E vitamini uygulanan grupta eritrosit GSHPx değerlerinde sadece UVB uygulanan grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı olacak şekilde az bir azalma göstermiş ancak bu istenen etki kontrol grubundaki seviyelere çıkmamıştır. 48. saatte ise sadece UVB uygulanan gruba göre tek doz E vitamini uygulanan grupta istatikselsel olarak anlamlı olmayan, 3 hafta E vitamini uygulanan grupta ise istatikselsel olarak anlamlı olan daha çok azalma gözlenmiştir (Tablo 10).

Çalışmamızda eritrosit redükte glutasyon değerlerinde tüm gruplarda kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı şekilde artış gözlenmiştir. E vitamini asetat uygulanan gruplar ve UVB uygulanan gruplar arasında ise anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 11).

Deri SOD değerlerinde 24. saatlerde yalnızca UVB uygulanan gruba göre tek doz E vitamini + UVB uygulanan grupta beklediğimiz gibi istatikselsel olarak anlamlı olacak şekilde daha az bir düşme, 48. Saatte ise SOD değerindeki artış kontrol grubundan dahi anlamlı olarak artış gözlenmiştir, 3 hafta E vitamini + UVB olan grupta ise 24 ve 48. saatlerde değerler kontrol grubuna yakın çıkmıştır (Tablo 12). Hemoglobin SOD değerlerinde tüm gruplarda 24. saatlerde kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı olacak şekilde bir azalma, 48. Saatlerde ise yalnızca UVB verilen grupta olduğu gibi bir artış gözlenmiş, ancak tek doz E vitamini + UVB verilen grupta bu artış kontrol grubu seviyelerine çıkacak şekilde olmuştur (Tablo 13).

Bir çok araştırmacı daha önce, antioksidanları hem hayvan hemde insan derisinde ışığa karşı koruyucu etkisini araştırmış ve değişik sonuçlara ulaşmıştır (4).

Roshchupkin ve ark. (64), 1979 da tavşan derisinde UV' ye bağlı eritem üzerine  $\alpha$  tokoferol, BHT (2,6-di-t-butyl-4-methyl phenol) ve fosfolipid fosfotidilkolin 'in

etkisini araştırmışlardır.  $\alpha$  tokoferol, ve BHT radyasyondan önce ve radyasyondan 2 dakika sonra uygulandığında derinin eritem cevabını büyük oranda azalttığını göstermişlerdir. Radyasyondan önce ve 2 dakika sonra uygulananlar arasında bir fark olmadığını görmüşlerdir. UV radyasyonundan 5 saat sonra yada daha sonra uygulanan antioksidanlar MED de hemen hemen bir değişiklik yapmamıştır.

Miyachi ve ark. (65), 1987 'de fare derisinde tek doz UVB radyasyonunun 24 ve 48 saat sonra SOD aktivitesinde önemli derecede azalma olduğunu ve bunun 72 saat sonra normal seviyeye geldiğini göstermişlerdir. UV radyasyonundan önce uygulanan lipozomal SOD 'un UV radyasyonundan sonra azalan SOD aktivitesini düzelttiğini göstermişlerdir.

$\alpha$  tokoferolu de kapsayan çeşitli antioksidanların hayvan derisine topikal olarak uygulanmasının, güneş yanığı hücre oluşumunu, UVB'ye bağlı kronik ışık hasarını düşük bir dereceye kadar UV eritemini ve serbest radikal oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (4,66,67).

Trevithick ve ark. (5), UVB'ye maruz kalmadan hemen sonra kullanıldığında, topikal tokoferol asetatın, eritemi, ödemi ve deri hassasiyetini azalttığını göstermişlerdir.

Antioksidan etkileri araştırmak için invitro çalışmalarda yürütülmüştür.

Werninghaus ve ark. (68), tokoferolun bir lipozom preparatında UVB'ye maruz bırakılmış normal insan deneklerden alınan kültüre edilmiş keratonositler üzerinde, tek başına taşıyıcı lipozomlara göre, koruyucu etkisinin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kralli ve Moss (69),  $\alpha$  tokoferolun suda çözünebilir analogunun, aktinik retiküloidli hastalardaki dermal fibroblastların anormal UVA duyarlılığını hafiflettiğini bildirmiştir.

Ayrıca  $\alpha$  tokoferolle kültüre edimiş insan fibroblastlarında UVB'ye maruz kalma sonrasında programlanmamış DNA sentezinde değişiklik olmadığını ama lipid peroksidasyonunda düşüş olduğu gösterilmiştir (70).

Bazı araştırmacılar ise  $\alpha$  tokoferolun UVB'ye karşı koruyucu etkisinin olmadığını, hatta topikal olarak uygulandığında tümör geliştirici olarak hareket ettiğini bildirmişlerdir (4, 72).

Werninghaus ve ark. (4), 1994' de çift kör, plesebo kontrollü bir çalışmada sağlıklı insanlara 6 ay boyunca oral olarak verilen 400 IU tokoferol asetat ile plesebo arasında başlangıçta birinci ve altıncı aylarda ölçülen minimum eritem dozunda önemli bir fark olmadığını ve minimum eritem dozunun üç katına maruz kalma sonucunda oluşan güneş yanığı hücrelerinin sayısında da iki grup arasında anlamlı derecede bir fark olmadığını gözlemlemişlerdir.

Ancak Werninghaus ve ark. yaptıkları çalışmada kullandıkları MED ölçümü ve güneş yanığı hücre sayımı, UV hasarı için yaygın olarak kabul edilmiş ölçüler olmalarına karşılık çok hafif derecedeki korumayı saptayabilmek için çok kaba ölçümler olabilir (4, 71).

Mitchel ve ark. (72), topikal olarak uygulanan E vitamininin fare derisinde 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate'ine yaklaşan etkinlikte 7,12-dimethylbenzanthracene ile başlatılan tümörü destekleyici olarak hareket ettiğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak bizim çalışmamız  $\alpha$  tokoferolun hem invivo hem invitro çalışmalarda ışığa karşı koruyucu etkisi olduğunu öne süren çalışmalarını desteklemektedir.

## VI. SONUÇLAR

1. UVB radyasyonu kobay derisinde 24. ve 48. saatlerde lipid peroksit düzeyinde artışa neden olmuştur. Eritrosit, karaciğer ve plazmada lipid peroksit seviyelerinde ise 48. saatte artış görüldü.

2. UVB radyasyonundan sonra kobay derisinde muhtemelen artan ROS'un inaktivasyonu sonucu antioksidan enzimlerden GSHPX ve SOD değerlerinde ilk 24 saatte azalma, 48. saatlerde ise muhtemelen artmış lipid peroksid ya da ROS'un bu iki enzimi indüklemeleri sonucu GSHPx ve SOD da bir artış gözlemlendi.

3. Eritrosit GSHPx de 48 saatte azalmaya devanm etmiş ancak eritrosit SOD düzeyinde kısmen bir artış görüldü.

4. Topikal E vitamini uygulanan her iki grupta da deri ve karaciğer lipid peroksit değerleri sadece UVB uygulanan grupta ki artışa göre anlamlı derecede baskılanmıştır. Eritrosit lipid peroksit değerleri topikal E vitamini asetat uyguladığımız her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan grup ile paralellik göstermiştir. E vitamini uygulanan iki grup arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Kontrol grubuna göre 48. Saatte artan lipid peroksit seviyeleri ise E vitamini uygulanan her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan gruba göre daha fazla bir artış göstermiştir.

5. Deri GSHPx seviyesinde yalnızca UVB uygulanan gruba göre 24. saatte olan azalmanın, E vitamini uygulanan her iki grupta da 48. saatte daha az bir artış gösterdiği kaydedildi. Fakat bunlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Eritrosit GSHPx değerleri E vitamini uygulanan her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan gruba paralellik göstermiş ancak 24. saatte tek doz E vitamini uygulanan grupta eritrosit GSHPx değerlerinde sadece UVB uygulanan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde hafif bir azalma göstermiş ancak kontrol grubundaki seviyelere çıkmamıştır. 48. saatte sadece UVB uygulanan gruba göre tek doz E vitamini uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan, 3 hafta E vitamini uygulanan grupta ise istatistiksel olarak anlamlı olan belirgin bir azalma gözlemlendi.

6. Çalışmamızda sadece UVB verilen ve E vitamini asetat uygulanan her iki grup eritrosit GSH değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu. Kontrol grubu hariç diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

7. Deri SOD değerlerinde 24. saatlerde yalnızca UVB uygulanan gruba göre tek doz E vitamini + UVB uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az bir düşme, 48. Saatte ise SOD değerinde ki artış kontrol grubundan dahi anlamlı olarak yüksek bulundu. 3 hafta E vitamini + UVB olan grupta ise 24 ve 48. saatlerde değerler kontrol grubuna yakın çıkmıştır. Hemoglobin SOD değerlerinde tüm gruplarda 24. saatlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde bir azalma, 48. saatlerde ise yalnızca UVB verilen grupta olduğu gibi bir artış gözlendi. Ancak tek doz E vitamini + UVB verilen grupta bu artış kontrol grubu seviyelerine çıkacak kadar oldu..

8. UVB uygulamasıyla bozulan deri ve hemoglobin SOD değerleri tek doz E vitamini asetat uygulanan grupta 3 hafta E vitamini uygulanan gruba göre daha iyi bir düzelme sağlamıştır.

9. UVB radyasyonundan sonra tek doz E vitamini asetat uygulamasının ve UVB radyasyonundan 3 hafta önce uygulanan E vitamini asetat'ın UVB radyasyonun zararlı etkilerine karşı faydalı olduğu sonucuna vardık.



## VII. ÖZET

Çalışmamızda bir antioksidan ajan olan E vitamini asetat'ın, tek doz ultraviyole B (UVB) radyasyonundan önce ve sonra topikal olarak uygulandığında UVB'ye bağlı olarak gelişen antioksidan kapasitede ki bozulmayı ne ölçüde değiştireceğini deneysel olarak araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızı 56 albino kobay (guinea pig) ile yaptık. Anestezi uygulanan kobayların sırt bölgeleri ortalama 35 cm<sup>2</sup> olacak şekilde tıraşlandı.

Daha sonra kobaylar dört gruba ayrıldı.

Kontrol grubuna traştan sonra hiç bir işlem uygulanmadı. Bir grup kobaya yalnızca UVB verildi. Bir kısmına UVB verildikten hemen sonra tek doz topikal olarak E vitamini asetat uygulandı. Bir kısmına ise önce 3 hafta süre ile topikal E vitamini asetat uygulayıp, en son uygulanan topikal E vitamini asetatın sonra UVB verildi. Kontrol grubu hariç diğer gruplardaki kobaylardan yarısı UVB verildikten 24 saat sonra, kalan yarısı 48 saat sonra dekapitasyonla öldürüldü.

Dekapite edilen tüm kobayların deri, karaciğer, plazma, eritrositlerinde lipid peroksit, hemoglobin ve deride süperoksit dismutaz, Deri ve eritrositlerde glutatyon peroksidaz, eritrositlerde redükte glutatyon çalışıldı.

Topikal E vitamini uygulanan her iki grupta da deri ve karaciğer lipid peroksit değerleri sadece UVB uygulanan grupta ki artışa göre anlamlı derecede baskılandı. Eritrosit lipid peroksit değerleri topikal E vitamini asetat uyguladığımız her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan grup ile paralellik gösterdi. Kontrol grubuna göre 48. Saatte artan plazma lipid peroksit seviyeleri ise E vitamini uygulanan her iki grupta da yalnızca UVB uygulanan gruba göre daha fazla bir artış gösterdi.

Deri GSHPx seviyesinde yalnızca UVB uygulanan gruba göre 24. saatte olan azalmanın, E vitamini uygulanan her iki grupta da 48. saatte daha az bir artış gösterdiği kaydedildi. Fakat bunlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Eritrosit GSHPx değerleri 48. saatte sadece UVB uygulanan gruba göre tek doz E vitamini uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan, 3 hafta e vitamini uygulanan grupta ise istatistiksel olarak anlamlı olan belirgin bir azalma gözlemlendi.

Çalışmamızda sadece UVB verilen ve E vitamini asetat uygulanan her iki grup eritrosit GSH değerleri kontrol gurubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak

şekilde yüksek bulundu. Kontrol grubu hariç diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

UVB uygulamasıyla azalan deri v hemoglobin SOD değerleri tek doz E vitamini asetat uygulanan grupta 3 hafta E vitamini uygulanan gruba göre daha iyi bir düzelme sağlamıştır.

UVB radyasyonundan sonra tek doz E vitamini asetat uygulamasının ve UVB radyasyonundan 3 hafta önce uygulanan E vitamini asetat'ın UVB radyasyonunun zararlı etkilerine karşı faydalı olduğu sonucuna vardık.



## VIII. KAYNAKLAR

1. Saygılı Eİ. Kolorektal kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistemler. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı, 1997.
2. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 12: 302-310.
3. Niwa Y, Kanoh T, Sakane T, Soh H, Kawai S, Miyachi Y. The ratio of lipid peroxides to superoxide dismutase activity in the skin lesions of patients with severe skin diseases: An accurate prognostic indicator. *Life Sci* 1987;40:921-927.
4. Werninghaus K, Meydani M, Bhawan J, Margolis R, Blumberg JB, Gilchrist BA. Evaluation of the photoprotective effect of oral vitamin E supplementation. *Arch Dermatol* 1994; 130: 1257-1261.
5. Trevithick JR, Xiong H, Lee S, Shum DT, Sanford SE, Karlık SJ, Norley C, Dilworth GR. Topical tocopherol acetate reduces post-UVB sunburn-associated erythema, edema, and skin sensitivity in hairless mice. *Arch Biochem Biophys* 1992; 296: 575-582.
6. Record IR, Dreosti IE, Konstantinopoulos M, Buckley RA. The influence of topical and systemic vitamin E on ultraviolet light-induced skin damage in hairless mice. *Nutr cancer* 1991;16:219-225.
7. Fuchs J, Huflejt ME, Rothfuss LM, Wilson DS, Carcamo G, Packer L. Impairment of enzymic and nonenzymic antioxidants in skin by UVB irradiation. *J Invest Dermatol* 1989; 93: 769-773.

8.Fuchs J, Huflejt ME, Rothfuss LM, Wilson DS, Carcamo G, Packer L. Acute effects of near ultraviolet and visible light on the cutaneous antioxidant defense system. *Photochem Photobiol* 1989; 50; 739-744.

9.Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995:1-73.

10.Aydın A, Sayal A, Işimer A. Oksijen radikalleri ve biyolojik sistemlerdeki rolü. *Gata Bülteni*. 1997; 39: 270-274.

11.Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Cellular injury and adaptation. In: Robbins Pathologic basis of disease. WB Saunders Company, 1989: 1-38.

12.Köse K, Doğan P. Lipid peroksidasyonu. *Erciyes tıp Dergisi Ek-1* 1992; 340-350.

13.Wyllie A, Duwall E. Cell death. In: McGee JOD, Isaacson PG, Wright NA, eds. Oxford text book of pathology: Principles of pathology. Oxford University Press, 1992:140-157.

14.Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türkderm*. 1996; 30:116-122.

15.Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1989; 1:1-8.

16.Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993;49:481-493.

17.Kılınç K. Oksijen radikalleri: Üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Derg* 1985;10:60-89.

18.Arthur JR. Nutritional inter- relationships between selenium and vitamin E. Rep Rowett Inst 1982;38:124-135.

19. Hitt ME. Oxygen-derived free radicals: Pathophysiology and implications. Compendium Small Animal 1988; 8: 939-945.

20. Boobis AR, Fawthrop DJ, Davies DS. Mechanisms of cell injury. In: McGee JOD, Isaacson PG, Wright NA, eds. Oxford text book of pathology: Principles of pathology. Oxford University Press, 1992:181-193.

21. Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Tıp derdisi 1992;3:243-250.

22. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa J Med 1996;27:41-50.

23.Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. Annu rev Biochem 1995;64:97-112.

24.Hashimoto Y, Ohkuma N, Iizuka H. Reduced superoxide dismutase activity in UVB induced hyperproliferative pig epidermis. Arch Dermatol res 1991: 283(5); 317- 320.

25.Menteş NK, Gülriz M. Harper'in Biyokimyaya bakışı. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 1986: 166-179.

26. Kagan VE, Packer L. Light- induced generation of vitamin E radicals: Assessing vitamin E regeneration. Methods Enzymol 1994;234:316-320.

27.Gündüz K. Dermatolojide E vitamini. Türkderm 1997; 31(4): 151-154.

28. Goldfarb AH. Antioxidant: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 1993 Feb;25(2):232-6.
29. Trevithick JR, Mitton KP. Topical application and uptake of conversion to free vitamin E. *Biochem Mol Biol Int* 1993 Dec: 31(5); 869-878.
30. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 6<sup>th</sup> ed. Feryal Matbacılık Ankara 1993;3:3046-3074.
31. Balcı E. Doğal E vitamini: hayat iksiri. 1<sup>th</sup> ed. Tur Ofset. İstanbul 1995: 12-28.
32. Görgülü A. Güneş ışınları ile uyarılan dermatozlar. XV. Ulusal Dermatoloji Kongresi: 31.10 - 4.11.1994; İzmir: Bildiri kitabı, p. 20-25.
33. Hawk JLM. Cutaneous photobiology. In: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG, Champion RH, Burton JL, eds. *Textbook of Dermatology*. 5<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell Sci Pub, 1992: 849-865.
34. Anderson TF. Ultraviolet Phototherapy. In: Moschella SL, Hurley HJ, eds. *Dermatology*. WB Saunders Company 1992: 2261-2269.
35. Oğuz O. Işık ve deri. In Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransü O, eds. *Dermatoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1994: 601-609.
36. Tüzün Y, Tüzün B, Kotoğyan A. Normal derinin yapısı ve gelişmesi. In: Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransü O, eds. *Dermatoloji*. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1994: 601-609.
37. Habif TP. *Clinical Dermatology: a color guide to diagnosis and therapy*. 3<sup>th</sup> ed. St Louis Mosby. 1996; 1-24

38. DuVivier A. Atlas of Clinical Dermatology 2. th ed. London-New York: Gower Medicl Publishing, 1993: 2.1-2.12.

39. Atagündüz G. Ozon olayı. XV. Ulusal Dermatoloji Kongresi 31.10 - 4.11.1994; İzmir: Bildiri kitabı, p. 1-8.

40. Baransü O. Dış etmenlere bağlı deri yaşlanması. XV. Ulusal Dermatoloji Kongresi: 31.10 - 4.11.1994; İzmir: Bildiri kitabı, p. 9.

41. Uzuner YY. Deri yaşlanması ve güneş filtreleri. T Klin J Cosmetol 1998; 1(1): 43-49.

42. Karaduman A. Serbest radikaller ve yaşlanma. T Klin J Cosmetol 1998; 1(1): 21-26.

43. Fitzpatrick TB, Johnson RA, Wolff K, Polano MK, Suurmond D. Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology. 3 th ed. New York: McGraw Hill, 1997: 228-265.

44. Ukşal Ü. Ultraviyolenin derideki akut ve kronik etkileri. XVI. Ulusal Dermatoloji Kongresi: 1-5.10.1996; Antalya: Fotodermatoloji paneli, p.1-3.

45. Magnus A. Photopathology. In: McGee JOD, Isaacson PG, Wright NA, eds. Oxford text book of pathology: Principles of pathology. Oxford University Press, 1992: 759-770.

46. Utaş S. Fotoimmünoloji. XVI. Ulusal Dermatoloji Kongresi: 1-5.10.1996; Antalya: Fotodermatoloji paneli, p.4-14.

47. Habif TP. Clinical Dermatology: a color guide to diagnosis and therapy. 3 th ed. St Louis Mosby. 1996; 597-626.

48. Matkovics B, Szabo L, Varga IS. Determination of enzyme activities in lipidperoxidation and glutathione pathways (in Hungarian). *Laboratoriumi Diagnosztika*. 1988;15:248-249.
49. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966;16:359-364.
50. Sedlak J, Lindsay RHC. Estimation of total, proteinbound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Anal Biochem*. 1968;25:192-205.
51. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun*. 1976; 71:952-958.
52. Lowry OH, Rosebrough NY, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-275.
53. Iizawa O, Kato T, Tagami H, Akamatsu H, Niwa Y. Long term follow-up study of changes in lipid peroxide levels and the activity of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in mouse skin after acute and chronic UV irradiation. *Arch Dermatol res* 1994;286: 47-52.
54. Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gautero H, Dhermy D, Boivin P. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Research* 1984;44: 4137-4139.
55. Pence BC, Naylor MF. Effects of single dose ultraviolet radiation on skin superoxide dismutase, catalase, and xanthine oxidase in hairless mice. *J Invest Dermatol* 1990;95; 213-216.
56. Nakaguma H, Takahashi H. Remarkable elevation of leukotriene B<sub>4</sub> in rat skin after induction of UV photodermatitis. *Inflammation* 1990;14:195-203.



57. Bisset DL, Hannon DP, Orr TV. Wavelength dependence of histological physical, and visible changes in chronically UV- irradiated hairless mouse skin. *Photochem Photobiol* 1989;50: 763-769.

58. Hasegawa T, Kaneko F, Niwa Y. Changes in lipid peroxide levels and activity of reactive oxygen scavenging enzymes in skin, serum and liver following UVB irradiation in mice. *Life Sci* 1992;50:1893-1903.

59. Potapenko AY, Abijev GA, Pistsov MY, Roshehupkin DI, Vladimirov YA, Pliquet F, Ermolayev AV, Sarycheva IK, Evstigneeva RP. PUVA- induced erythema and changes in mechano-electrical properties of skin. Inhibition by tocopherols. *Arch Dermatol Res* 1984;276:12-16.

60. Gensler HL, Magdaleno M. Topical vitamin E inhibition of immunosuppression and tumorigenesis induced by ultraviolet irradiation. *Nutr Cancer* 1991; 15(2); 97-106.

61. Gensler H, Aickin M, Peng YM, Xu M. Importance of the form of topical vitamin E for prevention of photocarcinogenesis. *Nutr Cancer* 1996;26:183-191.

62. Gerrish K, Gensler H. Prevention of photocarcinogenesis by dietary vitamin E. *Nutr Cancer* 1993;19:125-133.

63. Norkus EP<sup>1</sup>, Bryce GF, Bhagavan HN. Uptake and bioconversion of alpha-tocopheryl acetate to alpha-tocopherol in skin of hairless mice. *Photochem Photobiol.* 1993 Apr;57(4):613-5.

64. Roshehupkin DI, Pistsov YM, Potapenko AY, Inhibition of ultraviolet light-induced erythema by antioxidants. *Arch Dermatol Res* 1979;266:91-94.

65. Miyachi Y, Imamura S, Niwa Y. Decreased skin superoxide dismutase activity by a single exposure of ultraviolet radiation is reduced by liposomal superoxide dismutase pretreatment. *J Invest Dermatol* 1987;89:111-112.

66. De Rios G, Chan JT, Black HS, Rudolph AH, Knox JM. Systemic protection by antioxidants against UVL-induced erythema. *J Invest Dermatol*. 1978 Mar;70(3):123-125.

67. Khettab N, Amory MC, Briand G, Bousquet B, Combre A, Forlot P, et al. Photoprotective effect of vitamins A and E on polyamine and oxygenated free radical metabolism in hairless mouse epidermis. *Biochimie*. 1988 Dec;70(12):1709-13.

68. Werninghaus K, Handjani RM, Gilchrest BA. alfa- tocopherol in carier liposomes on ultraviolet-mediated human epidermal cell damage in vitro. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1991 Dec;8(6):236-42.

69. Kralli A, Moss SH. The sensitivity of an actinic reticuloid cell strain to near-ultraviolet radiation and its modification by trolox-C, a vitamin E analogue. *Br J Dermatol*. 1987 Jun;116(6):761-72.

70. Kondi S, Mamada A, Yamaguchi J, Fukuro S. Protective effect of D-alfa-tocopherol on the cytotoxicity of ultraviolet B against human skin fibroblasts in vitro. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1990; 7: 173-177. (4 no lu kaynakta site edilmiştir.)

71. Gange RW. Acute effects of ultraviolet radiation in the skin. In Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF. *Dermatology in General Medicine*. New York: McGraw-Hill International Book Co, 1987: 1451-1457.

72. Mitchel REJ, McCann R. Vitamin E is a complete tumor promoter in mouse skin. *Carcinogenesis* 1993;14:649-662.