

## ARAŞTIRMA

# Pineal benzin ultraviyole B'nin deri üzerine oluşturduğu olumsuz etkileri önlemedeki etkinliği: deneysel çalışma

Özgür Demir<sup>1</sup>, Erol Öksüz<sup>1</sup>, Fatih Ersay Deniz<sup>1</sup>, Hüseyin Aslan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Kliniği Tokat

<sup>2</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Kliniği Tokat

### Özet

**Amaç:** Bu deneysel çalışmada, pineal bezden salgılanan melatonin, ultraviyole B (uvb) ışınına maruz kalan sıçanlarda koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada yetmiş beş tane Wistar sıçan beş gruba ayrılmıştır. A grubunda ki sıçanlara pinealektomi yapıp uvb uygulanmıştır. B grubunda ki sıçanlara sadece pinealektomi yapılmıştır, C grubunda sham operasyonu yapılan sıçanlara uvb uygulanmıştır. E grubunda ki sıçanlara sadece uvb uygulanmıştır, K grubunda ki sıçanlar ise kontrol grubunu oluşturmaktadırlar. Altı aylık ışımaya ile takip sürecinden sonra sıçanlardan alınan deri örnekleri histolojik olarak incelendi.

**Bulgular:** Pinealektomi ve uvb ışınması yapılan sıçanlarda deri örnekleri de dahil olmak üzere histoloji incelemelerinde; displazik değişiklikler saptanmadı. Çalışma esnasında gözlemsel olarak gruplar arası cilt görünümünde farklılık olduğu tespit edilmiş olsa da, histolojik olarak hücre düzeyinde fark tespit edilmemiştir.

**Sonuç:** Melatonin hormonunun ultraviyole ışınlarının olumsuz etkilerini birçok yolla azaltmaktadır. Melatonin 1970 yılların başına kadar sadece pineal bezden salgılanan bir hormon olarak bilinirken, artık pineal bez dışında da sentezlenebildiği gösterilmiştir. Melatonin hormonunun sentezlendiği yerlerden birisi de deride kesikanonisitlerdir. Bu deneysel çalışmada, pinealektomi yapılan sıçanların yüksek doz uvb ışınına maruz kalmasına rağmen deri örneklerinde displazik değişiklikler görülmemesi deriden üretilen melatoninin uvb ışınlarına karşı deriyi koruduğunu desteklemektedir.

**Anahtar kelimeler:** Pineal Bez, Ultraviyole B, melatonin

### The protective effect of pineal gland on ultraviolet B induced negative effects on skin: experimental study

### Abstract

**Aim:** This study aimed to investigate the protective effect of melatonin secreted by pineal gland on UVB induced skin cancer.

**Material and Methods:** Seventyfive Wistar rats were randomly allocated into five groups. Fifteen rats were used in each group. In group A; there were rats with pinealectomy and uvb radiation. In group B; there were rats only with pinealectomy. In group C; there were rats with sham opesicanion and uvb radiation. In group E;

### Yazışma Adresi:

Dr. Özgür Demir  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Nöroşirürji Kliniği, Tokat, Türkiye  
Faks: 0-356-2129738  
Tel: 0-532-5677722 / 0-356-2129500  
E mail: cerendemir40@gmail.com

there were sıçans only with uvb radiation. Finally group K was control group. After six months of radiation and follow-up, skin samples were obtained from sıçans.

**Results:** Histological investigation of the samples obtain from the groups did not have any difference including diplasia formation. Even in the group with pinealectomy no dysplasia observed from the samples of skin. During the study some changes were determined in external view of skin of sıçans from different groups. But histologically no changes were dtermined.

**Conclusion:** The pathological effects of ultra-violet rays on skin are well known by a lot of clinic studies. Melatonin minimizes the negative effects of ultraviolet. Melatonin is no longer considered exclusively a pineal hormone after the beginig of 1970, but a bioactive substance with extrapineal sites of synthesis. Kesiçanınocyte is one of the cells where melatonin is produced. This study showed that the extrapineal secretion of melatonin and other protective mechanisms are enough to protect skin against uvb induced skin cancer.

**Key words:** Pineal Gland, Ultraviolet B, melatonin

Ultraviyole ışınlarının deri kanseri gelişimine etkisi olduğu bilinmektedir. Yapılan meta analiz çalışmalarında ultraviyole B (UVB) ışınlarına yoğun olarak maruz kalan insanlarda deri kanseri gelişimi riskinin normal topluma oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. UVB, DNA'nın tek veya çift kolunda kırılmaya neden olmaktadır. DNA hasarı apoptosis ile direk hücre ölümlerine veya mutasyonun indüklenmesi ile DNA sentezinde inhibisyona neden olmaktadır. UVB radyasyonunun, enflamasyon ve kanser progresyonunda önemli enzimlerin invitro regülasyonu üzerinde etkisi olduğu rapor edilmiştir (1).

Pineal bezden salgılanan melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine; MW = 232) hormonunun antioksidan, tümör gelişimini baskılayıcı ve savunma sisteminde düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışma melotoninin çok etkili bir serbest radikal avcısı olduğunu göstermiştir. Melatonin ayrıca peroksidasyon sırasında oluşan peroksitin de elemine edilmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu durum göstermiştir ki; lipofilik ve hidrofilik olan melatonin, hücre düzeyinde etkili olduğu gibi subselüler kompartmanlarda da etkilidir (2).

Artık melatonin sadece bir pineal hormon olarak düşünülmemektedir (REF?). Ayrıca pineal bez dışında da sentezlenen bioaktif bir maddedir. Ayrıca melatonin, reseptör bağımsız otokrin ve

parakrin antioksidan, immünomodülatör, serbest radikal avcısı, yaşlanma engelleyicisi ve antikarsinojen olarak rol alabilmektedir (2,3,4,5,6). Pineal bez dışında melatoninin kesiçanonisitler içinde sentez edildiği gösterilmiştir (7).

Bu çalışma ile; pineal bezin, UVB ışınları ile deride gelişen patolojik değişiklikler üzerine etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

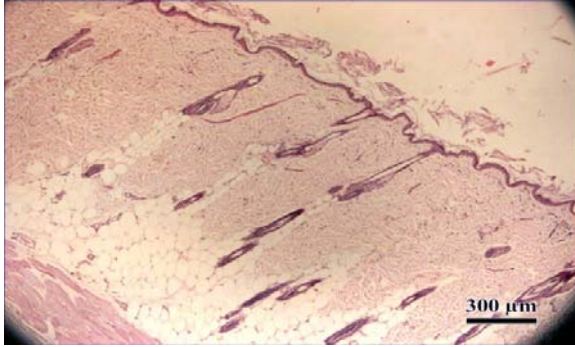
Bu çalışma Yerel Etik Kurulun onay alındıktan sonra Wistar sıçanlar üzerinde yapılmıştır. Beş grup oluşturulmuştur. Her grupta 15 sıçan kullanılmıştır. A grubu; pinealektomi yapılan ve uvb uygulanan sıçanlardan, B grubu; sadece pinealektomi yapılan sıçanlardan, C grubu; sham operasyonu yapılan ve uvb uygulanan sıçanlardan, E grubu, sadece uvb uygulanan sıçanlardan oluşmaktadır. K grubu ise kontrol grubudur.

Pinealektomi için, sıçanlar, kloralhidrat ile 30 mg/kg intraperitoneal uygulanarak uyutulmuş ve sıçanların kafa cildi traş edilmiştir, antisepsi betadin ile sağlandıktan sonra orta hat insizyonu ile sagittal ve transvers sütür ortaya konuldu. Dental drill kullanılarak sağ taraf transvers ve sagittal sinüs birleşim alanında yaklaşık 4\*6 mm kraniektomi yapıldı. Dura 11 nolu bistüri ile açıldı. İris forcepsi ile dura açıldı, alttaki hemisfer retrakte edilirken, bir diğer iris forsepsi ile confluens sinüs altından pineal gland eksize edildi. Kanama surgicell ile tamponize edildi. Cilt primer olark ipek sütür ile dikildi. Alınan doku örneklerinin pinel bez olduğu histolojik olarak doğrulanmıştır. UVB ışınması, laboratuarda fototerapi ünitesi ile yapılmıştır, UVB ışınmasına 0.2 Joule/cm<sup>2</sup> olarak başlanmıştır, haftada 2 gün ışıma yapılmış, her seansta %20 artış ile 2 Joule/cm<sup>2</sup> dozuna kadar çıkılmıştır. Bu doza 15 dakikalık başlangıç seansları on kata kadar uzatılarak ulaşılmıştır. Sıçanlara 6 ay boyunca ışıma yapılmıştır. Çalışma sonunda sıçanlara yüksek doz (60 mg/kg) kloralhidrat ile uyutularak deri örnekleri alınmıştır. Deri örnekleri %10 formalin solüsyonu ile fiske edildikten sonra Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra 5-25 mikronluk kesitler ile histopatolojik incelemiştir.

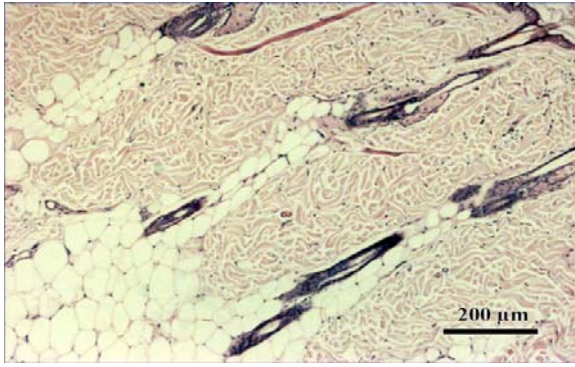
## Bulgular

Histoloji incelemelerinde; incelenen deri örneklerinin hiçbirinde displazik değişiklikler saptanmadı (Figür 1-15). Çalışma esnasında makroskopik cilt muayenesinde gruplar arası cilt görünümünde eritamatöz farklılıklar olduğu tespit edilmiş olsa da, histolojik olarak fark tespit

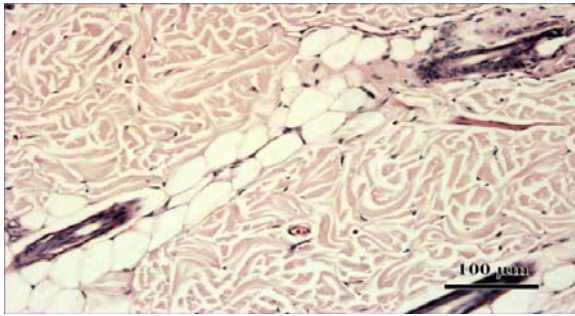
edilmemiştir. İncelemelerimizde hücre düzeyinde patoloji saptanmadı.



**Figür 1.** A deri X 5 Hematoksilen-Eozin



**Figür 2.** A deri X 10 Hematoksilen-Eozin

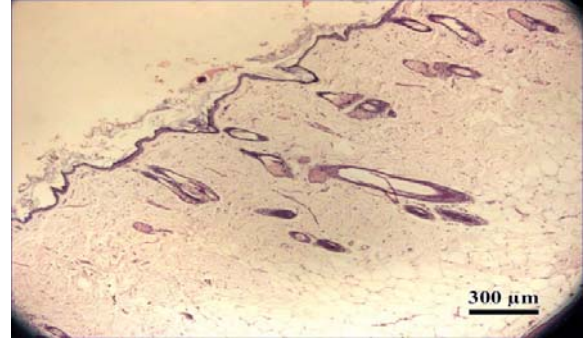


**Figür 3.** A deri X 20 Hematoksilen-Eozin

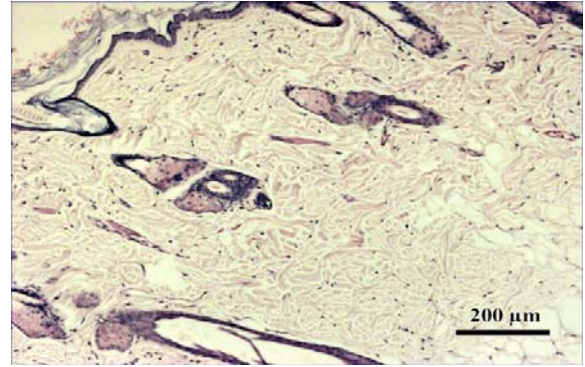
## Tartışma

Melatonin primer olarak pineal bezden salgılanan bir hormondur. Birçok çalışma melatoninin anti-oksidan özelliklerinin olduğunu göstermiştir. Deri ve göz UV ışınlarına çok daha hasastır. UVB radyasyonu en tehlikelidir ve reaktif oksijen radikallerinin açığa çıkmasına ve hücrede apoptotik değişiklikler olmasına neden olur. Melatonin, cilt ve gözde UVB'nin yarattığı oksidatif stres ile savaşmak için üretilmektedir. Sadece intraselüler melatoninin koruyucu etkisi

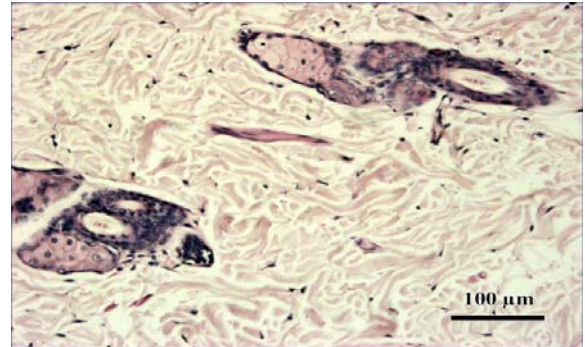
vardır. UVB'nin kanser gelişimine neden olabilmesi için DNA zincirini etkileyebilmesi gerekmektedir (7).



**Figür 4.** B deri X 5 Hematoksilen-Eozin

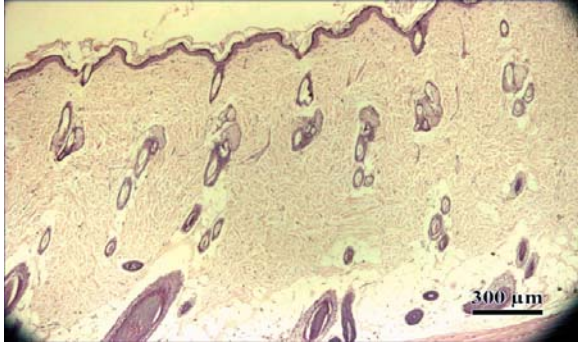


**Figür 5.** B deri X 10 Hematoksilen-Eozin

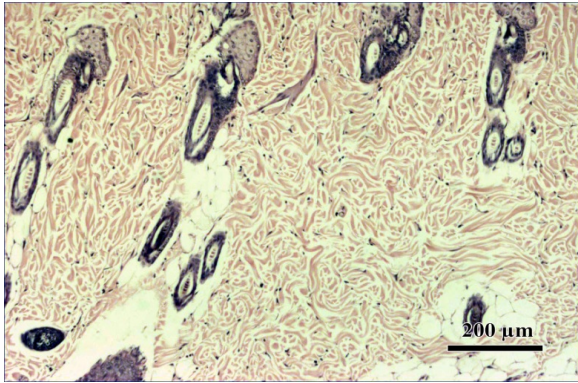


**Figür 6.** B deri X 20 Hematoksilen-Eozin

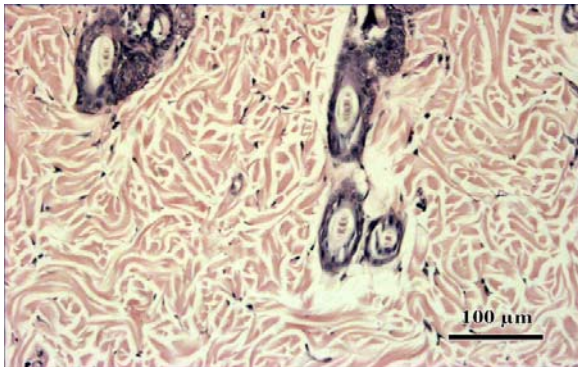
Man ve arkadaşları darband UVB fototerapisinin deri kanseri gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. UVB terapisi uygulanmış olan 1908 hastanın uzun dönem takiplerinde, derinin bazal hücreli karsinomu gelişimi riskinin normal topluma oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğunu tespit etmişlerdir (8).



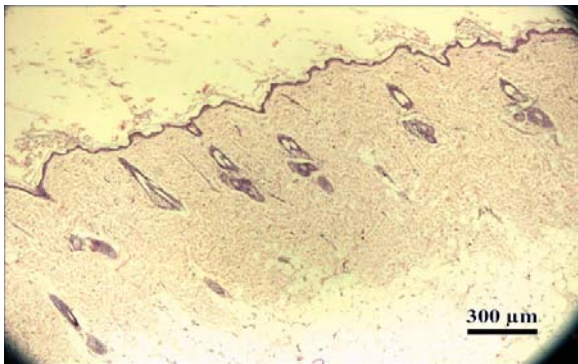
**Figür 7.** C deri X 5 Hematoksilen-Eozin



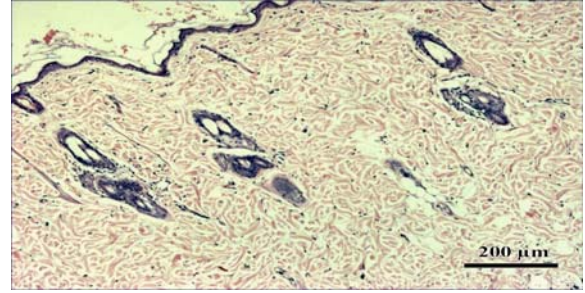
**Figür 8.** C deri X 10 Hematoksilen-Eozin



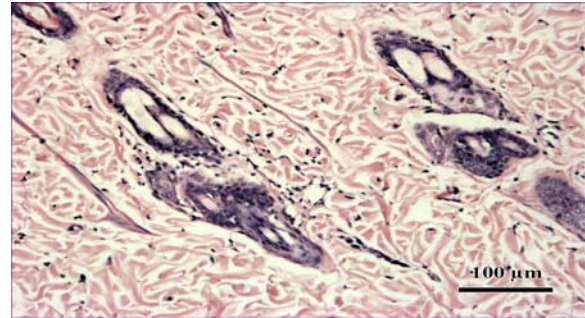
**Figür 9.** C deri X 20 Hematoksilen-Eozin



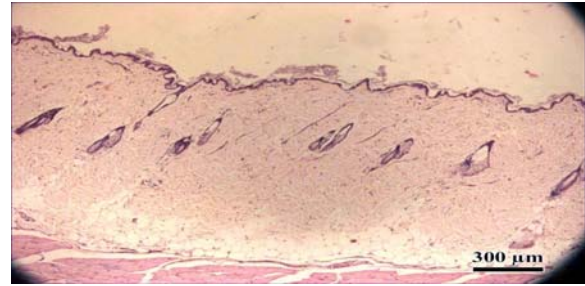
**Figür 10.** E deri X 5 Hematoksilen-Eozin



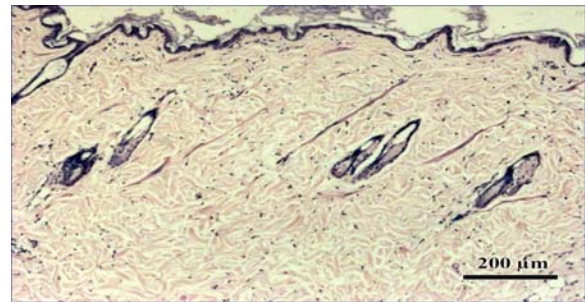
**Figür 11.** E deri X 10 Hematoksilen-Eozin



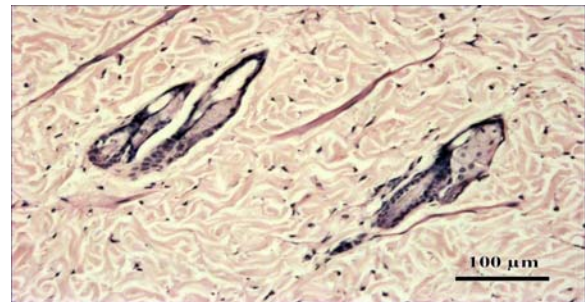
**Figür 12.** E deri X 20 Hematoksilen-Eozin



**Figür 13.** K deri X 5 Hematoksilen-Eozin



**Figür 14.** K deri X 10 Hematoksilen-Eozin



**Figür 15.** K deri X 20 Hematoksilen-Eozin

Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada melatoninin sıçanlarda mutasyon ve hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir (9). Kumar ve arkadaşları sıçanlarda iki basamaklı deri tümörü oluşturma modeli kullanarak yaptıkları çalışmada, melatonin uygulanmasının tümör gelişimini azalttığını tespit etmişlerdir (10). Eşrefoğlu ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile pinealektomi yapılan sıçanlarda melatonin verilen ve verilmeyen grupların karşılaştırılması sonrası, melatoninin ciltte lipid peroksidasyonunu azalttığını, sonucunda da derideki yaşlanmaya bağlı etkilerin melatonin ile azaldığını belirlemişlerdir (11). Fischer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada melatonin metabolizmasını serbest hücre sistemi içinde in-vitro olarak göstermişler ve melatoninin keratinositler içinde çevreden bağımsız melatonin üretimini tespit etmişlerdir (7).

Bu çalışma ile pineal bezin, UVB ışınları ile gelişen deri tümörünü baskılayıcı etkisinin olup olmadığını belirleyebilmek amaçlanmıştır. Bütün bu çalışmalar ve bilgilere rağmen bizim çalışmamızda uzun süre ve yüksek dozda sıçanlara UVB ışınması yapılmış olmasına rağmen grupların hiçbirinde hücre düzeyinde displazik dönüşüm izlenmemiştir. Pinealektomi yapılmamış sıçanlarda melatonin koruyuculuğu devam ederken, pinealektomi yapılmış sıçanlarda pineal bezden salgılanan melatonin koruyuculuğundan yoksun olduğu halde sıçanlara ait deri örneklerinde herhangi bir kansere dönüşümü izlenmedi. Bunun nedeni çevreden bağımsız, sekonder etkilenimden uzak, hücre içi üretilen melatonin dahil diğer birçok koruyucu mekanizmalar olabilir. Bu mekanizmaların gösterilmesi daha ileri çalışmalarla mümkün olabilecektir.

## Kaynaklar

1. Kulms D, Zeise E, Pöppelmann B, Schwartz T. DNA damage, death receptor activation and

reactive oxygen species contribute to ultraviolet radiation-induced apoptosis in an essential and independent way. *Oncogene* 2002; 21(38): 5844-5851.

2. Arendt J. Melatonin. *Clin. Endocrinol.* 1988; 29(1): 205-229.
3. Lerner A. B, Case J. D, Takahashi Y. Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soc.* 1958; 80(1): 2580-2587
4. Bubenik G. A. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Dig. Dis. Sci.* 2002; 47(10): 2336-2348.
5. Cahill G. M, Besharse J. C. Light-sensitive melatonin synthesis by *Xenopus* photoreceptors after destruction of the inner retina. *Vis. Neurosci.* 1992; 8(5):487-490.
6. Tan D. X, Manchester L. C, Reiter R. J, Qi. W. B. Zhang M, Weintraub S. T, Cabrera J, Sainz R. M, Mayo J. C. Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1472(1-2): 206-214.
7. Fischer TW, Sweatman TW, Semak I, Sayre RM, Wortsman J, Slominski AA. Constitutive and UV-induced metabolism of melatonin in kesicaninocytes and cell-free systems. *FASEB J.* 2006; 20(9): 1564-1566.
8. Man I, Crombie IK, Dawe RS, Ibbotson SH, Ferguson J. The photocarcinogenic risk of narrowband UVB (TL-01) phototherapy early follow-up data. *Br J Dermatol* 2005; 152(4): 755-757.
9. Li W, Hill HZ. Induced melanin reduces mutations and cell killing in mouse melanoma. *Photochem Photobiol* 1997; 65(3): 480-485.
10. Kumar CA, Das UN. Effect of melatonin on two stage skin carcinogenesis in Swiss mice. *Med Sci Monit.* 2000; 6(3): 471-475.
11. Eşrefoğlu M, Seyhan M, Gül M, Parlakpınar H, Batçioğlu K, Uyumlu B. Potent therapeutic effect of melatonin on aging skin in pinealectomized sıçans. *J Pineal Res.* 2005; 39(3): 231-237.