

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**NON-MELANOM CİLT KANSERLİ HASTALARDA OKSİDATİF
DNA HASARI VE VİTAMİN A, E İLE 25-HİDROKSİ VİTAMİN D
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Dr. GÖNÜL TEKİN
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Hamit Hakan ALP**

VAN-2015
T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**NON-MELANOM CİLT KANSERLİ HASTALARDA OKSİDATİF
DNA HASARI VE VİTAMİN A, E İLE 25-HİDROKSİ VİTAMİN D
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Gönül TEKİN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Hamit Hakan ALP

VAN-2015

İçindekiler

ÖNSÖZ	III
KISALTMALAR.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Serbest Radikaller	3
2.1.1 Reaktif oksijen türleri	4
2.1.2 Reaktif nitrojen türleri	8
2.1.3 Serbest radikallerin fizyolojik etkileri	9
2.1.4 Oksidatif stres ve serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri	11
2.1.5 Antioksidan savunma sistemleri.....	19
2.1.6 Oksidatif stres ve kanser	29
2.2 Vitamin D ve kanser	31
2.2.1 Vitamin D'nin yapısı, sentezi ve metabolizması.....	31
2.2.2 Vitamin D'nin biyolojik aktivitesi	33
2.2.3 Vitamin D ve karsinogenez	35

2.3 Non-melanom cilt kanserleri	37
2.3.1 Non-melanom cilt kanserlerinin etiyolojisi ve risk faktörleri.....	37
2.3.2 Non-melanom cilt kanserlerinin sınıflandırması.....	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1 Gereç.....	43
3.1.1 Vaka seçimi.....	43
3.1.2 Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması.....	43
3.1.3 Kullanılan cihazlar, kimyasallar ve kitler	43
3.2 Yöntem.....	45
3.2.1 25-OH vitamin D ölçüm yöntemi.....	45
3.2.2 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) ve deoksi guanozin (dG) ölçüm yöntemi	45
3.2.3 Malondialdehit (MDA) ölçüm yöntemi.....	46
3.2.4 Vitamin A ve E ölçüm yöntemi.....	46
3.3 İstatiksel analiz	47
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
6. KAYNAKLAR	67
7. ÖZGEÇMİŞ	81
8. EKLER	82

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmam sırasında bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hamit Hakan ALP'e, eğitimim süresince katkılarından ve desteklerinden dolayı hocalarım Sayın Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU'na ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ragıp BALAHOROĞLU'na, Sayın Öğr. Gör. Zübeyir Huyut'a teşekkürlerimi sunarım. Mesleği tanımamda ve sevmemde büyük katkıları olan hocam Sayın Doç. Dr. Macit KOLDAŞ'a, arkadaşlığıyla, dostluğuyla hep yanımda olan hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Erdem ÇOKLUK'a teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimi süresi boyunca dostluklarını, sevgilerini, emeklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. Tahsin KARAKOYUN'a ve Dr. Emine YILMAZ'a, muhabbetle ve saygıyla beraber çalıştığımız tüm biyokimya laboratuvarı çalışanlarına, emeğiyle çalışmamıza büyük katkısı olan Uzm. Dr. Ruşen KÖÇEROĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Destekleri, sevgileri ve güvenlerinden dolayı değerli aileme ve özellikle Betül'e, sevgisiyle, emeğiyle hep yanımda olan, yol arkadaşım, sevgili eşim Uzm. Dr. Hakan TEKİN'e ve hayatımı güzelleştiren canım oğlum Arvin'e teşekkür ederim.

Dr. Gönül TEKİN

KISALTMALAR

•OH	: Hidroksil radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
A	: Adenin
AK	: Aktinik keratoz
AP-1	: Aktivatör protein-1
BCC	: Bazal hücreli karsinom
BHT	: 3,5-Di- <i>tert</i> -4-butylhydroxytoluene
C	: Sitozin
CAT	: Katalaz
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CPD	: Siklobutan pirimidin dimerleri
dG	: Deoksiguanozin
G	: Guanin
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HNE	: 4-hidroksi-2-nonenal
hOGG1	: 8-oxoguanine DNA-glikozilaz
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBHS	: Nevroid bazal hücreli karsinom sendromu
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B

NMCK	: Nonmelanom cilt kanserleri
NO	: Nitrik oksit
O₂	: Moleküler oksijen
O₂ •⁻	: Süperoksit anyonu
PTH	: Paratiroid hormon
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SCC	: Skuamöz hücreli karsinom
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
T	: Timin
TBA	: 2-tiyobarbitürik asit
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
UVC	: Ultraviyole C
UVR	: Ultraviyole radyasyon
VDR	: Vitamin D reseptörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No:

Sayfa No:

Şekil 1: Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı	11
Şekil 2: Lipid peroksidasyonu.....	13
Şekil 3: Sisteinin ROT/RNT'lerinin varlığında oksidasyon yolağı	15
Şekil 4: Reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerle etkileşim sonucu oluşan DNA bazları	17
Şekil 5: C8-OH bileşikli guanin radikalinden oluşan farklı ürünlerin yapıları.....	18
Şekil 6: Glutatyonun katalitik mekanizması	23
Şekil 7: RRR- α - tokoferolün yapısı.....	25
Şekil 8: Vitamin E'nin peroksil radikali ile reaksiyonu ve vitamin C'nin oksidasyonu ile yeniden dönüşümü	26
Şekil 9: Vitamin A'nın (retinol) yapısı	27
Şekil 10: Karotenoid ve retinil esterlerinin vitamin A'nın aktif formlarına dönüşümü	28
Şekil 11: Vitamin D'nin doğal formları	32
Şekil 12: UV ışınlarının neden olduğu mutasyonlar	39
Şekil 13: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda MDA seviyelerinin $\bar{X} \pm SD$ değerleri.....	51
Şekil 14: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 8-OHdG/106dG seviyelerinin $\bar{X} \pm SD$ değerleri.....	51
Şekil 15: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 25-OH vitamin D seviyelerinin $\bar{X} \pm SD$ değerleri.....	52
Şekil 16: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Vitamin A seviyelerinin $\bar{X} \pm SD$ değerleri...52	
Şekil 17: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Vitamin E seviyelerinin $\bar{X} \pm SD$ değerleri...53	
Şekil 18: MDA-Güneşe Maruziyet Saati arasındaki korelasyon grafiği	54
Şekil 19: 8-OHdG/106dG-Güneşe Maruziyet Saati arasındaki korelasyon grafiği	55
Şekil 20: MDA-Vitamin A arasındaki korelasyon grafiği.....	55
Şekil 21: 8-OHdG/106dG ve Vitamin A arasındaki korelasyon grafiği	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1: Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları	5
Tablo 2: Oksidatif hasara aracılık eden moleküller	10
Tablo 3: Antioksidanların sınıflandırması.....	20
Tablo 4: Vitamin D'nin çeşitli dokularda, çalışmalar sonucunda gözlemlenen fonksiyonları	35
Tablo 5: Fitzpatrick deri tipi sınıflaması.....	40
Tablo 6: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda yaş ve güneşe maruziyet saati ortalama değerleri.....	48
Tablo 7: Sağlıklı Kontrol ve hasta grubunda sigara içme durumları ve Fitzpatrick deri sınıfı verilerinin yüzde oranları	48
Tablo 8: Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında yapılan ölçümlerin istatistiksel değerlerine ait bulgular.....	49
Tablo 9: Tüm gönüllülerde yapılan ölçümlerin Fitzpatrick deri sınıflamasına göre ortalamalarının karşılaştırılması	50
Tablo 10: Ölçülen parametreler arasındaki Pearson korelasyon katsayıları	54

ÖZET

Oksidatif stres, membranlardaki lipidlerin peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA hasarına ve hücre içi sinyal yollarının bozulmasına neden olarak hücredeki dengelerin değişmesine ve dolayısıyla kanser oluşumuna neden olabilir. Bu çalışmada nonmelanom cilt kanserleri (NMCK) ile oksidatif DNA hasarı ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişki ve nonmelanom cilt kanserli hastalarda antioksidan ve kanserden koruyucu etkilere sahip olduğu düşünülen vitamin A ve E düzeyleri ile 25-hidroksi vitamin D düzeyleri incelendi.

Çalışmaya vitamin veya antioksidan kullanmayan, 31 sağlıklı ve 38 nonmelanom cilt kanserli hasta olmak üzere toplam 69 gönüllü birey dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunda 8-OHdG/10⁶dG, MDA, vitamin A, vitamin E ve 25-OH vitamin D düzeyleri ölçüldü. Hasta grubunda 8-OHdG/10⁶dG ve MDA düzeyleri olarak anlamlı derecede yüksek saptanırken, vitamin A ve 25-OH vitamin D düzeyleri istatistiksel olarak düşük saptandı (p<0.01). Vitamin E değerleri açısından her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Gruplar arasında yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, Fitzpatrick deri sınıflaması açısından fark bulunmazken, güneşe maruziyet saati hasta grubunda anlamlı derecede yüksek saptandı (p<0.01). Yapılan korelasyon analizinde güneşe maruziyet saati ile 8-OHdG/10⁶dG ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon görüldü (p<0.05).

Bu çalışmanın sonuçları, cilt kanserlerinin etiolojisinde yer alan güneş kaynaklı UV ışınlarının karsinojen etkilerine oksidatif hasarın ve özellikle oksidatif DNA hasarının aracılık ettiğini, vitamin A ve vitamin D'nin ise cilt kanserlerine karşı koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Nonmelanom Cilt Kanserleri, Oksidatif DNA Hasarı, 8-OHdG, MDA, 25-OH Vitamin D, Vitamin A, Vitamin E

SUMMARY

Investigation of oxidative DNA damage, vitamin A, vitamin E and 25-hydroxy vitamin D levels in patients with nonmelanoma skin cancer

Oxidative stress causes membrane lipid peroxidation, protein oxidation, DNA damage and deterioration a shift in the balance of intracellular signaling pathways in the cell. These effects of oxidative stress can lead to cancer development. In this study relationship between Non-melanoma skin cancers (NMSC) and oxidative DNA damage and lipid peroxidation was investigated. Also the levels of 25-hydroxy vitamin D, vitamin A and E which thought to have antioxidant and cancer protective effects were analyzed in patients with Non-melanoma skin cancer.

31 healthy individuals and 38 patients with Non-melanoma skin cancer were included in the study. In both of the groups, subjects with history of using vitamin or antioxidant were excluded. The levels of 8-OHdG / 106dG, MDA, vitamin A, vitamin E and 25-OH vitamin D were measured in both groups. While the levels of 8-OHdG / 10⁶dG and MDA were found significantly higher, vitamin A and 25-OH vitamin D levels were statistically significantly lower ($p < 0.01$) in cancer group than healthy group. Vitamin E levels were not significantly different between both groups ($p > 0.05$). Among the groups there was no difference in terms of age, gender, smoking status and Fitzpatrick skin classification. On the other hand duration of sunlight exposure was significantly higher in the cancer group ($p < 0.01$). A positive correlation was founded between the duration of sunlight exposure and 8-OHdG / 10⁶dG, MDA levels ($p < 0.05$).

The results of this study suggests that oxidative damage, especially oxidative DNA damage may mediate carcinogen effects of sun-induced UV rays which are important in skin cancer's etiology. According to results of this study vitamin A and vitamin D could be protective against skin cancer development.

Key words: Nonmelanoma skin cancer, oxidative DNA damage, 8-OHdG, MDA, 25-OH vitamin D, Vitamin A, Vitamin E

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıklar, diyabet, iske mi/reperfüzyon hasarı ve yaşlanma dâhil birçok patolojinin oluşumunda rol almaktadır [1-3]. Yüksek konsantrasyonlardaki oksidatif stres ürünleri hücre yapısını, nükleik asitleri, lipidleri ve proteinleri etkileyerek önemli ölçüde hasara uğratabilirler [4].

Genetik materyalde kalıcı modifikasyona sebep olan oksidatif hasar; mutasyon, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımlarındandır. Reaktif oksijen türlerinin (ROT) etkisiyle DNA'da tek ve çift zincir kırıkları, pürin, pirimidin veya deoksiriboz modifikasyonları ve DNA çapraz bağlanmaları meydana gelir. DNA mutasyonu karsinogenezin kritik basamağıdır ve pek çok tümör çeşidinde artmış okside DNA lezyonları saptanması oluşan hasarın kanser etiolojisinde güçlü rolü olduğunu düşündürmüştür. DNA hasarı; transkripsiyonun durması veya tetiklenmesiyle, sinyal transdüksiyon yolağının indüklenmesiyle, replikasyon hatalarıyla ve genomik instabilite ile sonuçlanabilir. Bütün bu basamaklar karsinogenez ile ilişkilidir [4, 5]. Ayrıca oksidatif hasara bağlı lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) gibi α , β -ansature aldehitlerin mutajenik ve karsinojenik olduğu gösterilmiştir. MDA nükleik asitlerle reaksiyona girerek çok sayıda bileşik oluşturabilmekte ve bu sebeple de mutajenik ve genotoksik olabilmektedir [6, 7].

Reaktif oksijen türlerinin üretimi ve uzaklaştırılması arasındaki dengenin kontrol edilmesi amacıyla çok çeşitli DNA tamir enzimleri olduğu gibi, hücrelerin radikallerden daha etkili ve daha spesifik bir şekilde korunması için antioksidanlar mevcuttur [8]. Antioksidan savunma sistemi vitaminler (vitamin A, E ve C gibi), mineraller (selenyum gibi), enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz gibi) ve pek çok organik maddeden oluşmaktadır [4, 9].

Nonmelanom cilt kanserleri (NMCK) beyaz ırkta en sık rastlanan kanser türüdür ve dünya genelinde de insidansı artmaktadır. NMCK'nın en sık rastlanan alt tipleri bazal hücreli karsinom (Basal Cell Carcinoma-BCC) ve skuamöz hücreli karsinomdur (Squamous Cell Carcinoma-SCC). BCC pek çok ülkede NMCK'nın en sık karşılaşılan alt tipidir. Mortalitesi düşük olduğu halde, sağlık sisteminde önemli bir ekonomik yüke neden

olmakta ve özellikle baş, boyun ve yüz gibi görünen bölgelerde rastlandığından önemli morbiditeye sebep olmaktadır [10].

Ultraviyole ışınlarının cilt kanserlerinde en önemli etiyolojik faktör olduğu düşünülmektedir. Ultraviyole B (UVB) doğrudan DNA hasarı yaparken, ultraviyole A ışınlarının zararlı etkileri fotosensitivite ve ROT üretimi şeklindedir [11]. Cilt aynı zamanda vücut ve çevre arasındaki arayüz fonksiyonundan kaynaklı sürekli olarak endojen ve çevresel pro-oksidanlara maruz kalır. Cildin maruz kaldığı oksidanlara karşı korunması için iyi organize olmuş, kimyasal ve enzimatik anti-oksidan sistemlere ihtiyaç vardır [9].

Bu çalışmada, NMCK etiyolojisinde oksidatif hasarın etkili olabileceği düşünülerek NMCK'lı hastalarda özellikle oksidatif DNA hasarı göstergesi olarak 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyi, lipid peroksidasyonu göstergesi olarak MDA düzeyi ve antioksidan etkili vitamin A ve E serum düzeylerinin tespiti ile varsa bu değişkenler arasındaki korelasyonu ve oksidatif stresin NMCK etiyolojisindeki rolünü incelemeyi amaçladık. Vitamin D UVB ışınları sonucu deride üretilmektedir ve pek çok kanser tipine karşı koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır [12]. Bu sebeple ultraviyole ışınlarının etiyolojisinde büyük rol oynadığı NMCK'lı hastalarda serum 25-hidroksi vitamin D düzeylerini de belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

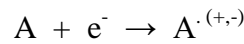
2.1 Serbest Radikaller

Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ve çekirdeğin etrafında bulunan negatif yüklü elektronlardan oluşur. Elektronlar orbital adı verilen uzaysal yörüngelerde çift olarak bulunmaktadır. Eksik elektrona sahip olan moleküller oldukça reaktif olup, kararsızdırlar. Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük, başka moleküllerle reaksiyona giren ve onların kimyasal yapısını bozan, yüksek aktiviteye sahip moleküllere serbest radikaller ya da oksidan moleküller denmektedir [13].

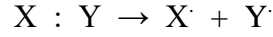
Biyolojik materyallerdeki serbest radikallerin varlığı yaklaşık 60 yıl önce keşfedilmiştir [14]. Oksijenin toksik etkilerinin sebebi, Gerschman'ın 1954'te yayınlanan ve bu toksik etkilerin kısmi indirgenmiş oksijen türlerinden kaynaklandığını anlattığı makalesinin öncesinde bilinmiyordu [15]. 1956'da ise serbest radikaller; hücre hasarı, mutasyonlar, kanser ve son olarak biyolojik yaşlanmanın dejeneratif sürecinden sorumlu tutuldular [16]. 1977'de hidroksil radikalının ($\bullet\text{OH}$) guanilat siklazı aktivasyonunu ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunu stimüle etmesinin kanıtlanmasıyla serbest radikallerin biyolojik sistemlerde olumlu etkileri ve fizyolojik fonksiyonları üzerine çok çeşitli bulgular elde edilmiştir [17].

Serbest radikaller yüksek enerji transferi gerektiren üç grup tepkime sonucu üretilirler [13, 18].

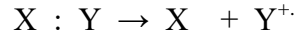
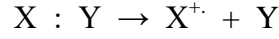
1-) *Normal bir moleküle elektron transferi*; radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış bir elektron oluşturan indirgenme reaksiyonu, (moleküler oksijenin radikal formu olan süperoksit oluşumu).



2-) Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün *homolitik yıkımı* (yüksek enerji ile bağların kırılması) sonucu her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır, (polar olmayan çözeltilerde gaz fazında daha sık meydana gelir).



3-) Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile *heterolitik yıkım* ; kovalent bağı oluşturan her iki elektron da atomlardan birisinde kalır, (daha çok polar çözeltilerde görülür).



Serbest oksijen radikalleri (SOR) daha genel adıyla reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) normal hücrese metabolizmanın ürünleridir. ROT ve RNT her ikisinin de canlı sistemlere hem faydaları hem de zararları vardır [4]. Serbest radikallerin yol açtığı potansiyel biyolojik zarar oksidatif stres ve nitrozatif stres olarak isimlendirilir. Bu durum ROT/RNT'nin aşırı üretimi durumunda veya enzimatik, non-enzimatik antioksidan sistemlerin eksikliğinde ortaya çıkar. Başka bir şekilde ifade etmek gerekirse oksidatif stres, oksijen kullanan metabolik reaksiyonlar sonucunda ve canlı organizmadaki prooksidan ve antioksidan reaksiyonlardaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkar [19, 20].

Serbest radikaller metabolizma sonucu oluşabildikleri gibi çevresel etmenlere maruziyet sonucunda da oluşabilmektedirler (Tablo 1) [21].

2.1.1 Reaktif oksijen türleri

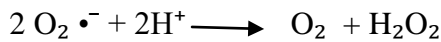
Reaktif oksijen türleri terimi oksijenden kaynak alan çok çeşitli sayıda molekülü ve serbest radikali tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Kararlı haldeki moleküler oksijen biradikaldir (triplet durum olarak da bilinir) ve dış kabuğunda eşleşmemiş iki elektrona sahiptir. Bu iki elektron aynı spinde oldukları sürece oksijen bir seferde tek bir elektron ile reaksiyona girebildiği için çok reaktif değildir. Ancak bu elektronlardan biri uyarılır ve spin değiştirirse güçlü bir oksidan halini alır (singlet oksijen olarak bilinir) ve hızlıca diğer elektron çiftleriyle reaksiyona girebilir [22].

Tablo 1: Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları [21] .

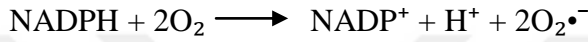
Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
<ul style="list-style-type: none">◆ Mitokondriyal elektron transport zinciri◆ Kloroplast elektron transport zinciri◆ Sitokrom P450◆ Oksidan enzimler<ul style="list-style-type: none">– Ksantin oksidaz– İndolamin dioksijenaz– Triptofan dioksijenaz– Galaktoz oksidaz– Siklooksijenaz– Mono aminooksijenazlar◆ Fagositik hücreler<ul style="list-style-type: none">– Nötrofiller– Monosit ve makrofajlar– Eozinofiller– Endotelyal hücreler◆ Oto-oksidasyon reaksiyonları (Fe^{+2}, Epinefrin gibi)	<ul style="list-style-type: none">◆ Redoks döngüsüne katılan maddeler (paraquat, diquat, alloksan, doksorubisin gibi)◆ İlaç oksidasyonları (parasetamol, CCl_4 gibi)◆ İyonize radyasyon◆ Güneş ışığı◆ UV ışınlar◆ X ışınları◆ Isı şoku◆ Glutasyonu okside eden maddeler◆ Hava kirliliği<ul style="list-style-type: none">– Sigara dumanı– Ozon– Kükürt dioksit– Egzoz gazları

2.1.1.1 Süperoksit anyonu ($O_2 \bullet^-$)

Süperoksit anyonu biyolojik sistemlerdeki en çok indirgenen ve yükseltgenen türlerin öncülüdür. Moleküler oksijene (O_2) bir elektron ilavesi ile süperoksit anyonu ($O_2 \bullet^-$) oluşur ve bu durum oksidatif yolağı başlatır. İki süperoksitin etkileşimi sonucunda biri oksidasyona uğrarken bir diğeri redüksiyona uğrar. Bu reaksiyon sonucunda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijen (O_2) oluşur. Reaksiyon asidik pH'da spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalitik olarak gerçekleşir [23].



Süperoksit üretiminin büyük çoğunluğu hücre mitokondrisinde gözlemlenir. Mitokondriyal elektron transport zincirinde enerji aktarımı sırasında oksijene doğru prematüre bir şekilde küçük miktarlarda elektron kaçağı olur ve süperoksit radikali oluşur. Yapılan ölçümler elektron zincirindeki tüm elektronların % 1-3'ünün oksijenden su oluşturmak yerine süperoksit oluşumuna katıldığını gösteriyor [24]. Ayrıca süperoksit ve hidrojen peroksit inflamatuvar süreç boyunca aktive nötrofil ve makrofajlarda nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz tarafından enzimatik olarak da sentezlenirler. Genel olarak tüm endojen oksidazlar moleküler oksijene iki elektron transfer ederek süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olurlar [25].



Süperoksit ve hidrojen peroksit demir ve bakır gibi geçiş metalleriyle reaksiyona (Fenton reaksiyonu) girerek güçlü bir oksidan olan hidroksil radikalini ($\bullet\text{OH}$) oluştururlar [25]. Ayrıca süperoksit bir anyon olarak tanımlansa da ortam pH'sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilmektedir. Oluşan bu yapı hidroperoksil radikali ($\text{HO}_2\bullet$) olarak adlandırılmaktadır. Hidroperoksil radikali süperoksit radikalinden daha oksitleyicidir ve çift tabaka lipid membrana daha kolay penetre olur [23].

2.1.1.2 Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit diğer ROT'lara oranla daha stabil olması sebebiyle belki de biyolojik sistemlerde en sık bulunan ROT'dur. Hidrojen peroksit moleküler oksijenin iki elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Ancak biyolojik sistemlerde en fazla süperoksitin dismutasyonu ile oluşur.



Orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunmadığından radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür [23]. Ancak hidrojen peroksitin ikiden daha fazla elektron alması sitotoksik bir oksidan olmasına yol açar. Demir ve bakır gibi metallerin hidrojen peroksite üçüncü bir

elektron transfer etmesi bilinen en güçlü oksidan olan hidroksil radikalının oluşmasına neden olur [26].

Hidrojen peroksit hücre içi katalaz, glutatyon peroksidaz, peroksiredoksin enzimleri ve proteinlerdeki tiyol rezidülerinin oksidasyonu yoluyla non-enzimatik olarak su ve oksijen gibi ürünlere dönüştürülerek etkisizleştirilir [23].

2.1.1.3 Hidroksil radikali (•OH)

Hidroksil radikali hidroksid iyonunun nötral formudur. Hidroksil radikali oldukça reaktif olması ve çok kısa yarı ömrü (in vivo yaklaşık 10^{-9} sn) ile oldukça tehlikelidir [24]. Hidroksil radikali çeşitli mekanizmalarla oluşabilir. İyonize radyasyon suyu, •OH ve hidrojen atomları oluşturmak üzere ayrıştırabilir [4]. Bu iyonize radyasyonun canlılar üzerindeki toksik etkisinin başlıca sorumlusudur [27]. •OH radikali ayrıca alkilhidroperoksidazların fotolitik ayrışması sonucu da oluşur. •OH radikalının vücuttaki başlıca kaynağı hidrojen peroksitin indirgendiği, metallerle katalize edilen Fenton reaksiyonudur. Hidroksil radikali en fazla demir, bakır, krom, kobalt gibi geçiş metallerinin aracılık ettiği Fenton reaksiyonu sırasında üretilir [4].



Doğal enzimler ve glutatyonun ortamda yetersiz olup, hidrojen peroksitin etkisizleştirilemediği ortamlarda, süperoksit ve hidrojen peroksitin $\text{Fe}^{+3}/\text{Cu}^{+2}$ katalizörlüğünde reaksiyona girmesi sonucunda •OH radikali oluşur. Bu tepkimeye Haber-Weiss reaksiyonu denir [27].



Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde makromoleküllerde oluşan oksidatif hasarın başlangıcında ve oluşmasında direkt rol oynar. •OH radikali hidrojen çıkarma, elektron aktarma ve radikal-radikal reaksiyonlarıyla hemen hemen bütün organik moleküllerle tepkimeye girer [23]. Son derece zararlı bir reaktif olan •OH radikalının, biyolojik sistemlerde fizyolojik ve patolojik etkileri vardır. •OH radikali ile oluşan en iyi

tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur [27].

2.1.1.4 Singlet oksijen (1O_2)

Singlet oksijen (1O_2) ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen türüdür. Moleküler oksijenin enerjetik olarak uyarılan bu formunda reaktivite çok yüksektir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin enerji alması sonucu, elektronlarından birinin kendi spininin ters yönünde olan bir başka orbitale yer değiştirmesiyle oluşur. Vücutta pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin gibi) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla, hidroperoksitlerin metallerin varlığındaki yıkım tepkimelerinde, kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında, prostoglandin endoperoksit sentaz, sitokrom p450 tepkimeleri, myelo/kloro/laktoperoksidaz enzimlerinin etkileri ile oluşabilmektedir [18, 27].

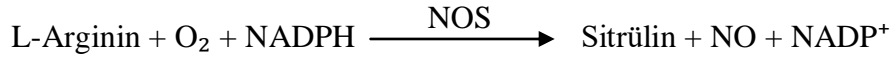
Singlet oksijen ve hidroksil radikallerinin üretimi, süperoksit ve hidrojen peroksit moleküllerinin ortamda birikmesine bağlıdır. Bu iki bileşiğin ortamdan uzaklaştırılmadığı durumlarda, iki molekülün birbiriyle karşılaşması sonucu, 1O_2 ve $\bullet OH$ radikali üretilir [27].

Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileşime girdiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon (C=C) çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini (ROO \bullet) oluşturmaktadır ve $\bullet OH$ radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir [27].

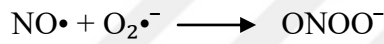
2.1.2 Reaktif nitrojen türleri

Nitrik oksit (NO veya NO \bullet) yörüngesinde çiftleşmemiş elektron barındıran ve bu nedenle radikal olan küçük bir moleküldür. NO apolar bir maddedir ve sıvı ortamda sadece birkaç saniyelik yarı ömrü vardır. Düşük oksijen konsantrasyonlarında daha stabildir ve hem suda hem de lipid tabakada çözünebilir, sitoplazma ve plazma membranlarından kolaylıkla difüze olabilir [23, 24].

NO biyolojik dokularda spesifik nitrik oksit sentazlarla (sNOS) sentezlenir. Beş elektronluk oksidatif bir tepkimeyle L-arjininin sitriline metabolize olması sırasında oluşur. L-arjininin terminal guanido-nitrojen atomlarından birinin oksidasyonu ile üretilir. NO nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizması, düz kas gevşemesi ve immün sistemin düzenlenmesi dahil çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir sinyal molekülü olarak önemli bir rol oynar [19, 24].



NO biyolojik sistemlerde oksitleyici reaktif nitrojen türlerinin ana prekürsörüdür ve NO'nin toksisitesi genel olarak kendisinden daha reaktif olan peroksinitrit (ONOO^-) ve nitrojen dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) gibi serbest radikalleri oluşturmasıyla sınırlıdır. NO süperoksit anyonu ($\text{O}_2\cdot^-$) ile reaksiyona girerek peroksinitrit anyonunu oluşturur. Peroksinitrit anyonu DNA zincir kırıklarına ve lipid oksidasyonuna sebep olan güçlü bir oksidan ajandır [23, 28].



Genel olarak oksidatif strese aracılık eden moleküller ve katıldıkları ana reaksiyonlar Tablo 2'de verilmiştir [25].

2.1.3 Serbest radikallerin fizyolojik etkileri

ROT'ların ve RNT'lerin yararlı etkileri düşük ve ılımlı konsantrasyonlarda ortaya çıkar ve hücresele yanıt olarak birçok fizyolojik fonksiyona sahiptirler. Hücrelerin bir kısmı uyarılabilir ROT/RNT salınımına sahipken, hücrelerin çoğu temel olarak süperoksit, hidrojen peroksit ve nitrik oksit üretebilir. Örneğin; enfeksiyöz ajanlara karşı fagositozla savunma sistemi, makrofajlar ve sitotoksik hücreler ile kanser hücrelerini öldürme, sitokrom p450 ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonlarda mitojenik yanıtın uyarılması ROT ve RNT'lerin kilit rol oynadığı bazı yararlı aktiviteleridir. Ayrıca düşük konsantrasyonlarda birçok sitokin ve büyüme faktörlerinin uyarımı, non-reseptör tirozin kinazların ve protein tirozin fosfatazların aktivasyonu, hücre içi depolardan kalsiyum salınımı ve nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile hücre içi sinyal iletiminde de önemli rol oynar.

ROT'lar gen transkripsiyonu ve çözünebilir guanilat siklazın hücrelerde aktivasyonu gibi yaşamsal aktivitelerde de önemli bir yere sahiptir. Endotelial hücrelerce üretilen NO kan basıncı için vasküler düz kas hücrelerinin düzenlenmesinde, lökosit adezyonunda, trombosit agregasyonunda, anjiyogenezis ve tromboziste esansiyel durumdadır. Ayrıca nöronların ürettiği NO, önemli bir nörotransmitterdir ve nöronal plastisite açısından anahtar rol oynar [29].

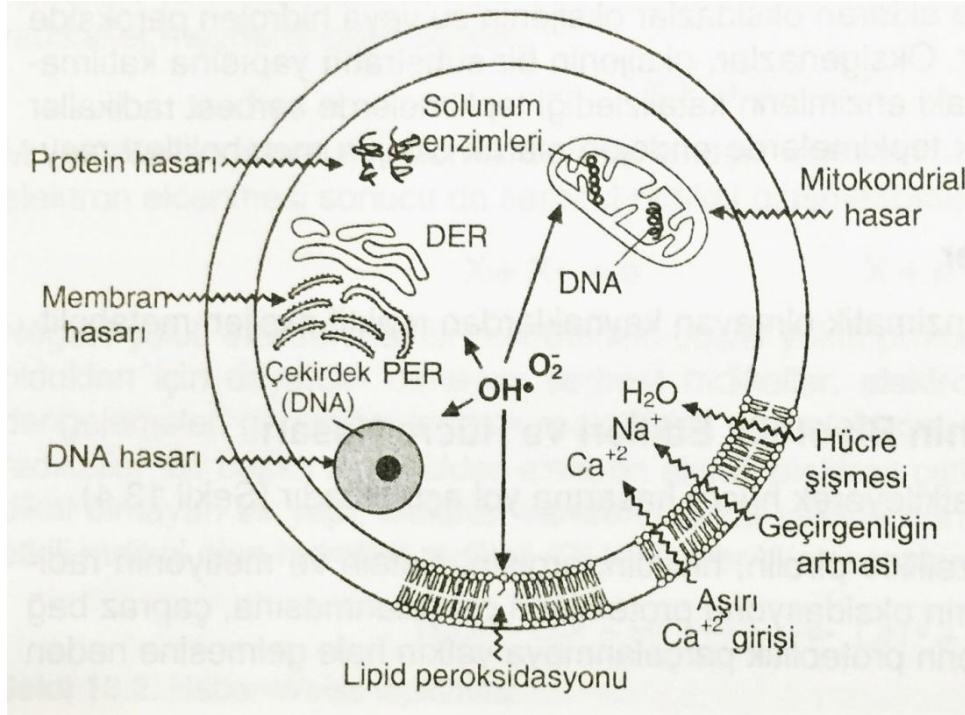
Tablo 2: Oksidatif hasara aracılık eden moleküller

Molekülün adı	Yapısı	Ana reaksiyonu
Süperoksit	$\bullet\text{O-O}^-$	Demir ve bakır iyonlarının katılımıyla Haber-Weiss tepkimesini katalizi, hidrojen peroksit ve peroksinitrit oluşumu
Hidrojen peroksit	HO-OH	Hidroksil radikali oluşumu, enzim inaktivasyonu, biyomoleküllerin oksidasyonu
Hidroksil radikali	$\bullet\text{OH}$	Hidrojen koparma, serbest radikallerin üretimi ve lipid peroksidasyonu, tiyollerin oksidasyonu
Ozon	$^-\text{O-O}^+=\text{O}$	Özellikle çift zincir içeren biyomoleküllerin bütün çeşitlerinin oksidasyonu, ozonidlerin ve sitotoksik aldehytlerin oluşumu
Singlet oksijen	O=O	Çift zincirlerle reaksiyona girmek, peroksit oluşumu, amino asit ve nükleik asitleri ayrıştırmak
Nitrik oksit	$\bullet\text{N}=\text{O}$	Peroksinitrit oluşumu, diğer radikallerle tepkimeye girmek
Peroksinitrit	O=N-O-O ⁻	Hidroksil radikalının oluşumu, tiyol ve aromatik grupların oksidasyonu, ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza çevirmek, biyomoleküllerin oksidasyonu
Hipoklorit	ClO ⁻	Amino ve sülfür içeren grupları okside etmek, klorin oluşumu
Radikal	R \bullet	Hidrojen koparma, peroksil ve diğer radikallerin oluşumu, lipid ve diğer biyomolekülleri ayrıştırma
Peroksil radikali	R-O-O \bullet	Hidrojen koparma, radikal oluşumu, lipid ve diğer biyomolekülleri ayrıştırma
Hidroperoksit	R-O-OH	Biyomoleküllerin oksidasyonu, biyolojik membranları parçalama
Bakır ve demir iyonları	Cu ⁺² , Fe ⁺³	Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları aracılığıyla hidroksil radikali oluşturma

2.1.4 Oksidatif stres ve serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri

Serbest radikaller ve moleküler hasar arasındaki ilişki oksidatif stres ile tanımlanabilir. Serbest radikallerin potansiyel biyolojik hasara neden olan zararlı etkileri için oksidatif stres ve nitrozatif stres terimi kullanılır. Bu durumda serbest radikallerin aşırı üretimi veya antioksidanların seviyesinde bir azalma söz konusudur. Oksidatif stres artmış oksidatif metabolizma sonucu pro-oksidanlarla antioksidanlar arasındaki dengenin pro-oksidanlar lehine bozulmasıdır [29].

Oksidatif stres dört kritik basamak yoluyla çeşitli hastalıklara neden olur; membranlardaki lipidlerin peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA hasarı ile hücrenin yıkımı ve sinyal yollarının bozulmasıyla sonuçlanacak şekilde hücredeki dengelerin değiştirilmesidir (Şekil 1). Oksidatif stres kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik bozukluklar, diyabet ve yaşlanma gibi çok çeşitli hastalık ve patolojik durumun oluşumunda rol oynar. Vücudumuzda bulunan bütün biyolojik moleküller, serbest radikaller tarafından hasar riski altındadır. Bu şekilde hasar görmüş hücre molekülleri hücre fonksiyonlarının bozulmasına veya hücre ölümüne neden olarak çeşitli hastalıklarla sonuçlanabilir [29].

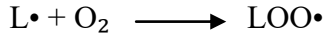


Şekil 1: Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı, DER: Degranüle endoplazmik retikulum, PER: Peroksisom [30]

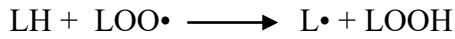
2.1.4.1 Serbest radikallerin lipidler üzerine etkileri ve malondialdehit

Lipid peroksidasyonu genellikle serbest radikallerin neden olduğu ve bir radikalın poliansatüre yağ asitlerinin (çoklu doymamış yağ asitlerinin- PUFA; linoleik asit, linolenik asit, araşidonik asit gibi) oksidasyonunu indüklediği zincir reaksiyonlarıdır. Monoansatüre yağ asitleri (oleik asit gibi) ve satüre yağ asitleri (doymuş yağ asitleri; palmitik ve stearik asit gibi) çok daha az reaktiftirler ve genelde lipid peroksidasyonuna katılmazlar [31]. Fizyolojik koşullarda yüksek enerji gerektiğinden (1900 mV) doymuş bir yağ asitinden radikal oluşumu neredeyse imkansızdır [23].

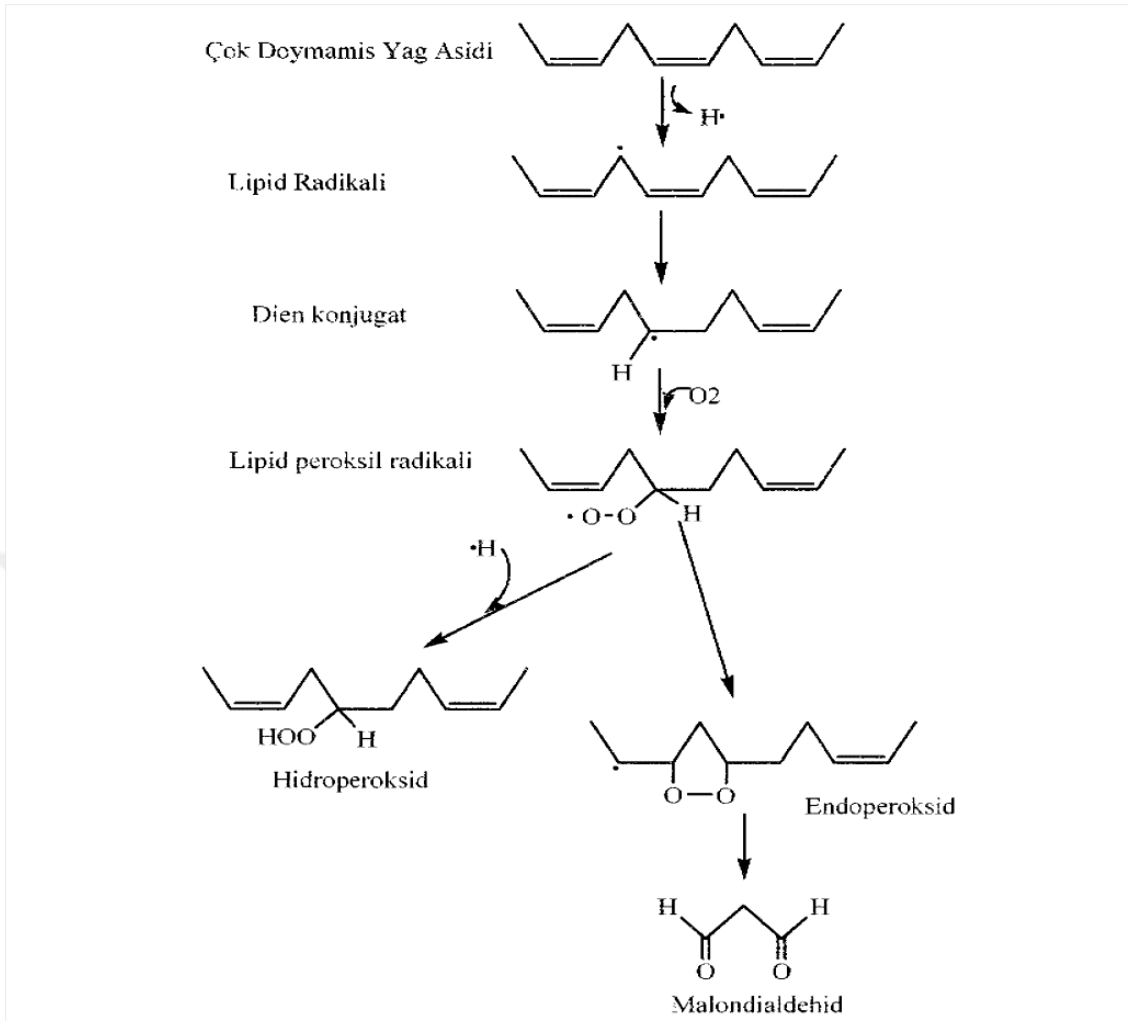
Lipid peroksidasyonu poliansatüre yağ asitlerinin karbon zincirindeki metilen gruplarının (LH) birinden, bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Böylece yağ asidi zinciri radikal niteliği kazanmış olmaktadır. Oluşan lipid radikali (L•) dayanıksız olup zincirleme şekilde ilerleyen değişikliklere uğrayabilmektedir. Öncelikle molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşturulmakta, daha sonra bu konjugatın oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksil radikali (LOO•) oluşturulmaktadır.



Lipid peroksil radikalleri, kendi yapıları içerisindeki düzenlemeler ile lipid endoperoksitleri haline getirilmektedirler. Membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini de oksitleyerek yeni zincir reaksiyonları başlatılmaktadır. Kendileri de bu reaksiyonlarda açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüştürülürler. Bu zincirleme reaksiyon Şekil 2’de gösterilmiştir.



Lipid hidroperoksitleri lipid peroksidasyon tepkimelerinin ilk ve kısmen daha stabil olan ürünüdür. Lipid hidroperoksitleri geçiş metali iyonları ($\text{Me}^{\text{n}+}$), süperoksit anyonu veya hidroperoksil radikali varlığında lipid peroksidasyonunu tekrar devam ettirebilen radikalik özelliği de sahip çok çeşitli türlere (lipid alkoksil, lipid peroksil, aldehit ve alkil radikaller gibi) dönüşürler [23, 31, 32].



Şekil 2: Lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Membranın akışkanlığını, geçirgenliğini, hareket yeteneğini ve transmembran iyon gradyentini bozmaktadır [27]. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitler düşük konsantrasyonlarda lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerini aktifleyerek prostoglandin ve lökotrien sentezini *in vivo* olarak etkileyebilirler, bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda ise bu enzimleri inaktive edebilirler [32].

Linoleik asit ve araşidonik asitin peroksidasyonu sonucu oluşan bir aldehit olan 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) hücrel tiyollerle, kısmi olarak sisteinlerle ve daha az olmak üzere lizin ve histidinlerle reaksiyona girer. HNE'nin yaptığı protein modifikasyonları protein fonksiyonlarında önemli etkiye ve hücrel disfonksiyona sebep olur. Oluşan hidroksialkenallerin birçok biyolojik aktivitesi tanımlanmıştır. Düşük seviyelerde hücre

proliferasyonunu indüklerken, yüksek seviyelerde (>20 µM) hücre ölümünü indüklerler. Ayrıca sitotoksik konsantrasyonlarda proteozom inhibisyonunu indükler ve mitokondriyal geçiş porlarının geçirgenliğini etkiler [23].

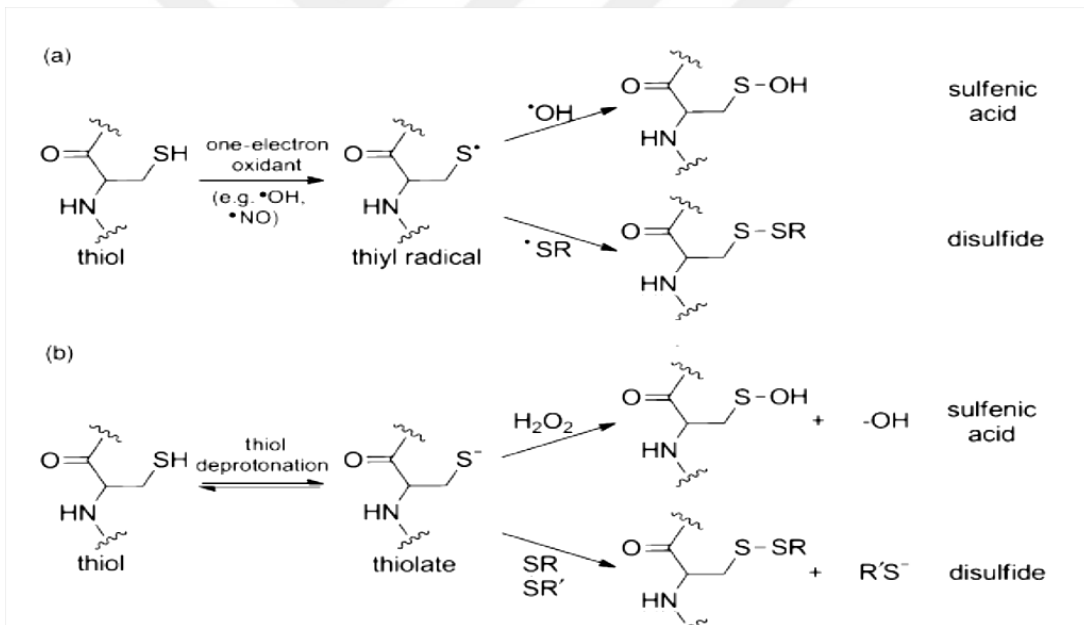
Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden ilk tanımlananlardan bir tanesi de 1,3 dialdehit olan malondialdehittir (MDA) [23]. İki den fazla çift bağ içeren poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitleri veya eikozanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır. Tromboksan A₂ sentezinde MDA'nın ikincil ürün olarak sentezlendiği gösterilmiştir [33].

MDA genelde nötral veya alkalın pH'da çok reaktif olmayan enolat formunda olur. Ancak pH<4.5'te tiyol ve aminlerle oldukça etkileşime girebilen β-hidroksiakrolein ve onun dikarbonil formu şeklinde bulunur [23]. MDA bakteri ve memeli hücresinde mutajeniktir ayrıca ratlarda karsinojeniktir [4]. MDA'nın karsinojenik olduğu ilk olarak 1974'de topikal uygulama sonucu farede gösterilmiş, mutajenik olduğu ise 1976'da Salmonella typhimuriumda gösterilmiştir [34, 35]. Daha sonra yapılan çalışmalarda mutasyonlar en sık guanozin-sitozin (G-C) baz çiftinin olduğu bölgelerde ve delesyonlar, eklenmeler ile baz çiftlerinin yer değiştirmesi şeklinde gözlemlenmiştir. MDA DNA ile reaksiyona girerek guanozin (G), sitozin (C) ve adenin (A) sırayla M₁G, M₁C ve M₁A bileşiklerini oluşturur. Oluşan bu bileşikler DNA-DNA arası ve DNA-protein arası çapraz bağlanmalara neden olur [4, 36].

2.1.4.2 Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme düzeyleri, amino asit içeriklerine ve kompozisyonuna bağlıdır. Hidroksil ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Etkileşim sonucu sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana getirirler [27].

Bütün amino asitlerin yan zincirleri (özellikle sülfür içeren sistein ve metiyonin yan zincirleri) iyonize radyasyonun ve ROT/RNT'lerinin oksidasyonuna duyarlıdır. Oksidatif stres koşullarında sistein bir elektronlu bir oksidanla ($O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, $NO\bullet$) karşılaştığında sisteindeki tiyolden, tiyil radikali ($RS\bullet$) oluşur ve bu radikal hidrojen koparma, radikal eşleme gibi farklı reaksiyonlara neden olur (Şekil 3). Sistein çift elektronlu bir radikal (H_2O_2) ile reaksiyona girmesi sonucu tiyol yan zinciri güçlü nükleofilik özelliğe sahip tiyolat anyonunu oluşturur ve bu yapı disülfid bağlarıyla etkileşime girer (Şekil 3). Bu reaksiyonlar sonucunda immunglobulin G ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bağı içeren proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler [27]. Sonuç olarak oksidatif stres proteinlerde çok sayıda posttranslasyonel modifikasyon oluşturarak proteinlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olur [23].



Şekil 3: Sisteinin ROT/RNT'lerinin varlığında oksidasyon yolağı [23].

Çok çeşitli mekanizmalarla oluşan protein karbonil gruplarının konsantrasyonunun ölçülmesi ROT'ların neden olduğu protein oksidasyonunu ölçmek için iyi bir yöntemdir [4].

2.1.4.3 Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest oksijen radikallerinin karbonhidratlar üzerine, polisakkarit depolimerizasyonu ve monosakkarit otooksidasyonu gibi etkileri vardır. Monosakkaritlerin

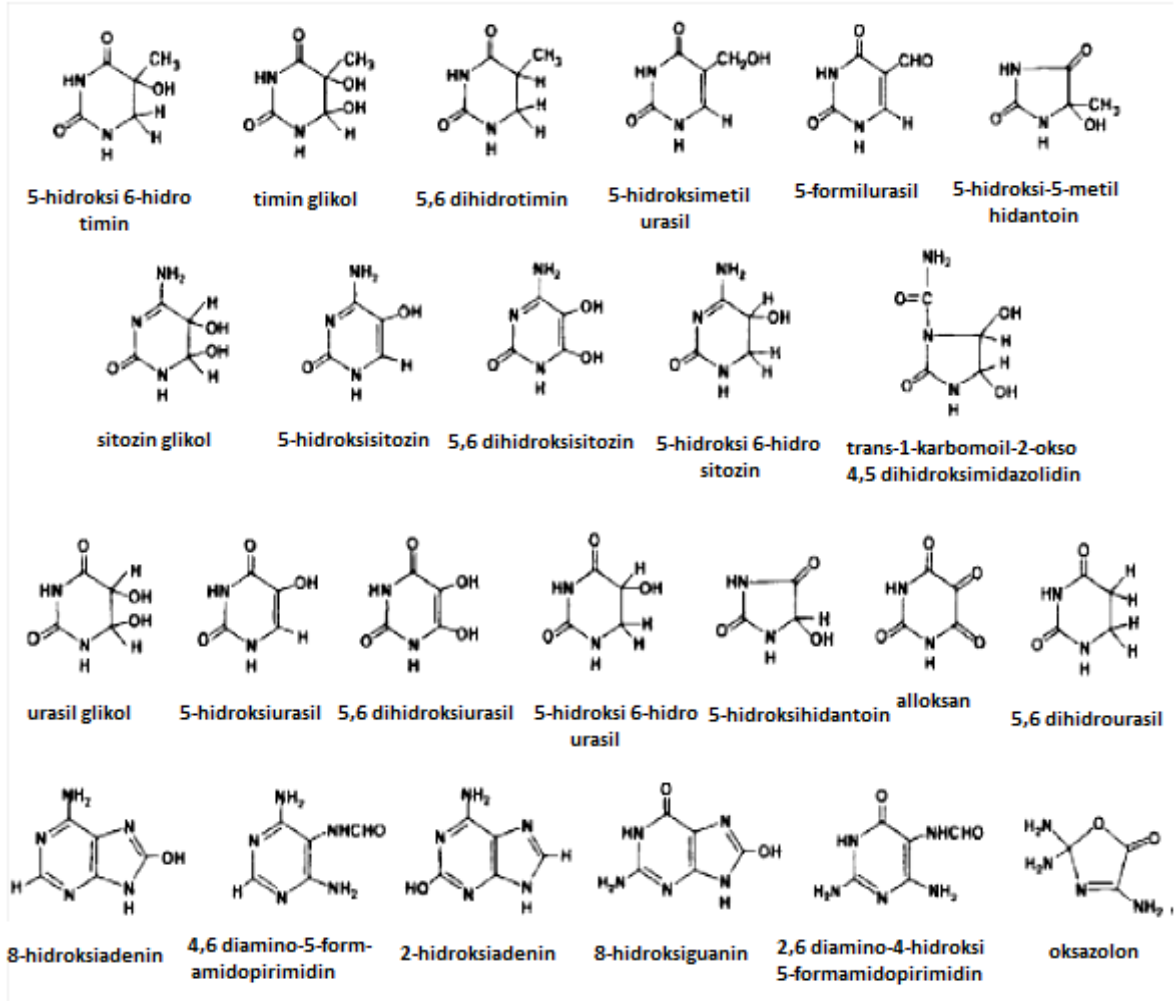
otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Bu nedenle kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar [27].

2.1.4.4 Serbest radikallerin nükleik asitler üzerine etkileri

Düşük seviyelerde ROT'lar hücre bölünmesinde ve canlılığında, hücre içi sinyal iletiminde, inflamasyon ve immün fonksiyonlarda, otofaji ve strese yanıtta merkezi rol oynar. Ancak oksidan ajanlar lehine denge bozulduğunda, biyolojik sistemin, ROT'ların oluşturduğu hasarı onarma ve detoksifiye etme kapasitesi bozulur.

ROT'ların nükleotid bazları, nükleosidler, nükleotidler ve oligonükleotidler ile reaksiyona girmesi nükleik asitlerde çok sayıda farklı modifikasyonlar oluşturur [37]. İnsan hücresinin bir günde hidroksil radikali ve diğer reaktif türlerden dolayı ortalama 1.5×10^5 kez oksidatif çarpışmaya maruz kaldığı tahmin edilmektedir. Hidroksil radikalının DNA molekülünün bütün bileşenleriyle etkileşime girdiği, pürin ve pirimidin bazlarının her ikisine, ayrıca deoksiriboz iskeletine zarar verdiği biliniyor. Genetik materyalde kalıcı modifikasyonla sonuçlanan bu oksidatif hasar olayları mutasyonların, karsinogenezin ve yaşlanmanın ilk basamağıdır [4]. ROT'ların DNA'da oluşturduğu bazı hasarlar, tüm bazlarda modifikasyonlar, abazik bölgeler, delesyonlar, çerçeve kayması, tek ve çift zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağları ve kromozomal yeniden düzenlenme şeklinde sıralanabilir [38]. DNA hasarı, transkripsiyonun durmasına veya indüklenmesine, sinyal iletim yollarının uyarılmasına, replikasyon hatalarına ve genomik instabiliteye neden olabilir. Bütün bu değişiklikler karsinogenez ile ilişkilidir [4].

Yüksek reaktiviteye sahip $\bullet\text{OH}$ radikali DNA'yla deoksiribozun her bir C-H bağından ve timin bazının (T) metil grubundan bir hidrojen atomu kopararak veya çift bağ içeren DNA bazlarına H atomu ekleyerek tepkimeye girer [6]. Ekleme reaksiyonlarıyla DNA bazlarının OH-bileşikli radikalleri oluşurken, koparma reaksiyonlarıyla da timin kaynaklı allil radikali ve karbon merkezli şeker radikalleri oluşur [4].

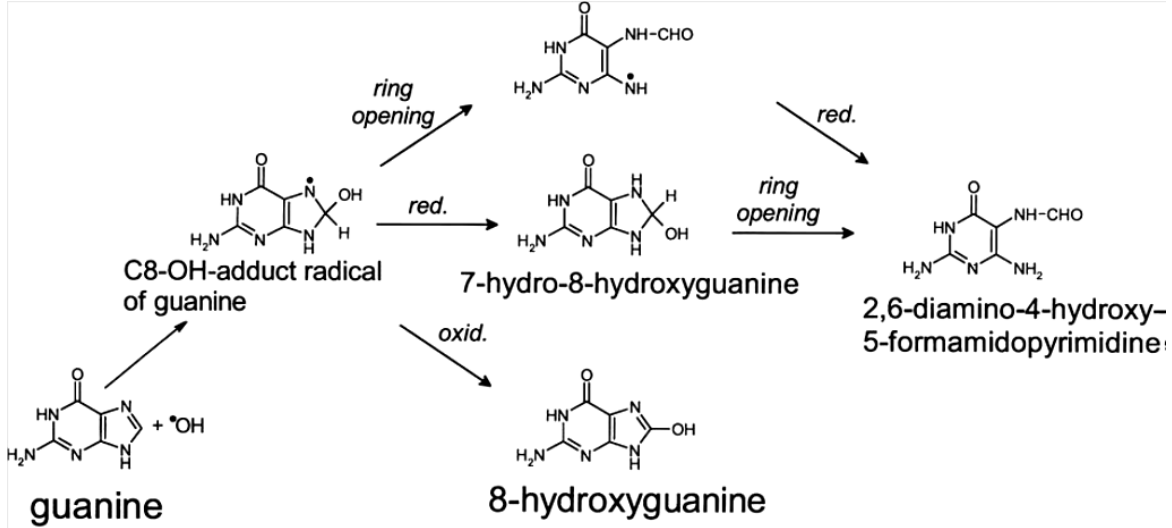


Şekil 4: Reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerle etkileşim sonucu oluşan DNA bazları [6]

Pirimidinin C5-C6 çift bağlarına H eklenmesiyle, C5-OH ve C6-OH bileşikleri oluşur. Timinden H atomunun koparılması ise allil radikalının oluşmasıyla sonuçlanır. Oluşan bileşikler redoks özelliklerine göre yükseltgenir ya da indirgenirler. Oluşan ürünler oksijenin varlığına ve yokluğuna göre, diğer koşullara göre farklılık gösterir (Şekil 4) [6].

Sitozinin (Cytosine-C) ürünleri deamine ve dehidrate olabilir. Sitozin glikol urasil glikol, 5-hidroksisitozin ve 5-hidroksiurasil oluşturmak üzere deamine olur. Sitozinin gama ışınlarına maruz kalarak oluşan DNA hasarı sırasında, bütün bu bileşikler eş zamanlı olarak ortamda saptanmıştır. Bununla birlikte koşullara ve ortamdaki radikale göre oluşan bileşikler farklılık göstermektedir (Şekil 4).

Hidroksil radikali pürinlere C4, C5 ve C8 pozisyonlarında eklenerek OH bileşikli radikaller oluşturur. Adeninden (A) en az iki tane OH içeren bileşik oluşur:C4-OH ve C8-OH bileşikli radikaller. C4-OH bileşikli radikaller okside edici özellikler taşırken, C5-OH ve C8-OH ağırlıklı olarak redüktan özelliktedirler [6].



Şekil 5: C8-OH bileşikli guanin radikalinden oluşan farklı ürünlerin yapıları [38]

Guaninin C8 pozisyonunda oksidasyonu 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ile sonuçlanır (Şekil 5). 8-OHdG okside DNA ürünlerinden en kolay tespit edilebilen olduğu için en sık çalışılmış oksidatif DNA hasarı göstergesidir [38]. İlk olarak idrarda oksidatif hasar göstergesi olarak Shigenaga ve ark.[39] tarafından gösterilmiştir. Bu oksidatif DNA lezyonu yan zincire spesifik mutasyon oluşumu ile sonuçlanabilir, bakteriyel hücrelerde ve memeli hücrelerinde mutajeniktir ve sıklıkla mutasyona uğramış onkogenler ve tümör suppressör genlerde saptanan G-T transversiyonlarına sebep olur. Ayrıca reaktif oksijen türleri nükleotid havuzunda deoksiguanin trifosfat (dGTP) ile reaksiyona girerek 8-OHdG oluştururlar. Bundan dolayı DNA replikasyonu boyunca, nükleotid havuzundaki 8-OHdG'nin DNA kalıbında deoksisitozini (dC) veya deoksiadenozini (dA) karşılıklı birleştirerek, A:T→ C:G transversiyonlarına neden olduğu kabul edilir [40].

$\cdot\text{OH}$ radikali ve hidrojen peroksit, ikisi de RNA'ya zarar verir. 8-hidroksiguanozinin, şu ana kadar RNA'da saptanan tek okside baz olması sebebiyle, yaygın saptanan bir oksidatif modifikasyon olduğu anlaşılmaktadır. Bu oksidatif modifikasyon, 8-hidroksiguanozinin potansiyel olarak RNA'da adeninin sitozinle yanlış

eşleşerek ve transkripsiyon seviyesinde mutasyonlar oluşturarak genetik bilgiyi bozabilmesi sebebiyle vücuda en zararlı modifikasyondur. Riboz yapısındaki bozulmalar, baz eksizyonları, zincir kırıkları ROT'ların RNA'daki diğer modifikasyonlardır [37].

ROT'lara ek olarak, peroksinitrit ve nitrojen oksit gibi RNT'leri de DNA hasarında etkilidir. Peroksinitritin guanin ile reaksiyonu sonucu 8-nitroguanin oluşur. Yapısından dolayı bu bileşiğin G:C → T:A transversiyonlarını indüklemeye potansiyeli vardır. Bu lezyonun DNA'daki stabilitesi düşükken, RNA'da daha stabil bir bileşik olduğu gösterilmektedir. Ancak 8-nitroguanin ile karsinogenez süreci arasındaki potansiyel bağlantı bilinmemektedir [4].

2.1.5 Antioksidan savunma sistemleri

Serbest radikallerin “kararlı/dengeli durumu” üretim oranları ile çeşitli antioksidanlar tarafından uzaklaştırılma oranları arasındaki dengeye göre belirlenir. Bu şekilde bir hücrenin redoks durumu ve ondaki dalgalanma hücresel fonksiyonu belirler. İronik bir biçimde, ROT'ların aracılık ettiği aktiviteler, hücreleri ROT'ların indüklediği hasara karşı korur ve “redoks homeostazisi” diye adlandırılan redoks dengesini yeniden kurar veya tamir eder. Ancak yüksek konsantrasyonlarda ROT'lar hücre hasarından sorumlu oldukları için, hücreleri ve vücut sistemlerini serbest radikallerden korumak amacıyla insan vücudunda oldukça sofistike ve kompleks bir antioksidan savunma sistemi mevcuttur. Antioksidanlar kendilerini okside ederek, oksidatif süreci önemli düzeyde inhibe eden veya erteleyen, düşük konsantrasyonlarda bulunan maddelerdir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek, redoks dengesini sağlar ve vücudu serbest radikallerden korurlar. Tablo 3'de antioksidanların detaylı bir sınıflandırması verilmiştir. Antioksidanların yapılarına göre, kaynaklarına göre ve etki mekanizmalarına göre çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır [29].

Tablo 3: Antioksidanların sınıflandırması

<p>A. Yapılarına göre sınıflandırma</p> <p>1. Enzimatik antioksidanlar Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR)</p> <p>2. Non-enzimatik antioksidanlar</p> <p>a. Metabolik antioksidanlar Redükte glutasyon (GSH), lipoik asit, L-arjinin, koenzim Q10, melatonin, ürik asit, bilirubin, metal şelatör proteinler, transferrin vb.</p> <p>b. Besin maddesi antioksidanlar Vitamin E, vitamin C, vitamin A ve diğer karotenoidler, eser elementler (selenyum, manganez, çinko), flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, vb.</p> <p>B. Kaynağına göre sınıflandırma</p> <p>1. Endojen antioksidanlar Bilirubin, glutasyon, lipoik asit, N-asetil sistein, NADPH ve NADH, ubi quinon (koenzim Q10), ürik asit, enzimler (SOD, CAT, GPx, GR)</p> <p>2. Diyetle alınan antioksidanlar Vitamin C, vitamin E, vitamin A, beta karoten, karotenoidler ve oksikarotenoidler (likopen ve lutein), polifenoller</p> <p>3. Metal bağlayıcı proteinler Albumin (bakır), seruloplazmin (bakır), metalloprotein (bakır), ferritin (demir), myoglobin (demir), transferrin (demir)</p> <p>C. Etki mekanizmasına göre antioksidanlar</p> <p>1. Nötralize edici veya dönüştürücü katalitik sistem SOD, CAT, GPx</p> <p>2. Haber-Weiss reaksiyonu aracılığıyla metal iyonlarını bağlayan/inaktive edenler Ferritin, seruloplazmin, kateşinler</p> <p>3. Kendini yok ederek ve zincir kırarak ROT'ları toplayan (scavenger) ve yıkanlar Vitamin C, vitamin E, ürik asit, glutasyon, flavonoidler</p> <p>4. ROT'ları bastıranlar, kimyasal olarak enerjilerini absorblayarak etkisizleştirilenler Karotenoidler, antosiyanidinler</p>
--

2.1.5.1 Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz enzimatik antioksidanlardandır [27].

Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, hücre içi en etkili enzimatik antioksidanlardan bir tanesidir. SOD'un farklı yapıda aktif metal merkezleri ve amino asit bölgeleri olan, farklı sayıda alt ünitesi, kofaktörü ve farklı özellikleri olan çok sayıda formu vardır [4]. SOD'un memelilerde bilinen üç formu vardır: genel olarak sitozolde bulunan, bakır-çinko süperoksit dismutaz (CuZn-SOD veya SOD-1), mitokondri matriksinde lokalize mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD veya SOD-2) ve plazma membranı ile ilişkili veya ekstraselüler alanda bulunan ekstraselüler süperoksit dismutaz (EC-SOD veya SOD-3). SOD'un bu üç formu da benzer reaksiyonlarla süperoksitin ($O_2 \cdot^-$) dismutasyonu ile hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşumunu katalize eder [23].



Katalaz

Katalaz (CAT) enzimi hücrelerde yaygın olarak bulunan etkili bir antioksidandır. Dört polipeptid zinciri ve enzimin hidrojen peroksit ile reaksiyonunu sağlayan dört porfirin hem grubu içeren bir tetramerdir [29]. Katalaz bitkiler, hayvanlar ve aerobik bakterilerin hücrelerinde bulunur. Hücrede peroksisomda bulunur ve katalitik etki ile hidrojen peroksitin suya ve moleküler oksijene dönüşümünü oldukça güçlü bir şekilde gerçekleştirir. Dakikada, yaklaşık olarak altı milyon hidrojen peroksit molekülünü su ve oksijene dönüştürür [4].



Katalaz aynı zamanda peroksidatik ve oksidatif aktivite gösterir. Peroksidaz aktivitesiyle alkolleri aldehitlere dönüştürür [23].

Katalazın antioksidan savunma sistemindeki rolü, doku tipine ve oksidatif doku hasarı modeline bağlıdır. Genel olarak, katalaz eksikliği olan hayvanlar, oksidatif hasara daha duyarlıdır. Buna karşın, katalaz üretimi genetik olarak arttırılan farelerde, yaşlanma, ateroskleroz, kardiyomiyopati ve doku iskemi-reperfüzyon hasarına karşı artmış direnç söz konusudur [23].

Glutasyon ve glutasyon ilişkili enzimler

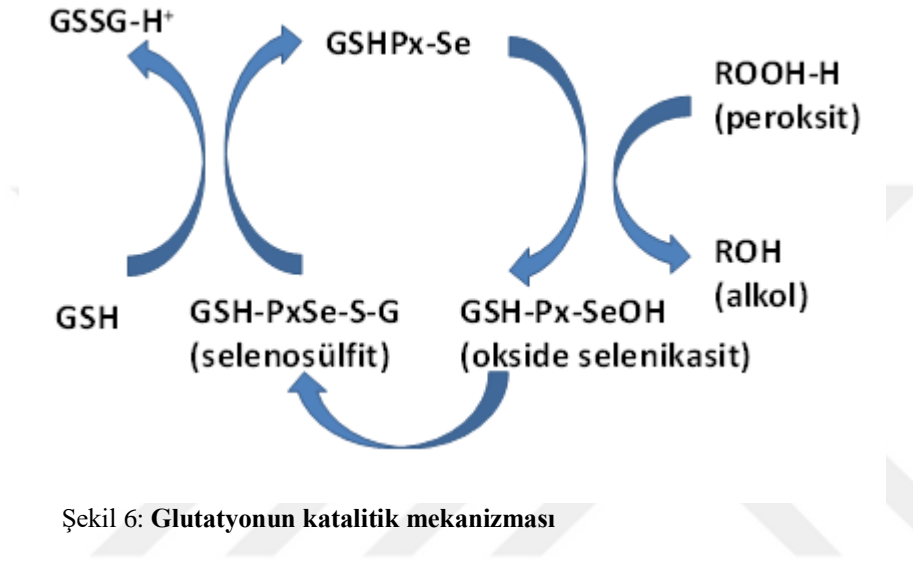
Glutasyon (GSH), tripeptid yapıda olan ve sitozol, nükleus, mitokondride ve çoğunluğu çözülmüş şekilde oldukça fazla miktarda bulunan güçlü bir antioksidandır. İndirgenmiş formu GSH glutasyon iken, okside formu GSSG glutasyon disülfididir. Glutasyon iki enzimatik reaksiyonla, üç amino asitten sitoplazma içerisinde sentezlenir. İlk basamakta, γ -glutamilsistein sentaz aracılığıyla, sistein ve glutamattan γ -glutamilsistein sentezlenir. Glutamat sentaz enziminin katalize ettiği ikinci basamakta ise γ -glutamilsisteinglisin sentezlenmesi amacıyla dipeptid yapıya glisin eklenir.

Glutasyon nükleusta, DNA tamir ve ekspresyonu için gerekli olan protein sülfidrillerinin kritik redoks dengesini sağlar. Hücre içinde protein olmayan tiyol bileşiklerinin çoğunluğu, sistein, glisin ve glutamattan sentezlenir. GSH, proteinler dahil diğer moleküllere sülfidril grubu (-SH) sağlamada, hücredeki tiyol-disülfid dengesinin düzenlenmesinde ve serbest radikallerin ve diğer yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahiptir [4, 23, 29].

▪ **Glutasyon peroksidaz (GPx):** Glutasyon sisteminin ilk enzimi olan glutasyon peroksidaz organik hidroperoksitlerin ve düşük seviyelerdeki hidrojen peroksinin indirgenmesini katalize ederek alkollere veya suya (H_2O) dönüşümü sağlar, bu şekilde hidroksil radikalının oluşumunu önler. Substrat olarak da yani elektron verici olarak da glutasyonu kullanmaktadır. Tetramerik dört adet selenyum (Se) atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Glutasyon peroksidazın aktif formu olan selenat (E-Se-) hali, peroksiti alkole indirgerken kendisi oksitlenerek selenik asite dönüşmektedir (E-Se-OH). Glutasyon bu evrede reaksiyona katılarak selenosülfite oluşturmaktadır (E-Se-S-G). İkinci bir glutasyonun selenosülfite bağlanması ile enzim aktif formu olan selenolat formuna dönüşürken, glutasyon okside hale geri dönmektedir. Okside glutasyon (GS-SG) tekrar

kullanılmak üzere glutatyon redüktaz aracılı NADPH redüksiyonu ile glutatyona geri dönüştürülmektedir. Glutatyonun katalitik mekanizması Şekil 6'da gösterilmiştir [23, 27].

Glutatyon peroksidaz, katalazla hidrojen peroksit için yarışır ve düşük seviyelerdeki oksidatif stresten korunmada ana unsurdur [4].



Şekil 6: Glutatyonun katalitik mekanizması

▪ **Glutatyon redüktaz (GR):** Glutatyon redüktaz, disülfid oksidoredüktaz ailesine ait bir flavo enzimdir. GPx enziminin hidroperoksitler ile girdiği reaksiyon sonucu ortaya çıkan okside glutatyonun, NADPH varlığında tekrar redükte glutatyona dönüşümünü katalize ederek antioksidan savunma sisteminde görev alır.

Hücre içi GSH/GSSG oranlarının yüksek tutulması (10:1 ile 100:1 arasında seyrederek) sinyal iletimi dahil normal hücresel aktiviteler yaşamsaldır. Glutatyon redüktaz, hücre içi GSH/GSSG oranını koruyarak, oksidatif strese karşı hücre savunmasında rol oynar [23].

2.1.5.2 Non-enzimatik antioksidanlar

Enzim olmayan antioksidanlar; redükte glutatyon (GSH), lipoik asit, L-arjinin, koenzim Q₁₀, melatonin, ürik asit, bilirubin, metal bağlayıcı proteinler (albumin,

seruloplazmin, transferrin, ferritin) gibi endojen maddeler olabildiği gibi, vitamin E (α - tokoferol), vitamin A ile diğer karotenoidler, vitamin C (askorbik asit), eser elementler (selenyum, manganez, çinko), flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri gibi diyetle alınan maddeler de olabilir [29, 41].

Ferritin dokulardaki serbest demiri bağlarken, transferrin dolaşımdaki, laktoferrin ise lökositlerdeki serbest demiri bağlar ve böylece serbest radikal oluşumunu önler. Seruloplazmin bakır içeren bir proteindir. Ferro-oksidad aktivitesi ile fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonunu önler.

Albümin on yedi disülfid köprüsü ve tek bir sistein kalıntısı içerir. Bu kalıntı peroksil radikallerinin nötralizasyonundan sorumludur. Albümin aynı zamanda bakır iyonunu bağlayarak lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikalının oluşumunu engeller [41].

Melatonin pineal bez tarafından üretilen indolamin bileşimidir. •OH radikalini temizler ve GSH salınımını yüksek miktarda arttıran güçlü bir antioksidandır. Ayrıca SOD, GPx ve GR enzimlerinin aktivitelerini de arttırmaktadır [42].

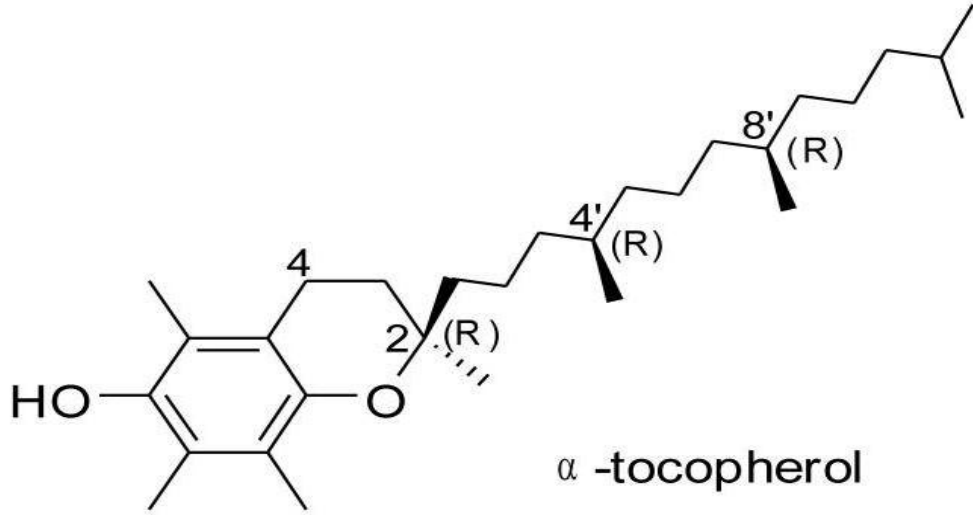
Eser element olan selenyum antioksidan savunma sisteminde önemli rolü olan GPx'in aktivitesi için gereklidir. GPx, aktif bölgesinde selenyuma ihtiyaç duymaktadır.

Flavonoidler çay, şarap gibi içeceklerde, birçok meyve ve sebze de bulunan polifenolik antioksidanlardır. 4000'den fazla çeşidi bulunan flavonoidler (quersetin, kateşinler, apigenin, genistein vb.) farklı mekanizmalarla lipid peroksidasyonunu önlemektedirler [41].

Vitaminler organizma tarafından küçük miktarlarda besin olarak alınması gereken organik bileşiklerdir. Çok çeşitli biyokimyasal fonksiyonları olmakla beraber, bazıları antioksidan özellikler de göstermektedirler [43].

Vitamin E

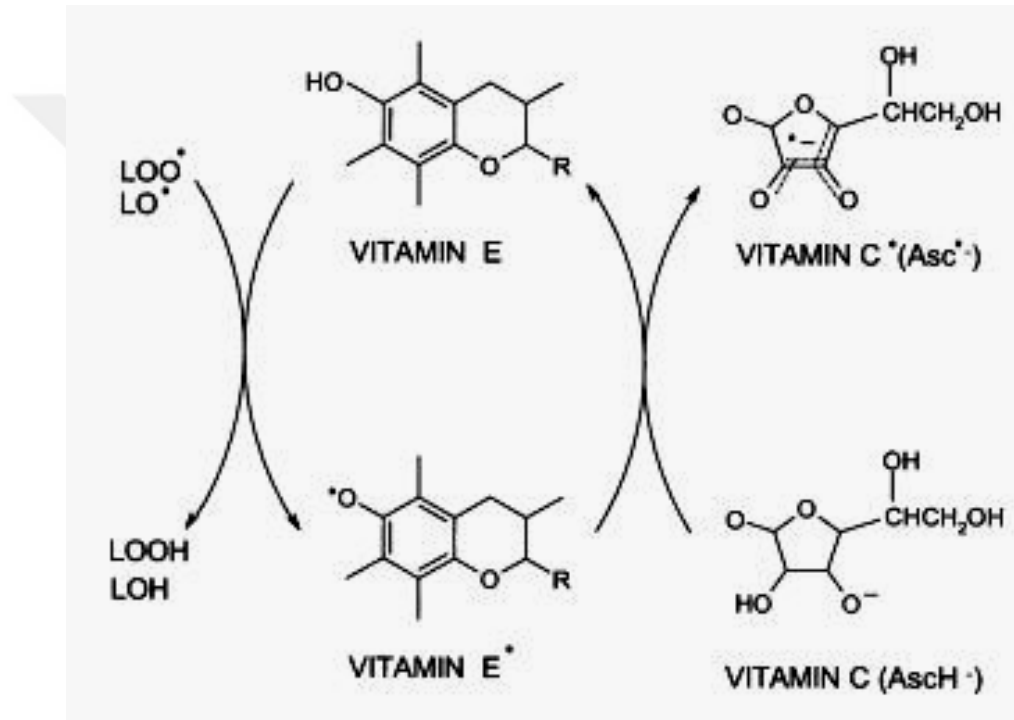
Vitamin E yağda çözünen, sekiz farklı formu olan bir vitamindir. Her bir formun biyolojik aktivitesi ve vücuttaki fonksiyonu farklıdır [38]. Vitamin E'nin genel yapısı 6-kromanol halkasından ve bir izoprenoid yan zincirden oluşmaktadır [43]. α -Tokoferol insandaki en aktif formdur ve güçlü bir biyolojik antioksidandır. α -Tokoferolün doğal olarak bulunan formu RRR- α -tokoferoldür. Bu isimlendirme R-konfigürasyonundaki şiral karbonların 2, 4 ve 8. pozisyonlarda yer aldığı anlamına gelir (Şekil 7). α -Tokoferolün biyolojik aktivitesini 2. pozisyonu belirler. Yalnızca 2R- α -tokoferol formları insanın E vitamini ihtiyacını karşılar. Sentetik α -tokoferol, all-ras- α -tokoferol (all rasemik) şeklinde isimlendirilir ve yan zincirleri farklı, sekiz farklı stereoizomerin karışımından oluşur. Bütün stereoizomerlerin antioksidan aktivitesi aynı, sadece 2R konfigürasyonu olanların biyolojik aktivitesi yüksektir [44].



Şekil 7: RRR- α -tokoferolün yapısı

Vitamin E hücrenin membrana bağlı en önemli antioksidanıdır ve bir antioksidan olarak temel görevi lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır [38]. Vitamin E etkili bir peroksil radikal toplayıcısı ve zincir kırıcı antioksidandır. Hücre membranlarında ve plazma lipoproteinlerinde serbest radikallerin yayılımını engeller. Vitamin E, peroksil radikalleri oluştuğu zaman, çoklu doymamış yağ asitlerinden 1000 kat daha hızlı bir şekilde bu radikaller ile reaksiyona girer [44].

Lipid peroksidasyonunu önlemek amacıyla vitamin E, vitamin C (askorbik asit) ile birlikte siklik-tip bir reaksiyonda görev alır. α -Tokoferol bir lipide veya lipid peroksil radikaline labil bir hidrojen iyonu vererek bir radikale dönüşür (Şekil 8). Okside α -tokoferol enerji bakımından stabildir ve membranın diğer bileşenleriyle olan reaktivitesi düşüktür. Okside α -tokoferol orijinal formuna askorbik asit veya diğer hidrojen alıcıları tarafından indirgenebilir. Bu geri dönüşüm, büyük olasılıkla askorbik asitin sıvı faz antioksidanı olması sebebiyle vitamin E ve askorbik asitin buluşabildiği hücre membranı yüzeyinde gerçekleşmektedir [38].



Şekil 8: Vitamin E'nin peroksil radikali ile reaksiyonu ve vitamin C'nin oksidasyonu ile yeniden dönüşümü

İn vitro çalışmalar, lipid peroksidasyonu sonucunda, malondialdehit dahil, alfa ve beta ansatüre aldehytlerin oluştuğunu ve bunların mutajenik, karsinojenik olduğunu göstermiştir [7]. Vitamin E'nin, ciltte UV ışınların tetikleyerek arttırdığı malondialdehite, fotokarsinogeneze ve yanlış DNA kodlamalarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir [7, 45]. Ayrıca yapılan hayvan çalışmalarında, α -tokoferolün UV ışınlarının tetiklediği timin dimer oluşumunu etkili bir biçimde inhibe ettiği gösterilmiştir [46].

Vitamin C (askorbik asit)

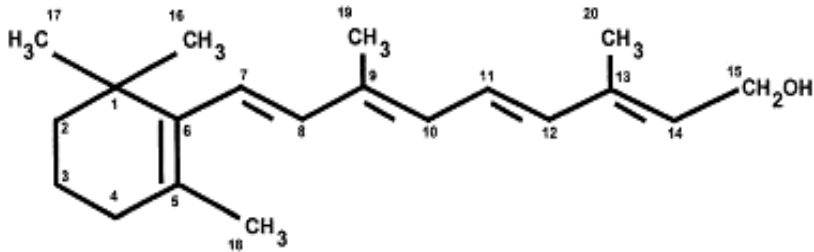
Vitamin C'nin asıl rolü, vücutta bağ dokusunun temel proteini olan kollajeni sentezlemektir. Aynı zamanda immun sistemde ve bazı sinir iletim maddeleri ve hormonların yapımında kritik rol oynar. Vitamin E ve demir gibi bazı besinlerin emilim ve kullanımında da görev alır. Vitamin C aynı zamanda, vücudumuzda akciğerler, göz lensi gibi sıvı yoğunluklu bölgelerde çalışan önemli ve güçlü bir antioksidandır.

Askorbik asitin iki tane iyonize olabilen hidroksil grubu vardır ve bu nedenle bir di-asittir (AscH_2). Çünkü birinci pKa 'sı 4.25 ve ikinci pKa 'sı 11,8'dir, fizyolojik pH'da ise mono-anyon oluşumu söz konusudur. Fizyolojik pH'da vitamin C'nin % 99'u AscH^- (askorbat) formundayken, çok küçük oranlarda AscH_2 (% 0.05) ve Asc^{2-} (% 0.004) formunda bulunur.

AscH^- , verici bir antioksidandır ve stabilize trikarbonil askorbat serbest radikalini (AFR) oluşturmak üzere okside edici bir radikale bir hidrojen atomu verir. Pratikte, askorbat geçiş metal iyonlarını (Cu ve Fe) indirger, Fe^{+3} çok düşük çözünürlüğe sahip olduğundan Fe^{+2} 'ye indirgenmesini sağlar, ayrıca Cu^{+2} 'yi Cu^{+} 'e indirger.

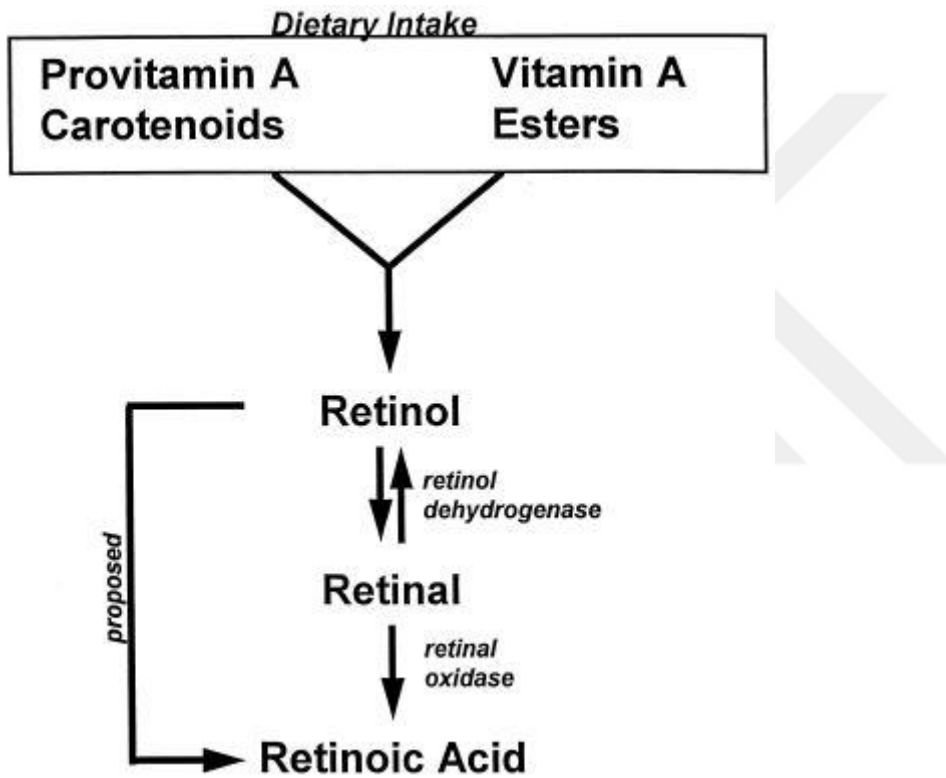
Askorbat, ROT'ları zayıf reaktif askorbat türevlerine dönüştürür, ayrıca membranları oksidasyona karşı korur. Sıvı fazda serbest radikalleri toplayarak ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyona karşı direncini artırır [38].

Vitamin A ve karotenoidler



Şekil 9: Vitamin A'nın (retinol) yapısı [47].

Vitamin A hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklarda bulunan bir mikro besindir. Vitamin A (retinol, bir diterpen), izopren birimlerinden kaynak alır ve sonunda hidroksil grubu bulunan, izoprenoid bir hidrokarbon zinciri ile karakterizedir. Genel anlamda bütün retinodler bir β -ionon halkası, çoklu doymamış (poliansatüre) bir yan zincir ve değişkenlik gösteren kimyasal bir gruptan (alkol, karboksilik asit veya ester vb.) oluşur (Şekil 9). Yapısında bulunan hidroksil grubun oksidasyonu sonucunda retinolün biyolojik olarak aktif formları olan retinal (bir aldehit, retinaldehit) veya retinoik asit (karboksilik asit) oluşur (Şekil 10) [48].



Şekil 10: Karotenoid ve retinil esterlerinin vitamin A'nın aktif formlarına dönüşümü [47].

Karotenoidler, büyük ölçüde retinale dönüştürülen provitamin A bileşenleridir. Karotenoidlerin 600'den fazla bileşenin olduğu bilinmektedir. Retinale dönüşüm reaksiyonu karoten oksijenazlarca katalize edilir. β -karoten oksijenaz enzimi diğer adıyla β -karoten bölünme enzimi tarafından, β -karoten iki retinal molekülü oluşturmak üzere bölünür [47].

Vitamin A ve onun derivasyonları olan retinoidler yaşam boyunca pek çok farklı biyolojik süreçte yer alır. Hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının kontrolü, apoptozise bağlı hücre ölümünün indüksiyonu, embriyonun oluşumu ve şekillenmesi, organogenezis ve doku homeostazisi vitamin A'nın fizyolojik koşullardaki konsantrasyonuna bağlıdır. Vitamin A ve retinoidler nükleer reseptörlere bağlanarak veya hücrel yanıt oluşturmak için, spesifik hedeflerin fosforilasyonuna bağlı olan sinyal iletimini düzenleyerek fonksiyonlarını sürdürürler [48].

Retinol ve dehidroretinolün antioksidan aktivitesinin en az, provitamin A bileşikleri olan β ve α karotenler kadar olduğu gösterilmiştir. Vitamin A'nın antioksidan aktivitesi farklı şekillerde görülebilir. Hücrenin lipid fazında peroksidasyonunu başlatan ve hidroperoksit oluşumuna neden olan peroksil radikalleriyle birleşerek, zincir kırıcı antioksidan gibi davranabilir. Retinolün, homojen metil linoleat solüsyonunda ve fosfatidilkolin lipozom modelinde, peroksidasyonu inhibe ederek, etkili bir peroksil toplayıcısı olduğu gösterilmiştir. Tokoferol ile karşılaştırıldığında, retinolün kısa polien zinciri daha yüksek bir mobiliteye sahip olmasına ve membran fazındaki peroksil radikalleriyle daha iyi bir etkileşime olanak verir. Ancak sıvı fazda etkisinin kırılmasından kaynaklı membran yüzeyindeki aköz radikalleri toplamada etkisizdir. Peroksil radikallerini stabilize etmesinin yanı sıra vitamin A radikal türleri tarafından direkt okside edilir ve lipid radikali stabilize eden 5,6-retinoid epoksid oluşur [47].

Karotenoidler de singlet oksijen ve peroksil radikallerinin toplanması dahil pek çok antioksidan aktivitede rol alır. Singlet oksijenin karotenoidlerin polien zinciri tarafından stabilize edilmesi sonucunda karbonil bileşikleri oluşur. 5,8 endoperoksid, β -karotenin singlet oksijen tarafından okside edilmesi sonucu erken dönemde oluşan ve tespit edilen direkt üründür [47].

2.1.6 Oksidatif stres ve kanser

Reaktif oksijen türleri ve reaksiyonları hücre büyümesi ve sinyal iletimi için esansiyel konumdadır. Ancak bozulmuş oksidatif denge DNA, protein ve diğer moleküllerin yapısında modifikasyonlara neden olarak hücrel fonksiyonlarını bozar [23]. Kanser başlangıç, gelişim ve ilerleme olmak üzere en az üç aşama içeren, çok değişkenli

ve çok aşamalı bir süreçtir. Oksidatif stres her üç aşamada da rol almaktadır. Başlangıç aşaması boyunca ROT'lar, DNA'da yapısal bozukluklara ve gen mutasyonlarına neden olan DNA hasarını oluşturur. Gelişim aşamasında anormal gen ekspresyonuna, hücreler arası iletişimin blokajına ve sekonder iletim sisteminde modifikasyonlara neden olabilir. Bu da hücre proliferasyonunun artmasına veya başlangıçtaki hücre popülasyonunda apoptozisin azalmasına neden olabilir. Son olarak, oksidatif stres kanser ilerleme aşamasında, başlangıçtaki hücre popülasyonunda daha fazla DNA bozukluklarına sebep olarak kanserin yayılmasına katkıda bulunabilir [49].

Yüksek konsantrasyonlarda bulunan ROT'lar, DNA zincir kırıklarına, nokta mutasyonlara, aberran DNA çapraz bağlarına, proto-onkogenlerde ve tümör supressör genlerde mutasyonlara neden olarak, neoplastik dönüşüme sebebiyet verebilir. Örneğin, ROT'lar DNA mismatch tamir genleri olan mutS homolog 2 ve 6'nın ekspresyonunu ve enzimatik aktivitesini azaltarak, DNA metiltransferazların ekspresyonunu arttırabilir ve genomun global hipermetilasyonuna neden olur. Bu durum adenomatöz polipozis coli (APC), siklin bağımlı kinaz inhibitör – 2 (CDKN-2), meme kanseri duyarlaştırıcı gen 1 (BRCA1), retinoblastom geni (Rb) ve murine double minute 2 (MDM2) ve DNA tamir geni olan human mutL homolog 1 (hMLH1) gibi birçok genin durmasına neden olur. Öte yandan düşük ve geçici seviyelerdeki ROT'lar hücre proliferasyonu aktive edebilir ve nükleer faktör kappa B (NF-κB) ve aktivatör protein -1 (AP-1) gibi yaşamsal sinyal iletim yollarını etkinleştirebilir [49].

DNA mutasyonu, karsinogenezin kritik aşamalarından bir tanesidir. Birçok tümörde yükselmiş oksidatif DNA lezyonlarının saptanması, bu hasarın tümör etiyojisinde güçlü bir rol oynadığı kanaatini oluşturmaktadır. 100'den fazla okside DNA lezyonu tanımlanmıştır. Bunların içinde hem mutajenik olması hem de nispeten kolay tespit edilebiliyor olması sebebiyle 8-hidroksideoksiguanozin karsinogenezin belirteci haline gelmiştir [24].

Nükleer genom ile karşılaştırıldığında mitokondriyal genom oksidatif hasara daha duyarlıdır. Mitokondriyal DNA mutasyonları, nükleer DNA mutasyonlarına kıyasla çok daha fazladır. Mitokondriyal DNA'nın elektron transport zincirinin ROT'ların kaynağı olması sebebiyle, reaktif türlerle çok daha yakın bir ilişki içerisinde olması bu durumun

nedenlerindedir. Normal koşullar altında mitokondriye gelen oksijenin %4-5'i süperoksit anyonuna ve hidrojen peroksit'e dönüşür. Ayrıca mitokondriyal DNA'nın histonlarca korunmaması ve nükleer eksizyon tamir mekanizmasının olmaması sebebiyle DNA tamir kapasitesinin sınırlı olması da mitokondride mutasyonların daha fazla olmasına neden olmaktadır [40]. Birçok kanser türünde mitokondriyal oksidatif DNA hasarı lezyonları saptanmıştır. Özellikle elektron transport zincirindeki gen defektleri direkt olarak bazı herediter karsinomlarla ilişkilidir [23].

Hücrelerin fizyolojik ve patolojik koşullarda reaktif türleri uzaklaştırmak amacıyla antioksidan mekanizmaları mevcuttur. Enzimatik ve non-enzimatik savunma sistemleri organların yaşamsal aktiviteleri için denge halindedir. Antioksidanlar hücre çoğalmasını ve ölümünü düzenleyerek, kanser gelişimini hücre seviyesinde önleyebilir, dokuda da tümör invazyonunu, anjiogenezi ve inflamasyonu inhibe ederek kanser gelişiminin önlenmesine katkıda bulunur. Ancak bazı durumlarda antioksidan sistemlerdeki bozukluklar kanser gelişimine katkıda bulunabilir. Örneğin birçok kanser hücresinde ve solid tümörde γ -glutamilsistein sentaz ekspresyonunun artması GSH seviyesinin artmasına neden olmuştur. Yine tümör hücrelerinin büyümesini inhibe eden antioksidan katalaz enziminin, UVB ışınlarının reaktif tür oluşturma etkisini potansiyalize ettiği gözlemlenmiştir [23].

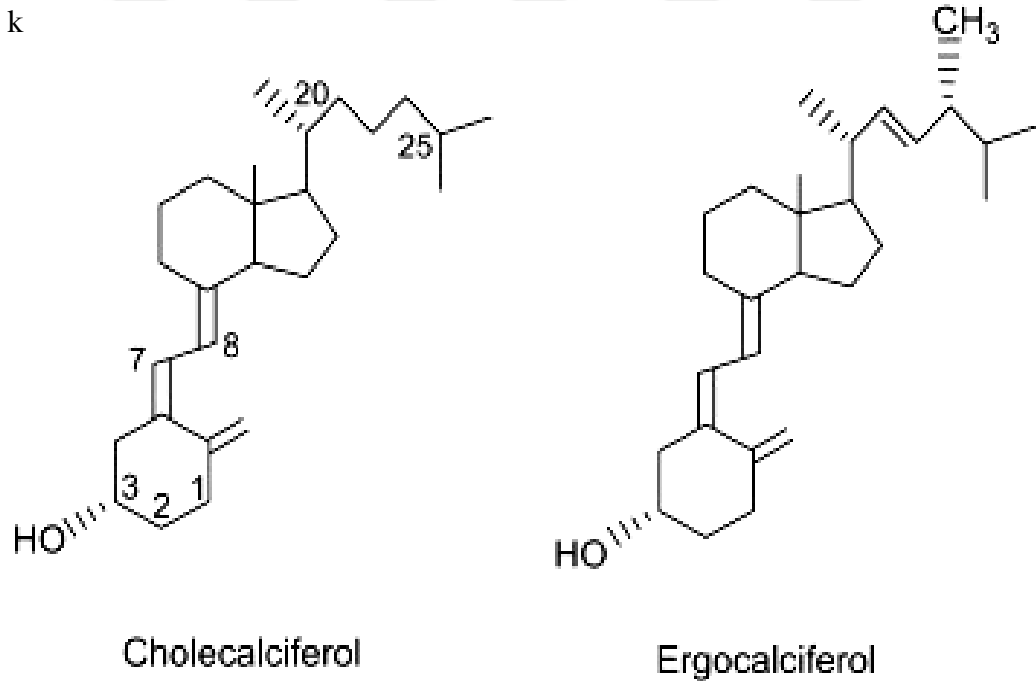
Oksidatif stres hücreler arası iletişimi değiştirebilir. Hidrojen peroksit, glutatyon bağımlı sinyal iletim yolağını inhibe ederek hücrelerarası iletimi inhibe eder. Ayrıca reaktif oksijen türü oluşturan bir kısım kimyasal maddenin hücre kültüründe hücrelerarası iletişimi inhibe ettiği gösterilmiştir. Mürin epidermal keratinositlerde H_2O_2 üreten bu kimyasalların hücrelerarası iletişimi bloke ettiği gösterilmiştir [50]. Vitamin E ve yeşil çayın ise fare hepatositlerinde inhibe olan iletişimi, tekrar sağladığı gözlemlenmiştir [40].

2.2 Vitamin D ve kanser

2.2.1 Vitamin D'nin yapısı, sentezi ve metabolizması

Vitamin D, 290-320 nm dalga boyundaki UVB ışınlarına yanıt olarak, ciltte sentezlenen bir prohormon ve sekosteroidtir. Doğada iki ana formu vardır; hayvansal kaynaklı kolekalsiferol (vitamin D_3) ve bitkisel kaynaklı ergokalsiferol (vitamin D_2) [12]. Hayvanlarda, dokudaki kolekalsiferol konsantrasyonu, diyetle alınan vitamin D_3 içeriğine

veya güneş ışığına maruziyete bağlıdır. Hayvanlarda vitamin D'nin aktiflenme reaksiyonu, sterol çekirdeğin B-halkasının 5,7 dieni tarafından absorblanan UV ışığa (optimal 295-300 nm) bağlıdır. Bu durum, halkanın açılmasına ve enerji olarak daha stabil olan s-trans, s-cis-previtamin D₃'e izomerize olmasına neden olur. Bu fizikokimyasal reaksiyon sonucu 7-dehidrokolesterolün sadece %5-15'i vitamin D₃'e dönüşebilir [51]. Daha sonra karaciğerde bir hidroksilasyon reaksiyonu sonucu 25-hidroksi vitamin D₃ (kalsidiol) oluşur ve son olarak da metabolik olarak aktif form olan 1-alfa,25-hidroksi vitamin D₃ (kalsitriol) oluşur [12]. Bu metabolik süreç genellikle karaciğer ve böbrekte yürütülürken, hücre kültürü çalışmaları epidermiste hidroksilazların olduğunu ve muhtemelen karaciğere geçiş olmadan ciltte aktif dönüşümün gerçekleştiğini göstermektedir [52]. Vitamin D'nin katabolizmasını 24-hidroksilaz (CYP24A1) yürütür. Kalsitriolü vitamin D reseptörüne (VDR) affinitesi daha düşük bir bileşik olan 1,24,25 hidroksi vitamin D'ye (kalsitroik asit) dönüştürür. Vitamin D'nin sentezini yürüten enzimler genel olarak karaciğer (CYP2R1) ve böbrekte (CYP27B1 ve CYP24) lokalize iken katabolik enzimler birçok dokuda bulunur [53].



Şekil 11: Vitamin D'nin doğal formları

Vitamin D, ince bağırsaklardan, safra tuzlarının varlığından miçeller halinde, pasif difüzyonla emilir. En hızlı emilim duodenum ve ileumda görülür, ancak distalde daha uzun süreli geçiş söz konusu olduğundan vitamin D'nin büyük çoğunluğu burada emilir. Diğer

bütün hidrofobik maddeler gibi, vitamin D de emilen miktarın yaklaşık %90'ı, şilomikronlar aracılığıyla, miçel bağımlı pasif difüzyonla lenfatik dolaşıma katılır. Emilen vitamin D plazmada bulunan, transkalsiferin veya vitamin D bağlayıcı protein (DBP) adı verilen bir bağlayıcı protein ile taşınır.

Vitamin D'nin aktif formu 1,25 hidroksivitamin D₃, vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanarak aktivite gösterir. VDR hücre içi bir reseptör ve transkripsiyon faktörüdür. Çeşitli türlere göre 50-60 kDa büyüklüğündedir. Her bir reseptör, sisteinden zengin iki çinko parmak yapısı içeren bir N-terminal bölgesi ve hidroksivitamin D₃'ü yüksek afiniteyle bağlayan C-terminal bölgesi olan bir sülfidril proteindir. VDR 30'dan fazla farklı hücre tipinde tanımlanmıştır. Bulunduğu hücreler, kalsiyum dengesinin sağlanmasıyla yakından ilişkili olduğu gibi (kemik, böbrek, bağırsak), immün sistem, endokrin sistem, hematopoetik, cilt ve tümör hücreleri gibi çok farklı alanları da kapsamaktadır [51].

Vitamin D'nin aktif formu olan 1,25 hidroksivitamin D₃, hücre içerisine girdiği zaman VDR'ye bağlanır. Bu kompleks retinoid X reseptörleri (RXRs) ile bir heterodimer oluşturur ve vitamin D'ye cevap veren bir gen üzerinde, vitamin D'ye cevap veren bir DNA sekansına bağlanır. Bunlara vitamin D'ye cevap veren elemanlar (vitamin D-responsive elements – VDREs) denir. Bu bağlanma sonucunda transkripsiyon ve translasyon gerçekleşir, kalsiyum bağlayıcı protein (kalbindinler), osteokalsin gibi proteinler üretilir [54].

2.2.2 Vitamin D'nin biyolojik aktivitesi

Vitamin D'nin geleneksel olarak bilinen rolü, kemik metabolizmasının düzenlenmesi ve kalsiyum-fosfor dengesinin sağlanmasıdır. Ancak yapılan birçok in vivo ve in vitro çalışma, vitamin D'nin çok sayıda non-kalsemik etkisi olduğunu göstermiştir. Azalan vitamin D seviyeleri, otoimmün hastalıklar, solunum yolu enfeksiyonları, diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar, nöromusküler bozukluklar ve kanser gibi birçok hastalığın başlaması ve ilerlemesiyle ilişkilidir [53].

1,25 hidroksivitamin D₃'ün klasik hedef organları kemik, bağırsak ve böbrektir. Vitamin D'nin en açık şekilde tanımlanan, fizyolojik olarak en önemli fonksiyonu, bu

organlar aracılığıyla kalsiyum ve fosfat dengesini sağlamaktır. Bu denge, 1,25 hidroksivitamin D₃ üretiminin, paratiroid hormon (PTH) tarafından kontrol edildiği, multi-hormonal bir sistemce sağlanır. 1,25 hidroksivitamin D₃'ün sentezi PTH tarafından uyarılır. Kalsiyumun PTH üzerine negatif feedback etkisi vardır, kalsiyumun artması PTH'ı azaltır. Ayrıca 1,25 hidroksivitamin D₃'ün ise PTH üzerine direkt negatif feedback etkisi vardır. 1,25 hidroksivitamin D₃ hızlı etkilerini bir membran reseptörü aracılığıyla gösterir (VDR) [54].

Vitamin D'nin kalsemik etkileri dışında, birçok fizyolojik sistemde hücre çoğalması ve farklılaşması üzerine olan etkileri "klasik olmayan" etkiler şeklinde isimlendirilebilir. 1,25 hidroksivitamin D₃ ve nükleer VDR'ler kalsiyum dengesiyle ilişkili olmayan bir çok dokuda bulunur (pankreasın β hücrelerinde, ciltte malpigi tabakası hücrelerinde, spesifik beyin hücrelerinde, hipofizde, kasta, meme dokusunda, midenin endokrin hücrelerinde ve embrioyu çevreleyen koriyoallantoik membranda). Vitamin D'nin birçok hücrenin fonksiyonunun düzenlenmesinde ve farklılaşmasında rol aldığı söylenebilir (Tablo 4) [51].

Vitamin D'nin saç büyümesine (VDR eksikliği farelerde total alopesi ile sonuçlanmış), cilde (bariyer fonksiyonu, fotoprotektif ve genoprotektif etkiler), immun sistemdeki birçok hücre tipine (monosit ve makrofajların aktivitesini artırır), safra asidinin transportuna ve metabolizmasına, kardiyovasküler sisteme (renin üretimi ve endotelial/vasküler duvar etkileri gibi) ve kas hücrelerinin matürasyonu ve fonksiyonu üzerine etkileri bulunmaktadır [55].

Tablo 4: Vitamin D'nin çeşitli dokularda, çalışmalar sonucunda gözlemlenen fonksiyonları

İşlev	Deneyisel gözlem sonucu
Hücre farklılaşması	1,25 hidroksi vitamin D ₃ 'ün myeloid lösemik hücreleri makrofajlara benzeyen hücrelere dönüşümünü sağlaması
Membran yapısı	Enterositlerdeki yağ asitlerinin kompozisyonunu değiştirerek membran akışkanlığını azaltma
Mitokondriyal metabolizma	İzositrat liyaz ve malat sentazı azaltma (raşitik civcivlerde gösterilmiştir.)
Kastaki fonksiyonlar	<ul style="list-style-type: none">• Myeloblast hücre kültüründe, 1,25 hidroksivitamin D₃ kalsiyumun sarkoplazmik retikuluma transportunu uyarması• Vitamin D ile tedavi, vitamin D eksikliği olan insanlarda kasta kontraksiyon ve gevşemede gözlemlenen elektrofizyolojik anormaliteleri siler.• Vitamin D tedavisi alan hastalarda kas zayıflığı azalır.
Pankreatik fonksiyonlar	<ul style="list-style-type: none">• Ratlarda 1,25 hidroksivitamin D₃ pankreasın β hücrelerinden insülin üretimini uyarır.• Vitamin D eksikliği olan insanlarda kalsiyum seviyesine bağlı olmadan, insülin salınımının bozulduğu gösterilmiştir.
İmmun sistem	<ul style="list-style-type: none">• 1,25 hidroksivitamin D₃ immün sistem hücrelerinin fonksiyonlarını uyarır.• 1,25 hidroksivitamin D₃ sitokin üretimini düzenleyerek, inflamasyonu kontrol altına alır.
Nöral fonksiyonlar	1,25 hidroksivitamin D ₃ ratların beyinlerinde bölgeye spesifik olarak kolin asetil transferazı artırır.
Cilt	1,25 hidroksivitamin D ₃ farelerin epidermal hücrelerinde DNA sentezini inhibe eder.
Paratiroidal fonksiyonlar	Paratiroid hücrelerinde DNA ve 1,25 hidroksivitamin D ₃ 'ün etkileşimi sonucu PTH geninin transkripsiyonu inhibe olur.

2.2.3 Vitamin D ve karsinogenezis

Vitamin D'nin kolon kanserine karşı koruyucu olduğu yaklaşık 75 yıl önce, güneş ışınlarına maruziyet ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar serum 25-hidroksivitamin D seviyesi ile kolon kanseri riski arasında zıt bir ilişki olduğunu göstermiştir. Düşük 1,25 hidroksivitamin D₃ serum seviyelerinin prostat ve meme kanseri riskini arttırdığı gözlemlenmiştir [51, 53, 55].

VDR'ler bazı yerlerde düşük konsantrasyonlarda da olsa, neredeyse vücuttaki bütün hücrelerde bulunur. Bu hücreler 1,25 hidroksivitamin D₃'ün fizyolojik konsantrasyonlarına (veya suprafizyolojik), tipik olarak G0/G1 hücre siklusu blokajı yaparak, hücre proliferasyonunu inhibe eder. Bu blokajı retinoblastom proteininin fosforilasyon durumunu etkileyerek yapar. Bu protein hücrelerin G1 fazının en sonunda, S fazına geçişte, en önemli denetleyicidir, hücrelerin geçişine izin verir veya engeller. 1,25 hidroksivitamin D₃, direkt veya indirekt olarak siklin bağımlı kinazları (cyclin dependent kinases- CDK) ve CDK inhibitörlerini etkileyerek Rb'ü defosforile eder. Sonuç olarak defosforile Rb, hücre siklusunun ilerlemesinde ve kontrolünde kritik role sahip olan E2F transkripsiyon faktörlerini bağlayıp inaktive ederek, G1 fazından S fazına geçişi engeller [55]. 1,25 hidroksivitamin D₃'ün hücre çoğalması ve farklılaşmasını nasıl düzenlediği tam olarak bilinemesi de, p27, p21 ve p53 gibi hücre siklus genlerini düzenleyerek, hücre replikasyonunu kontrol ettiği bilinmektedir. Ayrıca 1,25 hidroksivitamin D₃, p27'nin yıkılmasını azaltarak, hücresel çoğalmayı, hücre migrasyonunu inhibe eder. Benzer şekilde p21'in ekspresyonunu arttırarak, apoptozisi indükler ve hücre siklusunda G2/M geçişini bloke eder [56].

1,25 hidroksivitamin D₃, önemli hücresel fonksiyonları düzenler, insan keratinositlerinde, ciltteki antioksidan, sitoprotektif ve immunmodulatör etkileri ile hücresel büyümeyi ve apoptozisi kontrol eder ve insan keratinositlerini UVB'nin neden olduğu hasara karşı korur. UVB ışınları keratinosit DNA'sına hasar vererek, mutajenik siklobutan pirimidin dimerleri (Cyclobutane pyrimidine Dimer-CPD) oluşmasına neden olur. Keratinosit kaynaklı vitamin D ise bu dimerlerin sayısını azaltır. İn vitro olarak keratinositler 1,25 hidroksivitamin D₃ ile tedavisi DNA tamir genlerinin ekspresyonunu arttırır [53]. Ayrıca hayvan çalışmalarında düşük doz UVB radyasyona (30-40 mJ/cm²) karşı topikal vitamin D uygulaması koruma sağlarken, yüksek doz UVB (50 mJ/cm²) maruziyetinde bu etkinliğin kaybolduğu saptanmıştır. VDR'si olmayan fareler, kimyasal bir karsinogen olan DMBA'ya maruz bırakıldığında cilt tümörlerinin sayısı artar (özellikle papilloma ve BCC) ayrıca UV ışınlarına maruz bırakıldığında ise SCC gelişir. 1,25 hidroksivitamin D₃, in vitro ve in vivo olarak hücre siklusunu bloke ederek, cilt tümörlerinin büyümesini inhibe eder [57].

2.3 Non-melanom cilt kanserleri

Cilt kanserleri, beyaz popülasyonda en sık görülen kanser türüdür ve birçok çalışma NMCK'nin tüm dünyada insidansının arttığını göstermektedir. Güneş ışınlarına ve UV ışınlarına maruziyetin ve dışarıda yapılan aktivitelerin artması, giyim stiline değişmesi, yaşam süresinin uzaması ve ozon tabakasındaki delinme artmış insidansın sebepleri arasında sayılabilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Kanser Enstitüsü'nün verilerine göre 2010 yılında yeni vaka sayısının bir milyondan fazla, NMCK kaynaklı ölümlerin ise 1000'den az olduğu tahmin edilmektedir. Tüm dünyada ise yılda 2.75 milyon yeni vaka tespit edilmektedir. Deri kanserlerinin yıllık insidansı coğrafi bölgelere göre değişir. Örneğin, ekvatora yakın olan yerlerde NMCK gelişme riski yüksektir. Avustralya'da yıllık %1-2 insidans artışı bulunmakta olup dünyada BCC'nin en fazla görüldüğü yerdir. Onu Amerika ve Avrupa takip etmektedir. Ayrıca, Avustralya'da açık tenli popülasyonun güneş ışınlarına fazla maruz kalması nedeniyle dünyadaki en yüksek SCC görülme oranı izlenmektedir. Genel olarak BCC'nin SCC'ye oranı 4:1'dir [58, 59]. Çok büyük bir popülasyonu etkileyen, çeşitli morbiditelere ve ciddi sağlık maliyetlerine sebep olan bu sağlık probleminin önlenmesi için, risk faktörlerinin ve etiyolojisinin belirlenmesi, koruyucu sağlık önlemlerinin alınabilmesi önemlidir.

2.3.1 Non-melanom cilt kanserlerinin etiyolojisi ve risk faktörleri

Cilt tümörleri genellikle 60 yaş ve üzeri yaşlarda görülmesine rağmen son yıllarda daha genç hastalarda da rastlanmaktadır. Bu tümörler erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülür ve bazal hücreli tip erkeklerde tüm kanserlerin %20 kadarını, kadınlarda ise tüm kanserlerin %15'ini oluşturmaktadır [60].

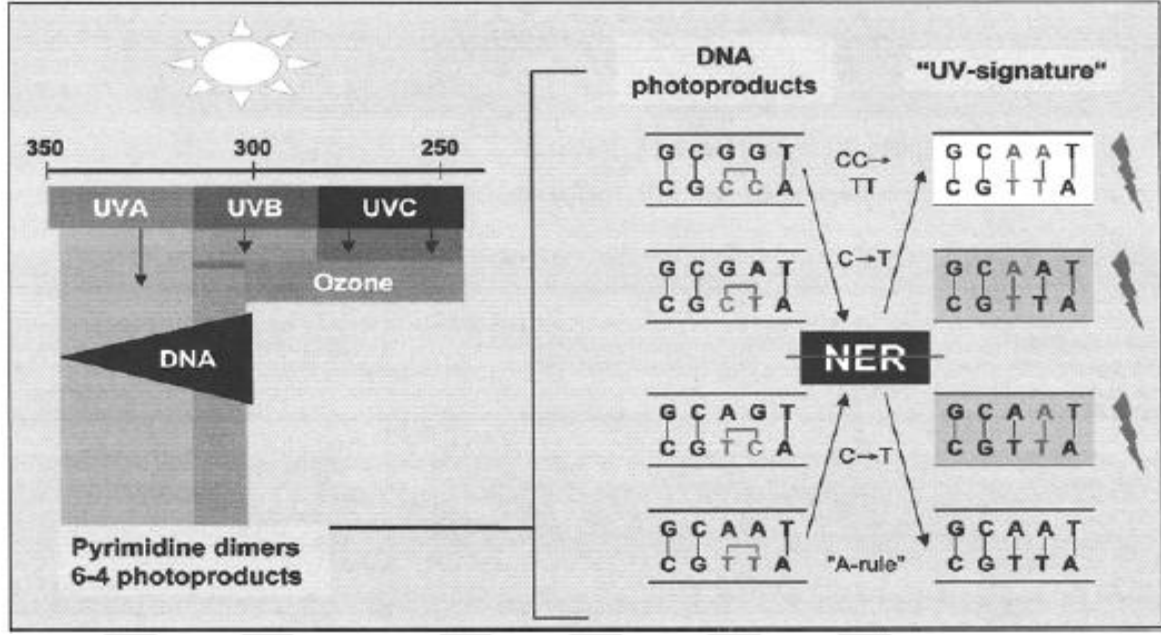
Güneş ışınlarına kronik maruziyet NMCK'ların en temel nedenidir. NMCK'ların %80'i sürekli olarak güneşe maruz kalan baş, boyun ve el sırtı gibi bölgelerde görülmektedir. BCC özellikle burunda sık görülür. SCC gelişimi multifaktöryeldir. UV radyasyon, immunsupresyon, çeşitli kimyasallara maruziyet SCC gelişimine neden olabilir. Açık ten renginde, özellikle tip I ve tip II ten renginde (kolayca güneş yanığı olan, bronzlaşmayan, güneşe maruziyetle çil oluşan) NMCK oluşma riski yüksektir [58].

a) Ultraviyole radyasyon

UVR maruziyeti deri kanseri riskiyle ilişkili çevresel risk faktörlerinden en önemlisidir. UV radyasyonun cilt kanserinde en önemli etiyolojik faktör olduğu düşünülse de, dozajı, maruz kalınan süre ve maruziyetin şekli ile tümör gelişimi arasındaki ilişki bilinmiyor [12]. Bununla birlikte ozon tabakasındaki her %1'lik azalma ile birlikte deri kanseri insidansının %2 ile %4 arasında arttığı gösteriliyor [61].

Dalga boyuna göre UV ışınlar üçe ayrılır: UVA (315–400 nm), UVB (280–315 nm), ve UVC (100–280 nm). UVC en kısa dalga boyuna ve en yüksek enerji düzeyine sahiptir. UVC'nin neredeyse tamamı ozon tabakası tarafından bloke edilir ve en fazla genetik hasar oluşturabilecek ışındır. UVA ise en uzun dalga boyuna ve en düşük enerji düzeyine sahiptir. Dermise derinlemesine penetre olabildiği için yaşlanma etkilerinden sorumludur. UVB ciltte kızarıklığa neden olur, güneş yanıklarının ve cilt kanserlerinin en temel nedeni olduğu düşünülmektedir [61].

Ultraviyole radyasyona özellikle de UVB'ye maruziyet DNA'da komşu primidinler arasında kovalent bağlar oluşmasını indükleyerek 6–4 primidin-primidon fotoürünleri veya CPD oluşumuna yol açmaktadır. Birçok fotokimyasal ürün DNA'daki dipirimidin sekanslarında görülen C→T tek baz veya CC→TT ikili mutasyonlar sonucu açığa çıkmaktadır. Siklobutan pirimidin dimerlerinin artması, belirgin mutasyonlara ve yavaşlayan tamir mekanizmalarına neden olur (Şekil 12) [62]. Oluşan mutasyonlar, güneşe maruz kalan vücut bölgelerindeki deri kanserlerinde ras onkogeni, p53 ve Patched (PTCH) tümör baskılayıcı gen gibi çeşitli genlerde gösterilmiştir. Tümör baskılayıcı genlerden biri olan p53'ün fonksiyon bozukluğu, deri kanserinin gelişmesinde başlıca predispozan faktördür 'Sunburn Cell (Güneş Hasarı Hücresi)' olarak adlandırılan UVR'ye bağlı DNA hasarına uğramış keratinositlerin apoptozisi, p53 tümör baskılayıcı gene ihtiyaç duyar ve sonradan kazanılmış mutasyonlu premalign hücreleri uzaklaştırarak deri kanserine karşı korumada anahtar rol oynar. Keratinositlerde, UVR p53 ekspresyonunu artırır. P53, hücre döngüsünü DNA hasarı onarılmaya kadar geciktirir. Eğer DNA hasarı onarılamazsa apoptozis yolu ile hücrenin ortadan kaldırılmasını sağlar [61].



Şekil 12: UV ışınlarının neden olduğu mutasyonlar

UVR aynı zamanda ROT'ların aşırı artışına neden olarak, protein ve DNA yapı ve fonksiyonlarında ciddi hasarlar oluşturur. 4-hidroksi-2-nonenal ve MDA gibi oksidasyon ürünleri protein denatürasyonuna, apoptozisin bozulmasına ve sitokinler gibi proinflamatuvar maddelerin salınımını etkileyerek inflamatuvar cilt hastalıklarını indükleyebilirler. ROT'ların neden olduğu DNA baz hasarları, tek ve çift zincir kırıkları, DNA ve proteinler arasında oluşan çapraz bağlar ve DNA-kromozom yapısında meydana gelen bozukluklar karsinogenezin başlangıcı olabilir. Proto-onkogenlerde ve tümör supresör genlerde oksidatif hasar sonucu oluşan DNA bazları (8-hidroksiguanozin, timin glikol vs.) epidermal hücreleri terminal dönüşüme dirençli hale getirebilir. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan peroksil radikalleri, benzopiren, aromatik aminler, amino azo bileşikleri ve n-nitro bileşikleri gibi karsinojenleri aktifleyebilir. Biyolojik dozajda uygulanan UVA ışınları, hücre kültüründe 6-thioguanin gibi ROT'ların oluşmasıyla sonuçlanmıştır. UVA ve 6-thioguanin sinerjik olarak mutajeniktir [63].

b) İyonize radyasyon ve floresan ışık

İyonize radyasyon ve cilt kanseri gelişimi arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir. Bu ilişki ilk olarak radyologlarda deri kanserlerinin daha sık görülmesiyle anlaşılmıştır. Göreceli olarak iyonize radyasyona bağlı bazal hücreli karsinom gelişimi daha sık görülmektedir. Radyasyonla ortaya çıkan deri kanseri hastaların da en önemli

faktör total dozdur. Epidemiyolojik veriler yetersiz olsa da, 1000 remin altında riskin çok düşük olduğu tahmin edilmektedir [64].

c) Kimyasallar

Pek çok çevresel ve mesleki kimyasal ile kanser gelişimi arasındaki ilişki çok iyi bilinmektedir. Arsenik, tütün, katran, asfalt, kurum ve psoralen gibi pek çok kimyasal başta SCC olmak üzere, NMCK gelişimini tetikleyebilir [58]

d) Fenotipik özellikler

İnsanların cilt kanserine yatkınlığını arttıran kişisel cilt özellikleri; açık saç ve cilt rengi, mavi ve yeşil göz rengi, bronzlaşmayan cilt, güneş yanığına sık maruziyet, Avustralya ve Seltik ırkından gelmek cilt tümörü gelişiminde önemli risk faktörleridir. Fitzpatrick deri tipi sınıflaması, kişileri güneşe maruz kaldıklarında verdikleri deri reaksiyonuna göre ayırır (Tablo 5). Açık cilt rengi, açık göz rengi, bronzlaşmama, çil ve güneş yanığı oluşturma yatkınlığı ve kızıl veya sarı saç rengi, kişinin epidermal melanin içeriğiyle ilgili olduğundan deri kanseri ve melanom için güçlü belirteçlerdir [65].

Tablo 5: Fitzpatrick deri tipi sınıflaması

DERİ FENOTİPLERİNİN SINIFLAMASI		
	Orta* derecede güneş maruziyetine reaksiyon	Deri rengi
I	Her zaman yanarlar, asla bronzlaşmazlar	Soluk beyaz
II	Kolayca yanarlar, zor bronzlaşırlar	Soluk beyaz
III	İlk güneş yanığından sonra bronzlaşırlar	Beyaz
IV	Kolay bronzlaşır, asla yanmaz	Açık kahverengi
V	Kolay bronzlaşır, asla yanmaz	Kahverengi
VI	Kolay bronzlaşır, asla yanmaz	Koyu kahverengi

* Enlem derecesine bağlı olarak, güneş ışınlarının maksimum olduğu ilkbahar veya yaz aylarında, korunmasız (örn. güneş koruyucu kullanmadan) 30 dakika güneş maruziyeti

e) Genetik sendromlar

Birçok nadir genetik sendrom çoğunlukla UVR maruziyetine artan hassasiyet nedeniyle artmış deri kanseri riskiyle ilişkilidir. Otozomal resesif bir hastalık olan Xeroderma Pigmentosum (XP)'da UVR'ye hipersensitivite ve çok genç yaşlarda multipl cilt kanseri gelişimi (BCC, SCC, Melanomlar) görülür. Bu durumun altında DNA onarım ve sentez bozukluğu yatmaktadır [66].

f) İmmunsupresyon

İmmunsupresyon, cilt kanserleri de dahil olmak üzere birçok kanser için predispozisyona neden olur. İmmunsupresyon, potansiyel olarak malign değişikliğe uğramış immün mekanizmaları baskılar. İmmunsupresif ilaçların UVR'nin karsinojenik etkilerini artırma ihtimali de vardır. Birçok çalışmada immünkompromize renal transplant hastalarının daha erken yaşlarda ve daha kısa latent dönemden sonra (1-7 yıl) güneş gören vücut bölgelerinde özellikle SCC olmak üzere deri kanserleri geliştirdiği ve bu hastalarda metastaz oluşma ihtimalinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir [58, 66].

2.3.2 Non-melanom cilt kanserlerinin sınıflandırması

Non-melanom cilt kanseri terimi, melanosit içermeyen tüm deri kanserlerini kapsamına rağmen yaygın olarak iki önemli deri kanseri tipi olan bazal hücreli karsinom ve skuamöz hücreli karsinomu ifade etmek için kullanılmaktadır. BCC'ler, melanoma dışı cilt kanserlerinin yaklaşık % 75-80'ini, SCC'ler ise % 25 kadarını oluşturmaktadır. Diğer non-melanom cilt kanserlerinin birçok çeşidi, lenfosit, damar endotel hücreleri, merkel hücreleri, mezenşimal stromal hücreler ve adneksiyal yapılardan meydana gelen hücreler gibi deride bulunan diğer hücre tiplerinden kaynaklanmaktadır. Bu tümörler, BCC ve SCC ile karşılaştırıldığında oldukça nadir görülmektedir [58, 59].

2.3.2.1 Bazal hücreli karsinom

Bazal hücreli kanser epidermisin bazal hücrelerinden veya kıl folikülünün dış kök kılıfından geliştiği düşünülen malign bir neoplazidir. Beyaz ırkın en sık görülen malign cilt tümörüdür. Sıklıkla kronik olarak güneşe maruz kalan deri bölgelerinde görülmektedir [58].

Lokal olarak invazif, yavaş yayılan bir tümördür. Metastaz nadir görülmektedir ancak yetersiz tedavi edilir ya da tedavisi ihmal edilirse büyüyüp, geniş lokal doku hasarı yapabilmekte, yakın komşuluktaki yaşamsal yapıları tehdit edebilmektedir [66].

Bazal hücreli karsinom erkeklerde kadınlardan daha sık görülür ve sıklıkla 40 ile 60 yaş arasındaki kişilerde rastlanmaktadır. Baş ve boyun bölgesi bazal hücreli karsinomunun en sık görüldüğü bölgedir. Baş ve boyun bölgesi içinde ise burun lezyonları en sık olduğu bölgedir. Burunun subüniteleri ele alındığında ise nazal tip ve nazal ala burunda tümörün en sık görüldüğü lokalizasyonlardır. Yanaklar ve alın bölgesi sıklıkla burun bölgesini takip ederler [58].

Bazal hücreli karsinomun klinik olarak 5 ana tipi mevcuttur ve bunlar nodüler veya nodüloülseratif, morfeaform veya sklerozan (fibrozan), superfisiyal, pigmente ve fibroepiteliyom tipleridir [60].

2.3.2.2 Skuamöz hücreli karsinom

Skuamöz hücreli karsinom, deri ve mukozal yüzeylerin suprabazal epidermal keratinositlerinden köken alan, lokal infiltrasyon ve doku hasarı yapabilen malign bir cilt tümörüdür. Karsinoma *in situ* olarak başlayarak, dermis, subkutan doku, kas, kıkırdak ve kemiğe kadar invazyon gösterebilir. Bölgesel lenf nodlarına yayılabilir ve uzak metastaz görülebilir [60].

Deri kanserleri arasında ikinci sıklıkta ve özellikle erkeklerde daha fazla görülür. Deri malignitelerinin %20'sini oluşturur. Çoğunlukla altta yatan güneş hasarı, aktinik keratoz, skarlar, kronik ülser veya sinüsler gibi durumlar mevcuttur. SCC'ler en sık baş, boyun ve el sırtı gibi güneş ışınlarına maruz kalan yerlerde görülür. SCC, baş ve boyunda güneş ışınlarına bağlı oluşan kanserlerin yaklaşık %60'ını oluşturur [58, 59].

Ultraviyole kaynaklı deri hasarının spektrumu aktinik keratoz ile başlar, *in situ* skuamöz hücreli karsinoma (Bowen hastalığı) ilerler ve son olarakta invaziv skuamöz hücreli karsinoma dönüşür. İnvaziv skuamöz hücreli karsinomun temel histopatolojik göstergesi bazal membran boyunca ve dermise doğru yayılan atipik keratinositlerin bulunmasıdır [66].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Vaka seçimi

Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Polikliniğinde non-melanom cilt kanseri tanısı konulan ve histopatolojik olarak tanısı doğrulanan, 14'ü kadın, 24'ü erkek, 22 bazal hücreli karsinom, 13 skuamöz hücreli karsinom, 2 bazoskuamöz hücreli karsinom ve 1 malign mezenkimal tümör sınıflandırması yapılan, antioksidan vitamin/ilaç kullanımı olmayan, ek bir patolojisi olmayan toplam 38 hasta, çalışma grubu olarak alındı. Çalışma grubuna benzer özelliklere sahip, benzer yaş grubunda ve antioksidan vitamin/ilaç kullanımı olmayan 9 kadın ve 21 erkek toplam 31 sağlıklı gönüllü de kontrol grubu olarak çalışmaya dâhil edildi.

Hem hasta grubunda hem de sağlıklı kontrol grubunda ayrıntılı fizik muayeneden sonra, anamnez alınarak sigara durumu, güneşe maruziyet durumu (günlük ortalama saat) kaydedildi ve cildin güneşe hassasiyetine göre fitzpatrick sınıflaması yapıldı.

3.1.2 Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması

Çalışma ve kontrol grubundan venöz yolla, K₂-EDTA'lı ve antikoagülan içermeyen tüplere kan örnekleri alındı. Antikoagülan içermeyen tüplere alınan numuneler, pıhtılaşma süreci tamamlandıktan sonra 10 dakika 1500g'de santrifüj edilip serumları ayrıldı. Numuneler porsiyonlanarak çalışma gününe kadar -40°C' de muhafaza edildi.

K₂-EDTA antikoagülanlı tüplere alınan kan örnekleri, 10 dakika 1500g'de santrifüj edildikten sonra plazmaları alındı. Plazmalar ve K₂-EDTA antikoagülanlı tüplere alınan tam kanlar çalışma gününe kadar -40°C'de korundu.

3.1.3 Kullanılan cihazlar, kimyasallar ve kitletler

- Biyokimya otoanalizörü (Architect Ci16200, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, ABD)
- Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography-HPLC cihazı (Agilent Technologies, 1260 Infinity Series, Almanya)

- Santrifüj cihazı (Beckman Coulter 369436, Almanya)
- Santrifüj cihazı (Centurion Scientific K3 serisi, Birleşik Krallık)
- Distile su cihazı (MES-10, RCT - 3200, Türkiye)
- Orbital karıştırıcı (Lab. Companion SK-300, Kore)
- Karıştırıcı (Lab. Companion VM-96E, Kore)
- Manyetik karıştırıcı (Lab. Companion, Kore)
- Kuru hava fırını (Lab. Companion ON-11E, Kore)
- Ph metre (Hanna HI-2211, Amerika Birleşik Devletleri)
- Otomatik pipetler (1000-100-10 µl), (Gilson, Fransa)
- Pipet uçları (LP İtaliana SPE, İtalya)
- RP C18 kolon (reverse faz, ACE 5 C18, 250x4,6mm)
- RP C18 kolon (5 µm, 4.6 x 150 mm, Eclipse VDB- C18. Agilent)
- 25-OH vitamin D kiti (Architect Ci16200, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, ABD)
- Tam kan DNA ekstraksiyon kiti (GF-1, Katalog no: GF-BD-100, Vivantis Technologies, Malezya)
- 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (H5653, Sigma-Aldrich kimyasal, Almanya)
- Vitamin A ve E için serum kalibratör ve kontrol (Clinchek, katalog no:8873 Clinical, katalog no: 22013, Recipe Chemicals, Almanya)
- Potasyum-dihidrojen-fosfat (KH₂PO₄); (229806, Aldrich kimyasal, Almanya)
- Disodyum-hidrojen-fosfat (Na₂HPO₄); (431478, Aldrich kimyasal, Almanya)
- Hidroklorikasit (HCl); (100314, Merck kimyasal, Almanya)
- Metanol HPLC grade (106007, Merck kimyasal, Almanya)
- Asetonitril HPLC grade (100030, Merck kimyasal, Almanya)
- n-Hekzan HPLC grade (104391, Merck kimyasal, Almanya)
- Etanol HPLC grade (111727, Merck kimyasal, Almanya)
- Formik asit (100264, Merck kimyasal, Almanya)
- orto-Fosforik asit (100563, Merck kimyasal, Almanya)
- 2-Thiobarbitürik asit (TBA, 108180, Merck kimyasal, Almanya)
- 1,1,3,3 Tetraetoksipropan (T9889, Sigma-Aldrich kimyasal, Almanya)
- 3,5-Di-*tert*-4-butylhydroxytoluene (BHT, 47168, Sigma-Aldrich kimyasal, Almanya)
- Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄); (529568, Merck kimyasal, Almanya)

3.2 Yöntem

3.2.1 25-OH vitamin D ölçüm yöntemi

Hasta ve kontrol grubundan porsiyonlanarak -40°C’de saklanan numunelerden, serum 25-hidroksi vitamin D düzeyi Abbott Architect Ci16200 marka otoanalizörde, cihaza ait ticari kitlerle, kemiluminesans yöntem kullanılarak ölçüldü.

3.2.2 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) ve deoksi guanozin (dG) ölçüm yöntemi

8-hidroksi-2-deoksiguanozin ölçümü, Agilent 1260 serisi HPLC sistemleri kullanılarak gerçekleştirildi.

İlk aşamada, GF-1 tam kan DNA ekstraksiyon kiti (GF-BD-100) kullanılarak DNA izolasyonu sağlandı. Bu kitin çalışma prensibi, DNA’nın özel bir işlem görmüş cam membranlı mini kolon kullanılarak, yüksek konsantrasyonda tuzla bağlanması, proteinlerin ve diğer metabolitlerin uzaklaştırılması esasına dayanır. Son olarak ayrıştırılan DNA elüent kullanılarak elde edildi.

DNA’nın hidrolizi, Kaur ve Halliwell’in [67] formik asit kullanarak hidroliz gerçekleştirdiği yöntem kullanılarak yapıldı. Formik asit eklenen DNA örnekleri 150°C’de 1 saat bekletilerek hidroliz sağlandı. Son hacim 500 µL olacak şekilde numunelere asetonitril eklenerek HPLC sistemine verildi.

Standart olarak 1 mg/L 8-hidroksi-2-deoksiguanozin ve deoksiguanozin kullanıldı. Deoksiguanozin analizi aynı örneklerde ECD dedektöre UV dedektörün paralel bağlanması ile yapıldı. Mobil faz, pH 5.5 50 mM yoğunluğunda 970 mL fosfat tamponu ve 30 ml HPLC grade asetonitril karışımı şeklinde hazırlandı. C18 kolon (250x4,6 mm, 5µ) kullanıldı. Akım 1 mL/dk, enjeksiyon volümü 20 µL olarak ayarlandı.

8-OHdG ölçümü elektrokimyasal dedektör (600 mV) kullanılarak ve buna eş zamanlı olarak deoksiguanozin (dG) ise UV dedektör (245 nm) kullanılarak ölçüldü. Oksidatif DNA seviyesi birim olarak 8-OHdG/10⁶ dG şeklinde ifade edildi.

3.2.3 Malondialdehit (MDA) ölçüm yöntemi

Plazma MDA düzeyi Khoshsorur ve ark.[68] tanımladığı tiyobarbitürik asitin (TBA), MDA ile kompleks oluşturduğu yöntem ile Agilent 1260 serisi HPLC sistemlerinde ölçüldü.

50 µL plazma 0,44 M H₃PO₄ (orto-fosforik asit) ve 42 mM TBA ile karıştırılarak, 30 dakika kaynayan su banyosunda bekletildi. Daha sonra hızlıca soğutuldu. Numunelere eşit hacimde alkalın metanol eklenerek vortekslendi ve 3000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısım alınarak HPLC sistemine yüklendi.

Kalibrasyon amacıyla 1,1,3,3 tetraepoksipropan standardı kullanıldı. Mobil faz, metanol ve pH 6.8 50 mM fosfat tamponu (60:40, v/v) şeklinde hazırlandı. RP-C18 kolon (150x4,6 mm, 5µ) kullanıldı. Akış hızı 0,8 mL/dk ve enjeksiyon volümü 20 µL olarak ayarlandı.

MDA ölçümü floresan dedektörde 551 nm emisyon ve 527 nm eksitasyon dalga boylarında gerçekleştirildi. Plazma MDA seviyesi µM düzeyinde belirlendi.

3.2.4 Vitamin A ve E ölçüm yöntemi

Serum vitamin A ve E düzeyleri Khan ve ark.[69] tanımladığı yöntem ile Agilent 1260 serisi HPLC sistemlerinde ölçüldü.

250 µL seruma deproteinize edilmek amacıyla, 750 µL etanol-metanol karışımı (95:5, v/v) eklenerek vortekslendi. Daha sonra 1600 g'de 5 dakika santrifüj edildi, alınan süpernatant kısmına, stabilizatör olarak 1,5 µg/mL BHT içeren n-hekzan-diklorometan karışımı (70:30, v/v) eklenerek vortekslendi. 1600 g'de 10 dakika tekrar santrifüj edildikten sonra hekzan içeren kısım alınarak viallere konuldu ve sıcak hava ile hekzan uzaklaştırıldı. Kalan numuneler 250 µL metanol içerisinde çözündürülerek HPLC sistemine verildi.

Kalibratör ve kontrollere de aynı işlemler uygulanarak sisteme verildi. Mobil faz olarak HPLC grade metanol (%100) kullanıldı, kolon olarak ise RP-C18 kolon (250x4,6 mm, 5µ) kullanıldı. Akış hızı 1,5 mL/dk, enjeksiyon volümü ise 20 µL olarak ayarlandı.

Serum vitamin A ve E ölçümü UV dedektörde, vitamin A 325 nm dalga boyunda, vitamin E ise 295 nm dalga boyunda okutuldu. Ölçü birimi mg/L olarak belirlendi.

3.3 İstatiksel analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama ve Standart Sapma olarak ifade edildi. Bu özellikler bakımından hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki her bir parametre için uygulanacak testi belirlemek amacı ile öncelikle, varsa uç değerleri belirlemek ve dağılımları göstermek için boxplot ve histogram grafikleri çizildi. Gruplar arasında ortalamaların karşılaştırılması amacıyla student t test ve ki-kare testi, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ise ONE-.WAY ANOVA ve post-hoc tukey testi uygulandı. Parametreler arasındaki korelasyonu değerlendirmek amacıyla Pearson korelasyon testi uygulandı.

4. BULGULAR

NMCK tanısı konulan 14 kadın, 24 erkek toplam 38 birey hasta grubu olarak, 9 kadın, 22 erkek toplam 31 birey sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 69 gönüllü birey çalışmaya dâhil edildi. Hasta grubu 22 bazal hücreli karsinom, 13 skuamöz hücreli karsinom, 2 bazoskuamöz hücreli karsinom ve 1 malign mezenkimal tümör tanısı konulan bireyden oluşmaktadır.

Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ortalama değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ancak güneşe maruz kaldıkları saat değerleri açısından hasta grubunun anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 6).

Tablo 6: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda yaş ve güneşe maruziyet saati ortalama değerleri

	Nonmelanom Cilt Kanserli Hasta Grubu	Sağlıklı Kontrol Grubu	P Değeri
Yaş ($\bar{X} \pm SD$)	58,02±14,4	53,19±8,46	0,105
Güneşe Maruziyet Saati ($\bar{X} \pm SD$)	5,28±1,9	2,67±1,8	0,001

Hasta ve kontrol grupları arasında sigara içme durumu ve Fitzpatrick deri sınıflaması açısından anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$, Tablo 7).

Tablo 7: Sağlıklı Kontrol ve hasta grubunda sigara içme durumları ve Fitzpatrick deri sınıfı verilerinin yüzde oranları

	Sigara İçme Durumu*		Fitzpatrick Deri Sınıfı**		
	Yüzde(Sayı)	Yüzde(Sayı)	Yüzde(Sayı)	Yüzde(Sayı)	Yüzde(Sayı)
	Sigara Kullanıyor	Sigara Kullanmıyor	Fitzpatrick2	Fitzpatrick3	Fitzpatrick4
Nonmelanom Cilt Kanserli Hasta Grubu	%39,5(15)	%60,5(23)	%13,2(5)	%52,6(20)	%34,2(13)
Sağlıklı Kontrol Grubu	%25,8(8)	%60,5(23)	%0(0)	%45,2(14)	%54,8(17)

*sigara içme durumu p değeri: 0,231 **Fitzpatrick deri sınıfı p değeri: 0,051

Tablo 8’de hasta ve sağlıklı kontrol gruplarına ait MDA, 8-OHdG/10⁶dG, 25-OH vitamin D, vitamin A ve E ölçümlerine ait ortalama (\bar{X}) ve standart sapma (SD) değerleri gösterilmiştir.

Tablo 8’de gösterildiği gibi NMCK tanısı konulan hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında 25-OH vitamin D ve vitamin A düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, bu değerler kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0.01$).

Hasta ve kontrol grupları MDA ve 8-OHdG/10⁶dG düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, bu değerler NMCK’lı hasta grubunda anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0.01$).

Tablo 8’de görüldüğü üzere hasta ve kontrol grupları arasında vitamin E düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$).

Tablo 8: Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında yapılan ölçümlerin istatistiksel değerlerine ait bulgular

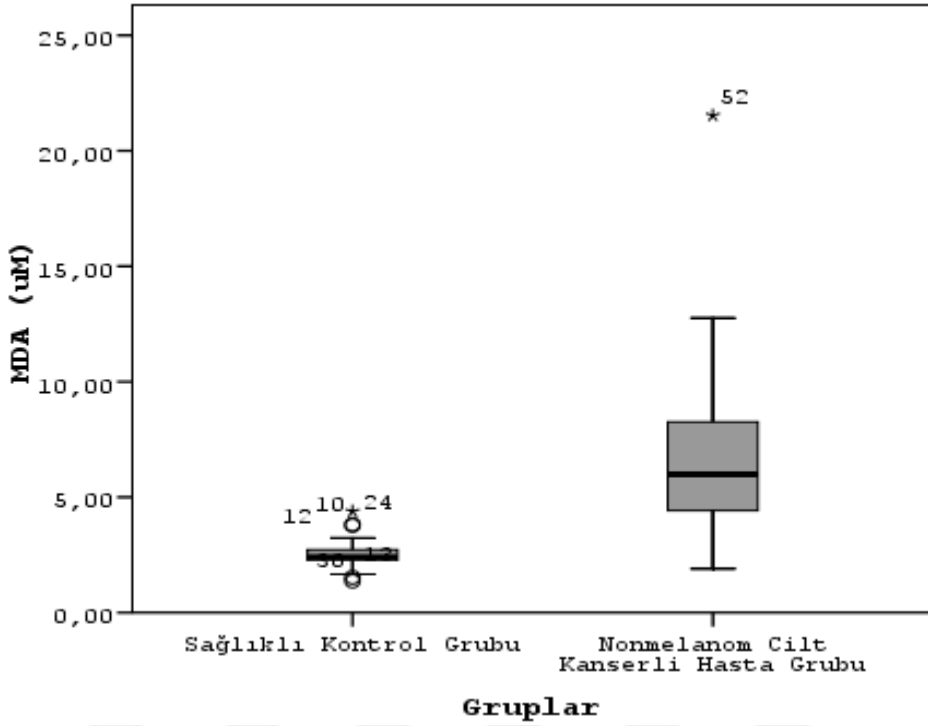
	Nonmelanom Cilt Kanseri Hasta Grubu	Sağlıklı Kontrol Grubu	%95 GA		P Değeri
			Düşük	Yüksek	
MDA(μ M)	6,83 \pm 3,69	2,52 \pm 0,64	-5,65	-2,96	0,001
8-OHdG/10 ⁶ dG	1,4 \pm 0,78	0,76 \pm 0,2	-0,93	-0,35	0,001
25-OH Vitamin D (ng/mL)	15,87 \pm 7,13	21,27 \pm 9,2	1,45	9,34	0,008
Vitamin A (mg/L)	0,37 \pm 0,18	1,15 \pm 0,61	0,57	0,99	0,001
Vitamin E (mg/L)	7,01 \pm 1,83	6,64 \pm 2,9	-1,52	0,78	0,526

Tablo 9’da hasta ve kontrol grubu dahil tüm gönüllülerde yapılan ölçümlerin Fitzpatrick deri sınıflamasına göre ortalama ve standart sapma değerleri verilmiş olup, Fitzpatrick deri sınıflamasına göre ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması yapıldı. Buna göre MDA ve 8-OHdG/10⁶dG değerleri açısından anlamlı fark saptandı ($p<0.01$). Ancak 25-OH vitamin D, vitamin A ve vitamin D değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 9: Tüm gönüllülerde yapılan ölçümlerin Fitzpatrick deri sınıflamasına göre ortalamalarının karşılaştırılması

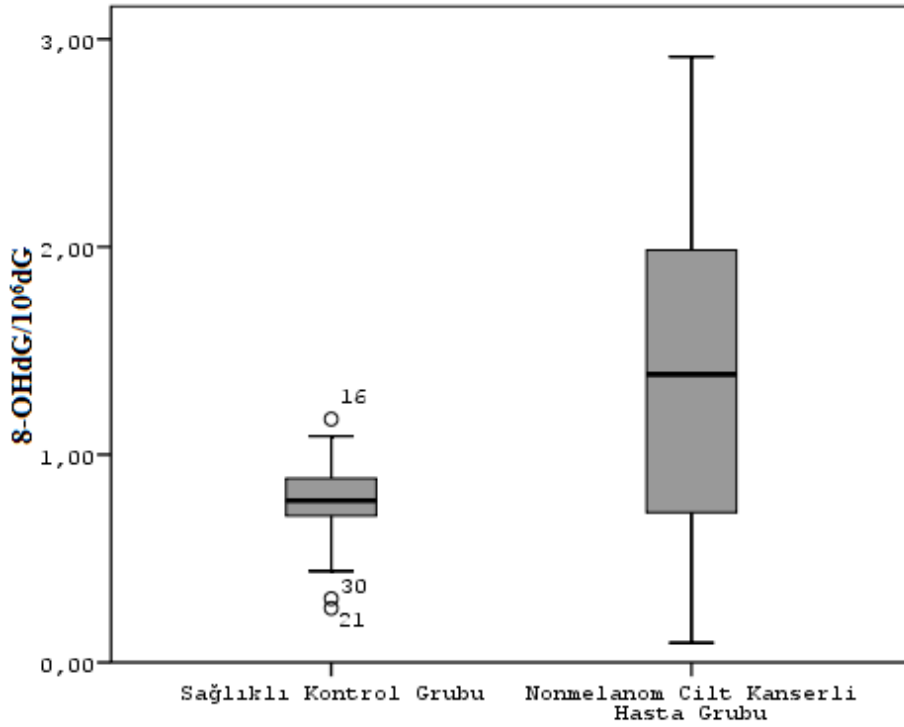
	Fitzpatrick	Fitzpatrick	Fitzpatrick	% 95 GA		P Değeri
	Deri Sınıflaması 2	Deri Sınıflaması 3	Deri Sınıflaması 4	Düşük	Yüksek	
MDA(μ M)	10,13 \pm 7,53	4,62 \pm 2,67	4,34 \pm 2,76	4,05	5,74	0,002
8-OHdG/ 10^6 dG	1,64 \pm 0,37	1,28 \pm 0,69	0,83 \pm 0,57	0,95	1,25	0,004
25-OH Vitamin D (ng/mL)	19,76 \pm 8,32	18,28 \pm 10,3	18,07 \pm 6,34	16,24	20,35	0,922
Vitamin A (mg/L)	0,41 \pm 0,32	0,64 \pm 0,52	0,85 \pm 0,64	0,58	0,86	0,163
Vitamin E (mg/L)	5,72 \pm 1,63	7,11 \pm 2,32	6,73 \pm 2,53	6,28	7,42	0,450

MDA, 8-OHdG/ 10^6 dG, 25-OH vitamin D, vitamin A ve E ölçümlerinin gruplara göre dağılımı boxplot grafikleri ile de gösterilmiştir. MDA ve 8-OHdG/ 10^6 dG düzeyleri hasta gruplarında daha geniş bir dağılım gösterirken (Şekil 13 ve 14), vitamin A ve vitamin E düzeyleri sağlıklı kontrol grubunda daha geniş bir dağılım göstermiştir (Şekil 16 ve 17). 25-OH vitamin D düzeyleri her iki grupta benzer bir dağılım göstermektedir (Şekil 15).



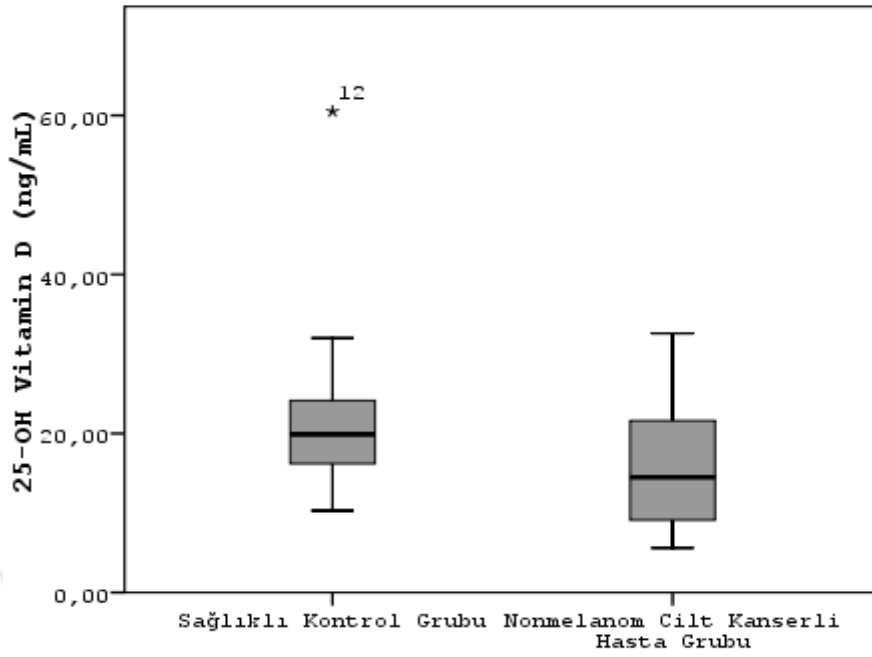
Gruplar

Şekil 13: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda MDA seviyelerinin $\bar{x} \pm SD$ değerleri
*: Aşırı uç değerler, °: Uç değerler



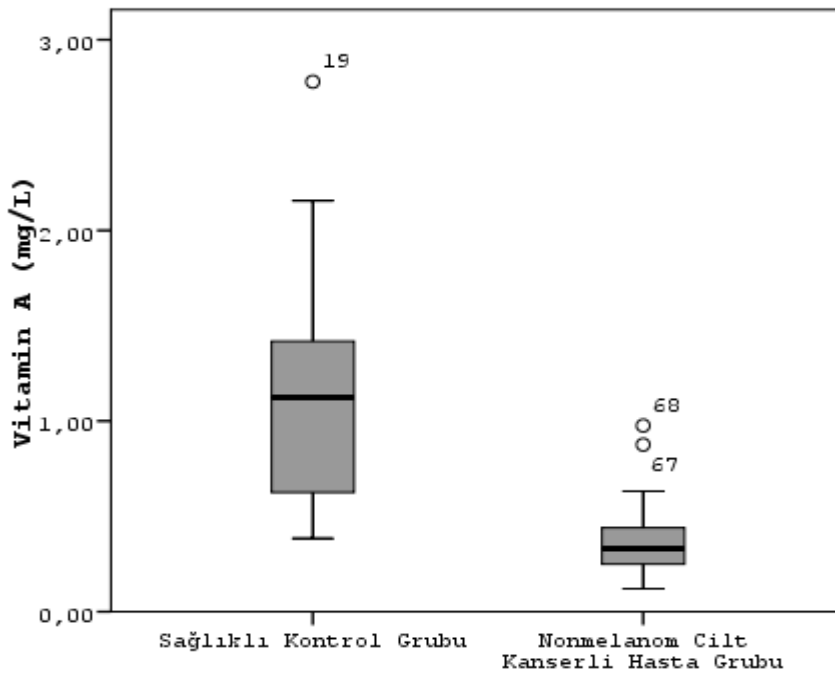
Gruplar

Şekil 14: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 8-OHdG/106dG seviyelerinin $\bar{x} \pm SD$ değerleri
*: Aşırı uç değerler, °: Uç değerler



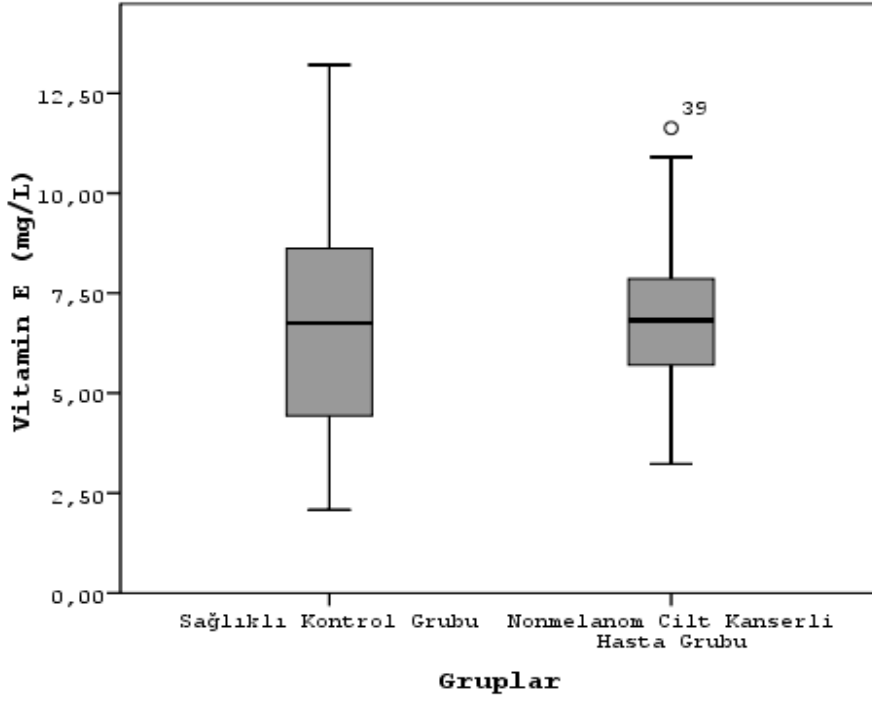
Gruplar

Şekil 15: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 25-OH vitamin D seviyelerinin $\bar{x} \pm SD$ değerleri
 * : Aşırı uç değerler, ° : Uç değerler



Gruplar

Şekil 16: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Vitamin A seviyelerinin $\bar{x} \pm SD$ değerleri
 * : Aşırı uç değerler, ° : Uç değerler



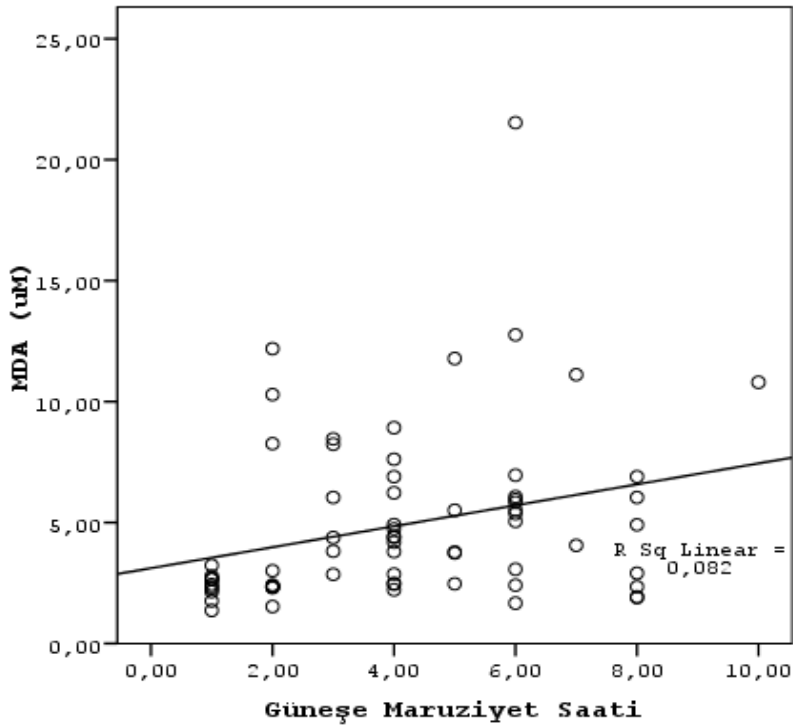
Şekil 17: Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Vitamin E seviyelerinin $\bar{x} \pm SD$ değerleri
 * : Aşırı uç değerler, ° :Uç değerler

Her iki gruba ait ölçüm sonuçları ile korelasyon analizi yapıldığında MDA ile 8-OHdG/10⁶dG düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanırken, MDA ve 8-OHdG/10⁶dG seviyeleri ile güneşe maruziyet saati arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (p<0.05, Tablo 10) Şekil 18 ve Şekil 19’da MDA ve 8-OHdG/10⁶dG seviyeleri ile güneşe maruziyet saati arasındaki korelasyon grafiksel olarak gösterilmektedir. MDA ve 8-OHdG/10⁶dG seviyeleri ile vitamin A düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon olduğu tespit edildi (p<0.05, Tablo 10). MDA ve 8-OHdG/10⁶dG seviyeleri ile vitamin A düzeyleri arasındaki negatif korelasyona ait grafikler Şekil 20 ve 21’de verilmektedir. 25-OH vitamin D ile vitamin A seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon gözlemlendi (p<0.05, Tablo 10). Vitamin A seviyeleri ile 25-OH vitamin D seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanırken, vitamin A düzeyleri ile güneşe maruziyet saati arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı (p<0.05, Tablo 10).

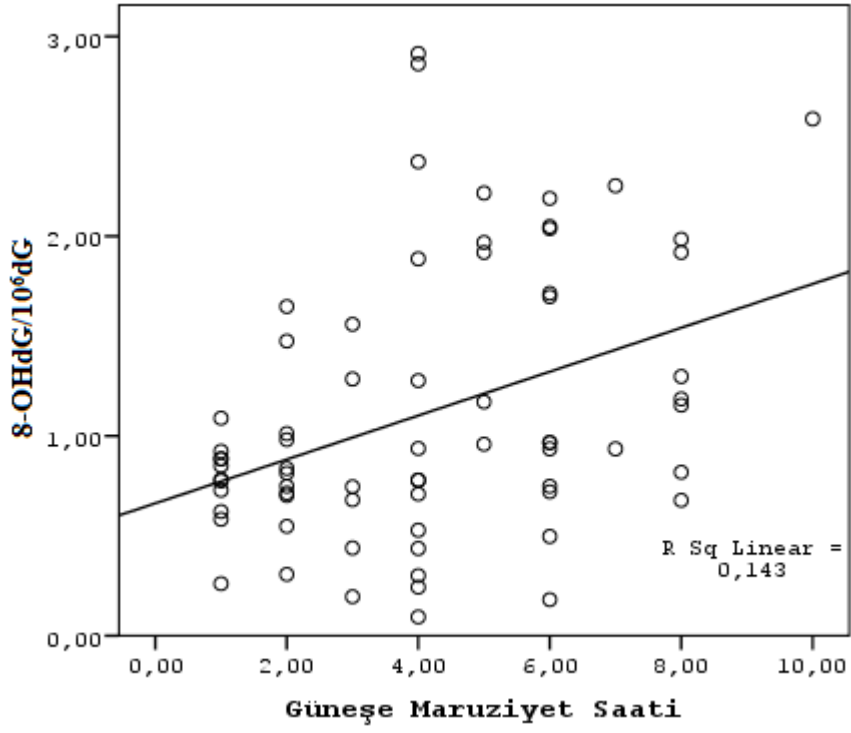
Tablo 10: Ölçülen parametreler arasındaki Pearson korelasyon katsayıları

		MDA (uM)	8-OHdG/10 ⁶ dG	Vitamin A (mg/L)	Vitamin E (mg/L)	25-OH Vitamin D (ng/mL)	Güneşe Maruziyet Saati
MDA (uM)	R değeri	1					
	P değeri						
	N	69					
8-OHdG/10 ⁶ dG	R değeri	,264(*)	1				
	P değeri	,028					
	N	69	69				
Vitamin A (mg/L)	R değeri	-,450(**)	-,289(*)	1			
	P değeri	,000	,016				
	N	69	69	69			
Vitamin E (mg/L)	R değeri	-,060	-,091	-,043	1		
	P değeri	,623	,457	,726			
	N	69	69	69	69		
25-OH Vitamin D	R değeri	-,237(*)	,013	,470(**)	-,017	1	
	P değeri	,050	,917	,000	,891		
	N	69	69	69	69	69	
Güneşe Maruziyet Saati	R değeri	,287(*)	,378(**)	-,279(*)	-,014	-,007	1
	P değeri	,017	,001	,020	,910	,952	
	N	69	69	69	69	69	69

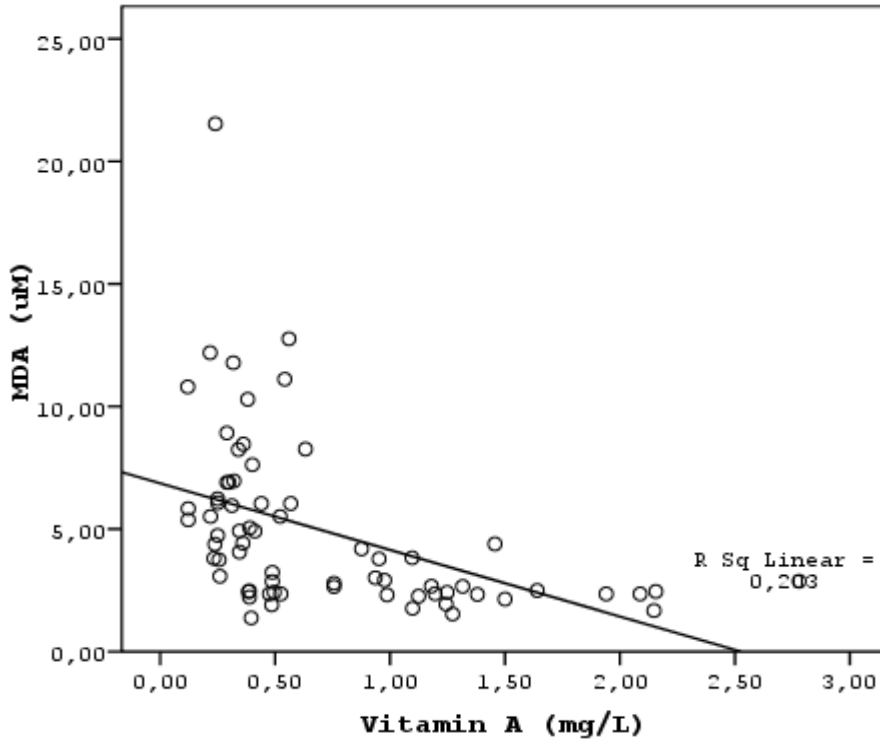
*p<0.05 **p<0.01



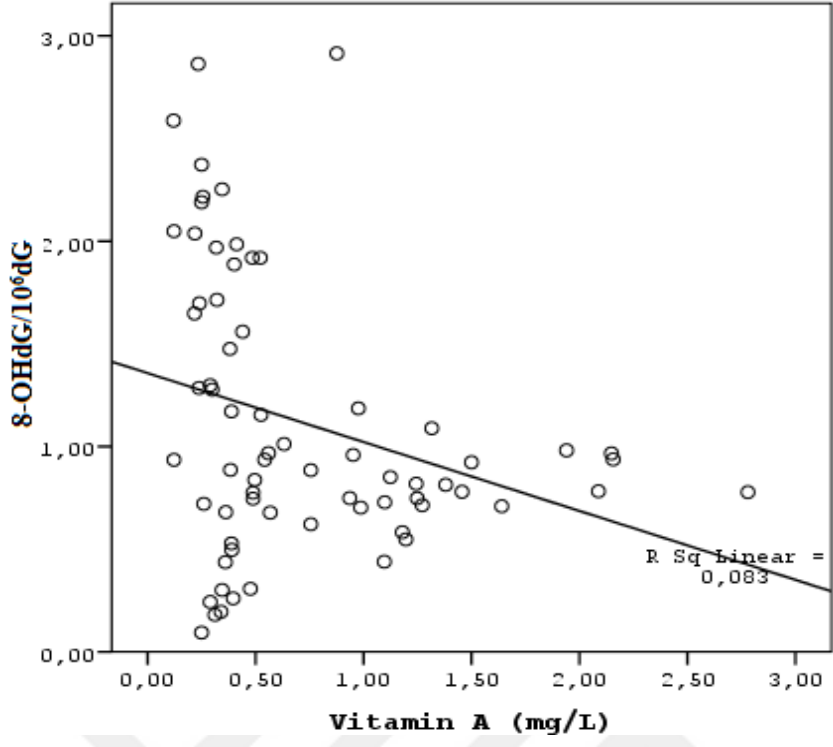
Şekil 18: MDA-Güneşe Maruziyet Saati arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 19: 8-OHdG/106dG-Güneşe Maruziyet Saati arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 20: MDA-Vitamin A arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 21: 8-OHdG/106dG ve Vitamin A arasındaki korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerinin üretimi, sıkı bir şekilde denetlenen nitrik oksit sentaz enzimi ve NAD(P)H oksidazın izoformlarınca sağlanır. Ancak bu reaktif türlerin aşırı üretimi ve antioksidanlarca dengenin sağlanamaması oksidatif stresle sonuçlanmaktadır. Bu süreç membranlar, lipidler, proteinler ve DNA dahil hücresel bütün yapılarda hasar oluşumunun önemli bir ayağıdır [24]. Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıklar, diyabet, iskemi/reperfüzyon hasarı ve yaşlanma dahil birçok patolojinin oluşumunda rol almaktadır [1, 3]. Vücudumuzda bulunan bütün biyolojik moleküller, serbest radikallerin tehdidi altındadır. Hasar gören hücre molekülleri, hücre fonksiyonlarının bozulmasına veya hücre ölümüne neden olarak çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasını tetikleyebilir. Bu hastalıklara neden olan dört kritik basamak vardır; membranlardaki lipidlerin peroksidasyonu, proteinlerin oksidasyonu, DNA hasarı ile hücrenin yıkımı ve sinyal yollarının bozulması sonucunda hücresel dengelerin değişmesidir [29].

Genetik materyalde kalıcı modifikasyona sebep olan oksidatif hasar; mutasyon, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımlarından biridir. ROT'ların etkisiyle DNA'da tek ve çift zincir kırıkları, pürin, pirimidin veya deoksiriboz modifikasyonları ve DNA çapraz bağlanmaları meydana gelir. DNA mutasyonu karsinogenezin kritik basamağıdır. Pek çok tümör çeşidinde artmış okside DNA lezyonları saptanması oluşan hasarın kanser etiolojisinde güçlü rolü olduğunu düşündürmüştür [6, 7]. 8-OHdG, guaninin C8 pozisyonunda oksidasyonu sonucu oluşur. 8-OHdG bakteri ve memeli hücrelerinde mutajeniktir ve sıklıkla mutasyona uğramış onkogenler ve tümör supressör genlerde saptanan G-T transversiyonlarına sebep olduğu gösterilmiştir [70].

Lipidler biyolojik sistem içerisinde oksidatif stresin en fazla hedef aldığı biyomoleküllerdir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu açığa çıkan MDA, nükleik asit bazlarıyla etkileşime girerek çok sayıda farklı bileşik oluşturabilir dolayısıyla genotoksik ve mutajeniktir [33].

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin zararlı etkilerini enzimatik (SOD, GPx, katalaz vs.) ve non-enzimatik antioksidanlar (vitamin E, C, karotenoidler, glutatyon vs.) dengeler.

Antioksidanlar sinyal iletim yollarını düzenleyerek, normal hücre döngüsünü korurlar, proliferasyonu inhibe edip, apoptozisi indüklerler, tümör invazyonunu ve anjiyogenezi inhibe edip, detoksifiye edici enzim aktivitesini uyarırlar. Bu şekilde kanserden koruyucu etki oluştururlar [24]. Antioksidan etkisi olmakla beraber, tam bir antioksidan olarak sınıflandırılmayan vitamin D, hücrel çoğalma, farklılaşma ve apoptozis, immun regülasyon, hormon salınımı ve iskelet sağlığı açısından kilit rol oynar. Sinyal mekanizmaları tam olarak açıklanamamış olsa da, vitamin D üretiminin ve takviyesinin birçok hastalık ve kanser tipinde koruyucu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [12].

NMCK'lar beyaz popülasyonda en sık görülen kanser tipidir. Tüm dünyada giderek artan bir insidansa sahiptir. BCC ve SCC, NMCK'ların en sık görülen iki tipidir [62]. UV radyasyonun ve dolayısıyla güneş ışınlarının cilt kanserinde en önemli etiyolojik faktör olduğu düşünülmektedir. UVB ışınları ROT'ların artışına neden olabildiği gibi, doğrudan DNA hasarına neden olabilirken, UVA'nın zararlı etkileri, hücrel ışık duyarlaştırıcıları hedef alması ve ROT'ların aşırı artışı şeklinde ortaya çıkmaktadır [71].

UV ışınların akut etkileri sonucunda eritem, cilt yanığı ve immunsupresyonla sonuçlanan DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve proteinler arası çapraz bağlanmalar oluşur. UV ışınlarına kronik maruziyet ise DNA hasarı, p53 gen mutasyonu ve sinyal ileti yollarının bozulması gibi etkilere yol açarak anormal keratinosit çoğalmasına ve apoptozisin bozulmasına ve dolayısıyla cilt kanserinin oluşmasına yol açar [72]. UVB ve UVA ışınlarının, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu modifiye bir baz olan 8-OHdG artışına sebep olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur. Çok sayıda bazal hücreli karsinom gözlemlenen, güneş hipersensivitesi olan, nevoid bazal hücreli karsinom sendromlu (NBHKS) hastalardan alınan hücre kültürleriyle yapılan bir çalışmada, normal hücrelere ve NBHKS hücrelerine 800kJ/m² UVB uygulandıktan 6 ve 24 saat sonra 8-OHdG düzeyleri ve timin dimerleri düzeyi ölçülmüştür. 24 saat sonra normal hücrelerde 8-OHdG düzeylerinin bazal seviyeye indiği belirtilirken, NBHKS hücrelerinde anlamlı olarak yüksek saptandığı belirtilmiştir. Ancak ölçülen timin dimerlerinde kontrol ve hasta grubu hücrelerde anlamlı fark saptanmadığı gözlemlenmiştir [73]. NBHKS'li hastaların cilt savunma mekanizmaları sonucunda, 8-OHdG'nin uzaklaştırılamamasına karşın timin dimerlerinin uzaklaştırılabilmesi, UVB ışınlarının DNA üzerine olan direkt etkilerinin yanı sıra, 8-OHdG'nin UVB ışınlarının

karsinogen etkilerinin sadece bir sonucu değil, aynı zamanda karsinogenezin nedeni olduğunu da göstermektedir.

Ahmed ve ark. [74] insan derisini tek doz UV ışına maruz bıraktıkları çalışmada, insan epidermis hücrelerinde 8-OHdG düzeyinin seri biyopsilerle immünohistokimyasal olarak çalışılması sonucunda, yapılan seri biyopsilerde 8-OHdG düzeyinin 3.saatte maksimuma yükseldiği ve ilk 24 saate kadar benzer ölçüde devam ettiği ancak 24-48.saatten sonra hızla düştüğü gözlemlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise tüysüz albino farelere 3 hafta boyunca, haftada 3 defa olmak üzere, iki farklı grup oluşturularak 3,4 kJ/m² ve 16,8 kJ/m² olmak üzere UVB ışınları uygulanmış ve farelerin epidermisindeki 8-OHdG düzeyi, ROT'ların lipid peroksidasyon ürünü olan HNE ve NO'ya bağlı oksidatif hasar göstergesi olarak 3-nitro-L-tirozin düzeyleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda her üç parametre de UV ışın uygulanmamış kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, her iki uygulamada da, doz bağımlı olarak kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır [75]. 127 genç yetişkin ile yapılan bir çalışmada, dışarıda geçirilen zaman, güneşe maruz kalan vücut alanı ve maruz kalınan güneş ışınlarının yoğunluğu ölçülerek üriner 8-OHdG düzeyleriyle karşılaştırılmıştır. Çalışmada dışarıda geçirilen zaman ve güneşe maruz kalan vücut alanı ile 8-OHdG düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamazken, maruz kalınan güneş ışınlarının yoğunluğunun artması ile 8-OHdG düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir [76]. Bizim çalışmamızda güneşe maruziyet saati yani dışarıda geçirilen zaman ile 8-OHdG/10⁶dG ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, p<0.01 ve p<0.05, Tablo 10). Ancak güneş yoğunluğu ve güneşe maruz kalınan alan ile ilgili veriler çalışmamızda değerlendirilmedi. Bununla birlikte, çalışma gruplarımızdan alınan numunelerin yaz dönemi ile yaz sonunda alınmış olması ve Van ilinin Doğu Anadolu Kalkınma Ajansı'nın raporlarına göre Türkiye'de güneş radyasyonu yoğunluğunun en yüksek olduğu iller arasında olması [77] ve bu yoğunluğa maruz kalma süresinin de diğer illere nazaran daha uzun olması bu çalışmada elde ettiğimiz verilerin yukarıdaki çalışmayı destekler nitelikte olduğunu düşündürmektedir. Dışarıda geçirilen zamanın ve etkin bir biçimde güneş ışınlarına maruz kalmanın ciltte oluşturabileceği farklı etkilerinin Van iline özel yapılacak çalışmalarda irdelenmesi gerektiğini düşünüyoruz. Kato ve ark.[76] çalışmasında normal cilt rengi olan tüysüz fareler ile hiperpigmente cilt rengine sahip farelere uygulanan UV ışınlar sonucunda ölçülen idrar 8-OHdG düzeyleri açısından normal cilt rengine sahip

farelerde 8-OHdG düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Araştırmacılar bu durumun melaninin antioksidan etkilerinden veya UV ışınları fiziksel blokajından kaynaklanabileceğini belirtmektedirler [76]. Benzer şekilde bizim çalışmamızda yapılan Fitzpatrick deri rengi sınıflaması sonucunda açık tenlilerde 8-OHdG ve MDA düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.01$).

Oksidatif DNA hasarı birçok kanser çeşidinde olası belirteç olarak ele alınmış, birçok kanser türünün etiolojisinde araştırma konusu olmuştur. İnvaziv duktal meme kanserini tanıyan hastalarda biyopsi sonucu elde edilen materyallerde oksidatif stresin indüklediği bazı modifikasyonlarından 8-OHdG, 2,6-diamino-4-hidroksi-S-formamidopirimidin ve 8-hidroksiadenin düzeyleri ölçülmüş ve normal doku ile karşılaştırılmıştır. Karsinom dokusundaki modifiye baz düzeyleri, normal dokuya kıyasla 8 ila 17 kat kadar yüksek saptanmıştır [78]. Schwarz ve ark.[79] hepatoselüler kanser dokusu ile normal dokudaki 8-OHdG düzeylerini ölçtükleri çalışmada hepatoselüler kanserli dokuda 8-OHdG düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Benzer şekilde küçük hücreli akciğer kanserinde, jinekolojik kanser vakalarında idrar 8-OHdG düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek saptanmıştır [80, 81]. Kutanoz melanomlu hastalarda yapılan bir çalışmada, tümör hücrelerinde immünohistokimyasal olarak 8-OHdG ve p53 ekspresyon düzeyi ile eş zamanlı olarak, özellikle 8-OHdG'nin uzaklaştırılmasını ve baz eksizyonunu sağlayarak oksidatif hasara karşı etki gösteren 8-oxoguanine DNA-glikozilaz (hOGG1) ve redoks dengesini sağlayan glikoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ekspresyon düzeyi ölçülmüş, 8-OHdG vakalarının %65'inde tümör hücresinde pozitif saptanmıştır. p53 ekspresyonu ile 8-OHdG düzeyleri arasında pozitif anlamlı korelasyon saptanmış, 8-OHdG ekspresyonu hOGG1 ekspresyonu ile korele bulunurken, G6PD ile anlamlı korelasyon saptanamamıştır. Ayrıca aynı çalışmada nükleer 8-OHdG'si pozitif ve negatif olan melanomlu hastalarda 5 yıllık sağ kalım düzeyi karşılaştırıldığında, 8-OHdG ekspresyonu olmayan hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır [82]. Literatür taramalarında birçok kanser tipinde 8-OHdG değerlerinin yüksek saptanmasına karşılık, literatürde karşılaştığımız yalnızca iki çalışmada 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı derecede farklı bulunmadığı belirtilmiştir [83, 84]. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak NMCK'lı hastalarda, 8-OHdG/10⁶dG düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0.01$, Tablo 8). Yapılan çalışmalar 8-OHdG'nin

karsinogenezin güçlü bir belirteci olabileceğini göstermektedir. 8-OHdG'nin, prediktif değerlerinin (sensivite, spesifite) ve cut-off değerlerinin hazırlanarak, tarama, tanı ve tedavi takip amacıyla kullanılabilir bir belirteç olması yönünde çalışmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Lipid peroksidasyonu çok sayıda ikincil ürünün açığa çıkmasına neden olur. MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerin başında gelmektedir. MDA nükleik asit bazlarıyla etkileşime girerek çok sayıda farklı bileşik oluşturabilmektedir. Bu oluşturulan bileşiklerden en bilineni M₁G, M₁dG gibi kısaltmalarla bilinen pirimido-1,2- α purin-10(3H)-1 deoksiribozdur [33]. Bu bileşiğin bakteri ve memeli hücrelerinde sekans bağımlı çerçeve kaymalarını ve baz çiftlerinde yer değişikliğini indüklediğini, ayrıca genomun içinde reaktif elektrofilik bir yapı oluşturduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [85, 86]. MDA ile ilgili yapılmış çalışmalarda, meme kanseri, akciğer kanseri, gastrik kanser, serviks kanseri, kronik lenfositik lösemi gibi pek çok kanser tipinde, MDA düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptanmıştır [33, 87-90]. Bizim çalışmamıza benzer bir şekilde, küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda üriner 8-OHdG düzeyi ve plazma MDA düzeyi ölçülmüş ve her iki parametre de hasta grubunda anlamlı derece yüksek saptanmıştır [91]. Melanom (18 hasta) ve non-melanom cilt kanserli hastalarda (18 BCC, 18 SCC ve 18 aktinik keratoz-AK) Sander ve ark.[71] yaptığı bir çalışmada, doku MDA düzeyi anti-MDA antiserumu kullanılarak görüntülenmiş ve çalışma sonucunda malign melanom ve SCC'li dokuda MDA düzeyleri anlamlı derecede yüksek olduğu belirtilirken, BCC ve AK'li dokularda artış saptanmasına rağmen, bu artışın anlamlı düzeyde olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla, plazma MDA düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptandı (p<0.01, Tablo 8). Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda oksidatif stresin ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunun pek çok kanser tipinde olduğu gibi non melanom cilt kanserlerinin patogenezinde rol oynadığına dair güçlü kanıtlar olduğunu düşünüyoruz. Lipid peroksidasyonunun biomarkerı olmasının yanı sıra MDA, potansiyel karsinogenez başlatıcısı ve tetikleyicisi de olabilir. Yapılan çalışmalar MDA'nın oluşturduğu bileşik olan M₁G'nin G-T transversiyonlarının spontan olandan 500-600 kat daha fazla neden olabileceğini, zincir replikasyonlarında M₁G'nin genomda, kontrol genomdan 9000 kat daha fazla mutasyonu indüklediği belirtilmiştir [92]. Ayrıca bu bilgiler ışığında NMCK'lı hastalarda MDA artışının baz modifikasyonları üzerinden çeşitli

komplasyonlara neden olabileceğini, bu nedenle bu hastalarda MDA seviyelerinin takip edilmesinin klinik açıdan yararlı olabileceğini düşünüyöruz.

Antioksidanlar ROT'lara karşı bir savunma sistemi oluştururlar ve oksidatif zincir reaksiyonlarını durdurarak veya oksidasyon oluşumunu önleyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korurlar [43]. Antioksidanlar karsinogenez sürecinde serbest reaktif türlerinin toplayıcısı, baskılayıcısı ve nötrale edicisi olduğu gibi Ref-1, NF-κB, AP-1 gibi hücre çoğalmasında, farklılaşmasında ve büyümesinde rol alan düzenleyici faktörlerle de etkileşim halindedirler [4]. Non-enzimatik antioksidanlardan olan vitamin E (α-tokoferol) hücrenin membrana bağlı önemli antioksidanıdır ve bir antioksidan olarak temel görevi lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır [38]. Vitamin E, peroksil radikal toplayıcısı ve oksidatif zincir kırıcıdır. Hücre membranlarında ve plazma lipoproteinlerinde serbest radikallerin yayılımını engellemektedir [44]. Vitamin E ile yapılan in vivo çalışmalarda UV ışın maruziyeti öncesinde topikal α-tokoferol uygulanmasının, cilt kanseri insidansını % 42 ile %82 arasında azalttığı ve UV ışınların indüklediği immüsupresyonu azalttığı gözlemlenmiştir [93]. Tüysüz farelere intravenöz α-tokoferil süksinat uygulaması yapılan bir başka çalışmada ise B16F1 melanom hücrelerinde büyümeyi durdurduğu ve yaşam süresini uzattığı gözlenmiştir [94]. Karsinogenez model çalışmalarında vitamin E'nin UV ışınların indüklediği timin dimerlerinin oluşumunu etkili bir şekilde inhibe ettiği görülmüştür [46]. E vitaminin serbest radikallere karşı koruyucu etkisi ile ilgili yapılan klinik çalışmalar ne yazık ki laboratuvar çalışmaları kadar net sonuçlara sahip değildir, yararlı olduğu, etkisinin olmadığı ve zararlı olduğu yönünde birçok klinik çalışma mevcuttur. Örneğin, 1987'den 1997'e kadar toplam 59,039 kadının dâhil edildiği ve 1271 katılımcıya invaziv meme kanseri tanısı konulan kohort çalışmasında, vitamin E, retinol ve beta karoten alımı ile invaziv meme kanseri insidansı arasında ilişki saptanmamıştır [95]. Vitamin E alımının plasebo ile karşılaştırıldığı bir başka çalışmada da vitamin E'nin kolon, meme ve akciğer kanseri insidansına ve mortaliteye anlamlı bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir [96]. Orofaringeal karsinom, kolorektal karsinomlar ve akciğer kanseri dâhil bazı kanser tiplerinde yapılan bazı çalışmalarda vitamin E'nin koruyucu etkisi saptanmıştır [97-99]. Prostat kanseri başta olmak üzere bazı kanser tiplerinde ise vitamin E'nin riski arttırdığına dair çalışmalar mevcuttur [100, 101].

Non-melanom cilt kanserli hastalarda yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında vitamin E düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır [102-104]. Van de Pols ve ark.[104] 485 kişinin katıldığı çalışmada 8 yıllık izlem yapılmış, bazal vitamin E, selenyum ve karotenoid düzeyleri ölçülmüş ve NMCK insidansı ile karşılaştırma yapılmış, yalnızca selenyum düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmıştır. Ayrıca diyetle alınan vitamin E ve NMCK insidansı karşılaştırmalarında da anlamlı fark bulunamamıştır [105-107]. Bizim çalışmamızda da daha önceden yapılan birçok çalışmaya benzer şekilde NMCK'lı hastaların serum vitamin E düzeyleri ile sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$, Tablo 8). Diyetle alınan vitamin E düzeyinin bilinmemesi, diyet ile alınan vitamin E miktarları ile vitamin E serum düzeyleri arasındaki ilişki konusunda literatürde yeterince bilgi olmaması sebebiyle yaptığımız bu çalışma vitamin E'nin NMCK üzerine olan etkilerini değerlendirmede yetersiz kalmaktadır. Vitamin E'nin etkileri konusunda in vivo çalışmalar ile insan çalışmalarının sonuçları arasında çelişkilerin olması, ayrıca çeşitli kanser tipleri ve vitamin E düzeyleri arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalarda da farklı sonuçların elde edilmesi nedeniyle ölçümlere etki edebilecek faktörlerin iyi bir şekilde dökümanate edildiği, standardize edilmiş ölçüm yöntemlerinin ve diyet anketlerinin kullanıldığı, daha geniş hasta gruplarıyla çalışmalara ihtiyaç vardır.

Singlet oksijen ve peroksil radikallerinin toplanması dâhil pek çok antioksidan aktivitede rol alan vitamin A'nın transkripsiyon faktörlerini düzenlediği, hücre çoğalmasını inhibe ettiği, hücre farklılaşmasını arttırdığı hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir [108]. Karotenoidlerin akciğer, prostat ve meme kanseri gibi çeşitli kanser hücreleri kültür serilerinde hücre siklusunun ilerlemesini inhibe ettiği, meme kanseri hücrelerinde büyümeyi durdurduğu saptanmıştır [109]. Yapılan çalışmalarda kolorektal kanserler ile diyetle alınan ve serumda ölçülen retinol ve β -karoten düzeyleri arasında risk açısından anlamlı bir ilişki bulunamazken [110], Goodman ve ark.[111] yaptığı geniş çaplı bir araştırmada akciğer kanserli hastalar ve sigara içen bireylerde serum vitamin A düzeyleri kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede düşük saptanmış, aynı çalışmada prostat kanseri açısından anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir. Farelerde deneysel olarak oluşturulan cilt kanseri ve papillom sonrasında uygulanan yüksek doz retinoik asidin cilt kanseri ve papillom insidansını azalttığı gösterilmiştir [112].

Vitamin A ve türevlerinin diyetle alınmasının cilt kanserleri üzerine etkisi inceleyen çalışmalardan Moon ve ark.[113] yaptığı çift kör, randomize kontrollü çalışmada 25,000 ünite retinolün SCC oluşumunu önlemede etkisi olduğu görülürken, BCC'de ise bu koruyucu etki saptanmamıştır. Benzer şekilde diyetle alınan retinol ve izetretioninin, plasebo ile karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise hiç birinin koruyucu etkisi saptanmamıştır [114]. Vitamin A ve türevlerinin serum konsantrasyonlarıyla, NMCK gelişme riskinin değerlendirildiği McNaughton ve ark.[103] yaptığı çalışmada serum β -karoten düzeyi ile BCC insidansı arasında ilişki saptanamazken, bir başka çalışmada NMCK'lı hastalarda serum retinol ve β -karoten düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük saptanmıştır [115]. Bizim çalışmamızda da NMCK'lı hastalarda kontrol grubuna kıyasla serum vitamin A düzeyi anlamlı olarak düşük saptandı ($p < 0.01$, Tablo 8). Çalışmamızın sonucunda antioksidan etkiye sahip vitamin A düzeyinin NMCK'lı hastalarda düşük olması, bununla birlikte oksidatif hasar göstergesi olan 8-OHdG'nin ve MDA düzeyinin yükselmesi bu hastalarda oksidatif hasar lehine dengenin bozulduğunu göstermektedir. Literatürde vitamin A'nın çok farklı formları ile yapılmış çalışmalar mevcuttur ve birbirinden farklı sonuçlar içermektedirler. Bu formların serum düzeyi ile diyetle alınan miktarlar arasındaki ilişki net olarak aydınlatılmadığından, yapılacak olan çalışmalarda ayrıntılı diyet anketlerinin serum düzeyleri ile karşılaştırılmasına ihtiyaç vardır. Ayrıca her bir formun etkisi üzerine daha ayrıntılı hayvan çalışmalarına gereksinim vardır.

Vitamin D'nin, kalsiyum ve kemik metabolizmasındaki klasik rolüne ek olarak, non-kalselik etkileri ile konak savunmasında, inflamasyonda, immun sistemde ve kanser süreçlerinde önemli rol oynadığı pek çok in vivo ve in vitro çalışmada gösterilmiştir. Vitamin D bir transkripsiyon faktörü gibi rol alarak, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve apoptozis gibi tümör oluşum mekanizmalarını merkezinden etkiler [53]. Malign melanom, meme kanseri, prostat, kolorektal kanserler, over, böbrek, özofagus, mide kanserleri ve non-hodgkin lenfoma gibi çok sayıda kanser tipi ile düşük D vitamini düzeyleri arasında ilişki olduğunu belirten pek çok çalışma mevcuttur [116-118]. Yapılan hayvan çalışmaları da bu durumu desteklemektedir. Tangpricha ve ark. [119] yaptığı deneysel çalışmada, serum 25-OH vitamin D düzeyleri ölçülemeyecek düzeyde olan farelerle, diyetlerine uygun miktarda vitamin D eklenen ve serum 25-OH vitamin D

düzeyleri 26 ± 6 ng/mL olan fareler karşılaştırılmış ve vitamin D alan grupta kolon tümörünün çapında %40 azalma gözlemlenmiştir.

Ciltte keratinositlerin sentezlediği 1,25 hidroksivitamin D₃'ün epidermal hücrelerde proliferasyonu, hücre farklılaşmasını ve apoptozisi düzenlediğini gösteren çalışmalar mevcuttur [120]. UVB ışınlarının DNA'da hasar oluşturan etkilerine karşı koruma sağladığı gösterilen 1,25 hidroksivitamin D₃'ün düşük doz (30-40 kJ/m²) UVB'ye karşı koruma sağlayabiliyorken, daha yüksek dozlarda (50kJ/m²) koruyucu etkisinin ortadan kalktığı gözlemlenmiştir [121]. Serum 25-hidroksi vitamin D düzeyleri ile NMCK arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalar çok sınırlı olmakla beraber yapılan çalışmalarda NMCK'lı hastalarda 25-OH vitamin D düzeyinin kontrol gruplarına kıyasla daha düşük saptandığı belirtilmiştir [122, 123]. Tang ve ark. [123] 5 yıllık izlem yaptığı çalışmada 25-OH vitamin D ile NMCK insidansı arasında anlamlı fark olduğu, bu hastalarda 25-OH vitamin D düzeylerinin anlamlı olarak düşük saptandığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da 25-OH vitamin D düzeyleri NMCK'lı hastalarda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0.01$, Tablo 8). Ayrıca çalışmamızda 25-OH vitamin D düzeyleri ile MDA düzeyleri arasında da anlamlı negatif korelasyon saptandı ($p<0,05$, Tablo 10). Yaptığımız çalışmada vitamin D'nin hasta grubunda anlamlı derecede düşük saptanması gerek deneysel çalışmaların, gerekse de klinik çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Çalışmamızın sonuçları, vitamin D'nin nonmelanom cilt kanserlerinde koruyucu etkisinin olabileceğini göstermektedir. 25-OH vitamin D düzeyinin MDA düzeyi negatif yönde korelasyon göstermesi, vitamin D'nin antioksidan etkilerinin de olabileceğini düşündürülebilir ancak 8-OHdG düzeyleri ile korelasyon saptanmaması nedeniyle bu konunun daha geniş hasta gruplarıyla çalışılması gerektiğini düşünüyoruz.

1,25 hidroksivitamin D₃'ün sentezini UVB ışınlarının sağlaması, aynı zamanda UVB ışınlarının cilt kanserlerinden sorumlu olması bir ikileme neden olmaktadır. Nitekim bizim çalışmamızda da 25-OH vitamin D düzeyleri ile güneşe maruziyet saati arasında anlamlı korelasyon saptanmadı ($p>0.05$, Tablo 10). Bu konuda yapılan çalışmalar yetersiz olmakla birlikte, bazı çalışmalarda güneş ışınlarının etkisiyle artan melaninin UV ışınlarını absorbladığı ve güneş ışınlarının 1,25 hidroksivitamin D₃'ü sentezleme etkinliğini azaltmış olabileceğini belirtilmektedir [124]. Uzun süreli ve yüksek doz UV ışınlarına maruziyet sonucunda 1,25 hidroksivitamin D₃'ün sentezinin de bozulmuş olabileceğini bu nedenle

UV ışınlarının 1,25 hidroksivitamin D₃'ün etkinliğini ve sentezini ne kadar etkilediğine dair deneysel çalışmalara ve anketlerle desteklenmiş klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

8-OHdG ve MDA düzeylerinin NMCK'lı hastalarda yüksek saptanması, oksidatif hasarın ve oksidatif DNA hasarını NMCK etiolojisinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. 8-OHdG ve MDA karsinogenez başlatıcısı veya tetikleyicisi olabileceğini, dolayısıyla bu parametrelerin prediktif değerlerinin (sensivite, spesifite) ve cut-off değerlerinin hazırlanarak, tarama, tanı ve tedavi takip amacıyla kullanılacak bir belirteç olması yönünde çalışmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz. Ayrıca çalışmamızda antioksidan etkiye sahip vitamin A düzeyinin düşük olması, NMCK'lı hastalarda oksidatif hasar lehine dengenin bozulduğunu göstermektedir. Çalışmamızda 25 hidroksi vitamin D düzeylerinin NMCK'lı hastalarda düşük saptanması, bu hastalarda koruyucu etkisinin azaldığını göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.*, 52, 601–623.
2. Dhalla, N. S., Temsah, R. M., & Netticadan, T. (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens.*, 18, 655–673.
3. Sayre, L. M., Smith, M. A., & Perry, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr. Med. Chem.*, 8, 721–738.
4. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160, 1–40.
5. Marnett, L. J. (2000). Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21, 361–370.
6. Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17(10), 1195-1214.
7. Marnett, Lawrence J. "Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 424.1 (1999): 83-95.
8. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol* 2003;66:1499–1503.
9. Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2003;17:663–669.
10. Lomas, A., J. Leonardi-Bee, and F. Bath-Hextall. "A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer." *British Journal of Dermatology* 166.5 (2012): 1069-1080.

11. de Gruijl, Frank R. "[33] Photocarcinogenesis: UVA vs UVB." *Methods in enzymology* 319 (2000): 359-366.
12. Burns, Erin M., Craig A. Elmetts, and Nabiha Yusuf. "Vitamin D and Skin Cancer." *Photochemistry and photobiology* 91.1 (2015): 201-209.
13. Cheeseman, K. H., and T. F. Slater. "An introduction to free radical biochemistry." *British medical bulletin* 49.3 (1993): 481-493.
14. Commoner B, Townsend J, And Pake Ge. Free radicals in biological materials. *Nature* 174: 689–691, 1954.
15. Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., & Fenn, W. O. (1954). Oxygen poisoning and x-irradiation—A mechanism in common. *Science*, 119, 623–626.
16. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11: 298–300, 1956.
17. Mittal, C. K., & Murad, F. (1977). Activation of guanylate cyclase by superoxide-dismutase and hydroxyl radical—Physiological regulator of guanosine 3,5-monophosphate formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 4360–4364.
18. Akkuş, İ, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri., 1995, 5.basım, Mimoza yayınları. Konya.
19. Dröge, Wulf. "Free radicals in the physiological control of cell function." *Physiological reviews* 82.1 (2002): 47-95.
20. Valko, M., Morris, H., Mazúr, M., Raptá, P., & Bilton, R. F. (2001). Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer?. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1527(3), 161-166.

21. Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. L., & Harman, D. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Annals of internal medicine*, 107(4), 526-545.
22. Turrens, Julio F. "Mitochondrial formation of reactive oxygen species." *The Journal of physiology* 552.2 (2003): 335-344.
23. Villamena, Frederick A. *Molecular basis of oxidative stress: chemistry, mechanisms, and disease pathogenesis*. John Wiley & Sons, 2013.
24. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
25. Sorg, Olivier. "Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?." *Comptes rendus biologies* 327.7 (2004): 649-662.
26. McCord, Joe M. "The evolution of free radicals and oxidative stress." *The American journal of medicine* 108.8 (2000): 652-659.
27. Engin MG. *Biyokimya*. 5. baskı Nobel Tıp Kitabevi;2011; sf:881-897.
28. Ridnour, L. A., Thomas, D. D., Mancardi, D., Espey, M. G., Miranda, K. M., Paolocci, N., & Wink, D. A. (2004). The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. *Biological chemistry*, 385(1), 1-10.
29. Andreescu, Silvana, and Maria Hepel. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy*. American Chemical Society, 2011.
30. Yıldırım S.E. *Yaşlanma biyokimyası*. Ed: Onat T, Emerk K, Yıldırım S. E, İnsan biyokimyası, 2.baskı;743-758. Palme yayıncılık, Ankara, 2006.

31. Abuja, Peter M., and Riccardo Albertini. "Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins." *Clinica Chimica Acta* 306.1 (2001): 1-17.
32. Halliwell, Barry, and Susanna Chirico. "Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance." *The American journal of clinical nutrition* 57.5 (1993): 715S-724S.
33. Del Rio, Daniele, Amanda J. Stewart, and Nicoletta Pellegrini. "A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress." *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 15.4 (2005): 316-328.
34. Mukai FH, Goldstein BD. Mutagenicity of malondialdehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty acids. *Science* 1976;191:868–869.
35. Shamberger, Raymond J., Theresa L. Andreone, and Charles E. Willis. "Antioxidants and cancer. IV. Initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen." *Journal of the National Cancer Institute* 53.6 (1974): 1771-1773.
36. Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., & Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free radical research*, 44(10), 1098-1124.
37. Fimognari, Carmela. "Role of Oxidative RNA Damage in Chronic-Degenerative Diseases." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015 (2015).
38. Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, 266(1-2), 37-56.
39. Shigenaga, Mark K., Carlos J. Gimeno, and Bruce N. Ames. "Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86.24 (1989): 9697-9701.

40. Klaunig, James E., and Lisa M. Kamendulis. "The role of oxidative stress in carcinogenesis." *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44 (2004): 239-267.
41. Young, I. S., and J. V. Woodside. "Antioxidants in health and disease." *Journal of clinical pathology* 54.3 (2001): 176-186.
42. Kilic, Ülkan Kilic. "Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage." *Pol. J. Pharmacol* 56 (2004): 159-170.
43. Robbins, Delira, and Yunfeng Zhao. "Antioxidants in Skin Cancer." *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Springer Berlin Heidelberg, 2014. 3753-3769.
44. Traber, Maret G., and Jan F. Stevens. "Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective." *Free Radical Biology and Medicine* 51.5 (2011): 1000-1013.
45. Davies, T. W., Treasure, F. P., Welch, A. A., & Day, N. E. (2002). Diet and basal cell skin cancer: results from the EPIC–Norfolk cohort. *British Journal of Dermatology*, 146(6), 1017-1022.
46. McVean, Maralee, and Daniel C. Liebler. "Prevention of DNA photodamage by vitamin E compounds and sunscreens: roles of ultraviolet absorbance and cellular uptake." *Molecular carcinogenesis* 24.3 (1999): 169-176.
47. Palace, V. P., Khaper, N., Qin, Q., & Singal, P. K. (1999). Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(5), 746-761.
48. de Oliveira, Marcos Roberto. "Vitamin A and Retinoids as Mitochondrial Toxicants." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015 (2015).
49. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603-1616.

50. Klaunig, J. E., Hartnett, J. A., Ruch, R. J., Weghorst, C. M., Hampton, J. A., & Schafer, L. D. (1990). Gap junctional intercellular communication in hepatic carcinogenesis. *Progress in clinical and biological research*, 340, 165.
51. Combs Jr, Gerald F. *The vitamins*. Academic press, 2012.
52. Lehmann, B., Rudolph, T., Pietzsch, J., & Meurer, M. (2000). Conversion of vitamin D3 to 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 in human skin equivalents. *Experimental dermatology*, 9(2), 97-103.
53. Vuolo, L., Di Somma, C., Faggiano, A., & Colao, A. (2012). Vitamin D and cancer. *Frontiers in endocrinology*, 3.
54. Lips, P. "Vitamin D physiology." *Progress in biophysics and molecular biology* 92.1 (2006): 4-8.
55. Bouillon, R., Eelen, G., Verlinden, L., Mathieu, C., Carmeliet, G., & Verstuyf, A. (2006). Vitamin D and cancer. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 102(1), 156-162.
56. Saramäki, A., Banwell, C. M., Campbell, M. J., & Carlberg, C. (2006). Regulation of the human p21 (waf1/cip1) gene promoter via multiple binding sites for p53 and the vitamin D3 receptor. *Nucleic acids research*, 34(2), 543-554.
57. Feldman D, Pike JW, Adams J. *Vitamin D*. Academic press, 2011.
58. Diepgen, T. L., and V. Mahler. "The epidemiology of skin cancer." *British Journal of Dermatology* 146.s61 (2002): 1-6.
59. Trakatelli, M., Ulrich, C., Del Marmol, V., Euvrard, S., Stockfleth, E., & Abeni, D. (2007). Epidemiology of nonmelanoma skin cancer (NMSC) in Europe: accurate and comparable data are needed for effective public health monitoring and interventions. *British Journal of Dermatology*, 156(s3), 1-7.

60. Cummings CW, Fredrickson JM, Lee A, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE. *Otolaryngology Head & Neck Surgery* 4. bash Mosby 2005; 529-549, 639-672.
61. Lee, C. H., Wu, S. B., Hong, C. H., Yu, H. S., & Wei, Y. H. (2013). Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis and its effects on skin residential cells: the implication in UV-based phototherapy. *International journal of molecular sciences*, 14(3), 6414-6435.
62. Reichrath, Jörg. "Sunlight, Skin Cancer, and Vitamin D." *Vitamin D*. Humana Press, 2010. 851-864.
63. Bickers, David R., and Mohammad Athar. "Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease." *Journal of Investigative Dermatology* 126.12 (2006): 2565-2575.
64. Shore, Roy E. "Overview of radiation-induced skin cancer in humans." *International journal of radiation biology* 57.4 (1990): 809-827.
65. Pathak MA, Fitzpatrick TB, Coreiter F, Kraus EW: Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sunprotective agents. In Fitzpatrick TB, et al (eds): *Dermatology in General Medicinde*. New York, McGraw Hill, 1987, pp1507-1522.
66. Rigel, D. S., Robinson, J. K., Ross, M. I., Friedman, R., Cockerell, C. J., Lim, H., & Stockfleth, E. (2011). *Cancer of the Skin: Expert Consult*. Elsevier Health Sciences.
67. Kaur, Harparkash, and Barry Halliwell. "Measurement of oxidized and methylated DNA bases by HPLC with electrochemical detection." *Biochem. J* 318 (1996): 21-23.
68. Khoschsorur, G. A., Winklhofer-Roob, B. M., Rabl, H., Auer, T., Peng, Z., & Schaur, R. J. (2000). Evaluation of a sensitive HPLC method for the determination of malondialdehyde, and application of the method to different biological materials. *Chromatographia*, 52(3-4), 181-184.
69. Khan, A., Khan, M. I., Iqbal, Z., Shah, Y., Ahmad, L., & Watson, D. G. (2010). An optimized and validated RP-HPLC/UV detection method for simultaneous determination

of all-trans-Retinol (Vitamin A) and α -Tocopherol (Vitamin E) in human serum: Comparison of different particulate reversed-phase HPLC columns. *Journal of Chromatography B*, 878(25), 2339-2347.

70. Moriya, Masaaki. "Single-stranded shuttle phagemid for mutagenesis studies in mammalian cells: 8-oxoguanine in DNA induces targeted GC--> TA transversions in simian kidney cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90.3 (1993): 1122-1126.

71. Sander, C. S., Hamm, F., Elsner, P., & Thiele, J. J. (2003). Oxidative stress in malignant melanoma and non-melanoma skin cancer. *British Journal of Dermatology*, 148(5), 913-922.

72. Melnikova, Vladislava O., and Honnavara N. Ananthaswamy. "Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 571.1 (2005): 91-106.

73. Nishigori, C., Arima, Y., Matsumura, Y., Matsui, M., & Miyachi, Y. (2005). Impaired removal of 8-hydroxydeoxyguanosine induced by UVB radiation in naevoid basal cell carcinoma syndrome cells. *British Journal of Dermatology*, 153(s2), 52-56.

74. Ahmed, N. U., Ueda, M., Nikaido, O., Osawa, T., & Ichihashi, M. (1999). High levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine appear in normal human epidermis after a single dose of ultraviolet radiation. *British Journal of Dermatology*, 140(2), 226-231.

75. Hattori, Y., Nishigori, C., Tanaka, T., Uchida, K., Nikaido, O., Osawa, T., & Toyokuni, S. (1996). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. *Journal of investigative dermatology*, 107(5), 733-737.

76. Kato, M., Iida, M., Goto, Y., Kondo, T., & Yajima, I. (2011). Sunlight Exposure–Mediated DNA Damage in Young Adults. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 20(8), 1622-1628.

77. Sarıkaya, S. Doğu Anadolu Kalkınma Ajansı, Güneş enerjisi sektör raporu.
78. Malins, Donald C., and Russom Haimanot. "Major alterations in the nucleotide structure of DNA in cancer of the female breast." *Cancer research* 51.19 (1991): 5430-5432.
79. Schwarz, K. B., Kew, M., Klein, A., Abrams, R. A., Sitzmann, J., Jones, L., & Groopman, J. (2001). Increased hepatic oxidative DNA damage in patients with hepatocellular carcinoma. *Digestive diseases and sciences*, 46(10), 2173-2178.
80. Hardie, L. J., Briggs, J. A., Davidson, L. A., Allan, J. M., King, R. F. G. J., Williams, G. I., & Wild, C. P. (2000). The effect of hOGG1 and glutathione peroxidase I genotypes and 3p chromosomal loss on 8-hydroxydeoxyguanosine levels in lung cancer. *Carcinogenesis*, 21(2), 167-172.
81. Romano, G., Sgambato, A., Mancini, R., Capelli, G., Giovagnoli, M. R., Flamini, G., & Cittadini, A. (2000). 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in cervical cells: correlation with grade of dysplasia and human papillomavirus infection. *Carcinogenesis*, 21(6), 1143-1147.
82. Murtas, D., Piras, F., Minerba, L., Ugalde, J., Floris, C., Maxia, C., & Sirigu, P. (2010). Nuclear 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as survival biomarker in patients with cutaneous melanoma. *Oncology reports*, 23(2), 329-335.
83. Nagashima, M., Tsuda, H., Takenoshita, S., Nagamachi, Y., Hirohashi, S., Yokota, J., & Kasai, H. (1995). 8-Hydroxydeoxyguanosine levels in DNA of human breast cancers are not significantly different from those of non-cancerous breast tissues by the HPLC-ECD method. *Cancer letters*, 90(2), 157-162.
84. Shimoda, R., Nagashima, M., Sakamoto, M., Yamaguchi, N., Hirohashi, S., Yokota, J., & Kasai, H. (1994). Increased formation of oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in human livers with chronic hepatitis. *Cancer Research*, 54(12), 3171-3172.

85. VanderVeen, L. A., Hashim, M. F., Shyr, Y., & Marnett, L. J. (2003). Induction of frameshift and base pair substitution mutations by the major DNA adduct of the endogenous carcinogen malondialdehyde. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 14247-14252.
86. Mao, H., Schnetz-Boutaud, N. C., Weisenseel, J. P., Marnett, L. J., & Stone, M. P. (1999). Duplex DNA catalyzes the chemical rearrangement of a malondialdehyde deoxyguanosine adduct. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(12), 6615-6620.
87. Bakan, E., Taysi, S., Polat, M. F., Dalga, S., Umudum, Z., Bakan, N., & Gumus, M. (2002). Nitric oxide levels and lipid peroxidation in plasma of patients with gastric cancer. *Japanese journal of clinical oncology*, 32(5), 162-166.
88. Bakan, N., Taysi, S., Yilmaz, Ö., Bakan, E., Kuşkay, S., Uzun, N., & Gündoğdu, M. (2003). Glutathione peroxidase, glutathione reductase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde concentrations in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Clinica chimica acta*, 338(1), 143-149.
89. Gönenç, A., Özkan, Y., Torun, M., & Şimşek, B. (2001). Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 26(2), 141-144.
90. Kolanjiappan, K., S. Manoharan, and M. Kayalvizhi. "Measurement of erythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients." *Clinica Chimica Acta* 326.1 (2002): 143-149.
91. Peddireddy, V., Siva Prasad, B., Gundimeda, S. D., Penagaluru, P. R., & Mundluru, H. P. (2012). Assessment of 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine and malondialdehyde levels as oxidative stress markers and antioxidant status in non-small cell lung cancer. *Biomarkers*, 17(3), 261-268.
92. Fink, Stephen P., G. Ramachandra Reddy, and Lawrence J. Marnett. "Mutagenicity in *Escherichia coli* of the major DNA adduct derived from the endogenous mutagen

malondialdehyde." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94.16 (1997): 8652-8657.

93. Gensler, Helen L., and Mark Magdaleno. "Topical vitamin E inhibition of immunosuppression and tumorigenesis induced by ultraviolet irradiation." (1991): 97-106.

94. Kogure, K., Manabe, S., Hama, S., Tokumura, A., & Fukuzawa, K. (2003). Potentiation of anti-cancer effect by intravenous administration of vesiculated α -tocopheryl hemisuccinate on mouse melanoma in vivo. *Cancer letters*, 192(1), 19-24.

95. Michels, K. B., Holmberg, L., Bergkvist, L., Ljung, H., Bruce, Å., & Wolk, A. (2001). Dietary antioxidant vitamins, retinol, and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *International journal of cancer*, 91(4), 563-567.

96. Lee, I. M., Cook, N. R., Gaziano, J. M., Gordon, D., Ridker, P. M., Manson, J. E., & Buring, J. E. (2005). Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *Jama*, 294(1), 56-65.

97. Comstock, G. W., Kathy J. Helzlsouer, and Trudy L. Bush. "Prediagnostic serum levels of carotenoids and vitamin E as related to subsequent cancer in Washington County, Maryland." *The American journal of clinical nutrition* 53.1 (1991): 260S-264S.

98. Gridley, G., McLaughlin, J. K., Block, G., Blot, W. J., Gluch, M., & Fraumeni, J. F. (1992). Vitamin supplement use and reduced risk of oral and pharyngeal cancer. *American journal of epidemiology*, 135(10), 1083-1092.

99. Kune, Gabriel, and Lyndsey Watson. "Colorectal cancer protective effects and the dietary micronutrients folate, methionine, vitamins B6, B12, C, E, selenium, and lycopene." *Nutrition and cancer* 56.1 (2006): 11-21.

100. Lippman, S. M., Klein, E. A., Goodman, P. J., Lucia, M. S., Thompson, I. M., Ford, L. G., & Parsons, J. K. (2009). Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Jama*, 301(1), 39-51.

- 101.Slatore, C. G., Littman, A. J., Au, D. H., Satia, J. A., & White, E. (2008). Long-term use of supplemental multivitamins, vitamin C, vitamin E, and folate does not reduce the risk of lung cancer. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 177(5), 524-530.
- 102.Dorgan, J. F., Boakye, N. A., Fears, T. R., Schleicher, R. L., Helsel, W., Anderson, C., & Tangrea, J. A. (2004). Serum carotenoids and α -tocopherol and risk of nonmelanoma skin cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13(8), 1276-1282.
- 103.McNaughton, S. A., Marks, G. C., Gaffney, P., Williams, G., & Green, A. C. (2005). Antioxidants and basal cell carcinoma of the skin: A nested case-control study. *Cancer Causes & Control*, 16(5), 609-618.
- 104.van der Pols, J. C., Heinen, M. M., Hughes, M. C., Ibiebele, T. I., Marks, G. C., & Green, A. C. (2009). Serum antioxidants and skin cancer risk: an 8-year community-based follow-up study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 18(4), 1167-1173.
- 105.Fung, T. T., Hunter, D. J., Spiegelman, D., Colditz, G. A., Speizer, F. E., & Willett, W. C. (2002). Vitamins and carotenoids intake and the risk of basal cell carcinoma of the skin in women (United States). *Cancer Causes and Control*, 13(3), 221-230.
- 106.Heinen, M. M., Hughes, M. C., Ibiebele, T. I., Marks, G. C., Green, A. C., & van der Pols, J. C. (2007). Intake of antioxidant nutrients and the risk of skin cancer. *European Journal of Cancer*, 43(18), 2707-2716.
- 107.Katta, Rajani, and Danielle Nicole Brown. "Diet and Skin Cancer: The Potential Role of Dietary Antioxidants in Nonmelanoma Skin Cancer Prevention." *Journal of skin cancer* 2015 (2015).
- 108.Niles, Richard M. "Signaling pathways in retinoid chemoprevention and treatment of cancer." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 555.1 (2004): 97-105.

109. Karas, M., Amir, H., Fishman, D., Danilenko, M., Segal, S., Nahum, A., & Sharoni, Y. (2000). Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells. *Nutrition and cancer*, 36(1), 101-111.
110. Malila, N., Virtamo, J., Virtanen, M., Pietinen, P., Albanes, D., & Teppo, L. (2002). Original Communications-Dietary and serum α -tocopherol, β -carotene and retinol, and risk for colorectal cancer in male smokers. *European journal of clinical nutrition*, 56(7), 615-621.
111. Goodman, G. E., Schaffer, S., Omenn, G. S., Chen, C., & King, I. (2003). The Association between Lung and Prostate Cancer Risk, and Serum Micronutrients Results and Lessons Learned from β -Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 12(6), 518-526.
112. De Luca, L. M., Tarone, R., Huynh, M., Jones, C. S., & Chen, L. C. (1996). Dietary retinoic acid inhibits mouse skin carcinogenesis irrespective of age at initiation.
113. Moon, T. E., Levine, N., Cartmel, B., Bangert, J. L., Rodney, S., Dong, Q., & Alberts, D. S. (1997). Effect of retinol in preventing squamous cell skin cancer in moderate-risk subjects: a randomized, double-blind, controlled trial. Southwest Skin Cancer Prevention Study Group. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 6(11), 949-956.
114. Levine, N., Moon, T. E., Cartmel, B., Bangert, J. L., Rodney, S., Dong, Q., & Alberts, D. S. (1997). Trial of retinol and isotretinoin in skin cancer prevention: a randomized, double-blind, controlled trial. Southwest Skin Cancer Prevention Study Group. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 6(11), 957-961.
115. Kune, G. A., Bannerman, S., Field, B., Watson, L. F., Cleland, H., Merenstein, D., & Vitetta, L. (1992). Diet, alcohol, smoking, serum β -carotene, and vitamin A in male nonmelanocytic skin cancer patients and controls.
116. Garland, C. F., Gorham, E. D., Mohr, S. B., Grant, W. B., Giovannucci, E. L., Lipkin, M., & Garland, F. C. (2007). Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 103(3), 708-711.

- 117.Hutchinson, M. S., Grimnes, G., Joakimsen, R. M., Figenschau, Y., & Jorde, R. (2010). Low serum 25-hydroxyvitamin D levels are associated with increased all-cause mortality risk in a general population: the Tromsø study. *European Journal of Endocrinology*, 162(5), 935-942.
- 118.Pilz, S., Dobnig, H., Winklhofer-Roob, B., Riedmüller, G., Fischer, J. E., Seelhorst, U., & März, W. (2008). Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D predict fatal cancer in patients referred to coronary angiography. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 17(5), 1228-1233.
- 119.Tangpricha, V., Spina, C., Yao, M., Chen, T. C., Wolfe, M. M., & Holick, M. F. (2005). Vitamin D deficiency enhances the growth of MC-26 colon cancer xenografts in Balb/c mice. *The Journal of nutrition*, 135(10), 2350-2354.
- 120.De Haes, P., Garmyn, M., Carmeliet, G., Degreef, H., Vantieghem, K., Bouillon, R., & Segaert, S. (2004). Molecular pathways involved in the anti-apoptotic effect of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ in primary human keratinocytes. *Journal of cellular biochemistry*, 93(5), 951-967.
- 121.Lee, Joo-heung, and Jai Il Youn. "The photoprotective effect of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ on ultraviolet light B-induced damage in keratinocyte and its mechanism of action." *Journal of dermatological science* 18.1 (1998): 11-18.
- 122.Caini, S., Boniol, M., Tosti, G., Magi, S., Medri, M., Stanganelli, I., ... & Gandini, S. (2014). Vitamin D and melanoma and non-melanoma skin cancer risk and prognosis: A comprehensive review and meta-analysis. *European journal of cancer*, 50(15), 2649-2658.
- 123.Tang, J. Y., Parimi, N., Wu, A., Boscardin, W. J., Shikany, J. M., Chren, M. M., & Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Group. (2010). Inverse association between serum 25 (OH) vitamin D levels and non-melanoma skin cancer in elderly men. *Cancer Causes & Control*, 21(3), 387-391.
- 124.Bikle, Daniel D. "Protective actions of vitamin D in UVB induced skin cancer." *Photochemical & Photobiological Sciences* 11.12 (2012): 1808-1816.

7. ÖZGEÇMİŞ

Ad – Soyadı: Gönül TEKİN

Doğum Yeri ve Yılı: Erzurum – 1980

Medeni Durumu: Evli

Yabancı Dil: İngilizce

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Kurum	Yıl
Lise	Lise	Erzurum Anadolu Lisesi	2000
Lisans	Tıp Fakültesi	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	2007
Tıpta Uzmanlık	Tıbbi Biyokimya	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	2010 -

Görevler:











Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Pratisyen Hekim	Van – Edremit Merkez Sağlık Ocağı, Van Yüksek İhtisas Hastanesi	2007-2010
Arş.Gör.Dr.	Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi- Tıbbi Biyokimya Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi- Tıbbi Biyokimya	2010-2012 2012-

8. EKLER


*KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Non - Melanom Cilt Kanserlerinde Oksidatif DNA Hasarı ve Bazı Vitamin Düzeylerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	Yok
KARAR BİLGİLERİ	<p>Karar No:11 Tarih: 08.10.2015</p> <p>Yrd.Doç.Dr. C. Hamit Hakan ALP sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, sorumlu araştırmacının hekim veya diş hekimi olmadığı durumlarda çalışmanın niteliğine, risk-yarar oranına göre ekibe hekim veya diş hekimi dâhil edilerek, söz konusu çalışmanız uygun bulunmuş olup araştırmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.</p>

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULU ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Oğuz TUNCER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof.Dr. Oğuz TUNCER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Şükran SEVİMLİ	Tıp Tarihi ve Etik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Sıddık KESKİN	İstatistik Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Hasan Ali GUMRUKÇUOĞLU	Kardiyoloji	Özel Van Lokman Hekim Hastanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç.Dr. İlhan GEÇTİ	Üroloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Murat DOĞAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Fatih GARÇA	KBB	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Hüseyin BEĞENİK	Dahiliye	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Bülal ÇİĞİN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Numan ÇİM	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ramazan ÜSTÜN	Fizyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ersoy ÖKSÜZ	Farmakoloji Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fatma PEKLER	Hukuk	Van Güvenlik Meslek Yüksek Okulu	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Çiğdem ÖNER	Üniversite Mezunu	-	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr. Oğuz TUNCER
İmza: 

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.