

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***ORIGANUM HYPERICIFOLIUM*'UN DERİ'DE ULTRAVİYOLE  
RADYASYONU HASARLARI ÜZERİNDEKİ SİTOLOJİK VE  
HİSTOKİMYASAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Pınar İLİ**

**Anabilim Dalı : Biyoloji**

**Programı : Doktora**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Nazan KESKİN**

**HAZİRAN, 2012**

## DOKTORA TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 071741001 nolu öğrencisi **Pınar İLİ** tarafından hazırlanan "**ORIGANUM HYPERICIFOLIUM'UN DERİ'DE ULTRAVİOLE RADYASYONU HASARLARI ÜZERİNDEKİ SİTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı :** Yrd. Doç. Dr. Nazan KESKİN (PAÜ)

(Jüri Başkanı)

**Jüri Üyesi :** Prof. Dr. Recep KUTLUBAY (PAÜ)

**Jüri Üyesi :** Prof. Dr. Ali ÇELİK (PAÜ)

**Jüri Üyesi :** Prof. Dr. Ramazan MANIMADOV (PAÜ)

**Jüri Üyesi :** Doç. Dr. Erdal BALCAN (CBÜ)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
.../.../2022... tarih ve .../.../2022... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

**Prof. Dr. Nuri KOLSUZ**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza



Öğrenci Adı Soyadı : Pınar İLİ

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada, endemik bir tür olan *Origanum hypericifolium* esansiyel yağının deride ultraviyole (UV) radyasyonu hasarları üzerindeki etkileri ışık mikroskopik ve stereolojik yöntemlerle araştırılmıştır. Çalışmanın bulguları sonucunda, bitkisel bileşenlerin bilimsel araştırmalara dayanılarak kullanımının gerektiği bir kez daha ortaya çıkmıştır.

Çalışma konumun belirlenmesinde, tez aşamasının her safhasında değerli ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübe ve eşsiz bilgileriyle her zaman bana destek olan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Nazan KESKİN'e,

Tez İzleme Komitesi toplantılarında bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Recep KUTLUBAY ve Prof. Dr. Ali ÇELİK'e,

Sonsuz sabır ve sevgileriyle, maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan, sevgili eşim Sefa İLİ'ye ve biricik oğlum Salih Mert İLİ'ye,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve hep yanımda olan, çok sevdiğim, sevgili annem ve babam Emine ve Ekrem POLAT'a, kerdeşlerim Levent POLAT ve Hümeyra ERZİ'ye,

Ayrıca tezin yapılmasında 2009FBE021 kodlu proje ile maddi destek sağlayan Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Haziran, 2012

Pınar İLİ

Uzman

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>xi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Genel Bilgi .....	2
1.1.1 Botanik ajanlar .....	2
1.1.1.1 Bitki sekonder metabolitleri .....	3
1.1.1.2 <i>Origanum hypericifolium</i> .....	6
1.1.2 Ultraviyole (UV) .....	8
1.1.3 Deri, yapısı ve fonksiyonu .....	10
1.1.3.1 Deri anatomisi .....	11
1.1.3.2 Kan ve lenf damarları .....	20
1.1.3.3 Sinirler .....	21
1.1.3.4 Duyu reseptörleri .....	21
1.1.3.5 Deri eklerinin yapısı .....	22
1.1.3.6 Derinin görevleri .....	27
1.1.4 Mast hücreleri.....	29
1.1.5 Kollajen ve elastik fibriller .....	30
1.1.6 Bazal lamina ve hücreler arası bağlantılar .....	33
1.1.6.1 Laminin .....	34
1.1.7 Galektinler.....	36
1.1.7.1 Galektin-3 .....	39
1.1.8 Glikokonjugatlar .....	40
1.1.9 Lektinler .....	44
1.1.10 Programlanmış hücre ölümü-Apoptozis .....	47
1.2 Amaç .....	49
1.3 Literatür Özeti .....	50
1.3.1 Botanik ajanlar .....	50
1.3.2 <i>Origanum</i> .....	53
1.3.3 UV'nin etkileri .....	54
1.3.4 Deri kalınlaşması.....	56
1.3.5 Mast hücreleri.....	56
1.3.6 Deri yüzey ve sebace bezi lipitleri .....	59
1.3.7 Kollajen ve elastik fibriller .....	60
1.3.8 Laminin .....	61
1.3.9 Galektin-3.....	62
1.3.10 Glikokonjugatlar .....	64
1.3.11 Lektinler .....	65

1.3.12	Apoptozis .....	67
1.4	Hipotez .....	68
<b>2.</b>	<b>MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>69</b>
2.1	Bitkilerin Toplanması, Ekstraksiyonu ve Yağ Eldesi .....	69
2.2	Hayvanlar .....	70
2.3	UVB Uygulama .....	71
2.4	Doku Örneklerinin Alınması ve Preparatların Hazırlanması .....	72
2.5	Histokimya Yöntemleri .....	72
2.6	İmmünohistokimya Yöntemleri .....	73
2.6.1	Laminin immünohistokimya .....	73
2.6.2	Galektin-3 immünohistokimya .....	73
2.7	Lektin Histokimya .....	73
2.8	TUNEL Yöntemi .....	74
2.9	Epidermal Kalınlık Ölçümü, Mast Hücre Sayımları, TUNEL Pozitif Hücre Sayımları .....	75
2.10	İstatistiksel Analizler .....	76
<b>3.</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>77</b>
3.1	Uçucu Yağ İçeriği .....	77
3.2	Genel Histolojik Bulgular .....	77
3.3	İstatistiksel Bulgular .....	82
3.3.1	Epidermal kalınlık ölçümlerinin istatistik bulguları .....	82
3.3.2	Mast hücre sayımlarının istatistik bulguları .....	85
3.4	Histokimya Bulguları .....	86
3.4.1	Toluidin mavisi bulguları .....	86
3.4.2	Oil red O bulguları .....	90
3.4.3	PTAH bulguları .....	94
3.4.4	Orsein bulguları .....	98
3.5	İmmünohistokimya Bulguları .....	101
3.5.1	Laminin immünohistokimya bulguları .....	101
3.5.2	Galektin-3 immünohistokimya bulguları .....	104
3.6	Lektin Histokimya Bulguları .....	111
3.7	TUNEL Bulguları .....	113
3.7.1	TUNEL-pozitif hücre sayımının istatistik bulguları .....	118
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>120</b>
4.1	UVB ve Uçucu Yağ İçeriği .....	120
4.2	Epidermal Kalınlık .....	121
4.3	Mast Hücreleri .....	123
4.4	Oil Red O .....	125
4.5	Kollajen ve Elastik Fibriller .....	127
4.6	Laminin .....	129
4.7	Galektin-3 .....	131
4.8	Glikokonjugatlar .....	133
4.9	TUNEL-Apoptozis .....	137
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>142</b>
	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>144</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>175</b>

## KISALTMALAR

<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen&Eozin
<b>PTAH</b>	: Fosfotungstik asit hematoksilen
<b>TB</b>	: Toluidin mavisi
<b>TUNEL</b>	: TdT-mediated dUTP nick end labeling
<b>DNA</b>	: Deoksiribonukleik asit
<b>RNA</b>	: Ribonukleik asit
<b>mRNA</b>	: Messenger RNA
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>IR</b>	: İnfrared radyasyonu
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>ALS</b>	: Amyotrofik lateral skleroz
<b>BCC</b>	: Bazal hücreli karsinom
<b>MMP</b>	: Matriks metalloproteinaz
<b>GC-MS</b>	: Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi
<b>OCT</b>	: Optimum cutting temperature medium
<b>TBS</b>	: Tris buffered saline
<b>PBS</b>	: Phosphate buffered saline
<b>BSA</b>	: Bovine serum albumin
<b>NMF</b>	: Doğal nemlendirme faktörü
<b>SPF</b>	: Sun protection factor
<b>ECM</b>	: Ekstra sellüler matriks
<b>CRD</b>	: Karbohidrat tanıma bölgesi
<b>IgE</b>	: İmmüoglobulin E
<b>GNA</b>	: <i>Galanthus nivalis</i> agglutinin
<b>DSA</b>	: <i>Datura stramonium</i> agglutinin
<b>MAL</b>	: <i>Maackia amurensis</i> leukoagglutinin

## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

1.1 : Yüksek yapılı bitkilerde bilindiği rapor edilen sekonder metabolitlerin sayısı .....	5
1.2 : Kullanılan lektinlerin reaksiyon spesifitesi. ....	50
3.1 : <i>O. hypericifolium</i> esansiyel yağının kimyasal içeriği.....	77
3.2 : Gruplara ait epidermal kalınlık ortalamaları ve standart sapma değerleri..	84
3.3: Grupların mast hücre sayıları .....	85
3.4: Tüm grupların GNA, DSA ve MAL reaksiyon yoğunlukları.....	113
3.5 : Grupların TUNEL-pozitif hücre sayıları .....	119



## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

1.1 : <i>O. hypericifolium</i> . a: Doğadaki görüntüsü, b: Çiçekleri.....	7
1.2 : UV spektrumu.....	8
1.3 : UV'nin deri içine penetrasyonu.....	9
1.4 : Derinin yapısı .....	10
1.5 : Derinin genel histolojisi.....	11
1.6 : Epidermisin yapısı .....	12
1.7 : Derinin tabakaları ve hücreleri .....	14
1.8 : Epidermis hücreleri.....	15
1.9 : Stratum spinosum tabakasında hücreler arası köprüler .....	16
1.10 : Langerhans hücrelerinin gelişimi .....	17
1.11 : Bazal membran .....	19
1.12 : Derideki duyu reseptörleri .....	21
1.13 : Kıl enine kesiti.....	23
1.14 : Kıl folikülü .....	24
1.15 : Sebace bezi yapısı.....	26
1.16 : Kollajen molekülünün yapısı.....	31
1.17 : Kollajen lifçiği oluşumunda hücre içi ve dışı yolaklar .....	32
1.18 : Elastin molekülleri ağının gerilmesi.....	33
1.19 : Laminin yapısı .....	35
1.20 : Bazal laminanın moleküler yapısı.....	36
1.21 : İnsanlardaki farklı tip galektinler.....	38
1.22 : Galektin-3'ün yapısı .....	40
1.23 : Hücre tanımada karbohidratlar .....	41
1.24 : Glikanların proteinelere bağlanma örnekleri.....	42
1.25 : Sialik asitlerin yapısı.....	43
1.26 : Bitkisel lektinlerin bazı kullanım amaçları.....	45
1.27 : Hücrel apoptozis.....	48
2.1 : Clevenger aparatı (a) ve Clevenger aparatı tüpünde <i>O. hypericifolium</i> esansiyel yağı (b) .....	69
2.2 : Sırtı tıraşlanmış fareler .....	71
2.3 : Lektin kit çalışma prensibi.....	74
2.4 : Roche In Situ Cell Death Detection Kit, POD çalışma prensibi .....	75
3.1 : Tüm gruplara ait deri kesitleri.....	78
3.2 : Dorsal deri.....	79
3.3 : Epidermis ve üst dermis.....	80
3.4 : Hipodermiste kıl folikülü.....	81
3.5 : Kıl folikülleri ve çevreleyen yapılar.....	82
3.6 : Gruplarda epidermal kalınlıklar.....	83

3.7 : UVB'ye maruz kalmış fare derisinde kontrol ile karşılaştırıldığında epidermal kalınlık- <i>O. hypericifolium</i> esansiyel yağı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.....	84
3.8 : Dermiste erguvan renkte metakromazi gösteren mast hücreleri.....	85
3.9 : Mast hücre sayılarının ortalamalarını gösteren grafik.....	86
3.10 : Grup 1'de toluidin mavisi ile boyanmış kesitler.....	87
3.11 : Grup 2'de toluidin mavisi ile boyanmış kesitler.....	87
3.12 : Grup 3'de toluidin mavisi ile boyanmış kesitler.....	88
3.13 : Grup 4'te toluidin mavisi ile boyanmış kesitler.....	88
3.14 : Tüm grupların mast hücre bulguları.....	89
3.15 : Grup 1'de Oil Red O ile boyanmış kesitler.....	90
3.16 : Grup 2'de Oil Red O ile boyanmış kesitler.....	91
3.17 : Grup 3'de Oil Red O ile boyanmış kesitler.....	91
3.18 : Grup 4'te Oil Red O ile boyanmış kesitler.....	92
3.19 : Tüm grupların deri yüzey ve sebace bezi lipitleri bulguları.....	93
3.20 : Grup 1'de PTAH ile boyanmış kesitler.....	94
3.21 : Grup 2'de PTAH ile boyanmış kesitler.....	95
3.22 : Grup 3'de PTAH ile boyanmış kesitler.....	95
3.23 : Grup 4'te PTAH ile boyanmış kesitler.....	96
3.24 : Tüm grupların kollajen fibriller bulguları.....	97
3.25 : Grup 1'de orcein ile boyanmış kesitler.....	98
3.26 : Grup 2'de orcein ile boyanmış kesitler.....	98
3.27 : Grup 3'de orcein ile boyanmış kesitler.....	99
3.28 : Grup 4'te orcein ile boyanmış kesitler.....	99
3.29 : Tüm grupların elastik fibriller bulguları.....	100
3.30 : Grup 1'de laminin reaksiyonu.....	102
3.31 : Grup 2'de laminin reaksiyonu.....	102
3.32 : Grup 3'de laminin reaksiyonu.....	103
3.33 : Grup 4'te laminin reaksiyonu.....	103
3.34 : Tüm grupların laminin reaksiyonu.....	104
3.35 : Grup 1'de galektin-3 reaksiyonu.....	106
3.36 : Grup 1'de galektin-3 reaksiyonu.....	106
3.37 : Grup 2'de galektin-3 reaksiyonu.....	107
3.38 : Grup 2'de galektin-3 reaksiyonu.....	107
3.39 : Grup 3'de galektin-3 reaksiyonu.....	108
3.40 : Grup 3'de galektin-3 reaksiyonu.....	108
3.41 : Grup 4'te galektin-3 reaksiyonu.....	109
3.42 : Grup 4'te galektin-3 reaksiyonu.....	109
3.43 : Tüm grupların galektin-3 reaksiyonu.....	110
3.44 : Tüm grupların GNA, DSA ve MAL reaksiyonları.....	112
3.45 : Grup 1'de TUNEL reaksiyonu.....	115
3.46 : Grup 2'de TUNEL reaksiyonu.....	115
3.47 : Grup 3'de TUNEL reaksiyonu.....	116
3.48 : Grup 4'te TUNEL reaksiyonu.....	116
3.49 : Grup 4'te TUNEL reaksiyonu.....	117
3.50 : Tüm gruplara ait TUNEL bulguları.....	118
3.51 : <i>O. hypericifolium</i> esansiyel yağının UVB uygulanmış fare derisindeki DNA fragmentasyonu üzerine etkisinin TUNEL yöntemi ile gösterilmesi.....	119

## SEMBOL LİSTESİ

$\mu\text{m}$	Mikro metre
m	Metre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
$\text{m}^2$	Metrekare
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece
$\text{mJ}/\text{cm}^2$	Milijul/santimetrekare
%	Yüzde
dk	Dakika
sn	Saniye
pH	Power of hydrogen
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
nm	Nanometre
mg/kg	Miligram/kilogram
ml/min	Mililitre/dakika
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
eV	Elektron volt
$\mu\text{g}$	Mikrogram
gr	Gram
$\text{kJ}\cdot\text{m}^2$	Kilojul.metrekare

## ÖZET

### **ORIGANUM HYPERICIFOLIUM'UN DERİ'DE ULTRAVİYOLE RADYASYONU HASARLARI ÜZERİNDEKİ SİTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

*Origanum hypericifolium*, Sandras Dağı'nda (Beyağaç, Denizli, Türkiye) yetişen ve Lamiaceae familyasına ait olan endemik bir bitkidir. Bitkinin esansiyel yağı başlıca simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen gibi monoterpenleri içerir. Monoterpenler, antifungal, antibakteriyel, antioksidan, antikanser, antispazmodik, hipotansif ve vazorelaksan etkilere sahiptir. Güneşin ultraviyole (UV) ışınları, özellikle UVB (280-320 nm), deride eritem, ödem, hiperplazi, hiperpigmentasyon, güneş yanığı hücrelerinin oluşumu, immün baskılanma ve tümörögenezise neden olur. UV radyasyonuna kronik olarak maruziyet deride, kollajen sentezinde azalma, kollajen demetlerinde dejeneratif değişiklikler, elastotik materyal birikimi gibi ekstrasellüler matriks değişimlerine neden olur. Bu değişimler, deri kalınlığında artış, deri elastikiyetinde azalma ve kırışık oluşumuyla karakterize olan fotoyaşlanmaya yol açar. UV radyasyonu, deride mast hücrelerinin sayılarında artışa, stratum korneum ve sebace bezleri lipitlerinde artışa, lipitlerin peroksidasyonuna ve sebace bez hiperplazisine neden olur. Ayrıca, UV'ye maruz kalan hücrelerde laminin sekresyonunun arttığı ve keratinositlerde galektin-3 mRNA'sının sentezinin geçici olarak uyarıldığı bilinmektedir. Bununla birlikte, UV radyasyonu ile indüklenen DNA hasarlarının, farklılaşma, proliferasyon ve apoptoziste de değişikliklere yol açabileceği bildirilmiştir. Son zamanlarda, birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışma ile, UV'ye maruz kalmış deride botanik ajanların etkisi araştırılmaktadır.

Bu çalışmada, endemik bir tür olan *O. hypericifolium* esansiyel yağının deride UV radyasyonu hasarları üzerindeki etkileri, ışık mikroskopik ve stereolojik yöntemlerle araştırılmıştır. Bitkiden su distilasyonu yoluyla esansiyel yağ elde edilmiş ve içeriği, gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) kullanılarak tayin edilmiştir. Dorsal derileri tıraşlanmış Balb/c ırkı dişi farelerden 4 grup oluşturulmuştur (Grup 1: kontrol, Grup 2: UVB uygulanan, Grup 3: yağ uygulanan, Grup 4: UVB ve yağ uygulanan). UVB uygulanmadan önce, bir hafta süresince bir gün arayla dorsal derileri tıraşlanan farelere seyreltilmemiş yağ uygulanmaya başlanmıştır. Daha sonra, 4 hafta süresince haftada 3 kez artan dozlarda UVB'ye maruz bırakılmışlardır. Süre sonunda alınan deri örnekleri parafine gömülmüş ve ayrıca bir kısmında -86°C'de saklanmıştır. Parafin kesitlere, hematoksilin-eozin (genel histoloji, deri kalınlığı), Mallory'nin fosfotungstik asit-hematoksilen (kollajen fibriller), Taenzer-Unna orsein (elastik fibriller) ve toluidin mavisi (mast hücreleri) boyama yöntemleri uygulanmıştır. Deri yüzey ve sebace bez lipitleri, laminin ve galektin-3, bazı

karbohidrat moleküllerinin yoğunluğu ve DNA fragmentasyonu/apoptozis'i araştırmak için, frozen kesitlere, sırasıyla, Oil Red O boyama, laminin ve galektin-3 immünohistokimya, lektin histokimya [Lektinler: N-asetil glikozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoza spesifik olan *Datura stramonium* agglutinin (DSA), uç mannoz uzantılarına spesifik olan *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) ve galaktoza  $\alpha(2\rightarrow3)$  bağı sialik asitlere spesifik olan *Maackia amurensis* leucoagglutinin (MAL)] ve TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) yöntemleri uygulanmıştır.

*O. hypericifolium* esansiyel yağı GC-MS ile analiz edilmiştir. Yağda, simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen gibi monoterpenlerden oluşan 15 bileşen tespit edilmiştir. Derinin genel histolojisinde, tüm gruplarda, en dış tabaka epidermis ile sebace bezleri, kıl folikülleri ve saçtalarını içeren dermis ayırt edilmiştir. Derin dermiste, yağ ve iskelet kas dokusu yer almaktadır. Epidermal kalınlık, Grup 3 ve 4'de, istatistiksel olarak Grup 1 ve 2'den anlamlı fark göstermiştir ( $p<0,05$ ). Grup 3 ve 4'de dermiste, mast hücreleri ile degranüle olmuş mast hücreleri gözlenmiştir. Grup 4'de mast hücre sayısı Grup 1'e göre istatistiksel olarak farklılık göstermiştir ( $p<0,05$ ). Tüm gruplarda deri yüzey lipitleri ile sebace bez lipitlerinin nötral lipit ve yağ asitleri yoğunlukları benzerlik göstermiştir. Kollajen demetleri, Grup 3 ve 4'de homojen ve yoğundur. Elastik fibriller, deney gruplarında birikimler göstermemiştir. Laminin reaksiyonu, dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde, Grup 3'de yaygın dağılmış, Grup 4'de düzensiz ve devamsız bir şekilde gözlenmiştir. Grup 3'de, dermiste galektin-3-pozitif reaksiyon gösteren hücreler ayırt edilmiştir. Reaksiyon, epidermal hücrelerin zarlarında, dermiste, kıl folikülü çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, sebace bezleri çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde, ter bezi hücre zarlarında izlenmiştir. Grup 4'de, dermiste, fibril yapılarda yoğun galektin-3-pozitif reaksiyon izlenmemiştir. Epidermiste reaksiyon daha çok hücre zarlarında gözlenmiştir. Sebace bezi ve kıl folikülü çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde de reaksiyon gözlenmiştir. GNA+ reaksiyon; Grup 3'de, epidermiste az yoğun, dermiste yoğun; Grup 4'de, epidermiste az, dermiste biraz daha yoğun olarak görülmüştür. DSA+ reaksiyonu; Grup 3'de, epidermiste az yoğun, dermiste daha yoğun; Grup 4'de, epidermiste az, dermiste biraz daha yoğundur. MAL+ reaksiyonu ise, Grup 3 ve 4'de, epidermiste az yoğun, dermiste fibril yapılarda oldukça yoğundur. Grupların epidermisindeki TUNEL-pozitif hücre sayıları ise şu şekildedir: Grup 2 > Grup 3 > Grup 4 > Grup 1. İstatistiksel olarak, Grup 2, 3 ve 4, Grup 1'e göre anlamlı derecede fark göstermiştir ( $p<0,05$ ).

Sonuç olarak, *O. hypericifolium* esansiyel yağının kollajen ve elastik fibriller üzerinde, UVB ile indüklenen değişimleri önleyebileceği, yağın olasılıkla konsantrasyonuna bağı olarak epidermal kalınlığı artırabileceği söylenebilir. UVB/yağ uygulanan grupta, mast hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklıdır. Yağın, deri yüzey ve sebace bezlerinin nötral lipit ve yağ asitlerinin yoğunluklarına bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, yağın UVB radyasyonunun neden olduğu laminindeki yıkılım ve düzensiz dağılım üzerinde bir etkisi yoktur. Yağ uygulanan deride, dermiste galektin-3-pozitif hücreler gözlenmiştir. *O. hypericifolium* esansiyel yağı deride bazı karbohidratlarda değişime neden olabilir. UVB, yağ, UVB ile yağ birlikte, TUNEL-pozitif hücre sayısında artışa neden olabilmektedir. Bununla birlikte, bulguların yağın farklı konsantrasyonları ile yapılacak benzer uygulamaların sonuçları ile karşılaştırılmasına

ve bulguların desteklenmesi için daha ileri moleküler analizlerin yapılmasına gerek vardır.

**Anahtar Kelimeler:** *Origanum hypericifolium*, UVB, Deri, Histokimya, Lektin histokimya, İmmünohistokimya, TUNEL

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF CYTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL EFFECTS OF *ORIGANUM HYPERICIFOLIUM* ON ULTRAVIOLET-INDUCED SKIN DAMAGES

*Origanum hypericifolium* is an endemic plant growing in Sandras Mountain, Denizli-Turkey and it belongs to Lamiaceae family. The main constituents of the essential oil are monoterpenes such as cymene, carvacrol, thymol and  $\gamma$ -terpinene. Monoterpenes have antifungal, antibacterial, antioxidant, anticancer, antispasmodic, hypotensive and vasorelaxant effects. Ultraviolet (UV) radiation, particularly UVB (280–320 nm) from sunlight, causes erythema, edema, hyperplasia, hyperpigmentation, sunburn cells, photoaging, immunosuppression and tumorigenesis in the skin. Chronic UV exposure leads some alterations in the extracellular matrix components of the skin such as decrease in the collagen synthesis, degenerative changes on dermal collagen bundles and elastotic material accumulation. These alterations lead to photoaging which is characterized by increased epidermal thickness, decreased skin elasticity and wrinkle formation. UV radiation causes increase in the mast cells numbers, amount of the stratum corneum and sebaceous gland lipids, lipid peroxidation and sebaceous gland hyperplasia in the skin. Also, it is known that, the increased secretion of laminin in the UV-irradiated cells and the transiently upregulation of galectin-3 mRNA synthesis in UV-irradiated keratinocytes. However, it was reported that DNA damages induced by UV radiation can lead to alterations in the differentiation, proliferation and apoptosis. In recent years, many *in vivo* and *in vitro* studies have investigated the effects of botanical agents on UV irradiated skin.

In this study, the effects of the essential oil of *O. hypericifolium*, an endemic species, on damages of UV radiation in the skin were investigated by means of light microscopic and stereologic methods. The essential oil was extracted from plants by hydrodistillation and its composition was determined by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Dorsal skins shaved of female Balb/c mice were allocated to four groups (Group 1: control, Group 2: UVB-irradiated, Group 3: oil applied, Group 4: UVB-irradiated and oil applied). The undiluted oil was applied topically on the dorsal skin shaved of mice on alternate days for one week before the irradiation period. Then, they were irradiated 3 times per week with increasing doses of UVB for 4 weeks. At the end of the experimental period, dorsal skin samples were embedded in paraffin and also some were stored at  $-86^{\circ}\text{C}$ . Haematoxylin and Eosin (for general histology and measurement of epidermal thickness), Mallory's phosphotungstic acid haematoxylin (for collagen fibers),

Taenzer-Unna Orcein (for elastic fibers) and Toluidin blue (for mast cells) staining methods were applied on paraffin sections. Oil Red O stain, laminin and galectin-3 immunohistochemistry, lectin histochemistry [Lectins: *Datura stramonium* agglutinin (DSA) specific for galactose  $\beta(1\rightarrow4)$  N-acetylglycosamine, *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) specific for terminal mannose residues, *Maackia amurensis* leucoagglutinin (MAL) specific for sialic acid  $\alpha(2\rightarrow3)$ Galactose] and TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) methods were applied on frozen sections for investigation of skin surface and sebaceous gland lipids, laminin and galectin-3, the intensity of some carbohydrate molecules and DNA fragmentation/apoptosis, respectively.

The essential oil of *O. hypericifolium* was analyzed by GC-MS. The plant oil was found to contain 15 compounds, including monoterpenes such as cymene, carvacrol, thymol and  $\gamma$ -terpinene. In the general histology of the skin of all groups, the epidermis, the outermost layer of the skin, and the dermis which contains sebaceous glands, hair follicles and shafts were distinguished. Adipose tissue and skeletal muscle tissue were found in the deeper dermis. Epidermal thickness of the groups 3 and 4 were significantly different from groups 1 and 2 ( $p < 0.05$ ). In the dermis of groups 3 and 4, mast cells and degranulated mast cells were observed. Mast cells number of group 4 were statistically different from group 1 ( $p < 0.05$ ). The intensities of neutral lipids and fatty acids of the skin surface and sebaceous gland lipids were similar in all groups.

Collagen bundles were homogenous and intense in groups 3 and 4. In groups 3 and 4, the accumulation of elastic fibers in dermis was not observed. The laminin reaction was observed as a diffuse distribution pattern in group 3 and irregular and discontinuous patterns in group 4 at the dermal-epidermal junction. In group 3, galectin-3-positive cells were distinguished in dermis. The reaction was observed in the cell membranes of epidermal cells, dermis, around the hair follicles and their cell membranes and also around the muscle bundles and sweat glands cell membranes. In group 4, intense galectin-3-positive reaction was not observed in fibrils of dermis. The reaction was generally observed on epidermal cell membranes. It was visualized around the sebaceous glands and hair follicles and their cell membranes, and also around the muscle bundles. In group 3, epidermis showed a weak, dermis showed strong; in group 4, epidermis showed a weak, dermis showed a moderate GNA+ reactions. In group 3, epidermis showed a weak, dermis showed strong; in group 4, epidermis showed a weak, dermis showed a moderate DSA+ reactions. A weak MAL+ reactions in epidermis and strongly intense MAL+ reactions in fibrils of dermis were observed in groups 3 and 4. The number of the epidermal TUNEL-positive cells in the groups are in the following order: Group 2 > Group 3 > Group 4 > Group 1. Groups 2, 3 and 4 were statistically significantly different from group 1 ( $p < 0.05$ ).

As a result, it can be assumed that essential oil of *O. hypericifolium* can prevent UVB-induced alterations in collagen and elastic fibrils, increases the epidermal thickness which is presumably due to concentration of the oil. The number of mast cells in UVB/oil applied group is statistically different compared to the control group. It was observed that the plant's essential oil has no effect on the intensity of neutral lipids and fatty acids of skin surface and sebaceous gland lipids. Also, it has not any effect on the degradation and the irregular distribution of laminin caused by UVB



irradiation. Galectin-3-positive cells were observed in the dermis of the skin of the oil applied group. *O. hypericifolium* essential oil can cause some of the carbohydrate changes in the skin. UVB, essential oil, and both UVB and essential oil may cause an increase in the number of TUNEL-positive cells. However, similar studies using different concentrations of the plant's essential oil are needed for comparison with the findings. Also, further molecular analysis are needed in order to support the findings.

**Key Words:** *Origanum hypericifolium*, UVB, Skin, Histochemistry, Lectin histochemistry, Immunohistochemistry, TUNEL

## 1. GİRİŞ

Artan çevre kirliliği ile birlikte güneşin ultraviyole (UV) radyasyonu gibi birçok faktör çeşitli toksik maddelerle karşı karşıya kalmamıza neden olmaktadır. Oluşan serbest radikaller, hücresel düzeyde hasarlara yol açarak kanser gibi hastalıkları meydana getirmektedir. Bu nedenle antioksidan özelliğe sahip bazı bitkilerin terapötik etkilerinin ortaya çıkarılması önem kazanmaktadır. Toksik maddelerin meydana getirdiği hasarların belirlenerek antioksidan maddelerin bu hasarlar üzerindeki etkilerinin çeşitli yöntemlerle araştırılması, teşhis ve tedaviye katkı oluşturacaktır.

Günümüzde, doğal olması nedeniyle bitkisel ilaçlarla tedavi yöntemleri üzerinde yapılan çalışmalar giderek daha da artmaktadır. Bitkilerden izole edilmiş bileşenlerin bazı kanser türlerinde halen kullanılmakta olduğu bilinmektedir. Bu konuda yeni ve etkili bitkisel bileşenlerin aranmasına da devam edilmektedir. Bu araştırmalar, tedavi edici ajanların belirlenmesine ve geliştirilmesine temel oluşturabilecektir. Bununla birlikte, tıbbi bitki içeriklerinin olumlu ve olumsuz etkilerinin, hayvan modelleri ile yapılan ileri moleküler analizlerle ortaya konması gereklidir.

Ülkemiz bitki çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer zengin bir floraya sahiptir. Bu zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesişme noktasında yer alması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin merkezlerinin Anadolu'da oluşu gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır (Tan, 1992). Ülkemiz florası 12.301 taksonla zengin bir kompozisyona sahiptir. Bu taksonlardan 3963'ü endemiktir ve ülke floramızın % 32,2'sini oluşturmaktadır (Aydın, 2011). Dolayısıyla, yurdumuz endemizm zenginliği açısından adeta bir eczane gibidir. Bu bakımdan, birçok endemik türün olası farmakolojik etkileri araştırılmayı beklemektedir. *Origanum L.*, Lamiaceae ailesine ait bir cinstir ve Türkiye'de *Origanum hypericifolium* O. Schwartz & P.H. Davis'inde dahil olduğu 21 endemik türü içerir (Baser, 2002; Davis, 1982). Esansiyel yağın ana bileşenleri, p-

simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen gibi monoterpenlerden oluşur (Celik ve diğ., 2010b).

Güneşin UV radyasyonunun, canlılarda moleküller düzeyde ve giderek morfoloji ve metabolik düzenlenmelerde değişimlere yol açtığı bilinmektedir. *O. hypericifolium*'un antioksidan, antimutajenik ve antikanserojenik etkisi vardır. Bu bakımdan uçucu yağ içeriğinin, moleküller, hücreler ve biyolojik olaylardaki değişimler üzerindeki farmakolojik etkilerinin araştırılması önem göstermektedir.

Öncelikli olarak hayvan model sistemlerinde yapılacak moleküler hücre biyolojisi alanındaki çalışmalar daha sonraki ileri moleküler analizlere basamak oluşturacaktır. UV hasarlarında meydana gelen moleküler ve yapısal değişiklikler ile bitki bileşenlerinin olası etkileri arasındaki ilişkinin belirlenmesi önemli olacaktır.

## **1.1 Genel Bilgi**

### **1.1.1 Botanik ajanlar**

Dünya üzerinde bulunan 750.000-1.000.000 bitki türünün, yaklaşık 3.000 adedi gıda elde etmek için yetiştirilen, 10.000 kadarı gıda olarak kullanılan yabani bitki türleridir. Tedavi amacıyla kullanılan bitki sayısı ise antik çağdan itibaren artış göstermiş, XIX. yüzyıl başlarında miktarı yaklaşık 13.000 olmuştur. Anadolu'da bitkiler eski çağlardan beri, gıda, baharat, boyar madde ve ilaç olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerine yapılan çalışmaların artmasının başlıca sebepleri şunlardır:

1. Maddi olanaksızlıkları bulunan kalkınma yolundaki ülkelerin (Mısır, Pakistan, Hindistan gibi), kolay ve ucuz bir tedavi yolu olarak ülkelerinde yetişen bitkilerden faydalanmak istemeleri,
2. Tedavi amaçlı kullanılan bazı sentetik bileşiklerin tehlikeli yan etkilere sahip olması,
3. Bazı ilaç etken maddelerinin, bitkilerden sentetik yollara göre daha kolay ve ucuza elde edilebilmeleri,

4. Bitkisel drogların, sentetik drogların aksine, birden fazla etkiye sahip olmaları.

Hastalık etmenlerinin insanlardan önce dünya üzerinde olduğu düşünülmektedir. Daha sonra insanlar, etraflarındaki su, toprak, bitkiler gibi tabiat varlıklarını tedavi amaçlı kullanmaya başlamışlardır. Hippocrate (İ.Ö. 460-377), hekimliğin babası olarak kabul edilir ve eserlerindeki 400 kadar drogdan (eczacılık, kimya ve boya endüstrisinde kullanılan, bitkisel, hayvansal veya madensel ilkel madde) çoğu bitkisel kökenlidir. İbni Sina, Ebu Ali (980-1037) (Avicenna), “Şifa” ve “Kanun fit tıb” adlı eserlerinden 2. kitapta, 785 kadar bitkisel, hayvansal ve madensel droğu tanımlamış ve tıbbi kullanışlarını belirtmiştir. Bitkilerden elde edilen droglar, aktarlarda satılmaktadır. Kitaplarda, satılan birçok droğa ilişkin yeterli bilgi bulunmakla birlikte, bazıları için yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Drogların hazırlanmasında, yapraklar, çiçekler, toprak altı kısımlar, kabuklar, meyve ve tohumlar kullanılmaktadır. Bu şekilde elde edilen droglarda, selüloz, nişasta, pektin, protein, şeker gibi tedavi açısından bir önemi olmayan maddelerle birlikte, az da olsa farmakolojik etkilere sahip bileşiklerde bulunmaktadır. Bu “etkili madde”ler, kimyasal yapılarına göre, glikozitler, organik asitler, tanenler, alkoloitler, sabit yağlar, uçucu yağlar (esanslar), reçineli bileşikler, vitaminler ve antibiyotikler olarak sınıflandırılırlar (Baytop, 1999).

#### **1.1.1.1 Bitki sekonder metabolitleri**

Bitkiler ve onlar gibi bağlı yaşayan diğer organizmaların tipik özellikleri, düşman saldırısına maruz kaldıklarında kaçamamalarından ya da patojenlere karşı bir immün sistemleri bulunmamasından dolayı, büyük çeşitlilikte düşük moleküler ağırlıklı bileşikler (sekonder metabolitler ya da naturel ürünler) sentezleyebilme kapasiteleridir (Tablo 1.1) (Wink: [www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf](http://www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf)). Bitki sekonder metabolitleri, yüksek bir yapısal çeşitliliği meydana getirmektedir. Sekonder metabolitlerin tipik özellikleri, yüksek konsantrasyonlarda kompleks karışımlar şeklinde, bazen de bunları üretmeyen organlarda depolanmalarıdır. Bazı sekonder metabolitler, aktif olmayan “öncül ilaçlar” şeklinde depolanır ve bunlar bir tehlike anında (yanma, enfeksiyon) enzimatik olarak aktive edilirler. Sekonder metabolizmanın biyokimyası ve fizyolojik özellikleri fonksiyonları ile yakından

ilgilidir: sekonder metabolitler işlevsiz ürünler değildir, bitkilerin virüslere, mikroplara (bakteri, mantar) ve herbivorlara karşı korunma mekanizmalarıdır. Bazı sekonder metabolitler, tozlaşmada arthropodları ya da tohum taşıyan hayvanları çekmek için bir sinyal molekülü olarak iş görür. Kara bitkileri, çok geniş biyokimyasal ve farmakolojik özelliklere sahip evrimleşmiş sekonder metabolitlere sahiptirler. Birçok sekonder metabolit, proteinlerle, DNA/RNA ve/veya biyomembranlarla etkileşime girer. Bu etkileşimlerin bazıları moleküler hedefleri açısından oldukça spesifikken, bazıları pleiotropik özelliklere sahiptirler (Wink: [www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf](http://www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf)).

Tablo 1.1 : Yüksek yapılı bitkilerde bilindiği rapor edilen sekonder metabolitlerin sayısı. (Wink: [www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf](http://www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf)).

<b>Sekonder Metabolit Tipi</b>	<b>Yalaşık sayısı*</b>
<b>Nitrojen içeren Sekonder Metabolitler</b>	21.000
Alkoloidler	700
Protein olmayan amino asitler (NPAAs)	100
Aminler	60
Siyanogenik glikozitler	100
Alkamidler	150
Lektinler, peptidler, polipeptidler	2.000
<b>Nitrojen İçermeyen Sekonder Metabolitler</b>	
Monoterpenler, iridoitler dahil (C10)**	2.500
Seskiterpenler (C15)	5.000
Diterpenler (C20)	2.500
Triterpenler, steroidler, saponinler (C30, C27)**	5.000
Tetraterpenler (C40)	500
Flavonoidler, tanninler (C40)	5.000
Fenilpropanoidler, liginin, kumarinler, lignanlar	2.000
Poliasetilenler, yağ asitleri, mumlar	1.500
Antrokinonlar ve diğer poliketidler	750
Karbohidratlar, organik asitler	200

\*Bilinen yapıların yaklaşık sayısı. \*\*Günümüzde terpenlerin toplam sayısı 22.000'i aşmaktadır.

Falvonoidler ve Fenilpropanoidler (kumarinler, furanokumarinler, katekinler ve taninler dahil): Bitkilerde yaygın olarak bulunurlar. Birçok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Hüresel sinyal bileşiklerinin ya da substratlarının analogudurlar. Prostaglandin ve lökotiren oluşumu, enzim inhibisyonu, östrojenik özellikler (kumarin, izoflavonlar, stilbenler), DNA alkilasyonu (furanokumarinler) gibi çok çeşitli mekanizmalarda etkilidirler. Fizyolojik şartlarda serbest hale geçen fenolik hidroksil grupları proteinler ve peptidlerle hidrojen ve iyonik bağlar kurar. Taninler, enzim aktivitesini indirgemedi oldukça etkilidirler. Polifenoller, fitoterapide kullanılan birçok ilaç içinde bulunurlar. Anti-oksidan, antiinflamatuvar, sedatif, yara iyileştirici, antimikrobiyal ve antiviral etkileri gibi birçok farmokolojik etkilere sahiptirler (Wink: [www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf](http://www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf)).

Terpenler: Monoterpenler (C10), seskiterpenler (C15), diterpenler (C20), triterpenler (C30), tetraterpenler (C40) ve politerpenler olarak alt sınıflara ayrılır. Mono-, seski-,

di- ve triterpenler birçok bitkide bulunurlar. Yüksek oranda hidrofobik bileşiklerdir ve reçine kanallarında, yağ hücrelerinde ya da glanular trikomlarda depolanırlar. Birçoğu biyomembranlar ve membran proteinleri ile etkileşime girer. Membranların akışkanlığını arttırarak hücre ölümü ile sonuçlanan, kontrolsüz iyon ve metabolit akışına, membran proteinlerinin ve reseptörlerinin modülasyonuna ya da hücre sızıntısına neden olabilirler. Bu etkileşim membran spesifik olmadığı için, terpenler, geniş bir organizma grubu (bakteriler, mantarlar, böcekler, omurgalılar) üzerinde sitotoksik bir aktivite gösterirler. Bazı terpenlerde, hormonlara (örn: steroidal hormonlar, cinsiyet hormonları) benzer yapılarından dolayı ilave etkilere sahiptir (Wink: [www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf](http://www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf)).

10 karbonlu olan monoterpenler, yağların büyük bileşikleridir ve düşük konsantrasyonlarda güzel tat ve kokuya sahiptirler. Hem esansiyel yağlar, hem de monoterpenler, merhem şeklinde ağız yaralarında, göğüs ağrılarında ve üşütmelerde medikal ilaç olarak eski çağlardan beri kullanılmaktadır (Kılıç, 2005'te özetlenmiştir). Kozmetikte, parfümlerde, evde kullanılan deterjanlarda, sabunlarda, oda spreylерinde, böcek ilaçlarında, yiyecek ve içeceklerde tatlandırıcı olarak esansiyel yağlar ve onların monoterpenoid bileşikleri yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kaya, 2007). Ayrıca monoterpenlerin anitifungal, antibakteriyal, antioksidan, antikanser, antispazmodik, hipotansif ve vazorelaksant etkilerinin olduğu bilinmektedir (Santos ve diğ., 2011).

#### **1.1.1.2 *Origanum hypericifolium***

Çok eski devirlerden beri bilinen ve önemini bugüne kadar hiç kaybetmemiş olan faydalı bitkilerin önemli bir bölümünü Lamiaceae familyasında bulunan bitkiler oluşturmaktadır. Bu familyada bulunan bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığına ilişkin ilk kayıtlara eski çağlardan kalma mezar ve anıtların süslü yazı ve resimlerinde rastlanılmaktadır (Baytop, 1999).

Kekik yağı ya da Oregano esansiyel yağı, *Origanum*, *Thymus*, *Coridothymus*, *Thymbra*, *Satureja* ve *Lippia* genuslarından su buharı distilasyonu ile elde edilen, timol ve karvakrol içeren uçucu yağdır. Ancak, Türkiye'de kekik yağı adı altında satılan yağ, *Origanum* türlerinden (*O. onites* ve *O. vulgare*) elde edilmektedir. Genellikle, Güney ve Güneybatı Anadolu'da elde edilen bu yağ, karvakrol gibi,

antiseptik fenol bileşikleri içermektedir. *O. onites* (Syn: *O. smyrnaeum* L.) “İzmir kekiği” olarak bilinmektedir ve baharat olarak kullanılmasının yanında, su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı kekik yağı olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Türkiye, dünya pazarlarının en büyük oregano bitki ve yağ ihracatçısıdır. Oregano temel olarak yiyeceklerde, baharat ve ilaç endüstrisinde kullanılır. Oregano'nun biyolojik aktivitelerinden karvakrol sorumludur. Karvakrolün diğer aktiviteleri şunlardır: antimikrobiyal, antitümör, antimutajenik, antigenotoksik, analjezik, antispazmodik, antiinflamatuvar, anjiyogenik, antiparazitik, antiplatelet (pıhtılaşmayı önleyici), AChE inhibitörü, antielastaz, insektisidal, antihepatotoksik ve hepatoprotektif, arı yetiştiriciliğinde yem katkı maddesi olarak ve gastrointestinal hastalıklar için kullanılır (Baser, 2008).

Denizli bölgesinde de bulunan *O. hypericifolium* endemik bir bitkidir. Çok yıllık bir bitki olan *O. hypericifolium* (Şekil 1.1), yarı çalı formunda, 30-105 cm boylarında ve tüylüdür. Yapraklar belirgin olmayan saplı, akut, yeşilimsi pulsu, siyah noktacıklar halinde salgı tüyleri taşır (Davis, 1982). *O. hypericifolium* diyabet tedavisinde bitkisel çay olarak kullanımının yanında, toz haline getirildikten sonra peynir ve yemeklere baharat olarak ilave edilir (Sonmez, 1999). Bitki esansiyel yağı temel olarak p-simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen gibi monoterpenleri içerir (Celik ve diğ., 2010b).

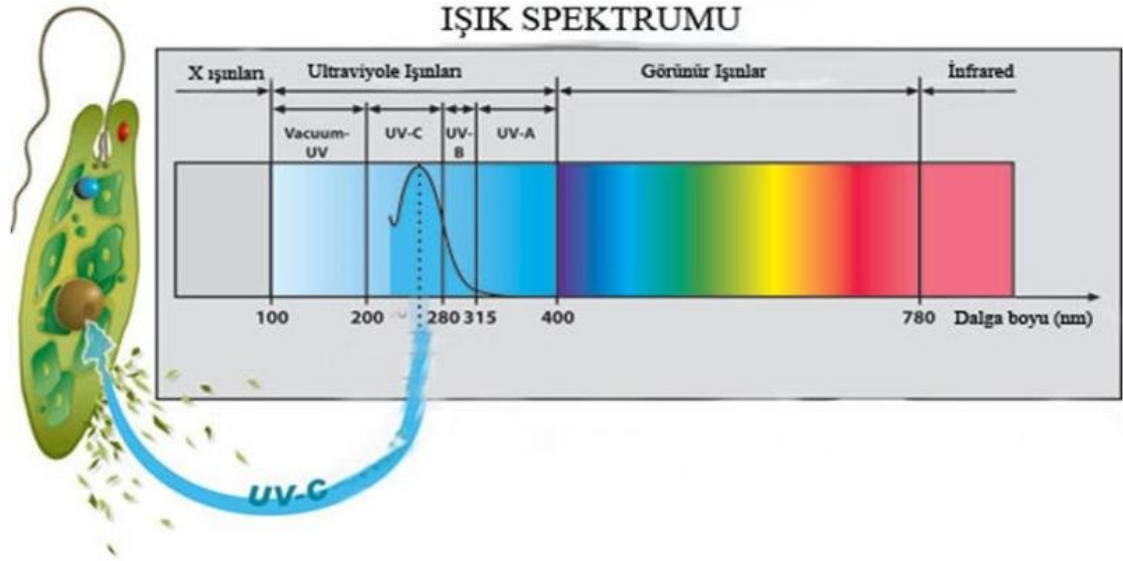


Şekil 1.1 : *O. hypericifolium*. a: Doğadaki görüntüsü, b: Çiçekleri (Celik ve diğ., 2010a).



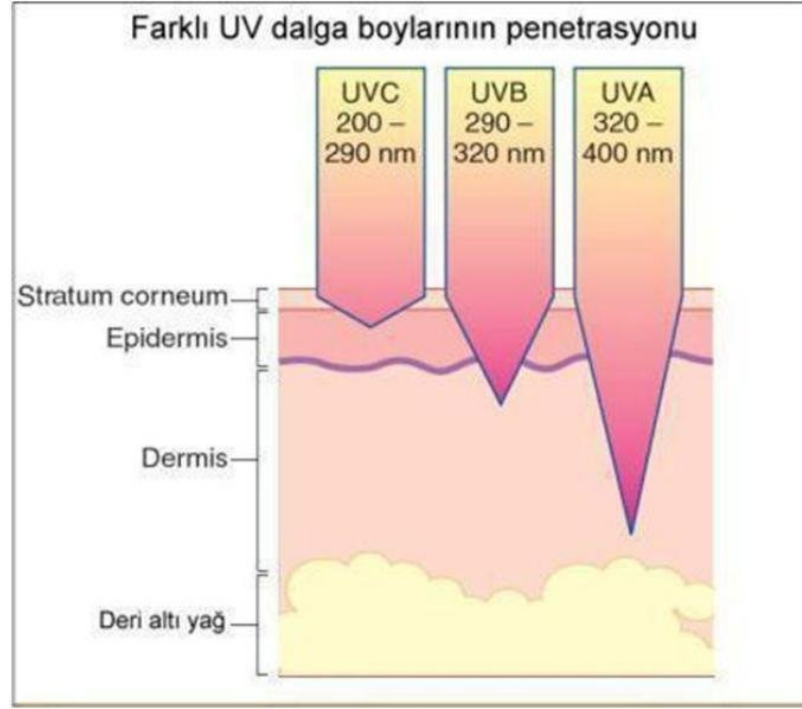
### 1.1.2 Ultraviyole (UV)

Güneşin yaydığı ısı ve ışık canlı yaşamı için oldukça önemlidir. Ancak UV ışınları (kısa dalga boylu, yüksek enerjili ışınlar) canlı dokular için oldukça zararlıdır ve erken yaşlanmaya neden olur. Solar radyasyon 3 kategoriye ayrılır: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) ve UVC (100-280 nm) (Lippens ve diğ., 2009; Harmanşah, 2008) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 : UV spektrumu (<http://www.premaqua.com/uvsystem.html>).

UVA, ozon tabakasından doğrudan geçerek büyük miktarlarda dünyaya ulaşır ve UV radyasyonun en az zararlı şeklidir. UVB ışınlarının çoğu atmosferde tutulur ve potansiyel olarak çok zararlıdır. UVC radyasyonu normal şartlar altında atmosferdeki oksijen ve ozon tarafından tutulur ve dünyaya ulaşamaz. Enerjisi en yüksek olduğundan en zararlı olan ışıdır. Deriye ulaşan solar radyasyonun miktarı; ışınların açısı, mevsim, bulunulan yerin ekvatora olan uzaklığı, stratosferik ozon konsantrasyonu, yükseklik, çevre kirliliği, bulut kütlesi gibi etmenlere bağlı olarak değişiklik gösterir (Şekil 1.3) (Karaduman, 1999: [http://saglik.tr.net/genel\\_saglik\\_solar\\_radyasyon.shtml](http://saglik.tr.net/genel_saglik_solar_radyasyon.shtml)). UV radyasyonu, güneş yanığı, bronzlaşma, erken deri yaşlanması ve kanser gelişimi gibi etkilere neden olurken, vitamin D3 sentezi gibi yararlı etkilere de sahiptir (Mutlu ve diğ., 2003).



Şekil 1.3 : UV'nin deri içine penetrasyonu (<http://www.ciltuzmani.com/anti%20aging.html>).

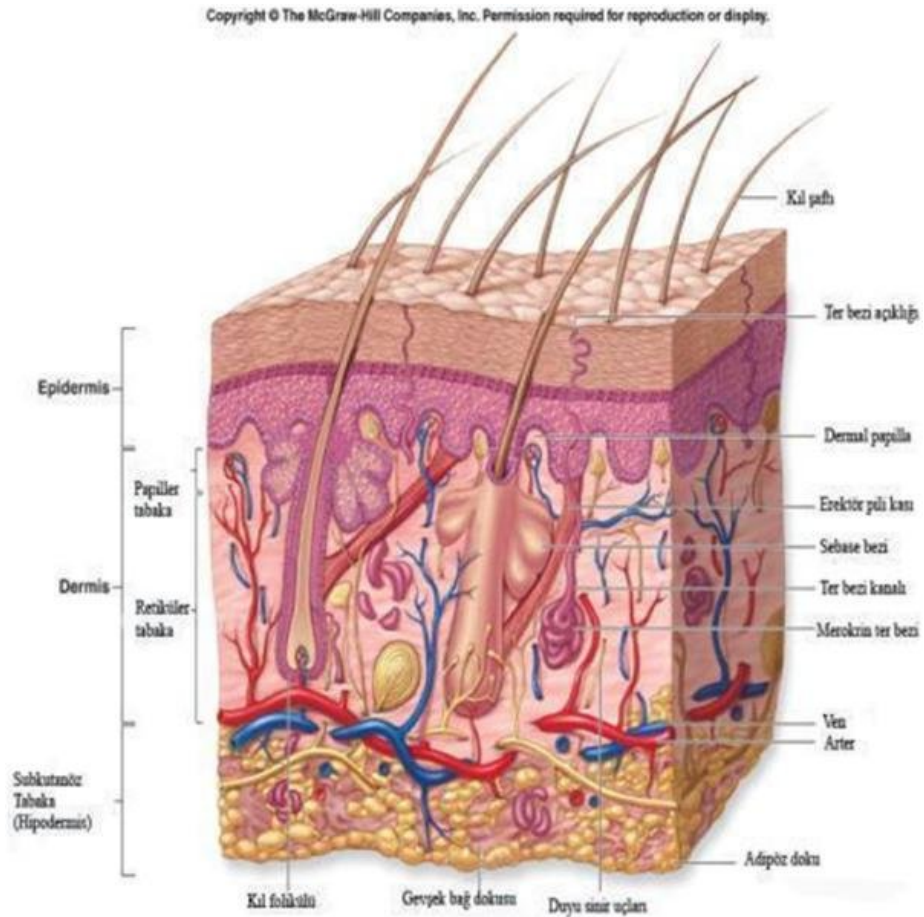
UVB ışınları, zaman ve mevsime göre değişir ve güneş yanıklarının ana nedenidir. Güneşten yanan deri melanom ve melanom olmayan deri kanserleri için önde gelen bir risk faktörüdür (Mishra ve diğ., 2011). UVB, melanin pigmenti sentezini stimüle ederek bronzlaşmaya yol açar. Güçlü biyolojik uyarıcı olan bu orta dalga boylu ışın camdan geçemezken, yeryüzüne ulaşan güneş ışınlarının % 0,3-0,5'ni oluşturur. UVB derinin epidermis katına etki ederek eritem denilen güneş yanıklarına neden olur. Deride eritem oluşmasını sağlayan en düşük ışık enerjisine minimal eritem dozu (MED) denir. 1 MED; yaz aylarının ilk döneminde bulutsuz bir havada ve öğle güneşi altında 20 dakika kalınmasıyla oluşan kızarıklığa eşittir. Deri rengi açık olanlarda MED dozu ortalama 20-70mJ/cm<sup>2</sup>'dir (www.istanbul.edu.tr/.../079\_dis.faktorlerin.deri.uzerindeki.etkileri.ve....).

Mutasyonlar, genetik materyalde oluşan kalıtsal değişikliklerdir. UVC ve UVB, DNA tarafından absorblanır ve pirimidin dimerlerinin (T-T, T-C) oluşumuna neden olur. Dimerler, yakın pirimidin bazlarının birer zincirleri ya da 6 ve 4 pozisyonları arasında kovalent bağlar oluşması ile meydana gelebilir (Debeleç-Bütüner ve Kantarcı, 2006).

### 1.1.3 Deri, yapısı ve fonksiyonu

İntegument ya da deri, vücudun en geniş organıdır. Sürekli değişim içinde olan dinamik bir organdır. Vücut ağırlığının %16'sını meydana getirir. Yüzey alanı 1,8 m<sup>2</sup>'dir. Çevre ile fiziksel bir bariyer oluşturarak, içeriye ve dışarıya suyun, elektrolitlerin ve çeşitli maddelerin geçişini sınırlandırması önemli görevlerindedir. Aynı zamanda mikroorganizmalara, UV radyasyonuna, toksik ajanlara ve mekanik baskılara karşı koruma sağlar.

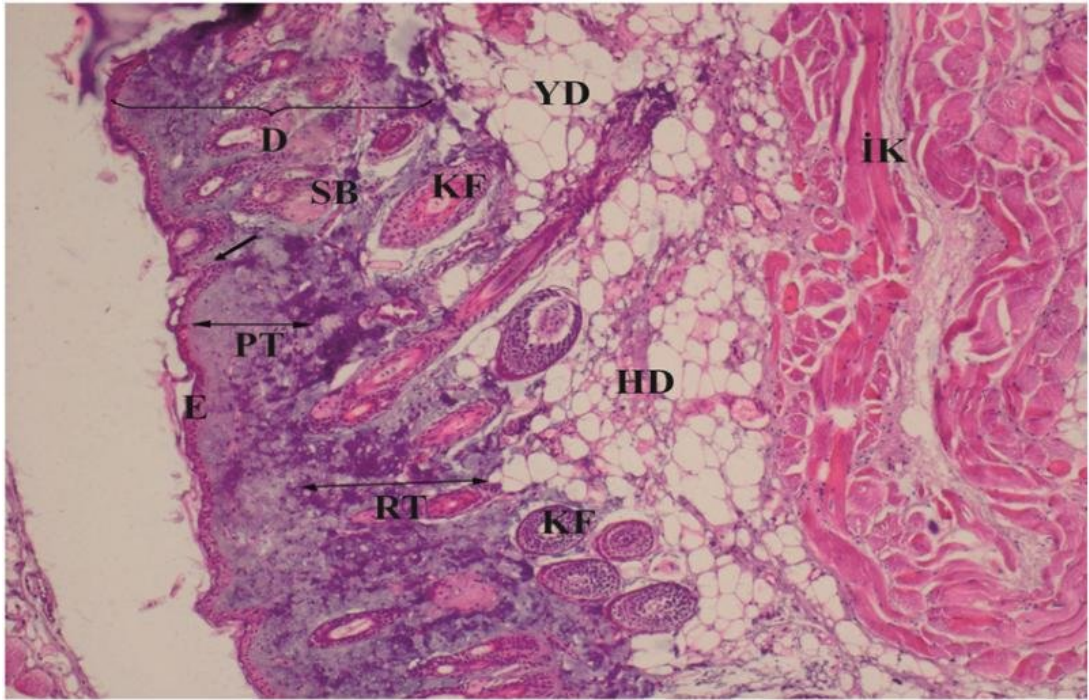
Deride üç tabaka bulunur: Epidermis, Dermis ve Subkütanöz tabakalar (Şekil 1.4). Kıl, tırnak, ter ve apokrin bezler deri ekleri olarak kabul edilir. Derinin dış tabaka hücreleri sürekli olarak dökülerek, alt tabakalardan gelen hücreler tarafından yenilenir. Yapısı genelde her yerde aynı olmakla beraber, kalınlığı bulunduğu anatomik bölgeye ve bireyin yaşına göre değişir.



Şekil 1.4 : Derinin yapısı (<http://cosbiology.pbworks.com/w/page/11556260/LESSON%206-01%20%E2%80%93%20Skin%20Structure%20and%20Function>).

### 1.1.3.1 Deri anatomisi

Epidermis, damarsız olup, en dış tabakadır ve vücut içi ile dış çevre arasında fiziksel ve kimyasal bir bariyer oluşturur. Dermis, epidermisi alttan yapısal olarak destekleyen, damar içeren, düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki tabakadır. Bunun altındaki gevşek bağ doku tabakası, “yüzeyel fasya” olarak adlandırılan “Subkütanöz” ya da “hipodermis” tabakasıdır ve önemli bir yağ deposudur (Şekil 1.5; 3.2).



Şekil 1.5 : Derinin genel histolojisi. E: Epidermis, D: Dermis, PT: Papillar tabaka, RT: Retiküler tabaka, SB: Sebase bezi, YD: Yağ dokusu, KF: Kıl folikülü, HD: Hipodermis, İK: İskelet kası, Dermal papilla (ok), Grup 1, H&E, x100 (Nazan Keskin, 2011).

### Epidermis

Epidermis, keratinize çok tabakalı yassı epitelden oluşur. Epidermis, kalınlığı dışında, vücudun farklı bölgelerinde benzer yapıdadır. Kalınlığı, göz kapaklarında 0,05 mm'den, elin avuç içinde ve ayak tabanında  $0,8\pm 15$  mm'ye kadar değişir. El ayası ve ayak tabanları devamlı olarak, aşınma, sıyırılma ve yırtılmalara maruz kaldığından, bu bölgelerdeki epiderminin en dıştaki çok katlı keratinize tabakası

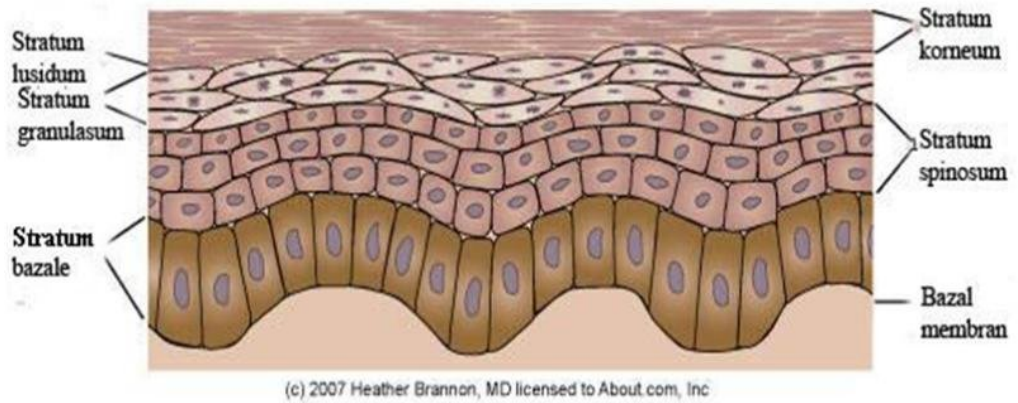


kalındır. Bu bölgelerdeki deriye “kalın deri” denir ve çok sayıda ter bezleri içermesine rağmen, kıl folikülleri, yağ bezleri ve düz kas liflerini içermez.

Vücudun diğer bölümleri “ince deri” olarak adlandırılan deri ile örtülüdür. Epidermis daha incedir, kıl folikülleri, yağ bezleri ve ter bezleri içerir. Kıl folikülleri bağ dokusu kılıfı ile dermisin bağ dokusu arasında uzanan düz kas liflerine “erektör pili” adı verilir.

Epiderminin ana hücresi keratin proteinini sentezleyen keratinositlerdir. Keratinositler bölünürler, büyürler ve yukarı doğru göç ederken keratinleşirler. Desmozom denilen protein köprüleri alt tabakalardan üstlere doğru sürekli geçiş yaparak keratinositleri birbirine bağlar. Keratin olgunlaşmasının farklı aşamalarını kapsayan 5 farklı epidermis tabakası ayırt edilir. Bu tabakalar, aşağıdan yukarıya doğru şöyle sıralanır:

- Stratum bazale (Germinativum-doğurucu; bazal tabaka)
- Stratum spinosum (spinoz ya da dikenli tabaka)
- Stratum granulosum (granüllü tabaka)
- Stratum lusidum (saydam tabaka)
- Stratum corneum (boynuzsu-cansız tabaka) (Şekil 1.6)

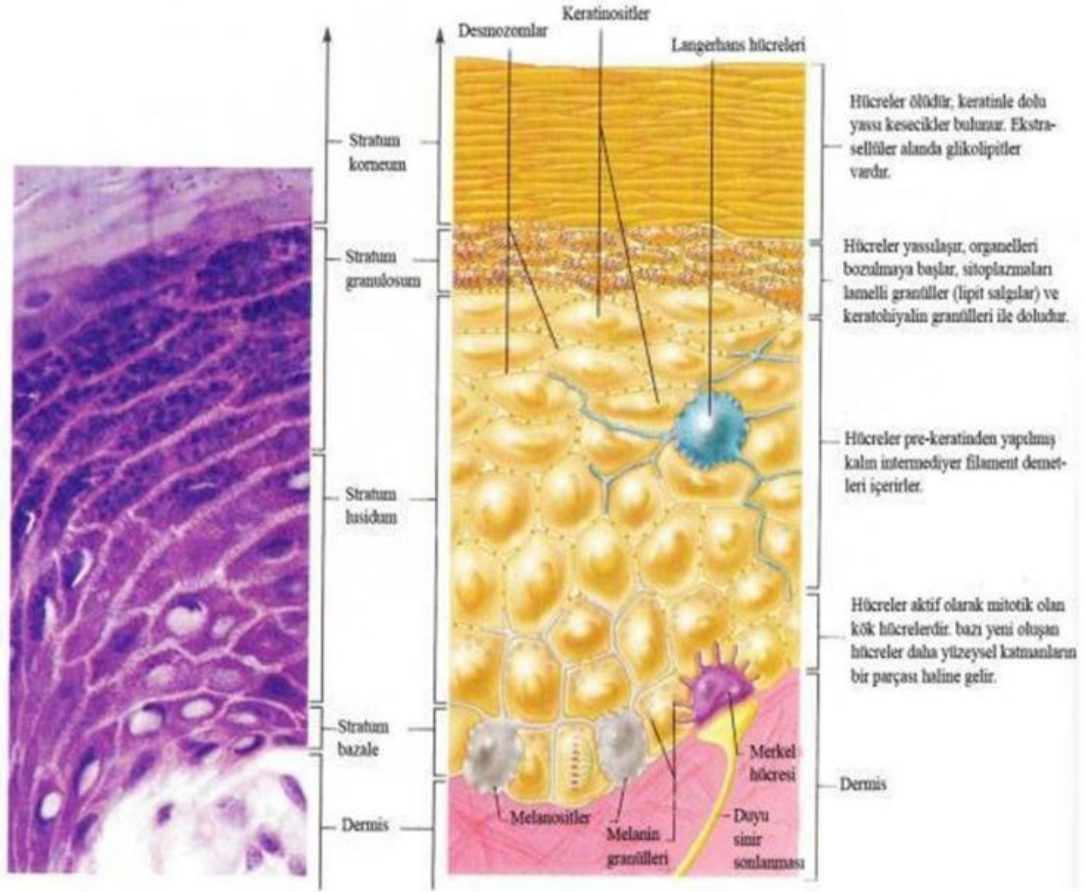


Şekil 1.6 : Epiderminin yapısı ([http://0.tqn.com/d/dermatology/1/0/e/4/Epidermis\\_Full\\_lucid.jpg](http://0.tqn.com/d/dermatology/1/0/e/4/Epidermis_Full_lucid.jpg)).

Stratum spinosum ve stratum granulosum bazen beraberce Malpighi Tabakası olarak da adlandırılır.

Stratum bazale: Epidermisen en alt tabakasıdır. Dermisi epidermisten ayıran bir bazal membran (BM) üzerine oturan bölünen ve bölünmeyen keratinositler, tek sıralı prizmatik ya da kübik hücrelerden oluşur. Bu hücreler hemidezmozomlar ve ara filamanları ile BM'ye ve tonofilamentler ile birbirlerine tutunmuşlardır. Buradaki hücreler, epidermis için kök hücre görevi görürler, bu nedenle bu tabakada yüksek mitotik aktivite izlenir. Keratinositler bölünüp farklılaşırken, en alt tabakadan yüze doğru hareket ederler ve olgunlaşırlar. Stratum bazaledeki tüm hücreler, yukarı doğru göçle birlikte sayıları gittikçe artan oranda ara keratin filamanları içerirler.

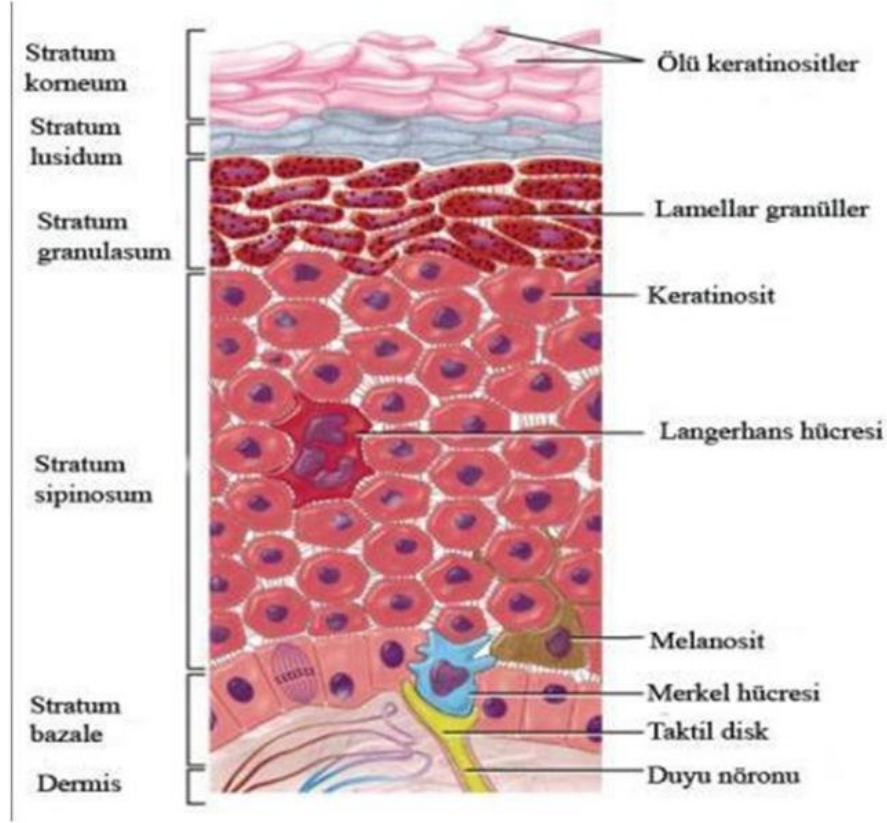
Bazal hücre topluluğunun küçük bir kısmını, pigment (melanin) üreten "melanosit" hücreleri oluşturur. Bu hücreler dentritik yapıları ile karakterizedir ve etraflarındaki çok sayıdaki keratinositlerle herhangi bir dezmozom bağlantısı kurmadan bağımsız hücreler olarak kalırlar (Şekil 1.7). Melanin, önce golgiden türevlenen zarla çevrili "premelanozom" içinde depolanır. Tirozinin, "tirozinaz" enzimi ile "3, 4-dihidroksifenilalanine (DOPA)" oksidasyonu, daha sonrada DOPA'nın melanine dönüştürülmesi sonucu üretilen melanin, melanin granülleri olan melanozomlar içinde biriktirilir. Daha sonra çözünmeyen melanin ortama salınır ve granüller halinde komşu keratinositlerce alınır.



Şekil 1.7 : Derinin tabakaları ve hücreleri (<http://www.flashcardmachine.com/chapter-4-and5theintegumentarysystem.html>).

Melanin pigmenti UV radyasyonuna karşı koruma sağlar. UV ışınına kronik maruziyet, melanosit/keratinosit oranını artırır ve çoğu yüzde ve kolun dış kısmında bulunur. Vücut bölgelerindeki melanosit sayısı beyaz ve siyah ırkta aynıdır, ancak melanin üretme oranı farklıdır. İntrinsik yaşlanma, melanosit popülasyonunu azaltır.

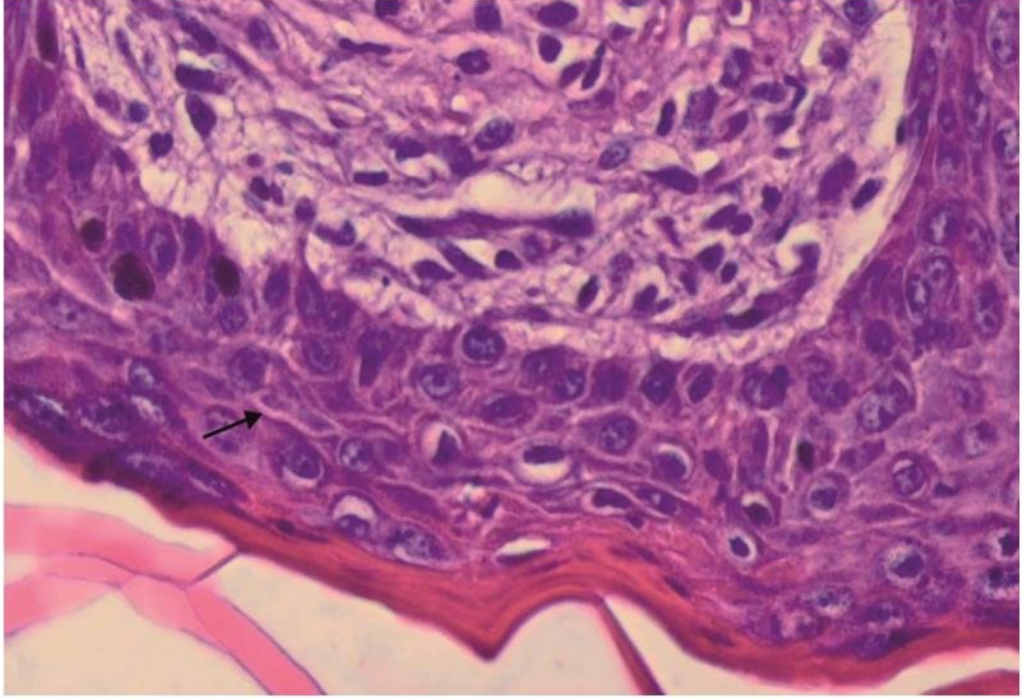
Modifiye keratinositlere benzeyen “Merkel hücreleri”, parmak uçları ve dudaklar gibi dokunmaya hassas bölgelerde bazal tabakada yüksek miktarlarda bulunurlar. Komşu keratinositlere desmozomlarla bağlıdır. Afferent miyelinsiz aksonlarla olan sıkı ilişkileri nedeniyle, Merkel hücrelerinin basınç algılayan mekanoreseptör olarak görev yaptıklarına inanılmaktadır. Sinir lifleri, bazal laminayı geçince miyelin kılıfını kaybederek, Merkel hücresi ile temas eden “sinir plağı” oluştururlar. Bu hücrelerin çekirdekleri şekilsizdir ve sitoplazmalarında bol miktarda nörotransmitter içeren granüller bulunur (Şekil 1.8).



Şekil 1.8 : Epidermis hücreleri ([http://www.imperial.edu/~thomas.morrell/cha\\_5\\_tortora\\_integument.htm](http://www.imperial.edu/~thomas.morrell/cha_5_tortora_integument.htm)).

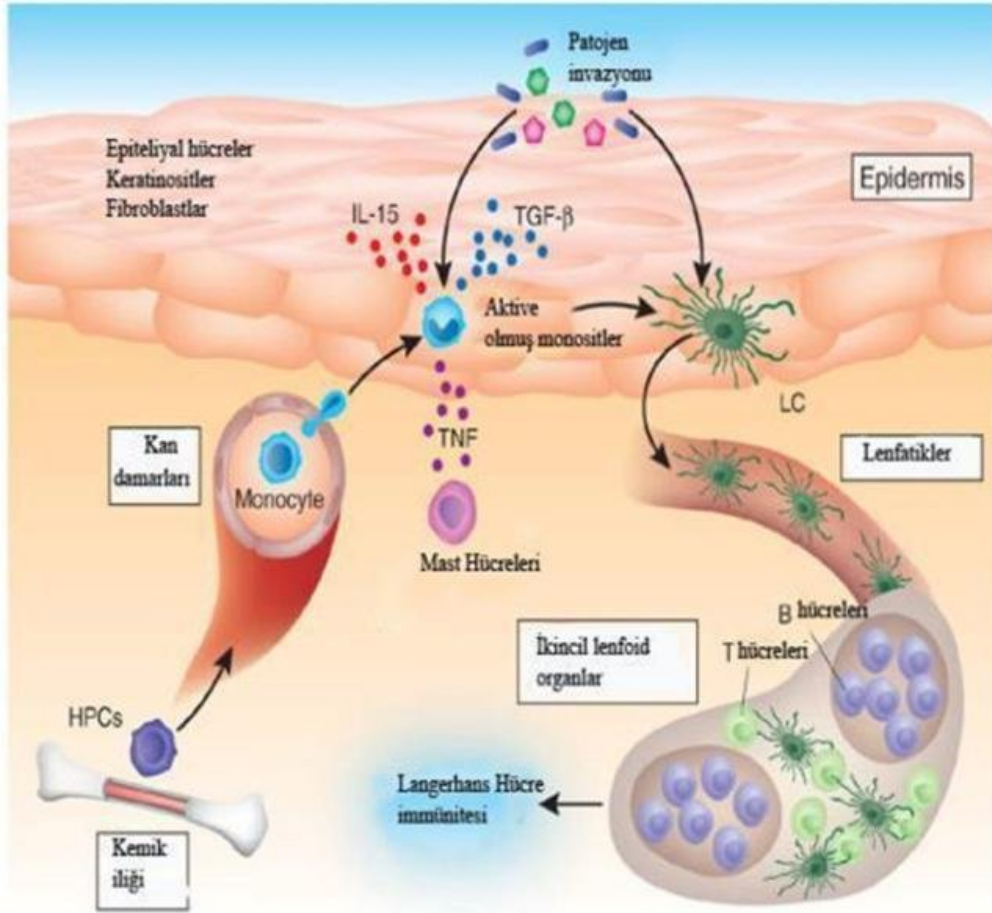
Stratum spinosum: Bazal hücreler yeniden üretilirken ve olgunlaşırken, derinin dış katmanlarına doğru hareket ederler ve 4-6 hücre sırasından oluşan stratum spinosum tabakasını oluştururlar. Bu tabakadaki keratinositler, yassı poligonal şekilli ve belirgin oval bir çekirdeğe sahip hücrelerdir. Sitoplazmaları içindeki lamelli küçük granüllere “membran kaplı granül” ya da “lamelli cisimcikler” denir. Işık mikroskopunda iğneler şeklinde görülen hücreler arası köprüler, desmozomlar, keratin filaman demetleri veya tonofilamanlar ile hücreleri birbirine bağlar. Tonofilamanlar aşınmalara karşı epidermise direnç kazandırır (Şekil 1.9).





Şekil 1.9 : Stratum spinosum tabakasında hücrelerarası köprüler (ok), Grup 3, H&E, x400 (Nazan Keskin; 2011).

Langerhans hücreleri, immünolojik olarak aktif olan dentritik hücrelerdir ve kemik iliğinden türevlenirler (Şekil 1.10). Tüm epidermal yüzeylerde bulunurlar, ancak temel olarak bu tabakanın ortasında yer alırlar. Bu hücreler derinin immün reaksiyonlarında, özellikle derinin aşırı duyarlılık reaksiyonlarının başlangıcında T-lenfositlere antijen-sağlayıcı hücreler olarak görev yaparlar. Bu hücreler, yabancı antijenleri tanırlar, fagosite ederler ve işlemde geçirerek onları immün cevap oluşturmak üzere T-lenfositlere sunarlar. Keratinositlerle E-kaderin aracılığı ile temas sağlarlar. Hücre çekirdekleri çentiklidir ve sitoplazmalarında tipik çubuk şeklindeki “Birbeck” veya “vermiform granüller” bulunur.



Şekil 1.10 : Langerhans hücrelerinin gelişimi ([http://www.nature.com/ni/journal/v7/n3/fig\\_tab/ni0306-223\\_F1.html](http://www.nature.com/ni/journal/v7/n3/fig_tab/ni0306-223_F1.html)).

Stratum granulosum: Yukarıya doğru hareketlerine devam eden hücreler yassılaşırlar. Keratinositler hücre çekirdeklerini kaybederler. Sitoplazmaları bazofilik yapılı, bir zarla çevrili olmayan, düzensiz şekilli “keratohiyalin granülleri” ile dolu olan 3-5 sıra hücreden oluşan bu tabaka “stratum granulosum”dur. Keratohiyalin granülleri, derideki yumuşak keratinin kaynağıdır ve keratin filaman demetleri ile birlikte bulunurlar. Ayrıca, bu tabakadaki keratinositlerin sitoplazmalarında, çift tabakalı lipit zarla çevrili lamelli granüller de bulunur. Granül içeriği “glikolipid açilglukozseramit”tir. Lamelli granüllerin içerikleri stratum granulosumda hücreler arası boşluğa bırakılır ve burada yapıştırıcı özelliğinin yanı sıra lipit bir bariyer oluştururlar.

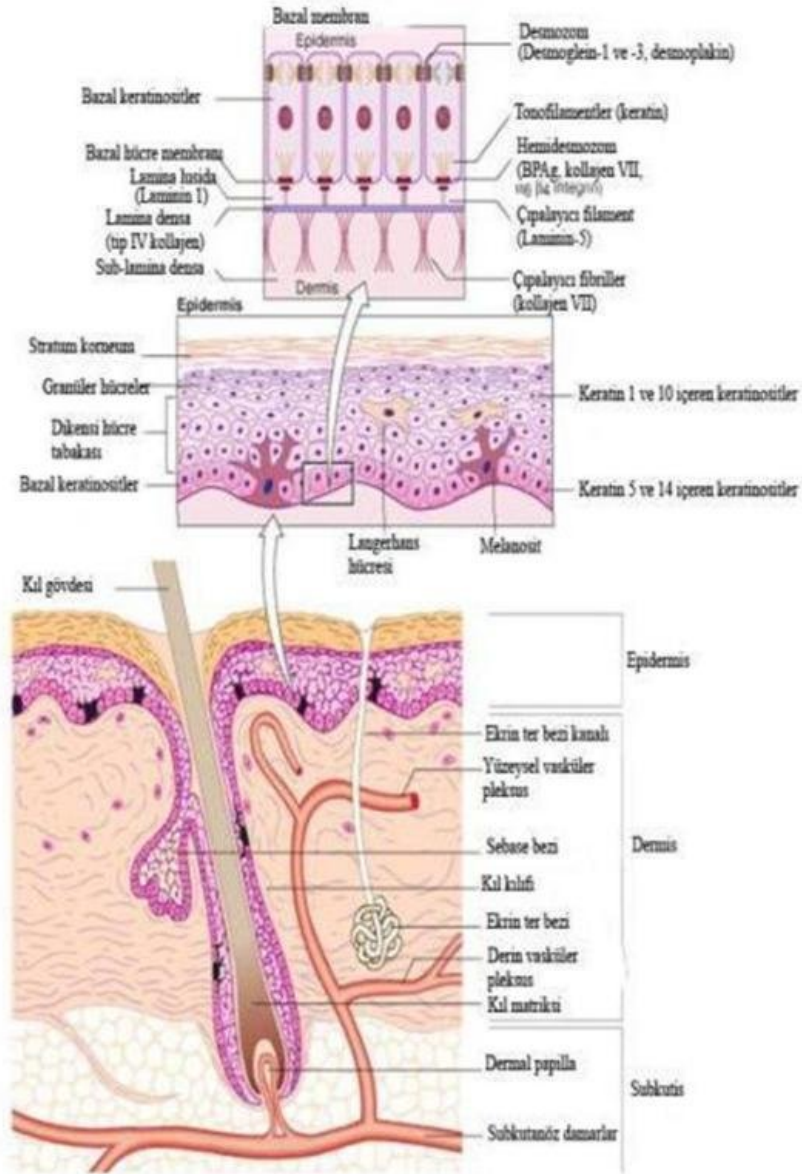
Stratum lusidum: Bu tabaka, saydam hücrelerden oluşan ince bir tabakadır ve kalın deride görülür. Stratum granulosumdan stratum korneuma geçişi sağlar ve genelde

ince epidermiste görülmez. Hücreleri sıkıca paketlenmiş keratin filamanları içerirken, çekirdek ve organel içermezler. Sıkıca bir araya gelmiş ölü hücrelerdir.

Stratum korneum: Keratinosit olgunlaşmasının en son noktası stratum korneumda bulunur. Bu tabaka “korneosit” olarak bilinen, hegzagonal şeklindeki, canlı olmayan, tüm çekirdek ve organellerini kaybetmiş, kornifiye hücrelerden oluşur. Bu yassı ve ölü hücreler, yumuşak keratin filamanları içerir. Derinin birçok bölgesinde  $10\pm 30$  yığılmış korneosit tabakası bulunur ve avuç içi ve tabanlar en fazla miktara sahiptir.

Her korneosit bir protein zarf ile sarılıdır ve içleri su tutucu keratin protein ile doludur. Hücresel şekilleri ve keratin proteinlerinin yerleşimi stratum korneumu güçlü kılar. Ekstrasellüler alanda hücreler yığılmış katmanlar halindeki lipid çift tabaka ile sarılıdır. Oluşan yapı, derinin doğal fiziksel ve su tutucu bariyerini oluşturur. Korneosit tabakası kendi ağırlığının üç katı suyu absorblayabilir. Ancak su miktarı %10'unun altına düşerse daha fazla esnek kalmaz ve kırılır. Yüzeydeki keratinize hücreler sürekli olarak dökülürler ve bazalden gelen yeni hücrelerce yenilenirler. Bu tabakaya epidermal hücrelerin hareketi yaklaşık 28 gün sürer ve bu süre “epidermal transit süresi” olarak bilinir.

Dermo-epidermal bağlantı/bazal membran (BM): Bu kompleks yapı, iki tabakadan oluşur (Şekil 1.11). Bu bölgedeki anormallikler, bullous pemphigoid (genellikle yaşlılarda görülen, epidermis altında veziküller oluşması ile belirgin, zaman zaman alevlenme ve iyileşme dönemleri gösteren otoimmün kökenli kronik deri hastalığı) ve epidermolysis bullosa (hafif travma sonucu deride kolayca vezikül ve büller oluşması, bu vezikül ve büllerin geç iyileşmesi ve enfeksiyona eğilim göstermesi ile belirgin doğuştan gelen bir hastalık) gibi nadir cilt hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olur. Epidermisle birleşme yeri düzensizdir. Papillar dermisten yüzeye doğru çıkıntı yapan papillalar deri yüzeyine diktir ve dermal papilla olarak adlandırılır. Dermal papillalar, epidermisten gelen ve “epidermal çıkıntı” denilen uzantılarla iç içe geçer. Epidermis bu bağlantı bölgelerinden difüzyon yoluyla besin alır ve atıklarını atar. Dermo-epidermal bağlantılar yaşlanmayla birlikte yassılaşırlar ve bu yassılaştırmanın miktarı yaşlanmanın görsel bir belirtisidir.



Şekil 1.11 : Bazal membran (<http://medic-aide-memoire.blogspot.com/>).

## Dermis

Dermis, epidermise bağlanan bağ dokusu tabakasıdır. Göz kapağında 0,6 mm, sırt, avuç içi ve ayak tabanında 3 mm olmak üzere farklı kalınlıklara sahiptir. Epidermis altında bulunur. Sert ve destekleyici bir hücre matrisinden oluşur. Dermiste iki tabaka ayır edilir:

1. İnce papiller dermis
2. Daha kalın retiküler dermis

Papiller dermis, epiderminin altında uzanır ve bununla bağlantılıdır. İnce ve gevşek bir şekilde düzenlenmiş kollajen fibrillerinden oluşur. Kalın kollajen demetleri, derindeki retiküler tabakada, papiller tabakanın sınırı ile subkutanöz dokusu arasındaki bölgede deri yüzeyine paralel olarak seyrederek. Dermiste, kollajen, elastin ve yapısal proteoglikanlar üreten fibroblastlar ile bağışıklık sistemi elemanları; mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Dermisin %70'ini, dayanıklılık ve dolgunluk sağlayan kollajen fibriller oluşturur. Elastin, derinin normal elastikiyetini ve esnekliğini korur. Proteoglikanlar, viskozite ve nemi sağlar. Dermisin fibriller dokusu içinde, dermal damar sistemi, lenfatik damarlar, sinir hücreleri ve fibrilleri, kıl kökleri ve az miktarda çizgili kas bulunur.

### **Hipodermis (Subkutanöz tabaka)**

Dermisin devamıdır ve gevşek bağ dokusu ve yağdan oluşur. Karında kalınlığı 3 cm'yi bulabilir. Ter bezlerinin oldukça kıvrımlı olan bazal kısımları bu bölgede yer alır.

#### **1.1.3.2 Kan ve lenf damarları**

Dermis yüksek oranda damarlanmıştır ve birbiri ile bağlantılı 3 ağ bulunur:

Subpapiller pleksus; dermisin papillalı tabakasında bulunur.

Kutanöz pleksus; dermisin papillalı ve retiküler tabakaları arasındaki sınırda bulunur.

Hipodermik veya subkutanöz pleksus; hipodermiste veya subkutanöz yağ dokusunda bulunur.

Subpapiller pleksus, her bir dermal papilla içine kapiller yumak birimleri gönderir ve buradaki venöz kan kutanöz pleksustaki venlere boşalır. Hipodermik ya da kutanöz pleksusların dalları, hipodermisin yağ dokusunu, ter bezlerini ve kıl foliküllerinin derin kısımlarını besler. Arteriyel ve venöz dolaşım arasında bulunan arteriyovenöz anastomozlar, retiküler ve hipodermik bölgelerde yaygın olarak bulunur ve vücut ısısının düzenlenmesinde rol oynar. Derinin lenfatik drenajı bol lenfatik kafeslerle oluşturulur. Papilladan orjinlenir, daha büyük lenf damarlarını besler ve bölgesel lenf nodlarına boşalırlar.

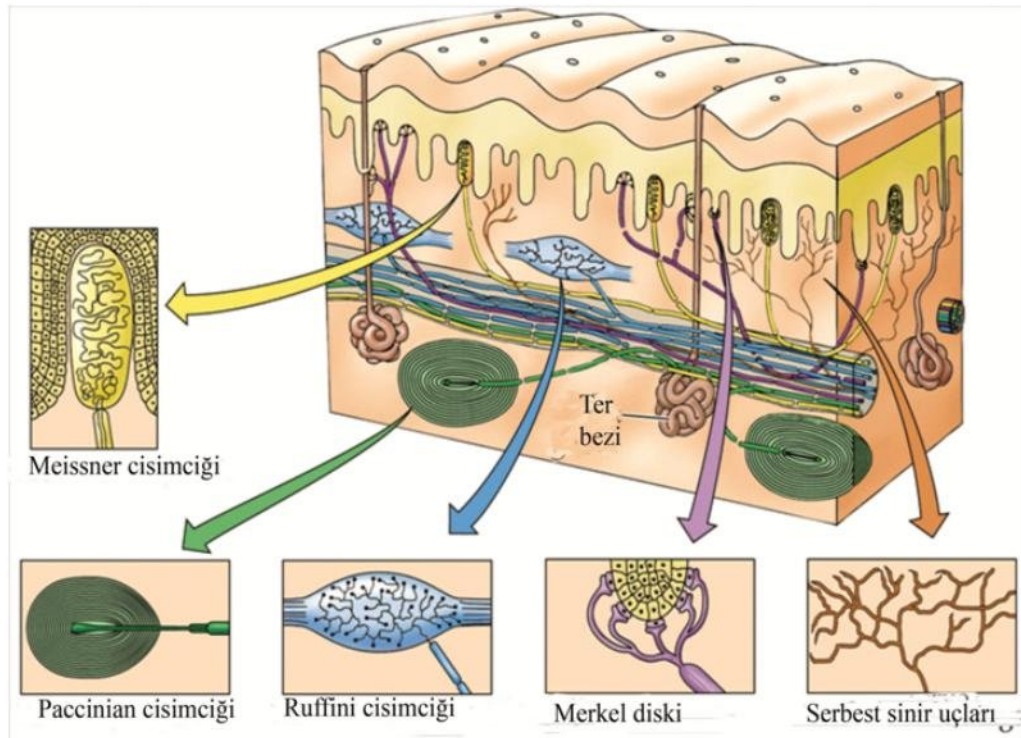


### 1.1.3.3 Sinirler

Deri yüksek oranda sinirlenmiştir ve yüz, eller ve genital bölgeler en yüksek yoğunlukta sinir içerirler. Tüm kutanöz sinirler dorsal kök gangliyon hücre gövdelerine ve miyelinli ya da miyelinsiz fibrillere sahiptirler. Serbest sinir uçları dermiste bulunur ve bunlar, acı, kaşıntı ve sıcaklığı algırlar. Özel korpuskül reseptörleri de dermiste bulunur. Bunlardan “Meissner” korpuskülleri dokunmayı, “Pacinian” korpuskülleri basınç ve titreşimi algılar. Otonom sinir sistemi derinin motor sinirlenmesini sağlar: adrenerjik fibriller kan damarlarını, kıl erektör kaslarını ve apokrin bezlerini innerve ederken, kolinerjik fibriller ekrin ter bezlerini innerve eder. Endokrin sistem, otonom fibrillerle innerve olmayan sebace bezlerini kontrol eder.

### 1.1.3.4 Duyu reseptörleri

Duyusal reseptörler, cevap verdikleri uyarı tipine göre, mekanoreseptörler (gerilme, titreşim, basınç), termoreseptörler (soğuk ya da sıcak) ve nosireseptörler (ağrı) olarak üç gruba ayrılırlar (Şekil 1.12).



Şekil 1.12 : Derideki duyu reseptörleri (<http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/ChemicalSomaticSenses.htm>).

En basit mekanoreseptörler, hafif basınç ve dokunma uyarılarına cevap veren, serbest sinir uçlarıdır ve epidermiste bulunur.

İkinci mekanoreseptör tipi Merkel diskidir ve dokunma duygusunu ayırt eden sinir sonlanması, merkel hücrelerine bağlı yassı bir disk şeklindedir.

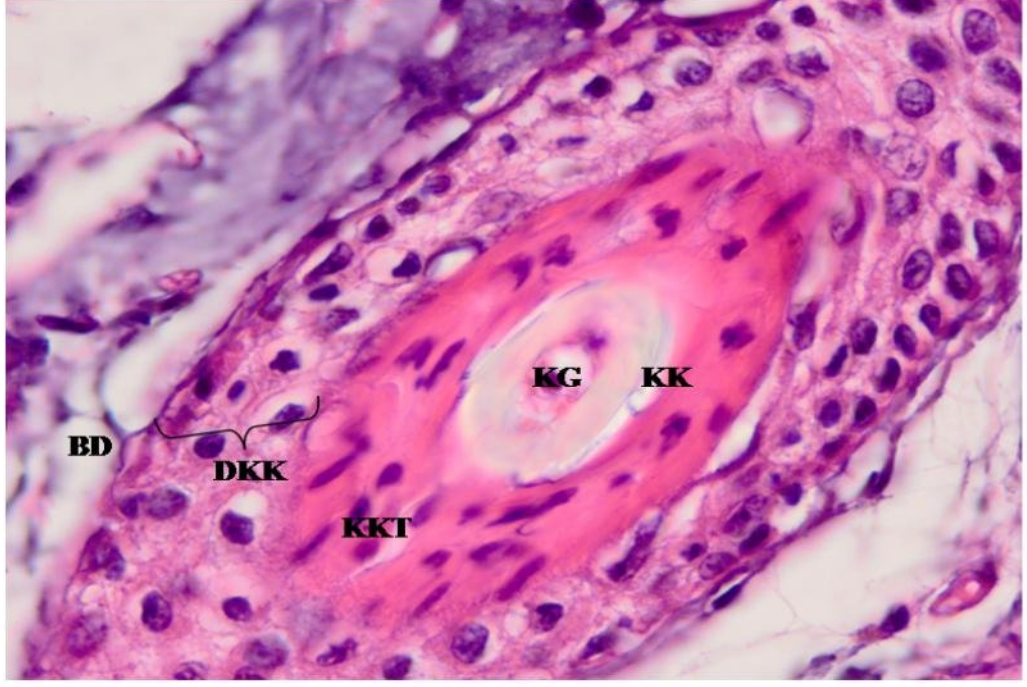
Üçüncü tip, iki adet kapsüllü cisimcik içerir: 1. Meissner cisimciği ve 2. Pacinian cisimciği. Meissner cisimciği, dermal papillada bulunur ve parmak uçları ile eldeki dokunma reseptörlerinin yarısını oluşturur. Cisimlerin şekil ve kıvamının algılanmasını sağlar. Pacinian cisimciği, hipodermis ya da derin dermiste bulunur ve geçici titreşim uyarılarına cevap verir.

Dördüncü reseptör tipi, kıl folikülünün kökü ve gövdesi etrafına sarılmış olan ve çok hassas olan kıldaki sinir sonlanmalarıdır. Kıl hareketi, bu reseptörün uyarılması için yeterlidir.

Derinin dermis tabakasında bulunan termoreseptörlerden ruffini cisimciği sıcak, krause cisimciği ise soğuk duygusunu algılar. Çabuk yorulan bu reseptörler, derinin her bölgesinde farklı yoğunlukta bulduklarından, sıcak ya da soğuk derinin her bölgesinde farklı şekilde algılanır.

### **1.1.3.5 Deri eklerinin yapısı**

Kıl: Kıllar, avuç içi, ayak tabanı ve glans penis hariç, tüm vücut yüzeyinde, değişik yoğunlukta bulunurlar. Foliküller yüz ve kafa derisinde oldukça yoğundur. Kıl folikülleri sürekli olarak yenilenir. Büyüme dönemleri “anajen”, gerileme dönemi “katajen”, dinlenme dönemi “telojen” olarak adlandırılır. Her kıl folikülü germinatif hücrelerle kaplıdır ve bu hücreler keratin ve pigment sentezleyen melanositler üretirler. Kıl folikülü enine kesildiğinde şu yapılar ayırt edilir: kütikül, iç kök kılıfı, dış kök kılıfı, bağ doku kılıfı, kıl bulbusu ve bağ dokudan oluşan dermal papilla. En dıştaki bağ doku kılıfı dermise aittir ve bunun hemen altındaki birkaç hücre tabakasından oluşan dış kök kılıfı epidermisen devamıdır. İç kök kılıfı ince tek sıralı epitel tabakası (Henle tabakası) ve ince granüler iki sıralı hücre tabakasından (Huxley tabakası) meydana gelir.

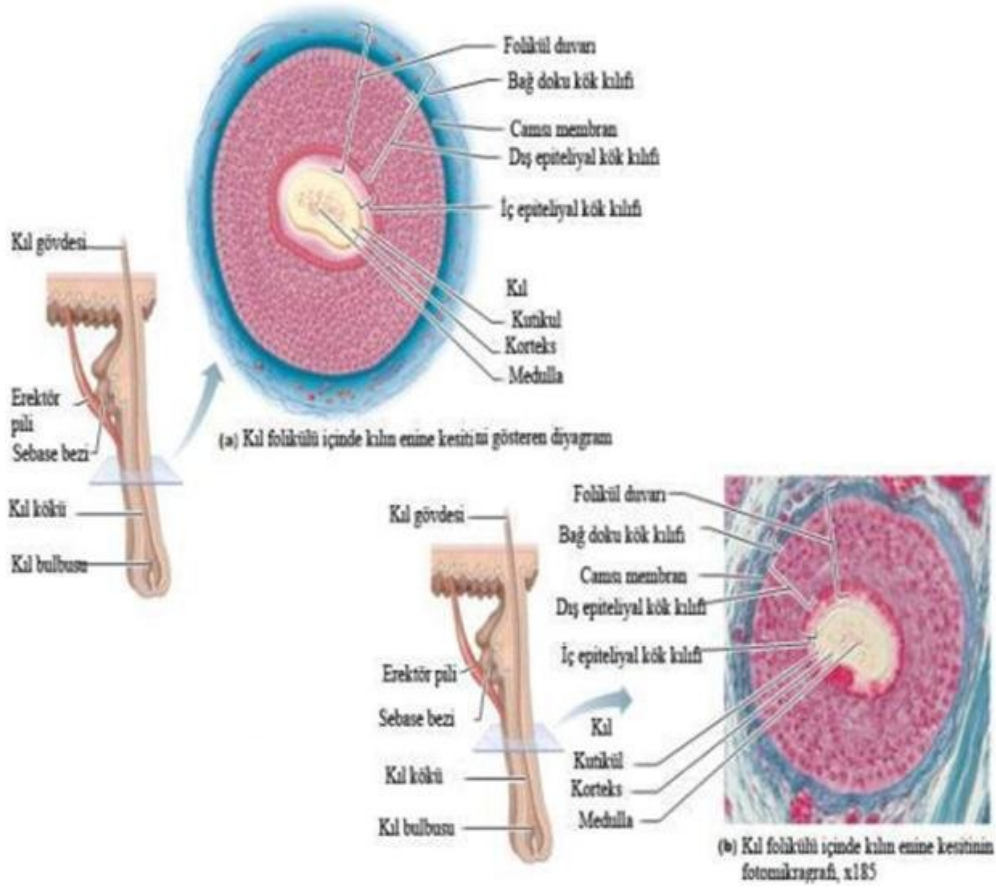


Şekil 1.13 : Kıl enine kesiti. DKK: Dış kök kılıfı, BD: Bağ doku kılıfı, KG: Kıl gövdesi, KK: Kıl korteksi, KKT: Kıl kütikülü, Grup 1, H&E, x1000 (Nazan Keskin, 2011).

İç kök kılıfının iç kısmında, kılın kütikülünü oluşturan hücreler ve keratinize korteks yer alır. Kıl kökü ve dermal papilla kıl bulbusunu oluşturur. İç kök kılıfı ve dış kök kılıfı hücreleri bu bölgede kaynaşarak kıl matriksini oluştururlar. Kıl, folikülün içinden yukarı doğru ilerleyerek deri yüzeyine çıkar (Şekil 1.13; 3.4).



## KIL ENİNE KESİTİ



Şekil 1.14 : Kıl folikülü (<http://antranik.org/integumentary-system-part-2/>).

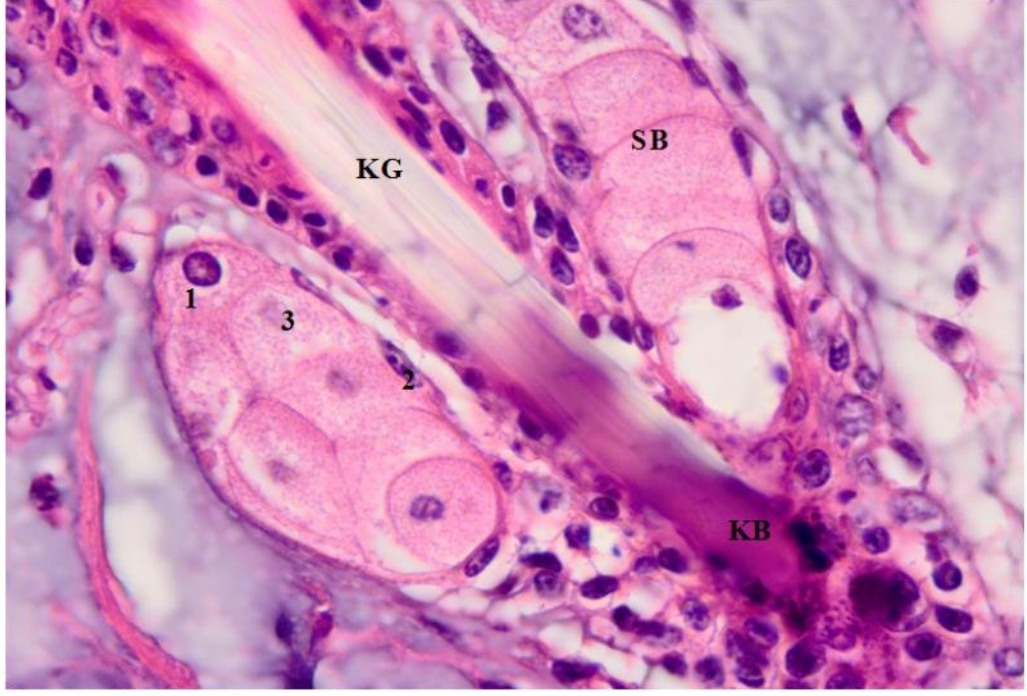
Erektör pili kası, kıl folikülüne eğik bir açı ile bağlı düz kastır ve soğuk, korku ve duygu durumlarında kasılarak kıl gövdesinin daha dik olmasını sağlar, deriye dikenli bir görüntü verir. Bu duruma “kaz derisi” denir. Bu kasılma sebumun kıl foliküllerine ve deri yüzeyine boşalmasını sağlar (Şekil 1.14).

Tırnaklar: Tırnaklar, el ve ayak parmaklarının terminal falankslarının dorsal yüzünde bulunan, 0,3-0,5 mm kalınlığındaki kalınlaşmış keratinden oluşan sert bir tabakadır. Tırnakların fonksiyonu, parmak uçlarını korumak ve kavramaya yardımcı olmaktır. Tırnak, tırnak yatağı, tırnak matriksi ve tırnak plağından oluşur. Tırnak matriksi bölünen keratinositlerden oluşur ve bu hücreler olgunlaşarak tırnağa dönüşürler. Tırnak plağı, yalnızca stratum bazale ve stratum spinosumdan oluşan deri yüzeyi olan tırnak yatağını örter. Tırnak plağı, yakındaki dermal kapillerlerden dolayı pembe görünür ve dipteki beyaz “lunula”, matriksin distal görünen kısmıdır. Tırnak plağının proksimal kenarı “eponişyum” ile örtülüdür ve bu yapı stratum korneumdan

uzanan bir katlantıdır (kütikül). Tırnağın serbest kenar boşluğunun altında, epiderminin stratum korneumunu “hiponişyum” olarak adlandırılan kalın bir yapı meydana getirir ve bu yapı matriks yatağını bakteri ve mantarlara karşı korur. Parmak tırnakları günde 0,1 mm büyürler, ayak parmak tırnakları ise daha yavaş uzar.

Sebase bezleri: Epidermal hücrelerden türevlenirler. Çok katlı bir epitelle örtülü olup, kıl folikülünün dış kök kılıfı ile devam ederler. Tabandaki bazal hücreler, çekirdekleri yassılaştırmış, BM üzerine oturan, dermis bağ dokusuyla çevrili hücrelerdir. Bölünerek bezin asinüsünü daha büyük, polihedral salgı hücreleri ile doldururlar. İçlerinde salgı biriken bu hücreler yuvarlaklaşarak dejenere olurlar ve sebum ile dolu hale gelirler (Şekil 1.15; 3.5). Hücrelerin parçalanıp lipit sitoplazmalarını saldığı holokrin salgılama yoluyla yağlı bir salgı olan sebum, yağ bezinin kısa kanalını geçerek kıl folikülü lümenine boşalır. Sebum, yağ asitleri, yağ esterleri, skualen ve kolesterolden oluşur.

Sırt, göğüs, yüz ve kafa derisinde kıl folikülleri ile yakından ilgilidirler, kıl bulunmayan bölgelerde bulunmazlar. Çocuklarda küçüktürler, ergenlikle genişlerler ve aktif hale geçerler. Androjenlere duyarlıdır.



Şekil 1.15 : Sebase bezi yapısı. SB: Sebase bezi (1: Sebum salgılayan hücreler, 2: Bazal hücreler, 3: Asinüs kanalına yakın bölgedeki çekirdekleri büzüşmüş sebum salgılayan hücreler), KB: Kıl bulbusu, KG: Kıl gövdesi, Grup 1, H&E, x1000 (Nazan Keskin, 2011).

Sebumun tüm fonksiyonları bilinmemekle beraber şu görevleri vardır:

- Epidermal geçirgenlik bariyerinin, yapısının ve farklılaşmasının devamlılığını sağlamak,
- Deriye özgü hormonal sinyalleşme
- Antioksidanların deri yüzeyine taşınması
- UV radyasyonundan koruma
- Antibakteriyal koruma
- Derinin yağlanması, sudan korunması ve kurumasının engellenmesi

Ter bezleri: Vücudun her yerinde ve deri yüzeyinde yaklaşık 2,5 milyon tane bulunurlar. Dermis içine yerleşmişlerdir. Yumak şeklinde tüplerden oluşur ve sulu maddeler salgılar. İki farklı tipi vardır:

**Ekrin bezler:** Basit kıvrımlı tübüler bezlerdir ve tüm deride, özellikle avuç içi, tabanlar, koltuk altı ve alında bulunurlar. Salgı kısımları derin dermiste bulunurken,

boşaltım kanalları deri yüzeyine açılır. Sulu salgı yapan granülsüz açık ve mukoz yapıda salgı yapan granüllü koyu hücreler olmak üzere iki tip hücre içerirler. Her ter bezinin bazal kısmı etrafında miyoepitelyal hücreler bulunur ve kasılmaları ile ter dışarı atılır. Fizyolojik ve termal kontrol altındadırlar. Sempatik (kolinerjik) sinirler ekrin bezleri innerve eder. Bu bezlerin salgıladığı sulu sıvı, klorit, laktik asit, yağ asidi, üre, glikoprotein ve mukopolisakkaritleri içerir.

**Apokrin bezler:** Büyük bezlerdir ve kanalları kıl foliküllerinden açılır. Koltuk altı, meme ucu etrafı ve anal bölgede bulunurlar ve termal kontrol altındadırlar. Ergenlikle aktif hale gelirler, kokusuz, proteince zengin, koyu kıvamlı bir salgı üretirler. Bu salgı deriye ulaştığında, bakteriler karakteristik kokusunu verir. Bu bezler, sempatik (adrenerjik) sinir fibrillerinin kontrolü altındadır.

### 1.1.3.6 Derinin görevleri

Deri, kompleks ve metabolik olarak aktif bir organdır ve birçok önemli fizyolojik fonksiyonu vardır.

Bariyer fonksiyonu ve deri deskuamasyonu: Canlı hücreler stratum korneumda doğru hareket ederken granüler tabakadaki granüller, içlerinde proteinleri biriktirirler. Granüller, fillagrin proteini ile doludur. Bunlar keratin ile kompleks oluşturarak, fillagrini proteolitik enzimlerce yıkımdan korur. Yeniden yapılan hücreler dış tabakaya doğru hareket ederken, enzimler fillagrin-keratin kompleksini yıkarlar. Fillagrin korneositlerin dış kısmını oluştururken, su tutan keratin iç kısımda kalır. Derinin nem içeriği azaldığında, fillagrin stratum korneumda yer alan spesifik proteolitik enzimlerce serbest aminoasitlere parçalanır. Fillagrinin bu parçalanması, sadece deri kuruduğu zaman osmotik basıncı ve su miktarını korumak için ortaya çıkar. Sağlıklı deride stratum korneumun su içeriği normal olarak %30 civarındadır. Laktik asit, üre ve tuz gibi diğer bileşenlerle birlikte serbest amino asitler, “doğal nemlendirme faktörleri (NMF)” olarak bilinirler ve su tutma yeterlilikleri nedeniyle derinin neminin korunmasından ve esnekliğinden sorumludurlar.

İntrasellüler lipit varlığı, derinin neminin, esnekliğinin ve bariyer özelliğinin korunmasında temel faktördür. Bu üst üste yığılmış çift tabaka, korneositleri çevreler ve suyu stratum korneumda tutar. Lipitler, lamellar granüllerden türevlenirler ve

granüler tabakadaki bozulan hücrelerin ekstrasellüler boşluklarına salgılanırlar. Ayrıca bu hücrelerin membranları da lipit salgılar. Lipitler, kolesterol, serbest yağ asitleri ve sifingolipitler içerirler. Seramid, bir çeşit sifingolipittir ve temel olarak yığın halindeki lipit yapıları oluşturur ve hidrofilik bölgelerinde su moleküllerini tutar. Bu üst üste yığılmış lipitler korneositleri çevreler, derinin yüzey tabakasında, NMF ve suyun hareketini engelleyerek geçirgen olmayan bir bariyer oluşturur. 40 yaşından sonra deri lipitlerinde belirgin bir düşüş olur. Bu nedenle kuru deri şartlarına karşı hassasiyetimiz artar.

Derinin pürüzsüzlüğü ve bütünlüğünün korunmasında, stratum korneumdaki hücrelerin dökülmesi önemli bir faktördür. Deskuamasyon, korneositlerin arasındaki protein köprülerinin, dezmozomların enzimatik olarak çözülmesi ile ilgilidir ve bunun sonucunda bu hücreler dökülür. Deskuamasyondan sorumlu proteolitik enzimler intrasellüler olarak bulunur ve sulu stratum korneum varlığında işlev görür. Suyun yokluğunda hücreler normal olarak dökülemezler, deri kırışır, kalınlaşır ve pulsu bir görünüm alır. Normal sağlıklı deride korneositlerin dökülmesi ve üretimi arasında bir denge vardır. Korneosit üretiminin artması, dökülmenin azalması ile ilgili olan Psoriasis (sedef) gibi hastalıklarda, sonuç kuru ve kırışik bir deridir ve hücreler deri üzerinde birikir.

UV'den koruma: Melanositler bazal tabakada yerleşmişlerdir ve melanin, UV radyasyonu ile oluşan hasarı engelleyerek derinin bariyer fonksiyonunda önemli role sahiptir. Epiderminin daha alt tabakalarında melanin granülleri keratinositlerin nükleusları üzerinde koruyucu bir kalkan oluşturur, dış tabakalarda ise daha eşit bir şekilde dağılmışlardır. Melanin UV radyasyonunu absorblar, böylece hücrelerin nükleuslarını DNA hasarlarından korur. UV radyasyonu keratinosit proliferasyonunu indükler, epiderminin kalınlaşmasına neden olur.

Termoregülasyon: Deri, vücut ısısının sabit tutulmasında önemli bir role sahiptir. Bunu da kutanöz vasküler sistemdeki kan akışını değiştirerek ve deri yüzeyinden terin buharlaşmasını sağlayarak gerçekleştirir. Soğuk havalarda kan damarları daralarak, deriye olan kan akımını azaltır ve vücut ısısını korur.

Immünolojik izleme: Fiziksel bir bariyer olmasının yanında deri ayrıca önemli immunolojik role sahiptir. Normalde, B hücreleri dışında hücresel bağışıklık sisteminin tüm elemanlarını içerir.

Duyu algılanması: Deri oldukça büyük bir duyu organıdır. Derideki kapsüllü ve serbest sinir sonlanmaları ısı (sıcak ve soğuk), dokunma, ağrı ve basınç uyarılarını algılar.

D vitamini sentezi: Deri UV ile birlikte, epidermiste sentezlenen öncü maddelerden, bağırsaklardan kalsiyum emilimi ve mineral metabolizması için gerekli olan D vitamini sentezler. (Eroschenko, 2008; Kierszenbaum, 2006; [http://www.radcliffe-oxford.com/books/samplechapter/7750/01\\_bensouillah-241a6c80rdz.pdf](http://www.radcliffe-oxford.com/books/samplechapter/7750/01_bensouillah-241a6c80rdz.pdf); Şenol M: [web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc](http://web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc)).

#### **1.1.4 Mast hücreleri**

Bağ dokusu hücreleri sabit ve hareketli hücreler olmak üzere iki sınıftır. Fibroblastlar, farklılaşmamış mezenkimal hücreler, yağ hücreleri ve retiküler hücreler sabit hücrelerdir. Makrofajlar, eozinofil lökositler, mast hücreleri, lenfositler, plazma hücreleri ve pigment hücreleri ise hareketli hücrelerdir (Akay, 2001). Mast hücreleri yabancı maddeleri tespit edip, lokal enflamatuvar reaksiyonlardan sorumlu olan uzun ömürlü hücrelerdir (Çebi ve diğ., 1997; Akay, 2001). Bu hücreler, 1878'de Ehrlich tarafından yoğun granüllü sitoplazması nedeniyle "mastzellen" (iyi beslenmiş hücre) olarak tanımlanan, granüler metakromazi gösteren, bağ dokuda yağ hücrelerinden sonraki en büyük hücrelerdir (Çebi ve diğ., 1997; Vardı ve diğ., 2000; Özdemir ve Savaşan, 2005). Mast hücreleri, kemik iliğindeki kök hücrelerin kan dolaşımı yoluyla bağ dokuya geçip, burada mast hücrelerine farklılaşması ya da diğer mast hücrelerinin mitoz ile bölünmesiyle meydana gelir. Bağ dokuda, içinde heparin bulunduran "bağ dokusu mast hücreleri" ve içerisinde heparin yerine kondroitin sülfat bulunduran "mukozal mast hücreleri" olmak üzere iki tip mast hücre grubu bulunur (Akay, 2001).

Bu hücreler yuvarlak ya da oval çekirdekli ve sitoplazmaları, içerdikleri heparinden dolayı metakromazi gösteren granüllerle doludur. Granüllerde heparine ilave olarak, histamin, lökotrienler, eozinofil kemotaksik faktör-A gibi maddeler ve

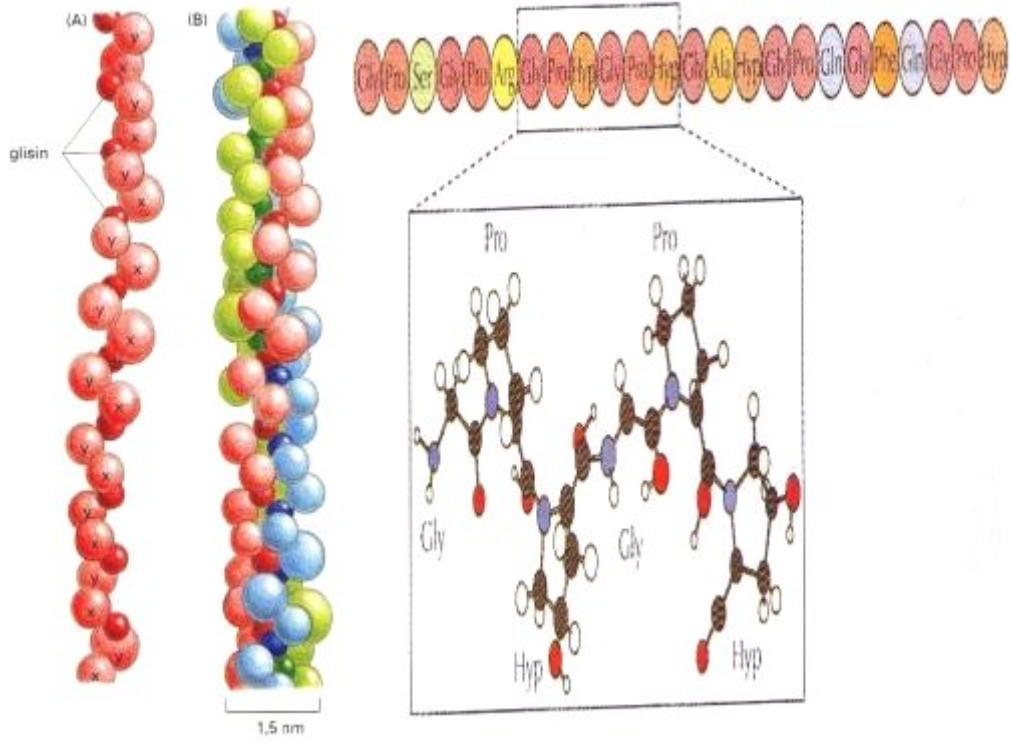
B-glukronidaz, heksozaminidaz, arilsülfataz ve şimaz gibi enzimler bulunur. Kan serumunda bulunan ve alerjik tepkimelerde etkili olan IgE'ye bağlanabilmek için mast hücre yüzeylerinde çok sayıda reseptör bulunur. Alerjik antijen varlığında, IgE ile mast hücresi birleşerek bir kompleks oluşturur. Zar geçirgenliğini arttıran bu yapı, mast hücre granüllerinin içeriğinin ortama yayılması ile düz kasları, salgı hücrelerini, küçük kan damarlarını, eozinofil lökositleri ve kan pulcuklarını etkileyerek harekete geçirir (Akay, 2001).

### **1.1.5 Kollajen ve elastik fibriller**

Hayvan hücrelerinde hücreler, salgılanan proteinlerden ve polisakkaritlerden oluşan bir hücre dışı matriks [ekstrasellüler matriks (ECM)] içine gömülüdürler. Hücre dışı matriks hücreler arası boşlukları doldurarak, hücre ve dokuları birbirine bağlar. En fazla miktarda bağ dokuda bulunur.

Hücre dışı matriks, jel benzeri polisakkarit temel maddesi içine gömülü olan ipliksi proteinlerden oluşur. Ayrıca, matriks moleküllerini birbirine ya da komşu hücreye bağlayan adezyon proteinleri de bulunur.

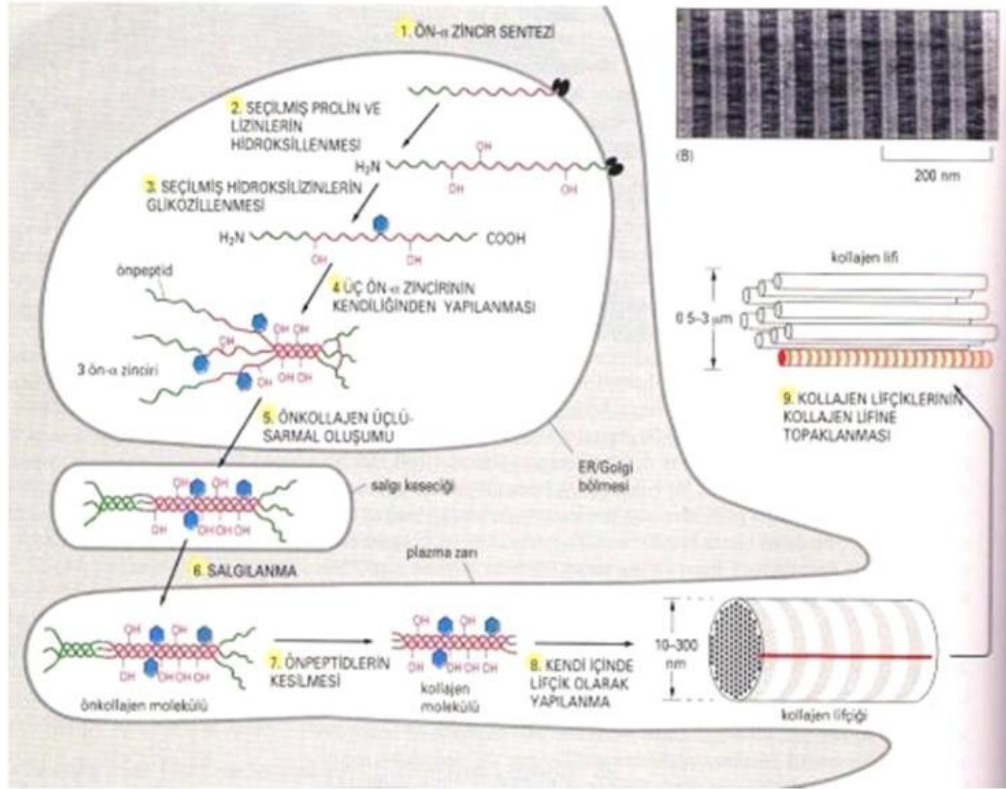
Hücre dışı matriksin en önemli yapısal proteini, hayvan dokularında en bol bulunan ve en az 19 üyesi bulunan bir protein ailesi olan kollajendir. “ $\alpha$  zinciri” denilen üç polipeptit zincirinin birbirine sıkıca dolandığı, üçlü sarmal bir yapı oluşturur. Üçlü sarmal bölgelerinde Gly-X-Y aminoasit tekrarları bulunur. Her üç aminoasitte bir bulunan glisin (yan dalı sadece bir hidrojen olan, en küçük aminoasit), sarmalın sıkıca paketlenmesini sağlar. Halka yapıları nedeniyle sarmal yapıyı sağlamlaştırmak üzere, genel olarak X pozisyonunda pirolin, Y pozisyonunda ise hidroksipirolin bulunur (Şekil 1.16).



Şekil 1.16 : Kollajen molekülünün yapısı. A: Bir kollajen  $\alpha$  zinciri. B: Üç  $\alpha$  zinciri ile oluşan üçlü sarmal yapı (Alberts ve diğ., 2008; Cooper ve Hausman, 2006).

Bağ dokuda temel olarak Tip I, II, III, V ve XI kollajenler bulunur ve bunlar lif oluşturan kollajenlerdir. Tip I kollajen en bol bulunur ve bağ dokuda fibril yapıları oluşturur. Yaklaşık 1000 aminositte (330 Gly-X-Y tekrarıyla) oluşur. Bu kollajenler hücreden prokollajen olarak salgılandıktan sonra, kesilir ve kollajen oluşur. Daha sonra üçlü sarmal moleküllerin düzenli, aralıklı tekrarları halinde bir araya geldiği kollajen fibriller meydana gelir (Şekil 1.17).





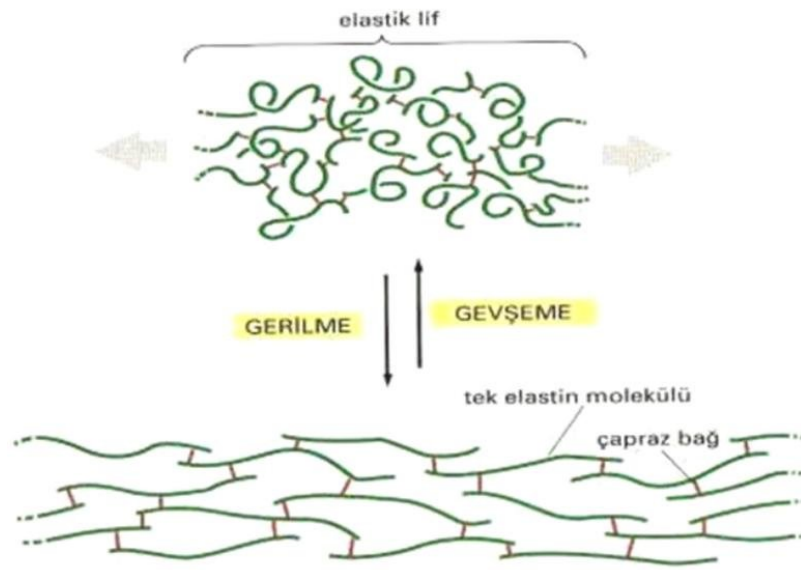
Şekil 1.17 : Kollajen lifçiği oluşumunda hücre içi ve dışı yollar (Alberts ve diğ., 2008).

Bağ dokusu fibriller kollajene ek olarak, kollajenleri birbirine ya da diğer matris bileşenlerine tutturarak fibril-bağlantılı kollajenler (Tip IX ve XII) içerirler. Tip IV ve VII kollajenler, ağ oluşturan kollajenlerdir ve fibril yapan kollajenlere göre daha esneklerdir. Bazal laminada, Tip IV kollajen, keçe benzeri ağı yapıyı oluştururken, Tip VII kollajen dimerleri çıpalayan lifçikleri (deride oldukça bol miktarda bulunur) meydana getirir.

Kollajen fibriller esnekler ve basınç altında olmadıkları zaman hafif dalgalı bir yapı gösterirler. Çekilmelere karşı oldukça dayanıklıdırlar.

Deri, kan damarı, akciğer gibi esnek organlarda bağ dokusu bol miktarda elastik lifler de içerir. Gerilmeyi sınırlamak ve dokuyu yırtılmaktan korumak için uzun ve esnek olmayan kollajen lifçikleri, elastik liflerle birlikte örülmüştür. Elastik liflerin temel bileşeni 750 aminoasit uzunluğunda olan elastindir. Bu protein pirolin ve glisin yönünden zengindir. Elastin polipeptidinde ard arda gelen iki bölge bulunur: moleküle esneklik veren hidrofob parçalar ve komşu moleküllerle çapraz bağ

yapmasını sağlayan, alanin ve lizinden zengin  $\alpha$ -sarmal parçalar. Kollajenden farklı olarak glikozillenme göstermez ve az miktarda hidrokspirolin içerirken, hidroksilizin içermez. Çözünür tropoelastin hücre dışına salgılanır ve elastin liflerine yapılıdır. Tropoelastin molekülleri içindeki lizin moleküllerinin yan zincirleri arasında meydana gelen kovalent çapraz bağlantılarla elastin lifleri ve ağ yapısı oluşur (Şekil 1.18). Elastik lifler, elastine bağlanan ve elastin lifin bütünlüğünü sağlayan büyük protein fibrillin gibi birkaç farklı glikoproteinden oluşan mikrolifçiklerin meydana getirdiği bir kılıfla kaplıdır.



Şekil 1.18 : Elastin molekülleri ağının gerilmesi (Alberts ve diğ., 2008).

Elastik fibriller, esnektir, uzayıp kısalabilir ve gerilebilirler, uzunlukları yaklaşık iki misline çıkabilir ve kollajene göre daha incedir (Alberts ve diğ., 2008; Cooper ve Hausman, 2006; Akay, 2001).

### 1.1.6 Bazal lamina ve hücreler arası bağlantılar

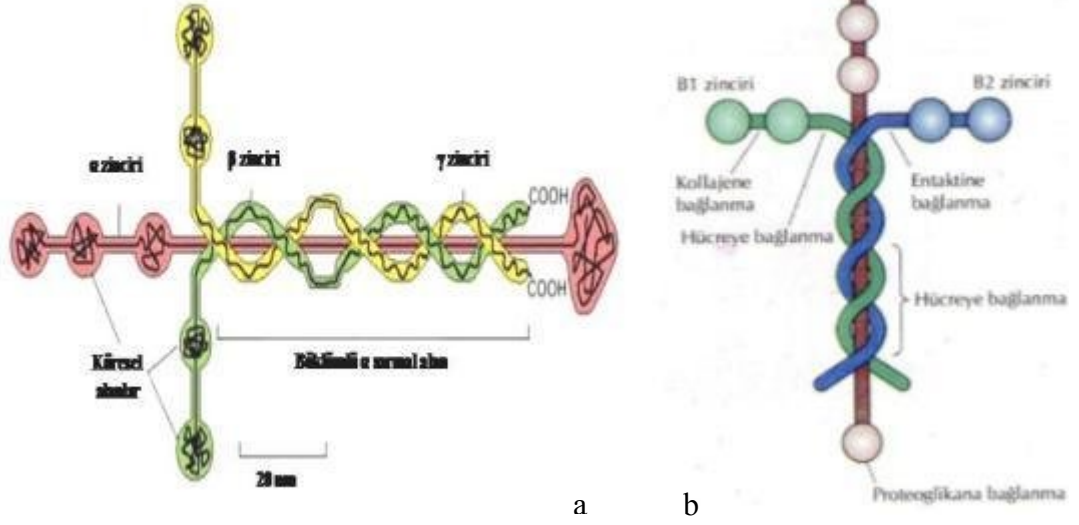
Bazal lamina bir hücre dışı matriks yapısıdır ve farklı adezyon molekülleri içerir (Cooper ve Hausman, 2006).

Bazal lamina temel olarak, Tip IV kollajen, laminin, nidojen (=entaktin) ve bir heparan sülfat proteoglikanı olan perlekan glikoproteinlerinden oluşur. Tüm epitel hücre tabakalarının ve tüplerin altını döşeyen, aynı zamanda kas hücrelerini, adipoz

hücrelerini ve periferal sınırları çevreleyen, esnek, ince (40-120 nm), özelleşmiş hücre dışı matriks minderleridir. Üst kısmındaki elemanları alttaki bağ dokudan ayırır. Bazal laminanın, yapısal, süzme, hücre kutuplaşmasının belirlenmesi, hücre metabolizmasının etkilenmesi, komşu plazma zarlarındaki proteinlerin düzenlenmesi, hücre yaşamı, çoğalması ya da farklılaşmasının desteklenmesi ve hücre göçü için özgün yollar oluşturmak gibi görevleri vardır. Büyük ölçüde, üzerindeki hücreler tarafından sentezlenir. Derideki çok katlı epitelde bazal lamina, alttaki bağ dokusuna Tip VII kollajen moleküllerinden oluşan çipalayıcı lifçikler ile bağlanır. BM terimi, bazal lamina ve bu lifçiklerin birleşimini tanımlamaktadır (Alberts ve diğ., 2008; Cooper ve Hausman, 2006).

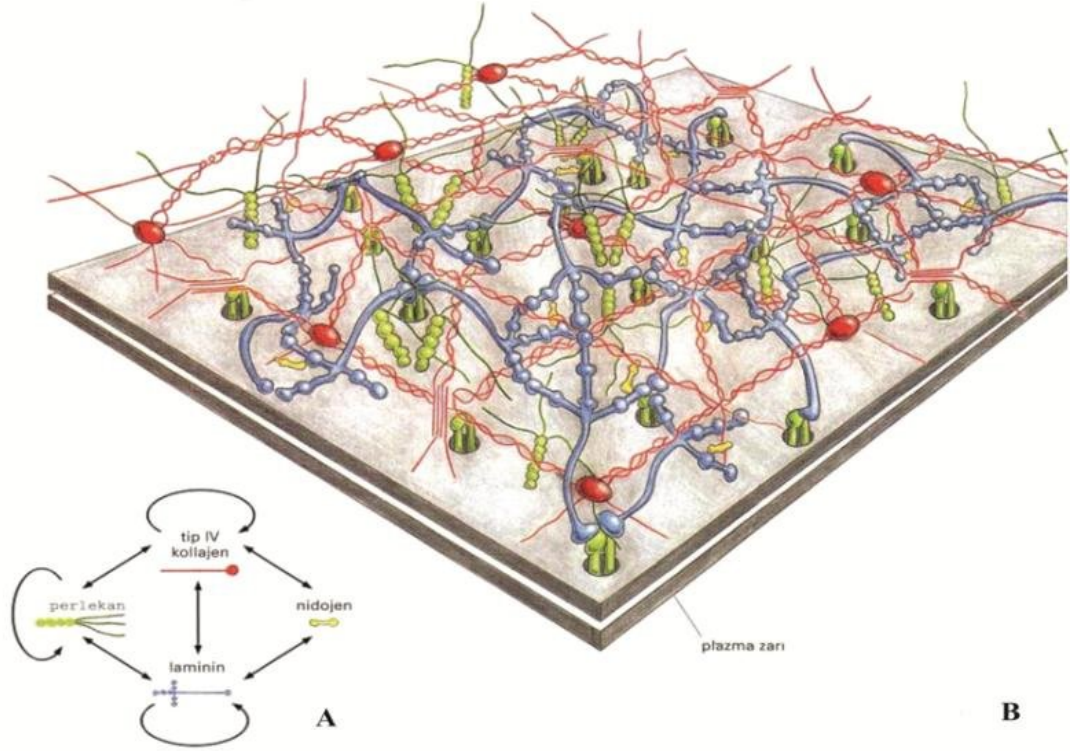
#### **1.1.6.1 Laminin**

Erken gelişme döneminde bazal lamina temelde laminin moleküllerinden oluşur. Lamininler, hücre dışı glikoprotein ailesidir. Disülfid bağları ile bağlı üç farklı polipeptit zinciri ( $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ ) içerirler ve üç kısa, bir uzun kol ile esnek bir molekül halinde organize olmuşlardır (Şekil 1.19). Her zincir tipinin birçok eş biçimi değişik kombinasyonlarla birleşerek büyük, hemen hemen onbeş farklı lamininden oluşan, laminin ailesini meydana getirir. Laminin  $\gamma$ 1 zinciri birçok laminin heterodimerinde ortak ve bundan yoksun fareler bazal lamina oluşturamadıkları için embriyogenezde ölürlür. Lamininler primordial germ hücrelerinin göçünde önemli rollere sahiptir. Migrasyon süresince germ hücrelerinin transvers yüzleri özellikle laminin açısından zengindir.



Şekil 1.19 : Laminin yapısı (a: Alberts ve diğ., 2008; b: Cooper ve Hausman, 2006).

Hücre yüzey reseptörlerine (integrin ailesi üyeleri, distroglukan) sıkıca bağlanmasına ek olarak, lamininler diğer lamininlere, Tip IV kollajene ve perlekana bağlanabilirler (Şekil 1.20-A). Ayrıca, Tip IV kollajene bağlanan entaktin ve nidojen denilen adezyon proteinleri ile de sıkı ilişki içindedirler. BM'lerdeki laminin, Tip IV kollajen ve perlekan molekülleri Şekil 1.20-B'de gösterildiği gibi birbirinden ayrı ancak bağlı ağlar oluştururlar. Bu iç içe geçmiş ağ BM'ye sağlamlık ve esneklik kazandırır (Karp, 2008; Cooper ve Hausman, 2006).



Şekil 1.20 : Bazal laminanın moleküler yapısı. A: Bazal laminada moleküller arası etkileşimler, B: Bazal laminadaki özgül etkileşimler (Alberts ve diğ., 2008).

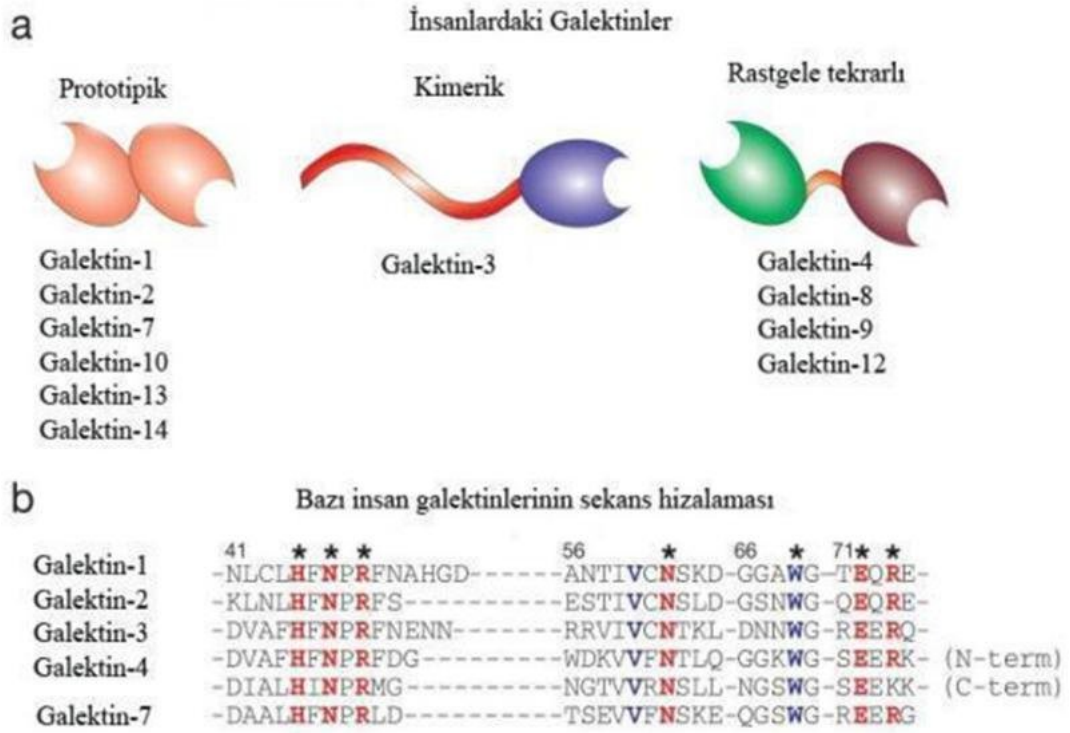
### 1.1.7 Galektinler

Hücrelerin hayatta kalım ve ölümünü regüle ederek, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengeyi sağlayan Bcl ailesinden başka galektinler gibi çeşitli proteinler vardır. Fakat sadece galektinler, hem hücre içinde hem de hücre dışında faaliyet göstererek ölüm sinyallerini başlatıp hücre canlılığını düzenlerler (Hernandez ve Baum, 2002). Galektinler ve bunların ligandları hücre transformasyonu ve hücre metastazından sorumlu tutulmuş ve prognostik (hastalığın sonucunu tahmin ile ilgili) değeri olduğu saptanmıştır (Grassadonia ve diğ., 2004).

Galektinler (S-tip lektinler), galaktozit içeren glikanlara bağlanan ve hayvan lektinleri sınıfına dahil olan geniş bir protein ailesidir. Bu ailenin üyeleri, hücre adezyonunu, göçünü ve çoğalmasını düzenlerler (Klıma ve diğ., 2009; Vereecken ve diğ., 2005). Hücre büyümesi ve ECM interaksiyonunda (Seyrek ve diğ., 2004) ve tümör gelişiminde rol oynarlar (Castronovo ve diğ., 1999). Galektinler sahip oldukları CRD (karbohidrat tanıma domaini) domainlerine göre 3 gruba ayrılırlar

(Şekil 1.21). Karbohidrat tanıma bölgelerinde primer yapısal bir homolojiye sahiptirler. Yaklaşık 17 çeşit galektin tanımlanmıştır.

Galektin-3 birçok hücrede nukleus, sitoplazma ya da hücre yüzeyinde bulunur. Bu şekilde bir lokalizasyona sahip olması birçok fonksiyonunun olduğunu düşündürmektedir. (Varki ve diğ., 1999). Galektinlerin biyolojik fonksiyonları şöyle özetlenebilir: hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonu, hücre yaşamsallığı ve büyümesi, hücre içinde metabolizmanın düzenlenmesi. Ayrıca, çeşitli tümör hücrelerinde ekspresyonlarının bulunması, tümörögenesis ve metastazda rollerinin olabileceğini düşündürmektedir. İnsan göğüs karsinoma hücrelerinde yüksek miktarda eksprese olan Galektin-3, ilaçla indüklenen apoptozisi inhibe eder (Nakahara ve diğ., 2005'te özetlenmiştir).



Şekil 1.21 : İnsanlardaki farklı tip galektinler. a: insan galektinleri yapılarına göre üç gruba ayrılırlar: prototip, kimerik ve ard arda (tandem) tekrarlı. Çoğu galektinlerin karbohidrat tanıma bölgesi (CRD) yaklaşık 130 aminoasit içerir ve bu oval domain olarak gösterilir. b: birçok insan galektinlerinin sekans uyumları. Totalda 135 aminoasite sahip olan Galektin-1'in aminoasit numaraları gösterilmiştir, fakat diğer galektinler numaraları gösterilmeden hizalanmıştır. Bu kalıntılar galektinler arasında yüksek oranda korunmuştur ve yıldız ile gösterilen bölgeler karbohidrat ligandları ile bağ yapan bölgeler olarak bilinmektedir. Kırmızılar korunmuş hidrofilik kalıntılar, maviler korunmuş hidrofobik kalıntılardır. (N-term) Amino-terminal; (C-term) karboksi-terminal (Varki ve diğ., 2009).

Prototipik galektinler: Sadece tek bir CRD domain içerirler ve bu da homodimer oluşturmaları ile ilgilidir.

Kimerik galektinler: Omurgalılarda bulunan ve bilinen tek kimerik galektin türü Galektin-3'tür. Galektin-3 tek bir CRD ve pirolin, glisin ve tirozince zengin büyük bir amino-terminal bölgesine sahip olması ile karakteristiktir. Bu amino terminal yapısı synexin ve synaptophysin gibi diğer bazı proteinlere benzer ve bu yapının kendi kendine kümeleşmesine katkıda bulunur. Amino-terminal bölgesi matriks mettalloproteinaz-2 (MMP-2) ve MMP-9 gibi metalloproteinazlara hassastır. Kimerik galektinler daha çok omurgasızlarda bulunur.



Ard arda (tandem) tekrarlı galektinler: En az 2 CRD tek bir polipeptit zinciri içinde oluşur. Bunlar küçük bir peptit domain ile köprülenmiş ya da bağlanmışlardır. Bu bağlantı domainleri 5-50 amino asit uzunluğunda olabilirler.

Galektinler, çeşitli hücre ve dokularda özel ekspresyon paterni gösterirler ve ekspresyonları gelişim sürecinde yakından düzenlenir. Bu proteinler temel olarak sitoplazmada bulunurlar. Bazıları hücreden salgılanırlar ve ECM'de ya da hücre yüzeyindeki glikozillenmiş proteinlerle uygun bir etkileşime girerler. Bu reseptörler integrin gibi hücre adezyon molekülleri, laminin ve fibronektin izoformları gibi matriks glikoproteinleridir. Son çalışmalar hücre-hücre, hücre-matriks adezyonunun düzenlenmesinde galektinlerin rollerinin anlaşılmasını arttırmıştır. Bu etkileşimler normal hücre motilitesi ve polaritesinin düzenlenmesinde ve tümör gelişimi, inflamasyon ve böbrek tübülleri gibi dallanmış epitellerdeki kistik gelişimdeki adeziv fonksiyonun kaybı ile yakından ilgilidir (Hughes, 2001).

Galektin-1, Galektin-3 ve Galektin-9, akut ve kronik iltihabi hastalıklar, otoimmünite ve kanser modülasyonunda önemli rollere sahiptir ve dolayısıyla yeni ilaç keşfi için moleküler hedefler olarak çok daha fazla ilgi görmektedirler (Norling ve diğ., 2009). Galektin-7 genindeki mutasyonun epidermal hastalıklarla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Bernerd ve diğ., 1999). Galektin-3 ve 12'nin hücre döngüsünü düzenlediği gösterilmiştir (Liu ve diğ., 2002).

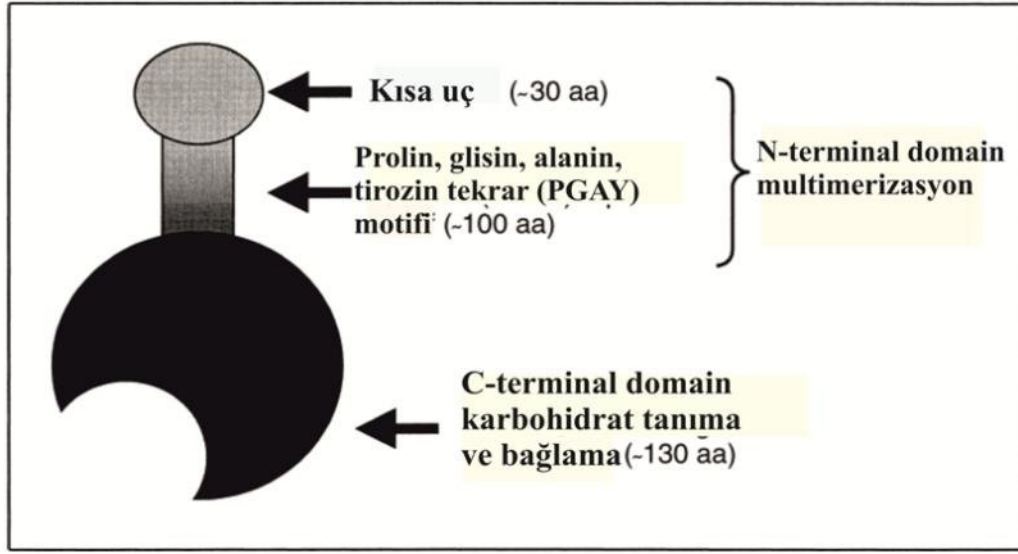
#### **1.1.7.1 Galektin-3**

Galektin-3, anti-apoptotik bir moleküldür (Matarrese ve diğ., 2000b; Cecchinelli ve diğ., 2006; Hernandez ve Baum, 2002) ve memelilerde tanımlanan tek kimerik galektindir (Hernandez ve Baum, 2002).

Yapı olarak 3 farklı yapısal bölge içerir: 1. Kısa, glisin ve pirolinden zengin ve bir serin fosforilasyon bölgesi içeren N-terminal bölgesi (hücre sel hedeflerin kontrolü için) 2. Tekrarlı kollajen benzeri bir dizi (matriks metalloproteinazlar için substrat görevi görür) 3. Tek bir karbohidrat tanıma bölgesi (CRD) ve *bcl-2* gen ailesinin homoloji bölgelerinde (BH1) korunmuş olarak bulunan NWGR anti-death motifi içeren –COOH-terminal bölgesi (Akahani ve diğ., 1997; Takenaka ve diğ., 2004b'te



özetlenmiştir; Prieto et al, 2006'da özetlenmiştir; Nangia-Makker ve diğ., 2008 özetlenmiştir) (Şekil 1.22).



Şekil 1.22 : Galectin-3'ün yapısı ([http://www.nature.com/ki/journal/v58/n77s/fig\\_tab/4491973f1.html](http://www.nature.com/ki/journal/v58/n77s/fig_tab/4491973f1.html)).

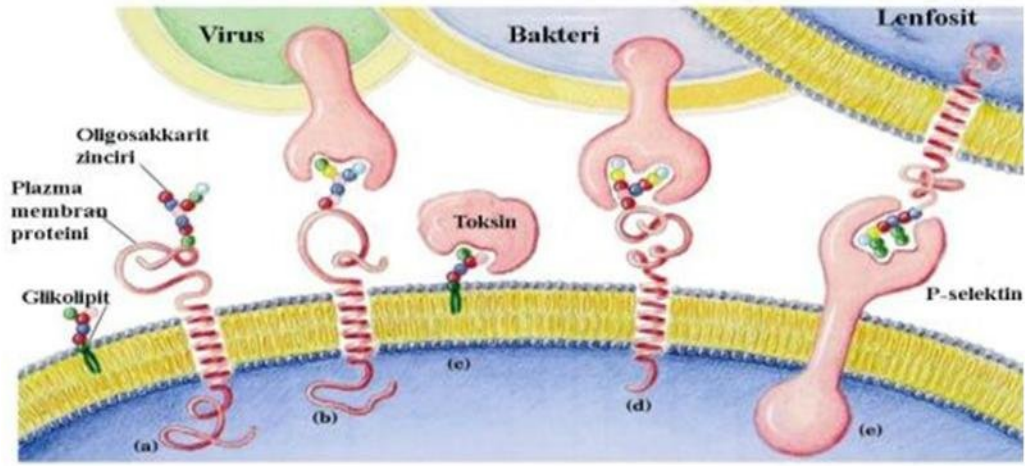
Galectin-3 her yerde eksprese edilir. Sitoplazmada, ekstrasellüler alanda ve hücre yüzeyinde bulunur (Vereecken ve diğ., 2005; Nangia-Makker ve diğ., 2008'de özetlenmiştir). Ayrıca keratinositler ve diğer epitelyum hücrelerinde de eksprese edilir (Larsen, 2011; Saegusa ve diğ., 2008). Bu protein, hücre adezyonu, büyümesi, göçü ve apoptozis gibi olayların düzenlenmesi (Moon ve diğ., 2001), çeşitli immün sistem hücrelerinin büyümesi ve farklılaşması, pre-mRNA splicing'i (Yang ve diğ., 2008'de özetlenmiştir), hücre adezyonu, invazyon, anjiyogenezis (Nangia-Makker ve diğ., 2008), kanser gelişimi ve metastaz (Akahani ve diğ., 1997; Vereecken ve diğ., 2005; Mourad-Zeidan ve diğ., 2008) gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreç ile ilgilidir.

### 1.1.8 Glikokonjugatlar

Karbohidratlar organizmada enerji kaynağı (glikojen, nişasta gibi) olmanın yanında, yapısal (kitin, selüloz gibi) olarak da bulunmaktadır. Yaptıkları çok çeşitli bağlar (1→3, 1→4, 1→6) sayesinde, anomerik yapılarıyla ( $\alpha$  veya  $\beta$ ) ve çeşitli modifikasyonlara (sülfatlanma, fosfatlanma) açık olmaları nedeniyle karbohidratlar nükleik asitlere ve aminoasitlere göre daha çok bilgi depolayabilirler (Seyrek ve

Bildik, 2001’de özetlenmiştir). Karbohidratlar, proteinler ve lipidlere bağlanarak, sırasıyla proteoglikanları ve glikolipitleri oluştururlar ve bunların karbohidrat kısımlarına “glikan” denir (Erden, 2008). Bu şekilde diğer moleküllerle şekerlerin oluşturduğu hibrit moleküller, glikokonjugatlar olarak adlandırılır (Karaçalı, 2003’de özetlenmiştir).

Glikanlar, çeşitli virüsler, bakteriler ve parazitler için spesifik reseptörler olarak iş görürler. Ayrıca, birçok bitki ve bakteriyel toksin için de reseptördür ve birçok otoimmün ve alloimmün reaksiyon için antijendir (Şekil 1.23) (Varki ve diğ., 1999).



Şekil 1.23 : Hücre tanımada karbohidratlar (<http://www.proprofs.com/flashcards/cardshowall.php?title=mcb-block-3-organelles-cell-membrane>).

Ökaryotik hücrelerde bulunan oligosakkaritlerin genel sınıfları aglikon (protein ya da lipid) çekirdek ile yaptıkları bağlara göre tanımlanır. N-glikan (N-bağlı oligosakkarit, N-(Asn)-bağlı oligosakkarit), bir polipeptid zincirinin, Asn-X-Ser/Thr dizisini içeren asparajin uzantısına kovalent olarak bağlı şeker zincirleridir. N-glikanlar ortak bir pentasakkarit çekirdeği paylaşırlar ve genel olarak üç ana sınıfı vardır: yüksek mannoz tip, kompleks tip ve hibrit tip. O-glikan (O-bağlı oligosakkarit, O-(Ser/Thr)-bağlı oligosakkarit), tipik olarak polipeptid zincirine N-asetil galaktozamin (GalNAc) yoluyla serin ya da treonin uzantılarından bağlanır ve farklı yapısal çekirdek sınıfları oluşturur. O-glikozilasyon musin tip moleküllerin oluşumu ile sonuçlanabilir. Musinler, yüksek miktarlarda O-glikan içeren, hücre yüzeyi ya da salgı proteinleri olarak tanımlanırlar (Şekil 1.24). Glikoprotein, polipeptid iskelete N- ya da O-bağlı ile kovalent olarak bağlanmış bir ya da daha fazla sayıda oligosakkarit zinciri taşıyan

bir glikokonjugattır. Proteoglikan, bir merkezi proteine kovalent bağlı bir ya da daha fazla glikozaminoglikan zinciri içeren glikokonjugattır. Glikosifingolipitler (glikolipitler), yağ asidi ve sifingozin gibi uzun zincirlerden oluşan seramit benzeri lipid parçalarının terminal primer hidroksil gruplarına oligosakkaritlerin genellikle glikoz ya da galaktoz yoluyla bağlanmasıyla oluşur. Glikolipitler nötral ya da anyonik olabilirler. Gangliosit, bir ya da daha fazla miktarda sialik asit uzantısı içeren anyonik bir glikolipittir. Endoplazmik retikulumda sentezlenen proteinler ya da lipidler translasyon esnasında ya da post translasyonel olarak şeker zincirleri ile modifiye edilirler ve bu reaksiyonlar glikoziltransferazlar tarafından katalizlenirler. Lipidlere ve proteinlere eklenen şekerlerin kaynağı aktive edilmiş monosakkaritlerdir (şeker nükleotidleri) ve bunlar sitoplazmik kompartmanda, endogenik ya da ekzogenik orijinli monosakkarit öncüllerinden sentezlenir. Endoplazmik retikulum lümeninde glikozilasyon reaksiyonlarının gerçekleşebilmesi için bu vericiler aktif taşıma ile zardan içeri alınırlar (Varki ve diğ., 1999).

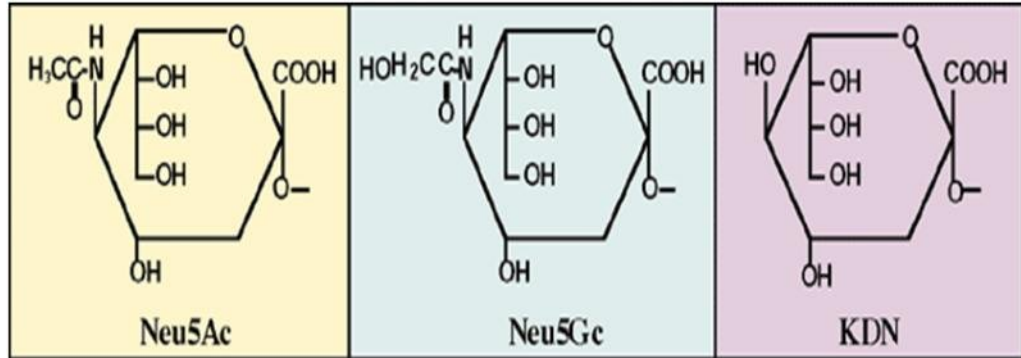


Şekil 1.24 : Glikanların proteinlere bağlanma örnekleri (Wang, 2005).

GAG'lar, yapı taşları olan disakkaritleri bir amino şeker (GlcNAc ya da GalNAc) ve bir uronik asit (GlcA ve IdoA) içeren lineer polisakkaritlerdir. Tüm memeli hücreleri proteoglikanları üreterek bunları ECM'ye salgırlar, plazma zarlarına dahil ederler ya da bunları salgı granülleri olarak depolarlar. ECM içine gömülü olarak bulunanlar, hücrelerin biyolojik özelliklerini ve dokunun fiziksel karakteristiklerini belirler. ECM'nin temel bileşenleri, gerilme direnci sağlayan fibröz proteinler (kollajen ve

elastin gibi), adeziv glikoproteinler (fibronektin, laminin gibi) ve sulu jeller oluşturarak basınç kuvvetine dayanıklılığı sağlayan proteoglikanlardır (Varki ve diğ., 1999).

Sialik asitler (SİA) (Şekil 1.25), dokuz karbonlu asidik şekerlerdir ve N-asetilnöraminik asit (Neu5Ac, NeuNac, NeuAc ya da NANA), N-glikolilnöraminik asit (Neu5Gc) ve deaminonöraminik asit (KDN, 2-keto-3-deoksi-D-glisero-D-galaktononurosonik asit)'in asetilasyon, sülfasyon, metilasyon, laktilasyon ve laktonizasyon yoluyla modifiye edilmeleri ile oluşan yaklaşık 40 doğal türevi içeren bir ailedir (<http://www.glycoforum.gr.jp/science/glycogenes/05/05E.html>). SİA, hücre yüzey glikolipit ve glikoproteinlerinin en uç kısımlarında yer alır ve özellikle hücre ilişkilerinde ve sinyal iletimi olaylarında önemli rolleri vardır (Izzetoglu ve Karacali, 2012; Varki ve diğ., 1999). SİA ayrıca, makromolekülleri ve hücreleri enzimatik ve immunolojik saldırılardan korur, toksinler ve mikroorganizmalar gibi birçok fizyolojik reseptör için tanıma bölgeleri oluşturur (Schauer, 2004).



Şekil 1.25 : Sialik asitlerin yapısı (<http://www.glycoforum.gr.jp/science/glycogenes/05/05E.html>).

SİA'in çeşitli bağları ve modifikasyonları, dokuya spesifik ve gelişimle düzenlenen ekspresyon gösterir. SİA'ların glikokonjugatlara transferi "sialiltransferazlar" denen, bağ spesifik enzimlerce sağlanır. Bu ailenin tümünde sialil motifi denen korunmuş bir dizi vardır ve bu dizinin şeker-nükleotid tanıma bölgesini oluşturduğu düşünülmektedir. Sialik asitin koparılması da asidik olan endozomal ya da lizozomal bölgelerdeki sialidazlarca sağlanır. Birçok mikroorganizmada da silaidazların varlığı gösterilmiştir. Bazı patojenik protozoalarda bulunan trans-sialidazlar, memeli hücre yüzeylerindeki sialik asitleri uzaklaştırarak kendi hücre yüzeylerindeki molekülere

transfer eder ve böylece konukçunun immün sisteminden korunmuş olurlar. Terminal bir bölgede bulunmaları ve negatif yükleri nedeniyle sialik asitler, birçok moleküller arası ve hücreler arası reaksiyonu inhibe etme yeteneğine sahiptir (Varki ve diğ., 1999).

SİA, özel lektinler için tanınmada kritik olan bileşenlerdir. SİA'in bağları, bazende altta bulunan şeker zincirleri birçok lektin tarafından spesifik olarak tanınır. Birçok mikrobiyal-konukçu interaksiyonu sialillenmiş ligandların tanınmasına bağlıdır (Örn: İnfluenza virüsü ve *Helicobacter pylori*). Belli tiplerdeki lenfositler O-asetil sialik asitlere sahipken, diğerlerinde bu yapı yoktur. Yine bazı malignansilere sahip hastaların T-hücrelerinde O-asetilasyonun artışı rapor edilmiştir. Hücre yüzeyindeki O-asetil ve N-glikolil gruplarının ekspresyonu bakteriyel siyalidazların aktivitesini sınırlandırabilir ve bazı patojenik virüslerin bağlanmasını bloke edebilir. Transformasyon ve malign gelişim, tümör hücre yüzeylerindeki sialik asit tiplerinin, bağlarının ve miktarının değişimi ile ilgilidir. 9-pozisyonundaki O-asetilasyon kolon karsinomlarında kaybolurken, melonomlarda ortaya çıkar. Neu5Ac, onko-fetal antijendir. Fetal insan dokularında, insan tümörlerinde ve insan tümör hücre hatlarında eksprese olurken, normal insan dokularında bulunmaz (Varki ve diğ., 1999).

### 1.1.9 Lektinler

Karbohidratlar, hücrelerin iletişiminin sağlanmasında anahtar rol oynarlar ve bunun içinde spesifik lektinleri reseptör olarak kullanırlar (Seyrek ve Bildik, 2001). Lektinler (latince legere = seçici anlamında), enzim ve antikor özelliğinde olmayan, kendileri için spesifik karbohidrat uzantılarına bağlanan proteinlerdir. Lektinler, endogenik ya da egzogenik kaynaklı olabilir (Varki ve diğ., 1999).

Hayvansal lektinler, en iyi bağlandıkları karbohidrat dizisine göre sınıflandırılırlar (Örn:  $\beta$ -galaktosid-bağlayan lektinler gibi). Moleküler klon çalışmaları, amino asit dizilerine ve evrimsel ilişkilerine göre daha iyi bir sınıflandırma imkanı sağlamıştır. Bu şekilde yapılan ilk sınıflandırmada karbohidrat tanıma bölgelerinde yüksek derecede korunmuş aminoasit dizileri göz önüne alınarak yapılmıştır. Buna göre iki grup lektin vardır. İlk grup tanıma için kalsiyuma ihtiyaç duyar ve "C-tip" lektinler olarak adlandırılır. Diğer grup ise stabilite için serbest tiol gruplarına ihtiyaç duyar ve

“S-tip” lektinler olarak adlandırılırlar. Man-6-P tanıyan iki lektin grubunun dizisi yapıldığında, homolog fakat diğerlerinden farklı bir form bulunmuştur ve “P-tip” lektinler olarak adlandırılmıştır. Genel olarak P- ve S-tip lektinler bir tek şeker (Man-6-P ve  $\beta$ -galaktosidler gibi) sınıfını tanıırken, C-tip gibi diğerleri sadece ortak bir lektin protein modülü taşıyan çeşitli molekülleri tanırlar. Yine sadece sialik asiti taşıyan süper aile olan “Siglec” (sialik asit bağlayan immünooglobulin benzeri lektinler) henüz tanımlanmıştır. Bundan başka daha birçok hayvansal lektin çeşidi bulunmaktadır [pentraksinler, I-tip lektinler, heparin (GAG-bağlayan protein) gibi] (Varki ve diğ., 1999). Lektinlerle glukokonjugatların karbohidrat birimleri arasında anahtar-kilit prensibi esasına göre şekillenen karbohidrat-protein etkileşimleri; hücreler arası haberleşmede, sinyal transferinde, hücre içi protein transportunda, döllemede, hücre farklılaşmasında, hücre adezyonunda, büyümenin kontrolünde, interferon ve sitokin salgılanması gibi immunolojik olaylarda, makrofajların fagositoz için uyarılmasında, patolojik olaylarda hücrelerin transformasyonunda, metastazda, embriyogenezde, ekzositoz ve endositozda rol oynarlar (Şekil 1.26) (Seyrek ve Bildik, 2001’de özetlenmiştir).



Şekil 1.26 : Bitkisel lektinlerin bazı kullanım amaçları (Varki ve diğ., 1999).

Bitkisel lektinler, bitkilerde bulunan karbohidrat bağlayan proteinlerdir. Bu lektinler glikobiyolojinin gelişiminde oldukça önemlidirler. Birçok lektin multivalenttir ve hücreleri agglutine edici etkiye sahiptirler. Karbohidrat tiplerini ayırt edebilmeleri ve bunlara yüksek oranda afinite göstermeleri nedeniyle glikokonjugatların karakterizasyonu için önemli araçlardır. En iyi çalışılmış bitki lektinleri Leguminosae familyasına ait olan Con A, soya aglutini ve lentin lektinidir. İyi çalışılmış olan diğer iki familya Gramineae (tahıllar; buğday tohumu gibi) ve Solanaceae (patates ve domates) familyasıdır. Bitkisel lektinler bazı araştırmacılar tarafından tanıdıkları küçük karbohidrat haptenlerine göre sınıflandırılırlar (galaktoz-bağlayan lektinler ya da GlcNAc-bağlayan lektinler gibi). Legüminoz lektinlerin çoğu  $Ca^{++}$  ve  $Mn^{++}$  ile sıkıca bağlı olan metalloproteindir ve tanımlanmalarını sağlayan ortak konsensus dizilere sahiptirler. Birçok bitkisel lektin hayvan hücreleri için toksiktir. Lektinlerin çoğu, pişme ya da sindirim esnasında bozulur, bu nedenle zararsızdır. Ancak çiğ lektinlerin çok yıkıcı etkileri olabilir. Zehirli olan lektinler genellikle heterodimerik yapıdadır. Bir alt üniteleri karbohidratları tanıyıp bağlanırken, diğer alt ünite enzim aktivitesine sahiptir. Mesela, *Ricinus communis*'ten elde edilen risin, A ve B alt ünitelerine sahiptir. B ünitesi karbohidrat tanıma birimi iken, A alt ünitesi adenzin-N-glikosidaz aktivitesine sahip olan bir enzimdir. Bu yapı endositoz ile hücre içine alındığında katalitik olarak ribozomları inaktive eder ve protein sentezini tamamen durdurabilir. Birçok legüminos bitki lektini, en az bir N-glikana (Con-A hariç) ve metal bağlayan bir bölgeye sahiptir. Karbohidrat bağlayan bölge birçok legüminoz lektininde, H bağları kombinasyonu, hidrofobik interaksiyonlar ve van der Waals bağları ile ilgilidir. Yandaki protein altbölgesi oligosakkarit bağlanmasına yardımcı olur ve aglikon bölgeleri ile hidrofobik ilişkilerin ortaya çıkmasını sağlar. Bağlanma bölgesinin yakınındaki metaller şekerle direkt olarak bağ yapmazken, bağlanma için gerekli olan aminoasit yan zincirlerinin stabilitesine yardımcı olur. Lektinlerin örgü yapısı meydana getirebilme özellikleri, çok sayıda bağlanma bölgesi içeren hücre yüzey ve matris glikokonjugatları ile kompleks interaksiyonlar oluşturmaya imkan sağlar ve bu da bitkisel lektinlerin biyolojik etkilerinin ortaya çıkmasına neden olabilir (Varki ve diğ., 1999).

### 1.1.10 Programlanmış hücre ölümü-Apoptozis

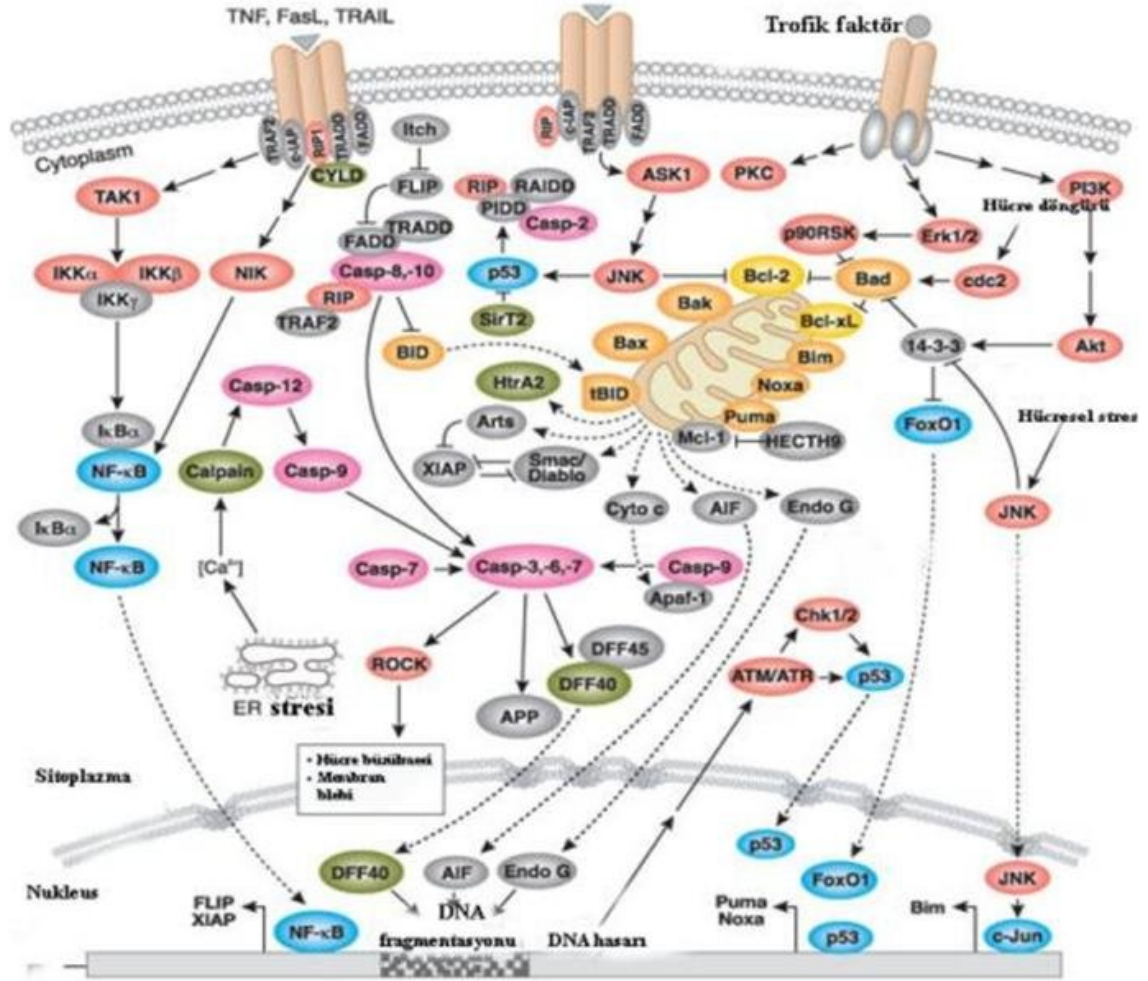
Programlanmış hücre ölümü, erişkin dokularda ve embriyogenezde önemli rol oynayan bir hücre ölüm tipidir. Programlanmış hücre ölümü organizmada hasarlı ve tehlikeli hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlayarak bir savunma mekanizması oluşturur. Virusle enfeksiyon, DNA hasarı gibi saldırılar, programlanmış hücre ölümünü uyarır. Gelişme sırasında ise çeşitli dokulardaki istenmeyen hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar.

Apoptoz aktif bir süreçtir ve bu esnada kromozomal DNA nukleozomları arasından kesilerek parçalara ayrılır. Kromatin yoğunlaşarak, çekirdek küçük parçalara bölünür. En sonunda da hücre büzülerek apoptotik cisimcikler denen zarla çevrili parçalara ayrılır. Bu yapılarda makrofajlarca ve komşu hücrelerce tanınarak fagosite edilir.

Apoptoziste, kaspazlar 100 kadar farklı hedef proteini keserek apoptoza neden olurlar. Kaspazların hedefleri arasında, aktive edildiğinde nükleer DNA'nın parçalanmasına neden olan DNAaz inhibitörü, nükleer laminler, hücre iskeleti proteinleri yer alır. İnaktif olarak salgılanıp, diğer kaspazlarca katalizlenen proteolitik kesim ile aktifleşirler.

Bunun dışında hücrede bulunan Bcl-2 ailesinin birçok üyesi (Bcl-2 dahil) antiapoptotik moleküllerdir. Memelilerde bunlar mitokondride görev yaparlar ve apoptozisin kontrolünde önemli rolleri vardır. Mitokondri bütünlüğünün korunması ve sitokrom-c salınımını düzenleyici rolleri vardır. Apoptozisi baskılayan Bcl-2 ailesi üyeleri, sitokrom-c salınımını engeller. Diğer üyeleri ise, mitokondri hasarını, sitokrom-c salınımını ve kaspaz aktivasyonunu uyararak apoptozisi indüklerler. Bcl-2 geni, bir onkogendir ve antiapoptotiktir, hücre sağkalımını destekler. Bcl-2'nin yüksek miktarda ekspresyonuna neden olan mutasyon ile *bcl-2* onkogeni oluşur. Bu genin bulunuşu, apoptozisin kanser gelişimindeki rolü açısından önemlidir (Şekil 1.27) (Cooper ve Hausman, 2006).





Şekil 1.27 : Hücresel apoptozis ([http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Apoptosis\\_Overview.html](http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Apoptosis_Overview.html)).

Apoptozis aynı zamanda derinin de homeostazisini dengede tutan moleküler bir mekanizmadır. Keratinositlerde çeşitli fizyolojik ve patolojik uyarılarla aktive olur (Gniadecki ve diğ., 1998) ve UVB'nin karsinojenik etkisine karşı koruyucu bir mekanizmadır (Laethem ve diğ., 2005). UV radyasyonundan sonra, hiçbir bozukluk olmadan apoptozisin hızlı bir şekilde indüklenmesi bu nedenle oldukça önemlidir (Honda ve diğ., 2009). Apoptozis hücre çoğalmasını dengede tutarak epidermal kalınlığı korur, stratum korneum oluşumuna katkıda bulunur ve pre-malignant hücreleri elimine edebilir (Raj ve diğ., 2006). Kanser, hücrelerdeki apoptoziste bozulma ile yakından ilişkilidir.

## 1.2 Amaç

Güneşin radyasyon etkisi, son zamanlarda atmosfer kirlenmesi ile birlikte ozon tabakasının incelmeye başlamasına bağlı olarak zararlı hale gelmektedir. UV radyasyonu, deride güneş yanığı, erken yaşlanma, kanser gibi birçok hastalığa yol açmaktadır. Bu hasarlar dokuda histolojik, sitolojik ve moleküler düzeyde değişikliklere neden olmaktadır.

Bitkilerin farmakolojik etkileri üzerindeki araştırmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Aromatik bitkiler, eski zamanlardan beri medikal koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin uçucu yağ bileşenleri, kanser ve kardiyovaskular hastalıklarda etkili olmakla birlikte, antibakteriyal, antiviral, antioksidan ve antidiabetik ajanlar olarak da kullanılmaktadır. Örneğin, birçok bitkinin yağında bulunan monoterpenlerin, karsinogenezisi önlediği, erken ve ileri dönem kanser tedavilerinde etkili olduğu bilinmektedir.

Güneşin UV radyasyonunun neden olduğu patolojilerde, DNA, proteinler, yağ asitleri ve şeker yapılarında oksidatif hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarlar, hücre metabolizmasında, morfoloji ve ince yapı düzeyinde, hücre organellerinde ve ekstrasellüler alanda, regülasyon yolağında, farklılaşma, proliferasyon ve apoptozis gibi bir seri biyolojik olayda değişikliklere neden olmaktadır. Ayrıca, hücre zarı ve organel zarlarının supramoleküler yapısında, hücre yüzeyi mikromorfolojisinde ve hücrelerarası bağlantılarda da değişimler meydana gelmektedir.

Bu çalışmada, *O. hypericifolium* esansiyel yağının UVB uygulanmış derideki etkilerinin araştırılması aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi: Yağ içeriği
2. Histokimya: Genel histolojik yapı, kollajen ve elastik fibriller, mast hücreleri, lipit yoğunluğu
3. İmmunhistokimya: Laminin, Galektin-3
4. Lektin histokimya:

Tablo 1.2 : Kullanılan lektinlerin reaksiyon spesifitesi.

Lektin kısaltması	Lektin adı	Reaksiyon
GNA	<i>Galanthus nivalis</i> agglutinin	$\alpha(1\rightarrow3)$ ve $\alpha(1\rightarrow6)$ bağılı uç mannoz grupları
DSA	<i>Datura stramonium</i> agglutinin	Gal $\beta(1\rightarrow4)$ GlcNAc
MAL	<i>Maackia amurensis</i> leukoagglutinin	NeuAc $\alpha(2\rightarrow3)$ Gal

5. TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL): Apoptotik hücreler
6. İstatistiksel analizler (SPSS 16: Kruskal Wallis, Mann-Whitney test): Epidermal kalınlık ölçümleri, mast hücre ve TUNEL-pozitif hücre sayımları

### 1.3 Literatür Özeti

#### 1.3.1 Botanik ajanlar

Doğal ajanların çok çeşitli deri fotokoruma etkilerine sahip olduğu rapor edilmiştir (Afaq, 2011). Foto yaşlanma ve fotokarsinogenezde, DNA foto hasarı ve UV ile gelişen reaktif oksijen türevleri (ROS) önemli bir rol oynar (Trautinger, 2001). Deride, UV ile ilişkili ROS'un yıkıcı etkilerinden korumak için, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar vardır (Pugliese, 1998; Guler Ozden ve Gurer, 2007). Deri, ko-enzim Q<sub>10</sub> gibi (Hoppe ve diğ., 1999) doğal antioksidanlar kullanarak kendini foto hasardan korur (Pinnell, 2003). Rhie ve diğ. (2001) insan derisindeki antioksidan savunma sisteminin intrinsik ve fotoyaşlanma süreçlerinde karmaşık bir şekilde düzenlendiğini belirtmişlerdir. UV ile indüklenen ROS oluşumu ve enzimatik antioksidanların (superoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) aktivitesindeki ve enzimatik olmayan antioksidanların (GSH gibi) seviyelerindeki azalma, UVB ile ışınlanan insan dermal fibroblast olgun hücrelerinde gösterilmiştir (Ramachandran ve diğ., 2010). Buna ilaveten, Heck ve diğ. (2003) UV ışınlarının katalaz aktivitesi ile oluşturulan çok miktarda ROS birikimini uyardığını ve bunun da oksidatif strese, DNA hasarlarına ve deri kanserlerinin gelişimine neden olduğunu rapor etmişlerdir. Vitamin E ve C, çinko ve bitkisel antioksidanlar gibi güneş koruyucuları kullanmak, UV ışınlarına karşı koruyucu metotlar olabilmektedir (Lin ve diğ., 2003; Afaq ve diğ., 2002; Parat ve diğ., 1997). Provitamin-E,  $\alpha$ -tokoferol-6-

O-fosfat uygulamasının insanlarda UV ile indüklenen deri hasarlarının engellenmesinde yararlı olabileceği rapor edilmiştir (Nakayama ve diğ., 2003). Muizzuddin (1996), yapmış olduğu çalışmada, UV radyasyonu uygulamasından önce deriye antioksidan uygulamasının, insan derisini UVA, UVB ve hatta IR'nin zararlı etkilerinden koruduğunu ve hatta ticari olarak satılan güneş kremlerinin içine antioksidan ilavesinin, deriyi, deri kanseri ve fotoyaşlanmaya neden olan kronik aktinik keratozisten koruduğunu ortaya koymuştur.

Bitkisel terapiler, dermatolojik hastalıklar gibi birçok hastalığın tedavisi için uzun yıllardır kullanılan yöntemlerdir (Edris, 2007; Bedi ve Shenefelt, 2002; Afaq ve diğ., 2002). Son yıllarda da insan derisinin botanik antioksidanlar kullanılarak UVB hasarlarına karşı fotokimyasal olarak korunmasına giderek artan bir ilgi vardır (Afaq ve diğ., 2009). Bu konuda bitki bileşenlerinin etken maddelerinin hasarlar üzerindeki koruyucu-tedavi edici özellikleri yoğun olarak araştırılmaktadır. Bitki bileşenlerinin (botanik antioksidanlar) deri kanserlerini önlemedeki etki mekanizmaları hayvan modellerinde çalışılmaktadır (F'Guyer ve diğ., 2003). Kanserin erken aşamalarında çalışmak için tasarlanmış hayvan modelleri hastalığın başlangıcı ile ilişkili moleküler olayları ve tepki göstergelerinin tanımlanması için değerlidir (Young ve diğ., 2009).

Diyetsel antioksidanlar endogenik foto koruma sağlarlar ve deri sağlığının korunmasında önemlidirler (Heinrich ve diğ., 2006). Başta diyetsel flavonoidler veya fenolik bileşenler olmak üzere çok çeşitli bitkisel bileşenler, fotokarsinogenezin ve deri hasarlarının önlenmesinde yoğun olarak çalışılmaktadır (Baliga ve Katiyar, 2006; Svobodová ve diğ., 2003). Flavanollerce zengin içeceklerin düzenli olarak tüketilmesi önemli bir fotokoruma sağlamanın yanında, cilt yapısı ve fonksiyonunu iyileştirerek cilt sağlığını korumaya yardımcı olabilir. Diyetsel olarak kakao da bulunan flavonoller, dermal kan akımını arttırarak ve kozmetik ile ilgili olarak cilt yüzeyi ve hidrasyonu etkileyerek endogenik fotokoruma sağlar (Heinrich ve diğ., 2006). SKH-1 tüysüz farelerinin silibininle beslenmesi deri epidermisinde UVB ile indüklenen hasarlardan a: DNA hasarlarının oluşumunu engelleyerek ya da onarımını arttırarak, b: UVB ile indüklenen hiperproliferatif cevapları indirgeyerek ve c: UVB'den kaynaklanan apoptozisi ve güneş yanığı hücre oluşumunu inhibe ederek (muhtemelen temel UVB hasarı kontrol sensörleri olan p53 ve p21/cip1'in silibininle regülasyonunun artması ile) güçlü bir koruma sağlamıştır (Gu ve diğ., 2005).

Yüzeysel olarak flavonoid uygulanmasının, güneş ışınlarının neden olduğu, başlattığı ya da kötüleştirdiği bazı cilt hastalıklarında koruyucu ajanlar olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Bonina ve diğ., 1996). Ayrıca, soyada bulunan izoflavonların UV ile hasarlanan derideki anti-yaşlanma etkisi tüysüz fare modellerinde gösterilmiştir (Kim ve diğ., 2004). Süper sızma zeytinyağının, güneş banyosundan sonra günlük yüzeysel olarak kullanılması insan derisinde UV ile indüklenen deri kanserlerinin gelişimini geriletebildiği ya da indirgeyebildiği bildirilmiştir (Ichihashi ve diğ., 2000). Yine, zeytinyağının UVB uygulamasından hemen sonra yüzeysel olarak uygulanmasının, fare derisindeki UVB ile indüklenen tümörleri etkili şekilde indirgeyebileceği, bunda muhtemelen reaktif oksijen türevlerinin neden olduğu DNA hasarlarını indirgeyen antioksidan etkisi sayesinde gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (Budiyanto ve diğ., 2000). Resveratrolün (bitki fitoaleksini) fare derisine yüzeysel uygulamasının, UVB ile indüklenen deri kalınlığında, hiperplazide ve lökosit infiltrasyonunda anlamlı bir düşüşe neden olduğu ve UVB ile oluşan deri kanserlerinin de dahil olduğu kutanöz hasarların önlenmesinde yararlı olabileceği rapor edilmiştir (Reagan-Shaw ve diğ., 2004). Buna ek olarak, soyadan elde edilen bir fitoöstrojen bileşiği olan genisteinin, fotokarsinogenezise karşı kemopreventif ajan olarak (Moore ve diğ., 2006) ve üzüm çekirdeğindeki proantosiyanidinlerin, UV ile indüklenen oksidatif strese bağlı deri hastalıklarının indirgenmesinde kullanılabileceği (Mantena ve Katiyar, 2006) bildirilmiştir. Yine, zerdeçal (*Curcuma longa* L. Zingiberaceae rizomu)'ın kronik UVB maruziyeti ile oluşan deri hasarlarını önleyip önleyemeyeceği melanin üretmeyen tüysüz farelerde araştırılmış, günde 2 kez uygulanan 300 veya 1000 mg/kg zerdeçalın deri kalınlığındaki artışı ve deri elastikiyetindeki azalışı önlediği bulunmuştur. Kronik UV maruziyetinin neden olduğu MMP-2 ekspresyonundaki artışın inhibe edilmesinden dolayı, UVB ile indüklenen deri yaşlanmasının zerdeçal ile önlenebileceği bildirilmiştir (Sumiyoshi ve Kimura, 2009). Likopen, domates ve ürünlerinde bulunan asiklik bir hidrokarbon karetenoittir ve yüzeysel uygulamasının UVB ile indüklenen akut hasarlara karşı koruma sağlayabileceği düşünülmektedir (Fazekas ve diğ., 2003). Çay ya da diğer bazı bitkilerde bulunan polifenoller hidroksil radikallerini süpürücü etkilerinden dolayı antioksidan özelliğe sahiptirler ve böylece insan hücrelerini radyasyonla indüklenen DNA hasarlarına karşı

koruyabilirler (Parshad ve diğ., 1998). Katiyar ve diğ. (2000a) yeşil çay polifenollerinin fare derisinde kimyasal karsinogeneze ve fotokarsinogeneze karşı koruyucu etkilerinin bulunduğunu bildirmiştir. İnsan derisinin tek doz UVB (4,0 MED) uygulamasından önce değişen dozlarda yeşil çay polifenollerini ile muamele edilmesinin, doza bağlı olarak epidermis ve dermisteki UVB ile indüklenen siklobütan primidin dimerlerinin oluşumunu azalttığı ve belkide böylece fotokarsinogenesi inhibe ettiği rapor edilmiştir (Katiyar ve diğ., 2000b). Bir besin takviyesi olarak yeşil çay polifenollerinin, UVB ışığı kaynaklı erken cilt yaşlanmasını hafifletmek için yararlı olabileceği bildirilmiştir (Vayalil ve diğ., 2004). Kültüre edilmiş oreganonun (*O. vulgare* L.) aroması, lezzeti ve farmasötik değeri esansiyel yağının büyük bir kısmını meydana getiren monoterpenlerden ve seskiterpenlerden kaynaklanmaktadır (Crocoll, 2011). Origanum türlerinde yer alan fenolik bileşiklerin antioksidan ve potansiyel antikarsinogenik etkisi de bilinmektedir (Ghasemzadeh ve Ghasemzadeh, 2011; Rice-Evans ve diğ., 1996).

### 1.3.2 Origanum

Origanum L., Lamiaceae familyasına ait bir cinistir, Türkiye’de 21 endemik türü bulunur (Baser, 2002) ve *O. hypericifolium* O. Schwartz & P.H. Davis’de bu türlerden biridir (Davis, 1982). Bitki çayı olarak diyabet tedavisinde ve toz haline getirildikten sonra ise peynir ve yiyeceklere baharat olarak ilave edilir (Sönmez, 1999). Bu bitkinin antikandidal ve antifungal etkilerinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* maya hatlarının *O. hypericifolium* ekstraktı polar fraksiyonuna karşı duyarlı olduğu ve antikandidal aktivitesi nedeniyle yiyeceklerde ve ilaçlarda kullanılma potansiyellerinin bulunduğu belirtilmiştir (Celik ve diğ., 2010a). *O. hypericifolium* yağının antifungal aktivitesi ise, fındık ve cevizden izole edilen 14 fungi üzerinde değerlendirilmiştir. Uçucu denemelerinde, denenen tüm türlerin misel gelişimlerinin 3. günde tamamen inhibe olduğu görülmüştür. Bu sonucun, Origanum’un monoterpen içeriğinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Ocak ve diğ., 2012). *O. hypericifolium* esansiyel yağının ana bileşenlerinin p-simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen gibi monoterpenler olduğu tespit edilmiştir (Celik ve diğ., 2010b). Monoterpenlerin, karsinogenesi önlediği, erken ve ileri dönem kanser tedavilerinde etkili olduğu

ortaya konmuştur (Gould, 1997). Timol ve karvakrol antioksidan (Youdim ve Deans, 2000; Yanishlieva ve diğ., 1999; Aeschbach ve diğ., 1994), antitümör/antikanser (Ozkan ve Erdogan, 2011; Jaafari ve diğ., 2007) ve antibakteriyal (Xu ve diğ., 2008; Nostro ve diğ., 2007) özelliklere sahiptir. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre serisinde karvakrol'un hücre büyümesinde yüksek potansiyelli bir inhibitör olarak rol oynadığı bildirilmiştir (Koparal ve Zeytinoğlu, 2003). İnsan hepatoma HepG2 hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada ise, karvakrolün doğrudan mitokondriyal yolağı aktive ederek apoptozisi indükleyebileceği rapor edilmiştir (Yin ve diğ., 2011). Aristatle ve diğ. (2010) diyetsel bir antioksidan olan karvakrolün koruyucu etkisini UVB ile ortaya çıkan ROS'u azaltarak sağladığı sonucuna varmışlardır.

### **1.3.3 UV'nin etkileri**

Radyasyona ya da kimyasal karsinojenlere maruz kalma genomda değişiklikler ortaya çıkarmaktadır. Bunun nedeni, hidroksil serbest radikaller olan yüksek orandaki reaktif türlerin ortaya çıkmasıdır. Bu radikaller, kimyasal bağları kolayca kırar, nükleik asitlerin temeli olan şekerlere etki ederek bağlanır ve DNA'da tek zincir kırıklarına neden olur. DNA bazlarındaki basit modifikasyonlarla çeşitli tiplerde baz değişiklikleri ortaya çıkarır. Bazı bazlar şekerlerden ayrılarak abazik bölgeler oluşturur. Tek zincir kırıkları, eğer DNA replikasyonu boyunca tamir edilmeden kalırsa, öldürücü bir lezyon haline gelir. DNA lezyonlarından tehlikeli olan bir diğeri, radyasyon ile indüklenen çift zincir kırıklarıdır. İyonize radyasyon, enerjisini foton ya da partiküllere aktararak kısıtlı bir alan içinde radikallerin oluşmasına neden olur. Radikaller, DNA'ya yapıştıklarında hasarlara, kırılmalara ya da her ikisine birden neden olur (Reynolds ve Kelly, 1995). DNA üzerinde meydana gelen hasarlar, mutasyonlara yol açar. Böylece hücre transforme hale gelir, anormalleşir ve kanserli hale geçer. Kanser öncüsü olan hücreler (neoplastik hücreler), dokunun ihtiyacından bağımsız olarak bölünürler. Bu durumda birçok hücre fonksiyon değişir. Bunlardan biri olan apoptozis, metabolik olarak tetiklenen hücre ölümüdür ve hücre yapısında sitolojik değişikliklerle karakterizedir. Tümörojenik hücrelerde apoptozis inaktive edilebilir.

Yapılan çalışmalarda, UV radyasyonunun keratinositlerde genetik değişimleri indükleyerek neoplastik transformasyonlara yol açtığı ve deride normal immün cevapları baskılayarak deri kanserlerinin gelişiminde ikili rol oynadığı bildirilmiştir (Ouhtit ve Anathaswamy, 2001). Ayrıca, tekrarlayan minimal eritemal ya da suberitemal doz UV radyasyonunun HRA/SKH-1 tüysüz farelerdeki tümörleri indüklediği rapor edilmiştir (Gallagher ve diğ., 1984).

UVB maruziyeti epidermal proliferasyonu ve farklılaşmayı teşvik eder ve etkisi doza ve tekrarlanma durumuna göre doğrusal olarak artar (Lee ve diğ., 2002). Endikatif insan verileri ve tüysüz farelerden elde edilen deneysel veriler, UVB ile p53'ün değiştiğini ve UVB radyasyonu ile indüklenen deri kanserinde erken dönemde ortaya çıkan bir olay olduğunu göstermektedir (Berg ve diğ., 1996). Ayrıca, UVB radyasyonu, DNA hasarına, protein oksidasyonuna, apoptotik güneş yanığı hücrelerinin oluşumuna ve MMP'lerin indüklenmesine neden olur (Katiyar ve diğ., 2011; Afaq ve diğ., 2009; Lippens ve diğ., 2009). UVB ile ışınlanan insan ergin dermal fibroblast hücrelerinde, UVB'nin ROS oluşumunu indüklediği, enzimatik antioksidan sistemin (süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) aktivitesinin azalmasına ve enzimatik olmayan antioksidanların (GSH) seviyesinde düşmeye neden olduğu gösterilmiş (Ramachandran ve diğ., 2010) ve ROS'ların fotoyaşlanmanın gelişiminde önemli rolleri olduğu belirtilmiştir (Trautinger, 2001).

UVB ışınlarına maruziyetten korunma, yüksek koruyuculu güneş kremleri kullanma gibi çeşitli yaklaşımların bir kombinasyonu ile elde edilebilir. Araştırmacılar, UV radyasyonundan korunmak için güneş kremi kullanmayı önermektedirler. Deri yüzeyinde daha uzun kalan ve ROS'u nötralize eden antioksidanlar içeren güneş kremlerinin geliştirilmesi fotokorumanın alanıdır. Antioksidanlar, serbest radikalleri yakalayıp fotokoruma etkisine yardımcı olabilirler (Mishra ve diğ., 2011). Güneş koruyucuları UV radyasyonunun zararlı etkisine karşı koruma sağlar. Güneş koruyucular için belirlenen SPF (Sun Protection Factor; UVB ışınlarına karşı koruma ölçüsü) değeri, güneş koruyucuyla ya da koruyucusuz deride yanma ya da minimal eritem oluşmadan önce derinin tolare edebileceği güneş maruziyetinin derecesi olarak tanımlanır (Gasparro ve diğ., 1998).



#### **1.3.4 Deri kalınlaşması**

Derinin güneş ışığı ile maruziyeti sonucunda, deri bağ dokusu fibrilleri elastikiyetini kaybeder, deri gerilir, sertleşir ve daha sonra sarkarak buruşur (Akay, 2001). Hiperplazi; ultraviyole ışınlarının neden olduğu derideki stratum korneum, epidermis ve dermis tabakalarındaki kalınlaşmadır. Kalınlaşma deriyi güneş yanığından korur. Hiperplazi, akut UV ile karşılaşmayı izleyen, hem DNA, RNA ve protein sentezinin artması hem de epidermal, daha az olarak da hücre çoğalması aktivitesinin artmasının bir sonucudur. UV ışınları keratinosit hücre sayısında artışa ve birçok inflamatuvar medyatörlerin salınmasına neden olur. Bu kalınlaşma açık tenli kişilerde, bronzlaşmadan daha fazla koruyuculuk sağlar (Karaduman, 1999: [http://saglik.tr.net/genel\\_saglik\\_solar\\_radyasyon.shtml](http://saglik.tr.net/genel_saglik_solar_radyasyon.shtml)). Fotoyaşlanma ise, kronik olarak güneş ışınlarına maruz kalmış orta yaş ve daha üzerindeki erişkinlerde, deride meydana gelen klinik ve dermatopatolojik değişiklikleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir (Peşkircioğlu ve Bostancı, 1994). Fotoyaşlanmanın ana nedeni UV ışınlarıdır. Fotoyaşlanma, hücresel biyosentetik aktivite değişimlerini içerir ve dermal matriksin geniş çaplı düzensizliğine yol açmaktadır (Jenkins, 2002).

#### **1.3.5 Mast hücreleri**

Mast hücreleri, immünolojik, neoplastik, inflamatuvar ve diğer bazı şartlar ile ilgilidirler (Yong, 1997). Mast hücre aracılı alerjik reaksiyonlar, astım, alerjik rinit ve sinuzit gibi birçok alerjik hastalık ile bağlantılıdır. Zehirli sarmaşık ya da zehirli meşeye cevaben oluşan alerjik kontakt dermatit ve kronik düşük doz UVB maruziyeti deriye hasar verebilir. Mast hücreleri yaygın kazanılmış bağışıklığı ya da doğuştan gelen yanıtları alevlendirdiği düşünülen proinflamatuvar medyatörler üretirler (Grimbaldeston ve diğ., 2007). Mast hücrelerinin uyarılması degranülasyon sürecini başlatır, histamin ve inflamatuvar sitokinler gibi bir dizi medyatörlerin salınımı ile sonuçlanır (Ganapaty ve diğ., 2010). Mast hücreleri, sadece alerjik reaksiyonlarla ilgili olmayıp, çeşitli hastalıklarda da aktivitesi ve sayısı artan hücrelerdir. Mesela sedef hastalığında, mast hücreleri primer öneme sahiptir (Özdamar ve diğ., 1995). Mast hücreleri doğal ve kazanılmış immün reaksiyonlarda, özellikle anjiyogenezis, doku tamiri ve doku yeniden yapılanması gibi bir dizi temel fonksiyonda aktif olarak rol alır. Mast hücrelerinin tümör gelişimi ile olan ilgileri

tartışmalıdır. Bazı deliller mast hücrelerinin tümorogenezi ve tümör ilerlemesini düzenlediğini düşündürmektedir. Mast hücrelerini kanser ile ilişkilendiren en önemli konulardan biri bu hücrelerin proanjyogenik faktörleri salgılayabilme yeteneğidir (Ribatti ve Crivellato, 2012). Grimbaldston ve diğ. (2000), mast hücrelerinin fonksiyonlarının farelerde olduğu gibi insanlarda da, immün baskılanmayı başlatarak, böylece bazal hücreli karsinom gelişimine izin veren bir ortam sağlamak olduğunu varsaymışlardır.

Eritem, güneş yanığı inflamasyondur ve derinin UV'ye verdiği ilk akut yanıttır. Oluşumunda birincil faktör UVB'dir. UVB'ye bağlı eritem güneş ışınları ile temastan sonraki birkaç saat içinde başlar, 6-24 saatte en üst düzeye ulaşır, birkaç günde solar ve yerini soyulma ve bronzlaşmaya bırakır. UV'nin, DNA ve proteinler tarafından absorbe edilmesiyle ortaya çıkan moleküler ve hücrel yıkımdan dolayı oluşan prostaglandinler gibi medyatörler damarlarda genişlemelere ve inflamasyona neden olur (Karaduman, 1999: [http://saglik.tr.net/genel\\_saglik\\_solar\\_radyasyon.shtml](http://saglik.tr.net/genel_saglik_solar_radyasyon.shtml)). UV radyasyonu, özellikle UVB, immün baskılayıcı etkiye sahiptir (Finlay-Jones ve Hart, 1997). UV, bağışıklık sistemini antijen sunan hücrelere etki ederek, sitokin salınımını indükleyerek ve yüzey moleküllerinin ekspresyonunu düzenleyerek bozabilir (Beissert ve Schwartz, 1999). İnsan epidermal keratinositlerinin UV maruziyeti sitokinlerin salınımını indükler. Siklobütan primidin dimerleri bu süreçte önemli rol oynar. Bu sitokinler immün sistem hücrelerinin aktivitesini düzenleyebilir (Green ve diğ., 1999). Sonuçta, bu immün regülatör sitokinler, uzak bölgelerdeki antijen sunan hücre fonksiyonlarını etkiler. UV ışınlarına maruziyetin bir sonucunun, immün işlevlerin bozulması ile sonuçlanabilen lenf nod dentritik hücreleri tarafından IL-12 üretimindeki değişiklikler olduğu düşünülmektedir (Ullrich ve Schmitt, 2000). UV ışınları, epidermal langerhans hücrelerinin (LH) sayısı ve işlevlerini etkileyerek ve antijen sunma yeteneklerini azaltarak sebep olduğu immünolojik değişiklikler; a) antijene özgü T hücrelerinin gelişimini uyararak geç tipte aşırı duyarlılığın baskılanması ve sonuçta tümör reddinin engellenmesi, b) LH işlevlerinin düzenlenmesinde rolü olan keratinosit ve diğer inflamatuvar hücrelerin işlevlerinin bozulması ve LH hücreleri üzerindeki düzenleyici görevlerinin olumsuz etkilenmesi, c) bağışıklığın baskılanması şeklinde sıralanabilir (Karaduman, 1999: [http://saglik.tr.net/genel\\_saglik\\_solar\\_radyasyon.shtml](http://saglik.tr.net/genel_saglik_solar_radyasyon.shtml)). Ayrıca, orta dalga boylu UV

maruziyeti, mast hücrelerinden liberatör-kaynaklı histamin salınımını inhibe eder (Graevskaya ve diğ., 2000).

Solar elastozis, foto yaşlanmaya uğramış insan derisinin ve sıçan derisinde deneysel olarak ortaya çıkarılan fotoyaşlanmanın ayırıcı bir özelliğidir. (Gonzalez ve diğ., 1999). Dermal mast hücre sayısı, kronik UV ışınlamasına bir cevap olarak insanlarda ve insan foto yaşlanma modeli HRS/SKH-1 farelerde artmaktadır. Bu artmış mast hücre sayısının, kısmende olsa, kronik olarak UV'ye maruz bırakılmış ya da foto yaşlanmaya uğramış derideki hasarlardan sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (Gonzalez ve diğ., 1999; Learn ve Moloney, 1991). Dermal mast hücreleri, UVB radyasyonu sistemik kontakt hipersensitivite cevabının baskılanmasının başlatılması için gereklidir ve mast hücrelerinden kaynaklı histamin bu UVB ile indüklenen sistemik immünosupresyonun bir bileşeni olarak düşünülmektedir (Hart ve diğ., 1998).

Çeşitli bitkisel ekstraktların mast hücreleri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar vardır. *Solanum trilobatum*'un sulu ve alkolik ekstraktı mast hücre degranülasyonunu inhibe ederken, kültüre edilmiş keratinositlerden anlamlı şekilde IL-1 $\alpha$  salınımını düşürüp, IL-8 salınımını arttırmaktadır. Oral olarak sulu ve alkolik *S. trilobatum* ekstraktının alınımı, deneyde kullanılan sıçanlarda mast hücrelerini stabilize etmektedir (Ranjith ve diğ., 2010). Yine, *Nyctanthes arbortristis* Linn (Oleaceae) petrol eter ekstraktı bronkiodilatasyon ve mast hücre stabilizasyon etkisine sahiptir ve astım tedavisinde kullanılabilir (Nirmal ve diğ., 2012). *Zizypus jujuba* esansiyel yağı hayvan modellerinde deri iltihaplarının inflamasyon cevabını inhibe etmektedir (Al-Reza ve diğ., 2010).

Mast hücreleri uygun bir şekilde fikse edildiklerinde ve toluidin mavisi gibi metakromatik boyalarla boyandıklarında, metakromatik içerikleri kolayca ayırt edilmelerini sağlar (Yong, 1997). Mast hücreleri, standart toluidin mavisi yöntemiyle ya da immünohistokimyasal olarak da gösterilebilirler (Walls ve diğ., 1990). Özdamar ve diğ. (1995), toluidin mavisi reaksiyonunun mast hücrelerinin incelenmesinde daha güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

### 1.3.6 Deri yüzey ve sebace bezi lipitleri

Epidermal lipitlerin ve deri morfolojisinin önemli ölçüde derinin geçirgenliğini etkilediği kabul edilmektedir (Stahl ve diğ., 2008). Deri yüzeyi, dış çevre ile bir ara birim oluşturur, mikrobiyal kolonizasyon ve enfeksiyona karşı ilk savunma hattı olarak iş görür. Deri yüzeyindeki lipitlerin antimikrobiyal bir bariyer oluşturduğu düşünülür. Bu lipitlerden bazıları epidermiste sentezlenip hücreler farklılaşırken yüzeye doğru taşınırlarken, diğer kısmı sebace bezleri tarafından yüzeye salgılanırlar (Drake ve diğ., 2008). Sebace bezleri, parmak uçları ve ayak tabanı dışında her yerde bulunan bezlerdir. Bu bezlerin gerçek fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte bu konuda, antioksidan ve antibakteriyal etkilere sahip olması ya da feromonların transportu gibi birçok teori bulunmaktadır (Smith ve Thiboutot, 2008).

Stratum korneum, lipit alanlar içinde gömülü, içleri keratin ve su ile dolu ölü hücrelerden oluşur. Lipit alanlar, stratum korneumun kesintisiz olan tek yapısıdır (Bouwstra ve Gooris, 2010). Stratum korneum, dehidrasyondan ve dış tehlikelerden koruma görevi görür. Stratum korneumda bulunan 3 önemli lipit; seramidler, serbest yağ asitleri ve kolesteroldür (Bouwstra ve Gooris, 2010; Jungersted ve diğ., 2008).

İnsan derisi en dış yüzeyinde bulunan deri yüzey lipitleri, güneşin UV ışınlarının ilk hedefleridir (Mudiyanselage ve diğ., 2003). Derinin UV maruziyetinin, *in vitro* şartlarda epidermal hücrelerde bir takım değişikliklere neden olan, deri yüzey lipitleri kaynaklı lipoperoksitlerin oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir (Picardo ve diğ., 1991). UVB ve bir miktarda UVA maruziyetinin stratum korneum lipitlerinin miktarını arttırdığı gönüllülerin derilerinde gösterilmiştir (Lehmann ve diğ., 1991).

Atopik dermatitis ve sağlıklı kontrollerle yapılan çalışmada, stratum korneum lipitlerinden seramid 1 ve kısmen seramid 3'ün, hastalığın patogenezisindeki olası rolü ortaya konmuştur. UV ışını ile tedavide 3 temel stratum korneum lipidinde (seramidler, serbest yağ asitleri ve kolesterol) artış olurken, yüzeysel glukokortikoidlerin azalışa yol açabildiği, bu tür etkilerin, deride bariyer fonksiyonu bozulmuş hastalıkların tedavisindeki klinik sonuçları etkileyebileceği bildirilmiştir (Jungersted ve diğ., 2008).

### 1.3.7 Kollajen ve elastik fibriller

UV radyasyonu ile indüklenen hücre zarı ve organel zarlarının supramoleküler yapısındaki değişiklikler, akut radyasyon hasarı gelişiminde önemli role sahiptir. Hücre yüzeyi mikromorfolojisinde ve hücrelerarası bağlantılarda gözlenen değişimler, UV'ye maruz bırakılan hücrelerdeki hücre iskeleti elemanlarının yeniden düzenlenmesi ile yakından ilgilidir (Somosy, 2000). Örneğin, hücre yüzeyi proteoglikanı (ECM ve büyüme hormonları ile bağlantı kurar) sindekan'ın, UVA ve UVB ile indüklenen malign transformasyonda ekspresyonu azalmaktadır (Inki ve diğ., 1991). Hücresel bileşenlerde ve ECM'te meydana gelen değişim, elastosis (retiküler dermiste elastotik materyal birikimi) (Seo ve diğ., 2001), elastik fibrillerde hasar, glikozaminoglikanlarda artış (Kligman ve diğ., 1985) ve kollajende azalmalar şeklinde sonuçlanır (Kligman ve diğ., 2000). Histokimyasal çalışmalar, UV radyasyonunun bağ dokusunun ana bileşeni olan kollajen üzerinde etkili olarak dermisin kalınlaşmasına yol açtığını göstermiştir (Kligman ve diğ., 1989). Kollajenin UV radyasyonuna maruz kalması ile yapısında meydana gelen değişiklikler, kollajen moleküllerinin denatüre olmasıyla oluşan yeni bir konformasyonel yapı ile kendini gösterir. Bitki ekstraktlarının bileşenleri (özellikle flavonoidler) UV'yi absorbe ederek kollajen için olan yıkıcı etkiyi inhibe eder (Yurin ve diğ., 2004). Son zamanlarda birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar botanik ajanların UV ile ışınlanan deri üzerine olan etkilerini göstermiştir. Örneğin, farelere oral olarak verilen diyetsel soy izoflavonlarının UV ile indüklenen matriks metalloproteinaz ekspresyonunu inhibe ederek, kollajen yıkılımını azalttığı gösterilmiştir (Kim ve diğ., 2004). Benzer şekilde, ellagik asit (çilek ve narda bulunan polifenol) kullanılarak, UVB ile indüklenen kollajen yıkılımının ve buna ek olarak inflamasyonun inhibe edildiği rapor edilmiştir (Bae ve diğ., 2010).

UVB radyasyonu insanların ve deney hayvanlarının derilerinde elastin sentezini arttırır (Starcher ve diğ., 1999). Fotoyaşlanmaya uğramış derinin en belirgin özelliği elastik lif bozulmasının son ürünü olan solar elastozistir. İnsan derisinin belirli bir eşik değerinde UV'ye, infrared radyasyonuna (IR) ve ısıya maruziyeti elastik fibrilleri parçalayabilen güçlü proteolitik enzimlerle dolu nötrofil akınına sebep olur. Nötrofillerin temel ürünü olan nötrofil elastaz, farelerdeki güneşe bağlı elastosis ile yakından ilişkilidir (Rijken ve Bruijnzeel, 2009). UVB maruziyeti ayrıca hayvan

derilerindeki fibroblast elastaz aktivitesini de uyarır (Imokawa, 2008). Tsukahara ve diğ. (2001), fibroblastlardaki elastaz aktivitesinin UVB maruziyetinden hemen sonra *Sanguisorba officinalis* L. ekstraktı kullanımı ile inhibisyonunun UVB maruziyetini takip eden foto hasarlara engel olduğunu göstermişlerdir. Philips ve diğ. (2003), *Polypodium leucotomos* ekstraktının fibroblast ve keratinositlerde, membran bütünlüğünü koruduğunu, lipit peroksidasyonunu ve MMP-1 ekspresyonunu inhibe ettiğini, elastin ekspresyonunu ise stimüle ettiğini göstermişlerdir. Üstelik, Kim ve diğ. (2008), Red Ginseng ekstraktının oral olarak alınmasının (20 ya da 60 mg/kg, günde iki kez) farelerde UVB maruziyeti ile oluşan deri hasarlarında (deri kalınlığında ve pigmentasyonda artış, deri elastikiyetinde azalma) koruma sağladığını rapor etmişlerdir.

### 1.3.8 Laminin

Laminin, dermal epidermal BM'nin altında ve kan damarlarının dış kısımlarında yer alır. Laminin, hücre fonksiyonunun modülasyonu ve hücre dışı matriks organizasyonundan sorumludur (Sansilvestri-Morel ve diğ., 2007). Laminin 332 (Lm332, ya da Laminin 5) deride BM proteindir ve yara iyileşmesi ve kanser invazyonunda hücre hareketliliğini indüklemektedir (Kariya ve diğ., 2010). Laminin dağılım paterni, birçok hastalıkla ilişkilidir. Psoriatik (sedef hastalığı) deriden alınan örnekler laminin için boyandığında, devamlı olmayan, zayıf ve düzensiz kesintili bir BM görülmüştür. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, laminin dağılım paterni gibi BM'deki değişikliklerin psoriasis patogeneziinde önemli rolleri olabileceğini işaret etmektedir (Esrefoglu ve diğ., 2005). Buna ek olarak, amyotrofik lateral skleroz (ALS) (merkezi sinir sistemindeki motor sinir hücrelerinin kaybından ileri gelen bir hastalık, motor nöron hastalığı) hastalarının derilerindeki laminin 1 dağılım paterni incelendiğinde, ALS hastalığının patogeneziinin, deri örneklerindeki laminin 1 değişimleri ile ilişkili olabileceği ve ALS hastalarında yara olmaması durumunda derinin mekanik özelliklerindeki değişimlere katkıda bulunabileceği düşünülmüştür (Ono ve diğ., 2000).

Tümör invazyonu sırasında, BM bariyer kaybı oluşur ve devamlı olmayan bir laminin boyanma paterni izlenir (Patarroyo ve diğ., 2002). Laminin boyanmasındaki kayıp, kısmi kayba işaret eder (Pettersson ve diğ., 2000). Sitoplazmik ve BM

lamininleri, bazal hücreli karsinomların (BCC) patogenezi ve invazyonunda önemlidir. BM bölgesindeki ve daha farklılaşmış tümörlerde bulunan birçok laminin, daha çok sitoplazmik ve BM boyanması şeklinde ifade edilir (Mostafa ve diğ., 2010). Terranova ve diğ. (1982), farelere ait olan 2 metastatik hücre hattının ve değişmiş metastatik olmayan sarkoma hücre hattının, tip IV kollajene bağlanmasını araştırmışlardır. Elde edilen bu veriler, metastatik süreç boyunca lamininin metastatik tümör hücrelerinin BM'ye bağlanmasını yönlendirdiğini düşündürmektedir.

BM epidermin ve derminin sağlıklı bir şekilde korunabilmesi için önemli rollere sahiptir ve tekrar eden hasarlar deriyi stabil olmayan bir duruma getirerek yaşlanma sürecini hızlandırır. Bazı kozmetik maddeler, laminin 332, epidermis ve/veya dermisteki tip IV ve VII kollajen gibi BM bileşenlerinin sentezini artırarak BM onarımını teşvik ederler. Bu yüzden, BM deri koruma ürünleri için iyi bir hedefdir. BM onarımını arttıran bileşenler epidermal-dermal haberleşmeyi ve deri homeostazisini arttırabilir, böylece “deri yaşlanması”na karşı savunmayı güçlendirir (Amano, 2009). Hemaroidal hastalıklarda kullanılan tribenosid (ethyl 3,5,6-tri-*O*-benzyl-*D*-glucofuranoside)'in, hemaroidte yara iyileşmesinde BM'nin yeniden yapılanması için epidermal hücrelerle etkileşime girerek, laminin ekspresyonunu ve yerleşimini düzenlediği düşünülmektedir (Kikkawa ve diğ., 2010). İnsan keratinositlerindeki laminin 5 sentezi, inflamatuvar sitokinlerle, büyüme faktörleri (TGF- $\alpha$ , RGF- $\beta$ 1 ve TNF- $\alpha$  gibi) ile ve lizofosfolipitlerle [sfinjozin-1-fosfat (S1P), lizofosfatidik asit (LPA) ve lizofosfatidilkolin (LPCs) gibi] artar (Amano ve diğ., 2004). Koenzim Q-10, keratinosit ve fibroblastlardaki laminin 332, tip IV ve tip VII kollajen gibi BM bileşenlerinin üretimini hızlandırır. Bu sonuçlar, epidermin oksidatif strese karşı korunmasının ve epidermal BM bileşenlerinin üretiminin arttırılmasının Koenzim Q-10'nun derideki anti yaşlanma etkisinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (Muta-Takada ve diğ., 2009).

### **1.3.9 Galektin-3**

Pro- ve anti-apoptotik medyatörler, hücre ölüm programının önemli noktalarını, hücre zarından, nukleustan ve sitoplazmadan orijin alan kompleks sinyal yollarını düzenleyerek kontrol ederler. Yaşam ve apoptogenik faktörler arasındaki denge

hücrenin kaderini belirler. Bu dengenin UVB ile bozulması deri malignitelerinin gelişimi ile sonuçlanır (Laethem ve diğ., 2005). Deneysel ve klinik veriler galektin ekspresyonu ile tümör gelişimi ve metastazı arasındaki korelasyonu göstermektedir ve bu nedenle galektinler güvenilir tümör belirteçleri olarak hizmet edebilirler (Balan ve diğ., 2010). Galektin-3, birçok normal ve neoplastik dokuda eksprese olan endogenik galaktoz bağlayan proteindir ve birçok biyolojik olayda rol aldığı düşünülmektedir (Bigotti ve diğ., 2003). Galektin-3 hücre-hücre, hücre-matriks ilişkilerinde önemli rol oynar (Matarrese ve diğ., 2000b). Galektin-3, hücre büyümesini ve apoptozisi düzenler ve bu fonksiyonunu Bcl-2 içeren bir hücre ölümü inhibisyon yolağı aracılığı ile yapabilir (Yang ve diğ., 1996). Galektin-3'ün nükleus/sitoplazma olarak yerleşimi kısmen çeşitli kanserlerin malign fenotipine etki eder (Nakahara ve diğ., 2006).

Castronovo ve diğ. (1999), normal deride Galektin-3 immün boyanmasının daha çok epidermisin orta kısımlarında (dikensi tabaka) ve ekrin ter bezlerinin etrafında görmüştür. 10 örnekten alınan bazal karsinom hücreleri normal epidermal hücrelerle karşılaştırıldığında, belirgin bir şekilde azalan galektin-3 immün boyanma göstermektedir. Bu veriler, galektin-3'ün bazal hücreli karsinomlarında dahil olduğu bazı insan kanser çeşitlerinde down-regüle olduğunu göstermiştir. Bazı tümör tiplerinde stimulatör olan galektin-3, prostat kanseri için inhibitör bir moleküldür (Ellerhorst ve diğ., 2002). İnsan prostat kanserlerinde, galektin-3 hücre lokalizasyonuna göre zıt biyolojik aktiviteler göstermektedir: nükleer galektin-3'ün antitümör fonksiyonu varken, sitoplazmik galektin-3 tümör gelişimini indükler (Califice ve diğ., 2004). Galektin-3'ün neoplastik ilerleme süresince nükleustan taşınıp sitoplazmaya yerleşmesi dil kanseri hastaları için prognostik bir faktör olarak hizmet edebilir (Honjo ve diğ., 2000). Galektin-3'ün immünohistokimyasal ekspresyonu skuamöz hücre karsinomları ile adenokarsinomlar arasında farklılık gösterirken, galektin-3'ün nükleer ekspresyonu her iki grup içinde önemli bir prognostik faktördür (Mathieu ve diğ., 2005).

Galektin-3 hücre adezyonu, göçü, invazyonu, anjiyogenezisi, immün fonksiyonları, apoptozis ve endositozis gibi birçok ekstrasellüler fonksiyon ile ilgilidir. Galektin-3 MMP'ler için bir substrattır ve bunun ayrılması tümör progresyonunda önemli rol



oyunar ve *in vivo* MMP aktivitesi için diagnostik bir belirteç olarak kullanılabilir (Nangia-Makker ve diğ., 2008).

Kolorektal kanserlerde, Galektin-3 ve MIF (migration inhibitory factor) ekspresyon düzeyleri, kanserin biyolojik agresifliği ile ilgilidir (Legendre ve diğ., 2003). Yakın zamanda yapılan çalışmalar, intrasellüler galektin-3'ün ilaçlarla indüklenen apoptozis ve anoikis'i (hücrelerin sabitliğinin kaybolmasıyla indüklenen apoptozis) baskılayıcı bir aktivite gösterdiğini ve hücre canlılığına katkıda bulunduğunu ortaya koymuşlardır (Nakahara ve diğ., 2005). Galektin-3'ün tümör invazyonu ve çeşitli kanserlerin yayılması ile olan ilgisi galektin-3'ün kanser metastazındaki evrensel rolünü düşündürmektedir (Balasubramanian ve diğ., 2009). Son zamanlarda yapılan araştırmalar Galektin-3'ün invazyon ve metastazın, anjiyogenez, hücre-matriks ilişkisi, kan akımı ve ekstravazyon yoluyla yayılması gibi birkaç basamağı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Takenaka ve diğ., 2004a).

### **1.3.10 Glikokonjugatlar**

Hücre içinde, hücre zarlarında, bazal tabakada ve hücreler arası alanlarda yer alan ve hücrenel birçok olayda rol oynayan glikokonjugatlarda (glikoproteinler, glikolipitler ve proteoglikanlar), tümör gelişiminin farklı evrelerinde değişikliklerin (karbohidrat ekspresyonunda ve proteoglikanların dağılımında) meydana geldiği bilinmektedir. Son yıllarda birçok biyolojik olayda ve hastalıkta giderek önem kazanan glikokonjugatlar, farklılaşma, morfogenez, sinyal iletimi, hücrenel bağlantılar, apoptozis gibi birçok olayda değişim göstermeleri nedeniyle giderek daha çok ilgi çeken ve yoğun araştırmalar yapılan moleküller olmaktadır. Örneğin, sialik asit içeren oligosakkaridlerin kanser hücreleri ve endotel hücreler arasındaki adezyonda önemli bir rol oynadığı, hücre yüzeyinin sialillenmesinin metastazla ilişkili olduğu bilinmektedir (Kazozoğlu ve diğ., 2007). Yine glikokonjugatlardaki değişimlerle ilişkili olarak, epitel hücrelerde O-glikosillenen bir glikoprotein olan disadherin'in aşırı ekspresyonunun insan hepatokarsinomlu hücrelerde tümör metastazını yönlendirdiği bildirilmiştir (Tsuiji ve diğ., 2003). Ayrıca, deri malin tümörü Merkel karsinomunda, ekstra-tümöral stromada N-asetil galaktozaminin daha yoğun olduğu, heparan sülfat reaksiyonunun daha az yoğun olduğu bildirilmiştir (Sames ve diğ., 2001). Post-operatif maksiller kistlerde de, inflamatuvar faktörlere karşı oluşan lokal

savunma mekanizmalarında, metaplastik epiteldeki glikokonjugat ekspresiyonundaki değişiklikler ile goblet hücre gelişiminin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Maruyama ve diğ., 2002). Kolorektal adenomlarda da değişmiş karbohidrat bileşimi gösterilmiştir (Redondo ve diğ., 2004). Ayrıca, plazma sialik asit düzeyinin UVB ile arttığı ortaya konmuştur (Yamamoto ve diğ., 1998a).

### 1.3.11 Lektinler

Hücre yüzeylerinde bulunan şeker uzantıları hücresel tanımda çok önemli rollere sahiptir. Ancak, hücre yüzey oligosakkaritlerinin yapılarının aydınlatılması iki teknik problemden dolayı oldukça zordur. Bunlardan ilki, dış şeker dallarının sayısı, tip ve substitüsyon paternindeki heterojenlik nedeniyle çeşitli oligosakkaritlerin ayrıştırılmasındaki güçlülüdür. İkincisi ise, çok az miktarda materyalin bulunabilmesi, detaylı yapısal çalışmaların yapılmasını zorlaştırmaktadır. Lektinler şeker bağlama aktivitesine sahip proteinlerdir. Her lektin oligosakkaritlerdeki ve glikopeptitlerdeki belli şeker dizilerine spesifik olarak bağlanır (Yamamoto ve diğ., 1998b).

Hücre yüzeyindeki karbohidratların yapılarının araştırılmasında lektinler kullanılmaktadır. Lektinler, bitki ve hayvanlarda bulunan, özel karbohidratlara bağlanan, enzimatik olmayan proteinlerdir ve hücre tanınmasında önemli rolleri vardır (Nangia-Makker ve diğ., 2002a). Ayrıca, hücre yüzey glikokonjugatlarının ekspresyonlarındaki değişikliklerin diagnostik araştırmaları gibi, birçok alanda kullanılarak yararlar sağlayan histolojik ayırıcılardır. Karbohidrat histokimyasında kullanılan birçok lektin bitkilerden elde edilmiştir. Lektinler, immünohistokimya için hazırlanan antikordlarda olduğu gibi, florokromlar, biotin ya da horseradish peroxidase (HRP) gibi histokimyasal enzimlerin kovalent olarak bağlanması ile işaretlenebilirler. Uzun yıllardır, çok miktarda işaretlenmiş lektinler ticari olarak bulunabilmektedir. Lektinlerin şekerlere olan afinitesi, antikordların özel antijenlerine elektrostatik ya da van der Waals kuvvetleri ile bağlanması gibidir. Kullanım amaçları antikordların immünohistokimyada kullanım amaçlarına benzerdir. Antikordlardan farklı olarak birçok lektin metal iyonlarına ihtiyaç duyar ( $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$  ya da bunlardan daha fazlası). Birçok hücre tipi, lektinlerle oldukça seçici olarak boyanabilir. Lektinler, sinir hücrelerini işaretlemeye, mide, böbrek ya da gözdeki özel hücreleri göstermeye, bağ doku mast hücrelerinin farklı

populasyonlarının tanımlanmasında kullanılabilir. Lektinlerin son yıllarda kullanılmaya başlandığı bir başka alanda tümör biyolojisi ve patolojisidir. Malign dönüşümün, glikokaliks ya da hücre dışındaki karbohidrat içeriğinin artması ile hücre yüzeyine bağlanan lektinlerin artışıyla ilgili olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Kiernan, 2010, [www.dako.com/.../28829\\_2010\\_conn14\\_c...](http://www.dako.com/.../28829_2010_conn14_c...)). Modifiye olmuş karbohidratlar ve oligosakkaritler protein-karbohidrat etkileşimini engelleme yeteneğine sahiptirler ve bu nedenle, kanser gelişimi ve ilerlemesinde önemli olan hücre-hücre tanınması ve adezyonu sürecini inhibe ederler (Nanagia-Makker ve diğ., 2002). Iwakawa ve diğ. (1996), N-asetilglukozamin (GalNac), L-fukoz ve O-asetile sialik asitin ekspresyonundaki modifikasyonları *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA) ve *Ulex europaeus* agglutinin-1 (UEA-1) kullanarak belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar normal dokular ve adenomları adenokarsinomlarla karşılaştırdıklarında, lektin bağlanmasında belirgin farklılıklar bulmuşlardır. Diğer taraftan, insan kolon karsinomları üzerinde yapılan çalışmalarda, hücrelerin metastatik kapasite farklılıklarının hücre yüzey sializasyonları ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Özgün olarak  $\alpha(2\rightarrow3)$  bağlı sialik asitlere bağlanan *Maackia amurensis* lökoagglutinin (MAL) ve  $\alpha(2\rightarrow6)$  bağlı sialik asitlere özgün *Sambucus nigra* (SNA) kullanıldığında,  $\alpha(2\rightarrow3)$  bağlı sialik asit uzantılarında 1. safha tümörlerinde 2. safha tümörlerindeki göre belirgin bir artışın olduğu bildirilmiştir. Son zamanlarda, N-asetilgalaktozamin uzantılarına bağlanan *Helix pomatia* (HPA) lektini, kanserdeki değişmiş glikozilasyon için ilginç bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Kolorektal kanser ile karbohidrat ekspresyonu arasındaki ilişkiyi karakterize etmek için, bir çok çalışmada lektin histokimyası, ışık ve elektron mikroskobu ile belirlemeler yapılmaktadır (Redondo ve diğ., 2004).

Yaşlanma, zamana bağlı olan, moleküler hasarlardan dolayı hücresel hasarı ve sonuçta doku ve organların işlevsel olarak bozulmasını kapsayan bir süreçtir. Hücre-hücre ve/veya hücre-matriks tanınmasında önemli olan hücre yüzey karbohidratlarının yaşlanma ile ilgili muhtemel rolleri henüz net değildir (Gumus ve Balcan, 2010). Yaşlanma ile ilgili yapılan bir çalışmada, yaşlanan organizmanın eritrositlerinin membranlarındaki glikokonjugat değişimleri lektin histokimya ve lektin blotting ile 1, 4 ve 7 aylık yaşlı sıçanlarda araştırılmıştır. Lektin histokimya (MAL, SNA ve PNA) sonuçlarına göre,  $\alpha(2\rightarrow3)$  ve  $\alpha(2\rightarrow6)$  bağlı sialik asitlerin eritrosit

membranlarında yoğun olarak bulunurken, bu yoğunluğun yaşla birlikte azaldığı bulunmuştur. Aynı lektinler kullanılarak yapılan lektin blotting çalışmalarından da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, organizmanın yaşıyla birlikte sialik asit reaktivitesinin değiştiği, sialik asit içeren glikokonjugatların sadece eritrosit yaşlanması ile değil aynı zamanda organizmanın yaşlanma sürecinde de değiştiği ve yaşla birlikte sialik asit içeren eritrositlerin azaldığı düşünülmektedir (Gumus ve Balcan, 2010).

### **1.3.12 Apoptozis**

Sürekli yenilenen dokularda homeostazis, hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve hücre ölümü arasında sıkı biçimde düzenlenmiş bir denge ile sürdürülür (Haake, 1993). Hücre intiharı olarak da bilinen “apoptozis” (programlanmış hücre ölümü), fizyolojik bir olaydır. Embriyolojik gelişim, erişkin dokunun yaşamının sürdürülmesi ve organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılmasında rol oynar. Apoptozisin hızının değişmesi çeşitli hastalıklara neden olur. Apoptozis’in nekrozis’ten farkı, hem fizyolojik hem de patolojik şartlarda meydana gelebilmesidir. Apoptozis mekanizmasındaki herhangi bir değişiklik tümör gelişimine yardımcı olur (Akşit ve Bildik, 2008). Apoptozis süresince, meydana gelen değişiklikler hücre yüzeyinde, hücre organellerinde ve nükleusta izlenebilir (Öktem ve diğ., 2001).

İnsan derisinde, özellikle epidermiste, UV ışınını absorblayan DNA, urokanik asit, amino asitler, melaninler ve bunların öncülleri ve metabolitleri gibi endogenik kromoforlar bulunmaktadır (Young, 1997). UV ışınları plazma membranları üzerindeki hedeflere etki ederek apoptozisi indükler (Aragane ve diğ., 1998; Kulms ve diğ., 1999). UVB apoptozisi indüklemek için, doğrudan hücre yüzey ölüm reseptörlerini aktive etmek, hücre içi reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu indüklemek, mitokondriden sitokrom c salınımına neden olmak gibi çeşitli hücre sel sinyal yollarını kullanır (Kulms ve Schwarz, 2002). UVB ile indüklenen DNA hasarı, UVB aracılıklı apoptozis için önemli bir olaydır (Kulms ve diğ., 1999). UVB maruziyetinin, epidermal keratinositlerdeki apoptozis gibi, G1 arresti, uzamış S ve G2:M bloğunu indüklediği ve bu prosesin bir G1 kontrol noktası sağlayarak, DNA hasarı taşıyan tehlikeli hücrelerin eliminasyonunu sağladığı gösterilmiştir (Kawagishi

ve diğ., 1998). Ayrıca, UVB'den sonra doza bağılı olarak apoptotik keratinositlerin arttığı bulunmuştur (Kane ve Maytin, 1995). UV maruziyetinden sonra keratinosit apoptozisi ve bunu takiben apoptotik cisimciklerin uzaklaştırılmasının, epidermisi güneşe maruz kalan derinin DNA hasarlarının birikiminden korunmasını sağlayan bir mekanizma olduğuna inanılmaktadır (Hedrych-Ozimina ve diğ., 2011).

Apoptozis sırasında hücrede DNA parçalanması, fosfotidilserin moleküllerinin hücre membranının dış yüzeyine çıkması gibi birçok biyokimyasal değişiklikle birlikte, hücre küçülmesi, kromatin yoğunlaşması, apoptotik cisimcikler gibi birçok morfolojik değişimler de gözlenir. Bu değişimleri göstermek için, kaspaz-3, geçirimli elektron mikroskobu, ELISA, agaroz jel elektroforezi ya da TUNEL yöntemleri kullanılabilir (Güleş ve Eren, 2008). TUNEL (TdT-mediated dUTP nick end labeling) tekniği apoptotik hücrelerde DNA zincir kırıklarını tespit etmek için kullanılır. Apoptozisin erken safhasında oluşan DNA zincir kırıkları, modifiye edilmiş nukleotidlerle serbest 3'-OH terminallerinin enzimatik olarak işaretlenmesi ile belirlenir (Walker ve Quirke, 2001). Piknotik nukleusları ve eozinofilik sitoplazmaları ile güneş yanığı hücreleri (apoptotik keratinositler), UVC ve UVB ya da psoralenler (antipsöriyazis etkili ilaç) varlığında UVA maruziyetinden sonra memeli epidermisinin karakteristiğidir (Young, 1987). Bu hücrelerin nukleusları, parçalanmış DNA'larını *in situ* olarak tespit eden TUNEL metodu ile güçlü bir şekilde boyanır (Kuroki ve diğ., 2001). TUNEL yöntemi, UVB radyasyonu ile indüklenen apoptotik epidermal hücrelerin nicel olarak değerlendirilmesi için fizyolojik olarak en uygun yöntem olarak ortaya çıkmaktadır (Okamoto ve diğ., 1999).

#### 1.4 Hipotez

*O. hypericifolium* esansiyel yağının, deride UVB'nin neden olduğu hasarlara karşı koruyucu etkisi var mıdır?

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Bitkilerin Toplanması, Ekstraksiyonu ve Yağ Eldesi

*O. hypericifolium* Denizli yöresinde yetişen endemik bir bitkidir (Sönmez, 1999). Bitkinin toprak üstü kısımları 2009 Ağustos'unda, çiçeklenme döneminde, Sandras Dağı, Beyağaç, Denizli'den toplanmıştır. Bitkiler, gölgede ve oda ısısında kurutulmuş, kullanılabilece kadar polietilen poşetlerde saklanmıştır. Esansiyel yağ, Clevenger-tip aparat kullanılarak, 3 saatlik hidrodistilasyonla ekstrakte edilmiştir (Şekil 2.1). Yağ toplanmış, susuz sodyum sülfat ile kurutulmuş ve 4°C'de saklanmıştır.



Şekil 2.1 : Clevenger aparatı (a) ve Clevenger aparatı tüpünde *O. hypericifolium* esansiyel yağı (b).

**Esansiyel yağ içeriğinin tayini:** Bitki esansiyel yağ içeriği GC-MS spektrometresi kullanılarak tayin edilmiştir. GC-MS analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi, Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi, Isparta'da yapılmıştır. Analizler, Baydar ve Baydar (2005) ile Eikani ve diğ. (2005) yöntemlerindeki küçük değişikliklerle yapılmıştır. *O. hypericifolium* esansiyel

yağının kimyasal içeriği elektro sprey iyonizasyon (EI), GC-MS (Shimadzu, GC-MS-QP 5050 A GC/MS system) kullanılarak tespit edilmiştir. Esansiyel yağ analizi için CP Wax 52 CB kapiller kolon (50 m x 0,32 mm *i.d.*, 1,2 µm) ve taşıyıcı gaz olarak Helyum (10 mL/min) kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 60°C'den 220°C'ye, dakikada 2°C'lik artışla ulaşacak şekilde programlanmıştır ve izotermal olarak 220°C'de 20 dakika beklemiştir. Enjeksiyon bloğunun sıcaklığı 240°C ve dedektör sıcaklığı 250°C'dir. Örnek seyreltilerek (25 µl örnek hekzanla 1000µl'ye tamamlanmıştır) kullanılmıştır. Kütle spektrumu 70 eV'ta ve bileşiklerin her biri iyonlaştırıldıktan sonra tek tek alınmıştır. "Wiley, Nist ve Tutor" kütüphaneleri kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Esansiyel yağ bileşenlerinin yaklaşık % değerleri GC pik alanları hesaplanarak belirlenmiştir.

## 2.2 Hayvanlar

UVB uygulanmış Balb/c fareler, insanlara en benzer sonuçları verir (Sharma ve diğ., 2011). Bu nedenle, 8-10 haftalık, dişi Balb/c fareler, 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda tutulmuş, fare yemi ve su ile beslenmişlerdir. 6 fareden oluşan 4 grup oluşturulmuştur. Tüm farelerin sırtları uygulamalara başlamadan 2 gün önce eter anestezi altında tıraşlanmıştır (Şekil 2.2).

Kontrol grupları;

Grup 1: kontrol grubu

Grup 2: UVB uygulanan kontrol grubu

Deney grupları;

Grup 3: *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan, UVB uygulanmayan grup

Grup 4: UVB uygulamasından önce *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan grup

Etik izin: Pamukkale Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu-HADEK'ten alınmıştır (PAUHDEK-2008/024).

Tüm deneyler, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Biriminde yapılmıştır.



Şekil 2.2 : Sırtı tıraşlanmış fareler.

### 2.3 UVB Uygulama

Deneylede Kim ve diğ. (2004)'lerinin prosedürü takip edilmiştir. Bunun için, UVB uygulamalarından 1 hafta önce, farelerin sırt derilerine haftada 3 gün esansiyel yağ uygulanmıştır. Daha sonra fareler 4 hafta boyunca, haftada 3 kez UVB radyasyonuna maruz bırakılmışlardır. Uygulamalarda 3 adet UVB lamba (UVItec UVI lite UV Lamps, T-15.M, Cambridge, UK) kullanılmış ve ölçümler UV metre (UVItec, WLX-3W, Cambridge, UK) ile alınmıştır. UVB uygulama prosedürü şu şekilde düzenlenmiştir:

1. Hafta; 50 mJ/cm<sup>2</sup>,
2. Hafta; 70 mJ/cm<sup>2</sup>,
3. Hafta; 80 mJ/cm<sup>2</sup>,
4. Hafta; 80 mJ/cm<sup>2</sup>.

UVB uygulamasının bitiminden 3 gün sonra yoğun anestezi altındaki fareler sakrifiye edilmişlerdir.



## 2.4 Doku Örneklerinin Alınması ve Preparatların Hazırlanması

Farelerden alınan dorsal deri örnekleri, 2 parçaya bölünmüştür. Bir parçası Sainte-Marie fiksatif solüsyonunda (Sainte-Marie, 1962) fikse edilerek, rutin doku takibi sonrasında parafine gömülmüştür. Diğer parça, kriyo kesitler için Optimum Cutting Temperature (OCT) medium içine gömülerek, hızlıca sıvı azotta dondurularak, kullanılmaya kadar -86°C'de saklanmışlardır.

Frozen (dondurma) kesit KRIYOSTAT denen cihazda yapılır. Kriyostat mikrotom içeren buzdolabı kutusudur. Cihazdaki ısı yaklaşık -20 \ -30 derecedir. Dokular burada kesilir ve lama alınır. Preparat boyama için hazırdır. Bu yöntem;

1. Hızlı sonuç almayı sağlar,
2. Birçok enzim ve immünolojik fonksiyonları korur (fiksasyon gerektirmez),
3. Çalışma kolaylığı (manipüle edilmesi gereken az sayıda basamak içerir) sağlar,
4. Isıya hassas yapılarla çalışıldığında ya da hız gerekli olduğu durumlarda (patolojik incelemelerde) tercih edilir.

## 2.5 Histokimya Yöntemleri

Parafin bloklardan alınan 5 µm kesitlere aşağıda belirtilen teknikler, küçük değişiklikler yapılarak uygulanmıştır:

1. Genel histolojik yapıyı göstermek için Mayer'in Hematoksilin-Eozin (H&E) boyaması,
2. Mast hücrelerini göstermek için Toluidin Mavisi (TB; pH 2,3) boyaması (<http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/TOLUID.PDF>),
3. Kollajeni göstermek için Mallory'nin Fosfotungstik Asit Hematoksilin (PTAH) boyaması (Mallory, 1938),
4. Elastik fibrilleri göstermek için Taenzer-Unna Orcein boyaması uygulanmıştır.

Ayrıca, 6 µm'lik frozen kesitlere nötral lipidleri göstermek için Oil Red O (<http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/OILRED.PDF>) histokimya tekniği uygulanmıştır.

Preparatlar, Olympus BX50 ışık mikroskobu ve Olympus DP2-BSW mikroskop dijital kamera sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır.

## **2.6 İmmünohistokimya Yöntemleri**

### **2.6.1 Laminin immünohistokimya**

Bu yöntem için 6 µm'lik frozen kesitlere Laminin (Sigma Immh 7) kit prosedürü uygulanmıştır. Kesitlerin kurumasını engellemek için tüm inkübasyonlar nem odası içinde yapılmıştır. Hematoksilen ile yapılan zıt boyamadan sonra, kesitler gliserin ile kapatılmışlardır.

*Negatif kontrol:* Kesitler primer antikor yerine PBS (phosphate buffered saline) içinde hazırlanmış olan %5'lik normal rabbit serum (SIGMA, R 9133) ile inkübe edilmiştir.

### **2.6.2 Galektin-3 immünohistokimya**

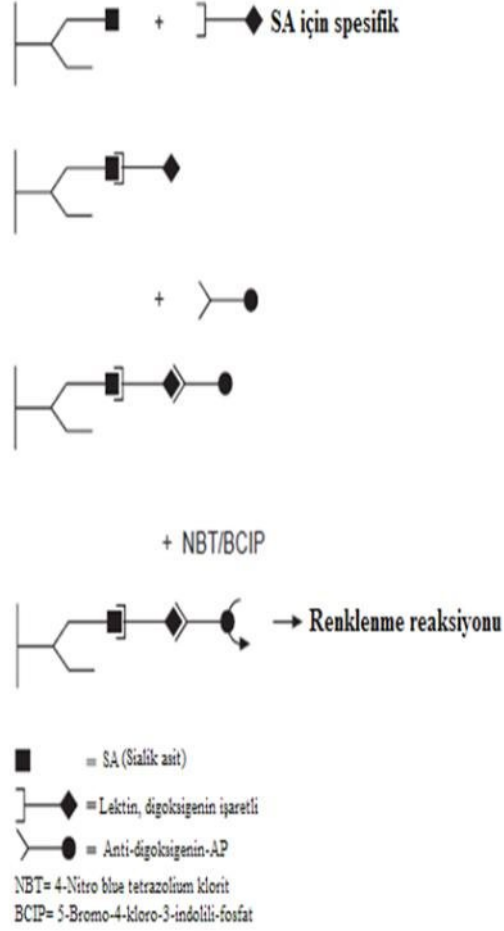
Galektin-3 immün boyama için 6 µm'lik frozen kesitlere Galectin (R&D SYSTEM BAF 1197) ve Tissue Staining Kit (R&D SYSTEM CTS 002) prosedürü uygulanmıştır. Kesitlerin kurumasını engellemek için tüm inkübasyonlar nem odası içinde yapılmıştır. Hematoksilen ile zıt boyaması yapılan kesitlerden su çekilerek, kapatma medyumunu ile kapatılmışlardır.

*Negatif kontrol:* Kesitler primer antikor içermeyen Tris+BSA (Bovine Serum Albumin) karışımı ile inkübe edilmiştir.

## **2.7 Lektin Histokimya**

6 µm'lik frozen kesitlere, DIG Glycan Differentiation Kit (Şekil 2.3) (ROCHE, Kat No: 11 210 238 001) lektin histokimya kit prosedürü küçük modifikasyonlarla uygulanmıştır. Kesitlerin kurumasını engellemek için tüm inkübasyonlar nem odası içinde yapılmış ve kesitler gliserin ile kapatılmışlardır.

*Negatif kontrol:* Kesitler lektin yerine sadece TBS (Tris Buffered Saline) ile inkübe edilmiştir.

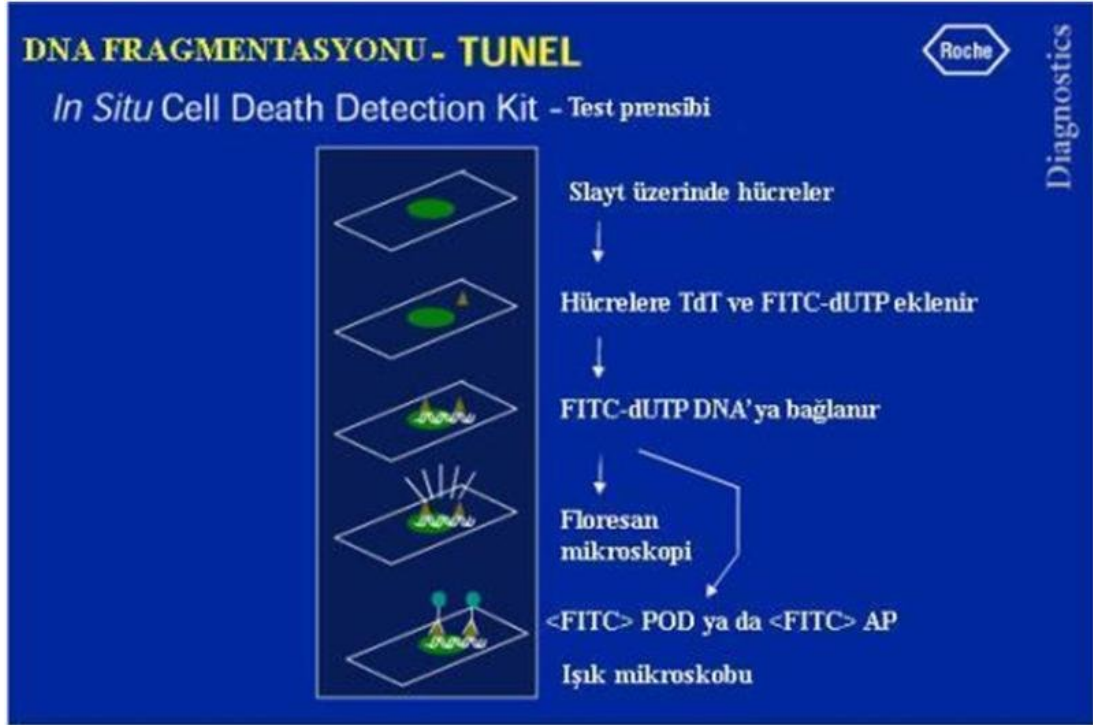


Şekil 2.3 : Lektin kit çalışma prensibi (DIG Glycan Differentiation Kit, Cat. No. 11 210 238 001, Roche).

## 2.8 TUNEL Yöntemi

TUNEL-pozitif hücrelerin belirlenmesi için *In Situ* Cell Death Detection Kit, POD (ROCHE; Kat No: 11 684 817 910) kullanılmıştır (Şekil 2.4). 6 µm'lik frozen kesitlere kit prosedürü küçük modifikasyonlarla uygulanmıştır. Kesitlerin kurumasını engellemek için tüm inkübasyonlar nem odası içinde yapılmıştır. Son olarak kesitlere metil yeşili ile zıt boyama yapılmış, dokulardaki su çekilip, kapatma medyumu ile kapatılmıştır.

*Negatif kontrol:* Kesitler sadece label solüsyonu ile inkübe edilmiştir.



Şekil 2.4 : Roche In Situ Cell Death Detection Kit, POD çalışma prensibi (<http://www.biocompare.com/Articles/ApplicationNote/866/In-Situ-Cell-Death-Detection-Kit.html>).

## 2.9 Epidermal Kalınlık Ölçümü, Mast Hücre Sayımları, TUNEL Pozitif Hücre Sayımları

Kantitatif analizler için, her fareden seçilen H&E boyanmış bir kesitte, x400'te 10 mikroskopik bölge fotoğraflanmıştır. Daha sonra, her mikroskopik bölgeden rastgele seçilen 4 bölgede imaj analizi için kullanılan yazılım (DP2-BSW Soft Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Japan) kullanılarak epidermal kalınlık ölçümü yapılmıştır. Kalınlıklar piksel cinsinden ölçülerek, tüm değerlerin ortalamaları hesaplanmış ve değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Mast hücre sayıları için, Toluidin Mavisi ile boyanmış bir kesitte x400'te 5 mikroskopik bölge fotoğraflanmıştır. Daha sonra, her mikroskopik bölgede erguvan renkli mast hücreleri sayılarak, tüm değerlerin ortalamaları hesaplanmış ve değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Ayrıca, TUNEL tekniği uygulanan örneklerde mikroskop altında x1000 büyütmede her örnek için 5 bölge fotoğraflanmış ve bu bölgelerde TUNEL-pozitif hücre sayısı tespit edilmiştir. Daha sonra bulunan değerlerin ortalaması hesaplanarak, tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir.

## **2.10 İstatistiksel Analizler**

Epidermal kalınlık değerleri, mast hücreleri ve TUNEL-pozitif hücre sayıları, ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Grup içi farklılıklar non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar ise Mann-Whitney testi kullanılarak değerlendirilmiştir (SPSS16, SPSS, Inc. An IBM company, Chicago, Illinois).  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Uçucu Yağ İçeriği

Esansiyel yağ, Clevenger-tip aparat kullanılarak hidrodistilasyonla elde edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Bileşenlerin yaklaşık % değerleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1 : *O. hypericifolium* esansiyel yağının kimyasal içeriği.

Compounds	Rt	İçerik (%)
$\alpha$ -pinen	7,2	1,83
Kamfen	8,5	0,17
$\beta$ -pinen b	10,1	0,09
Mirsen	12,3	0,90
$\alpha$ -Terpinen	13,3	1,75
$\gamma$ -Terpinen	16,6	13,91
Simen	18,1	34,33
1-Okten-3-ol	25,8	1,78
Terpineol	29,9	0,35
Karyofillen	38,5	1,07
Terpinen-4-ol	38,9	0,76
Borneol	44,4	0,52
Spatulenol	68,2	0,11
Timol	70,1	19,54
Karvakrol	71,6	21,76
Bilinmeyen		1,13

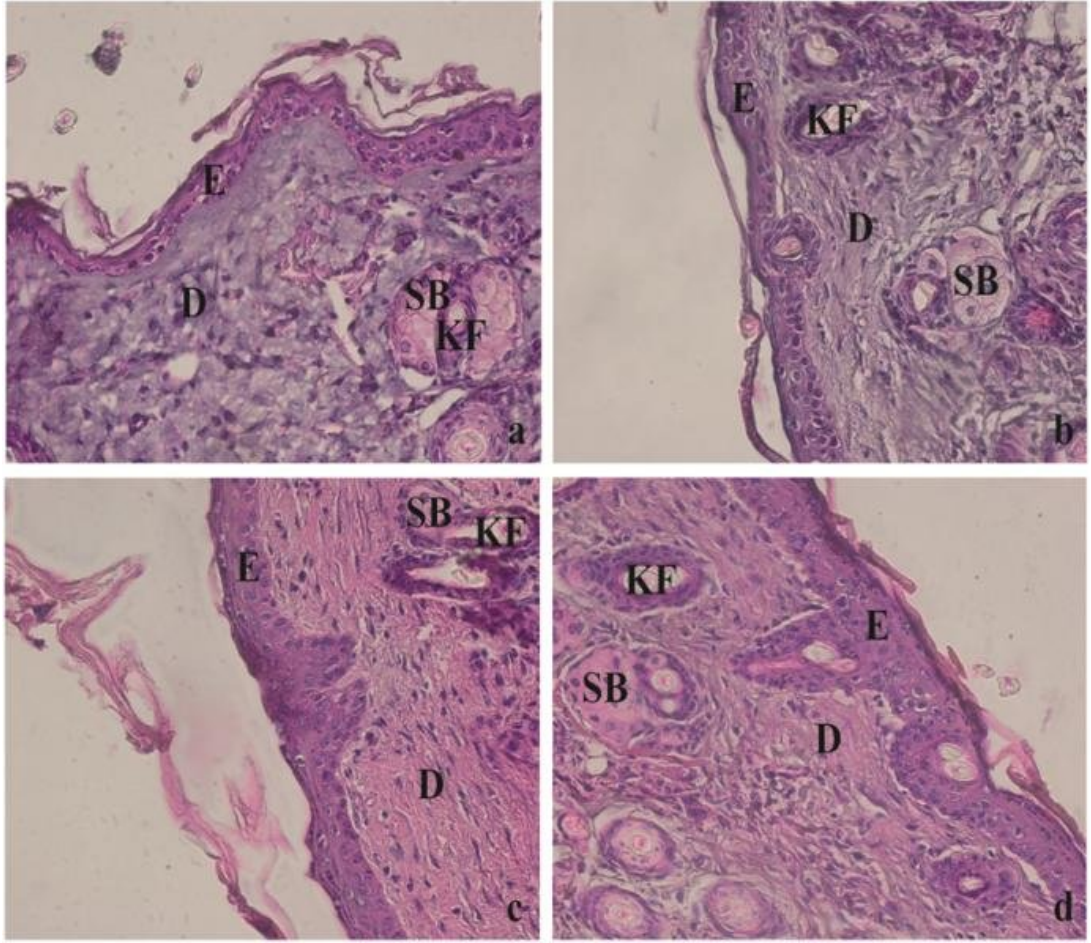
Rt: Retention time, %: Her bir bileşenin yüzde değeri

Esansiyel yağın GC-MS analizi sonucunda yağın %98,87’sini meydana getiren 15 bileşen tanımlanmıştır. Simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen esansiyel yağın temel bileşenleridir.

#### 3.2 Genel Histolojik Bulgular

Genel histolojik yapıda tüm gruplarda belirgin farklılık gözlenememiştir. Genel olarak tüm gruplarda, en dışta epidermis, altındaki dermiste, kıl folikülleri ve saçları

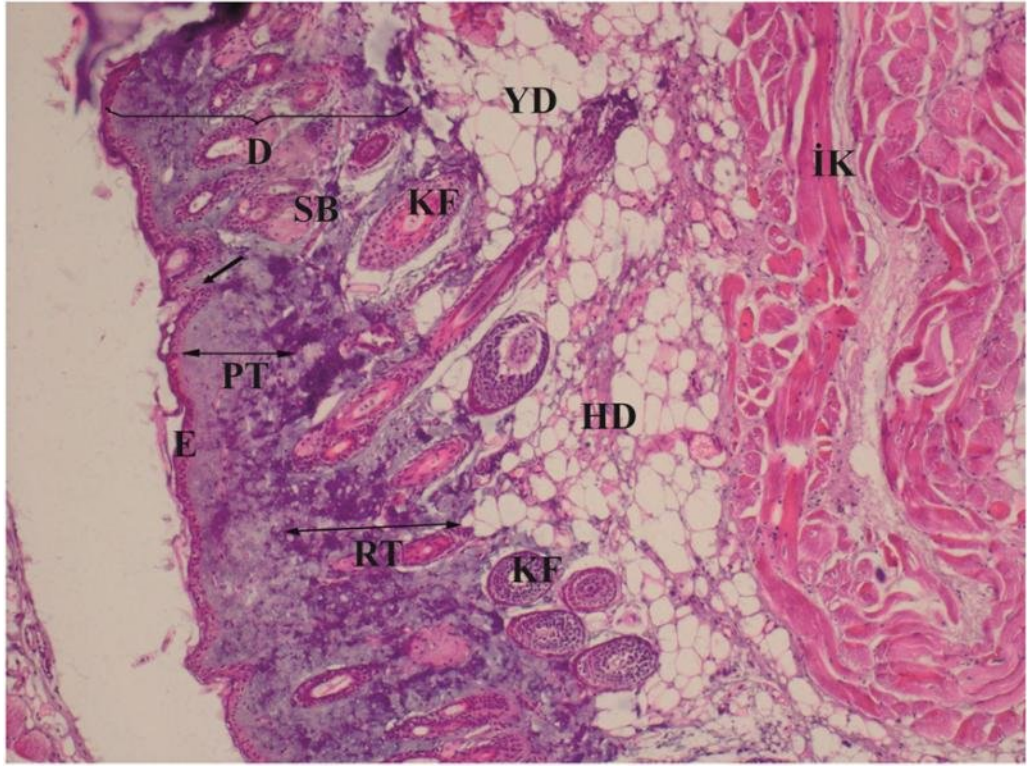
ile ter bezleri ayırt edilmiştir. Derin dermiste ise yağ ve kas doku yer almaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 : Tüm gruplara ait deri kesitleri. E: Epidermis, D: Dermis, SB: Sebase bezi, KF: Kıl folikülü. a: Grup 1, b: Grup 2, c: Grup 3, d: Grup 4, H&E, x400.

Fare sırt derisinden hazırlanan parafin kesitlerde, derinin tabakaları ayırt edilmiştir (Şekil 1.5; 3.2). Genel histolojik yapıda en dışta epidermis, altında dermiste kıl folikülleri ve saçları ile sebase bezleri görülmektedir. Derin dermiste ise yağ ve kas dokusu yer almaktadır.

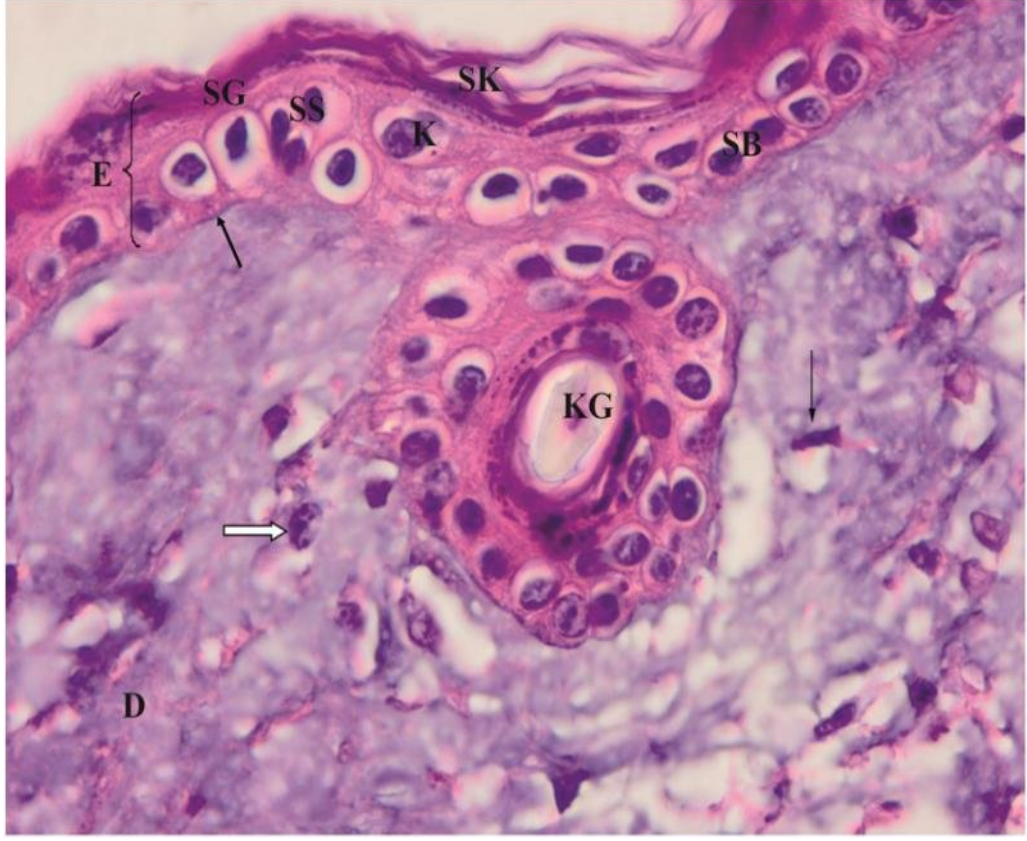




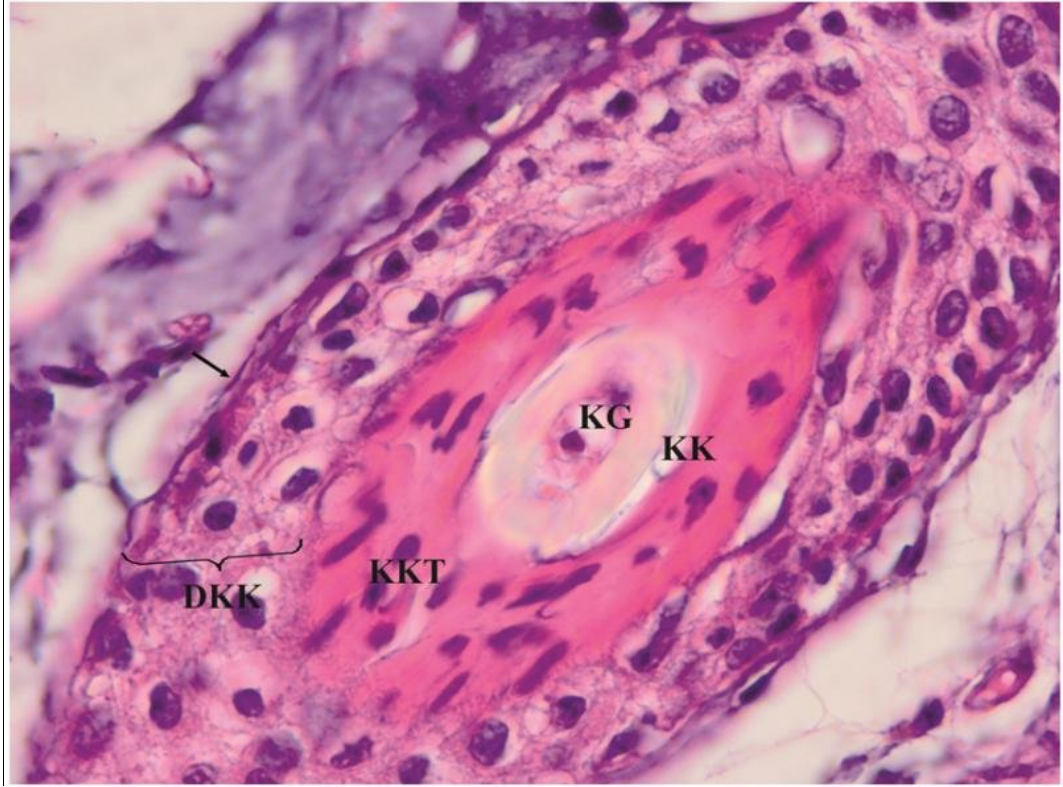
Şekil 3.2 : Dorsal deri. E: Epidermis, D: Dermis, PT: Papillar tabaka, RT: Retiküler tabaka, SB: Sebase bezi, YD: Yağ dokusu, KF: Kıl folikülü, HD: Hipodermis, İK: İskelet kası, Dermal papilla (ok), Grup 1, H&E, x100.

Epidermisi meydana getiren stratum korneum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum bazale tabakaları ile dermiste enine kesilmiş kıl folikülleri ayırt edilmektedir (Şekil 3.3). Enine kesilmiş olan bir kıl folikülü yakından incelendiğinde şu yapılar izlenir: merkezdeki kıl gövdesinin etrafında ince bir tabaka halinde, şeffaf kıl korteksi yer almaktadır. Kıl korteksini koyu bir bant şeklinde kıl kütikülü kuşatmaktadır. Dış kök kılıfı, yuvarlak çekirdekli, hücre sınırları belli olan bir tabaka halinde yer almaktadır. Kılın en dışında ise, çok ince bir tabaka halinde bağ dokusu ayırt edilmektedir (Şekil 1.13; 3.4).



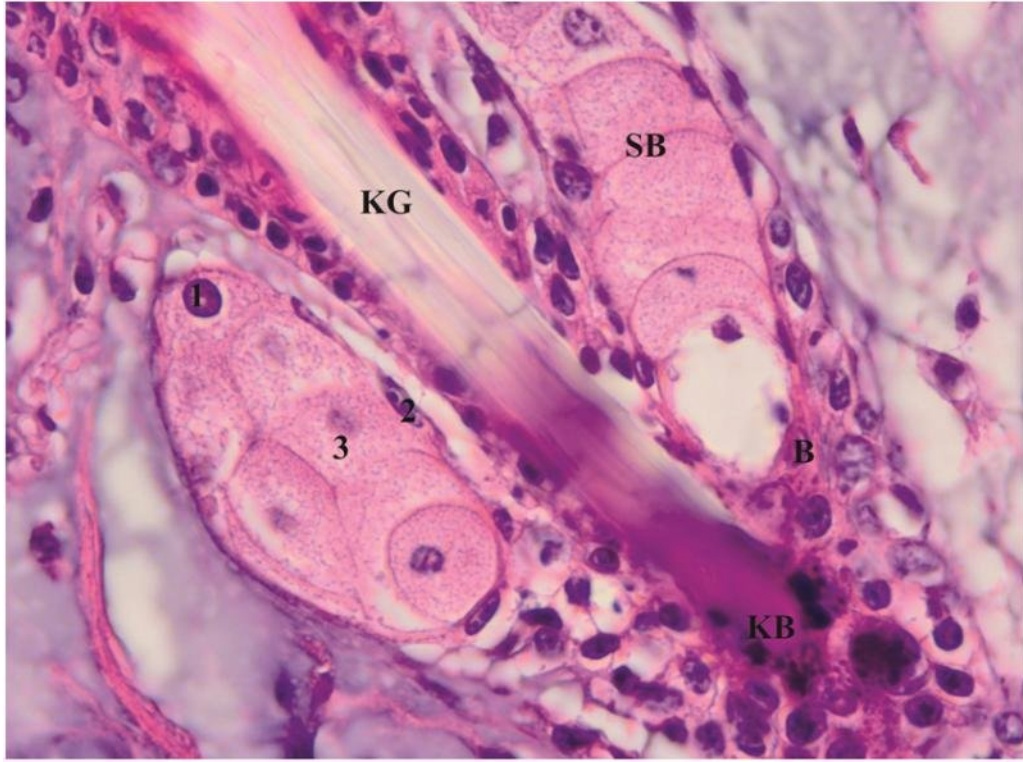


Şekil 3.3 : Epidermis ve üst dermis. E: Epidermis, D: Dermis, KG: Kıl gövdesi, SK: Stratum korneum, SG: Stratum granulosum, SS: Stratum spinosum, SS tabakasında keratinositler (K), SB: Stratum bazale, bazal membran (ok), dermiste fibroblastlar (ince ok) ve mast hücreleri (beyaz ok), Grup 1, H&E, x1000.



Şekil 3.4 : Hipodermiste kıl folikülü. DKK: Dış kök kılıfı, KG: Kıl gövdesi, KK: Kıl korteksi, KKT: Kıl kutikülü, bağ doku kılıfı (ok), Grup 1, H&E, x1000.

Kıl folikülünün boyuna kesitinde ise, kıl bulbusu (kıl kökü ve dermal papilla beraberce kıl bulbusunu oluşturur) ve çevreleyen yapılar görülmektedir. Sebace bezi yapısında ise, bazal hücreler, bazal hücrelerin üzerindeki sebum salgılayan hücreler ve asinüs kanalına yakın bir bölgede, sebum salgılayan hücrelerin çekirdekleri büzüşerek dejenere olmuş hücreler ayırt edilebilmektedir. Boyuna kesitte yine iç kök kılıfı ile dış kök kılıfı ayırt edilmektedir (Şekil 1.15; 3.5).



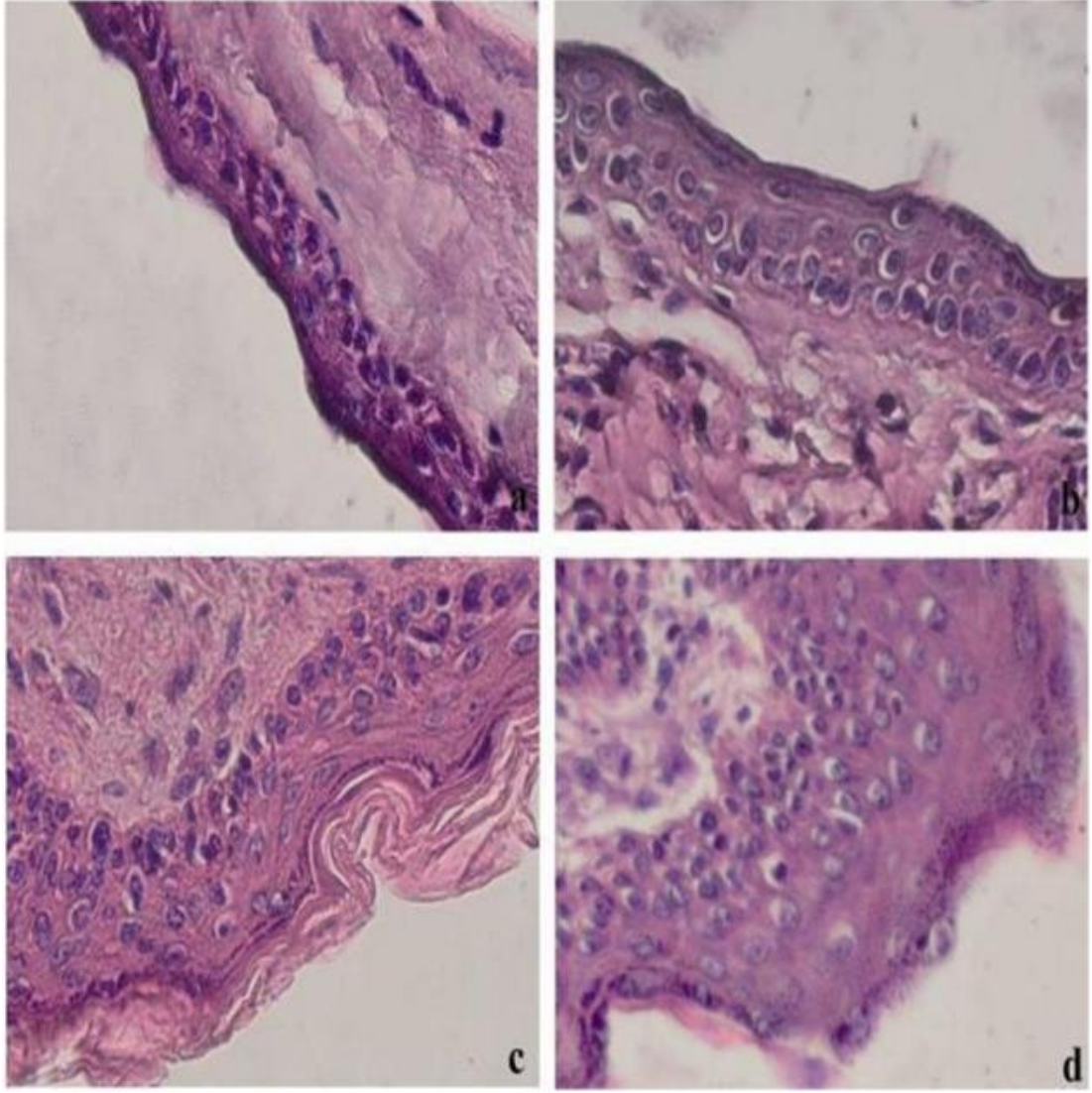
Şekil 3.5 : Kıl folikülleri ve çevreleyen yapılar. SB: Sebace bez (1: Sebum salgılayan hücreler, 2: Bazal hücreler, 3: Asinüs kanalına yakın bölgedeki çekirdekleri büzüşmüş sebum salgılayan hücreler), B: Bazal hücreler, KB: Kıl bulbusu, KG: Kıl gövdesi, Grup 1, H&E, x1000.

### 3.3 İstatistiksel Bulgular

#### 3.3.1 Epidermal kalınlık ölçümlerinin istatistik bulguları

Epidermal kalınlık H&E boyanmış kesitlerde incelenmiştir (Şekil 3.6). Grup 2’de epidermal kalınlık Grup 1’e göre biraz artmıştır. Bununla birlikte, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3’te epidermal kalınlık Grup 1’e göre anlamlı bir şekilde artmıştır. Grup 4’te epidermal kalınlık Grup 3’e göre biraz daha artmıştır ve Grup 1 ve 2 ile anlamlı fark göstermiştir. Bu bulgulara göre, Grup 3’te *O. hypericifolium* esansiyel yağı, kalınlığı arttırmıştır. UVB’nin yağla birlikte uygulanması ise, Grup 4’te belirlendiği şekilde daha fazla epidermal kalınlaşmaya yol açmıştır.





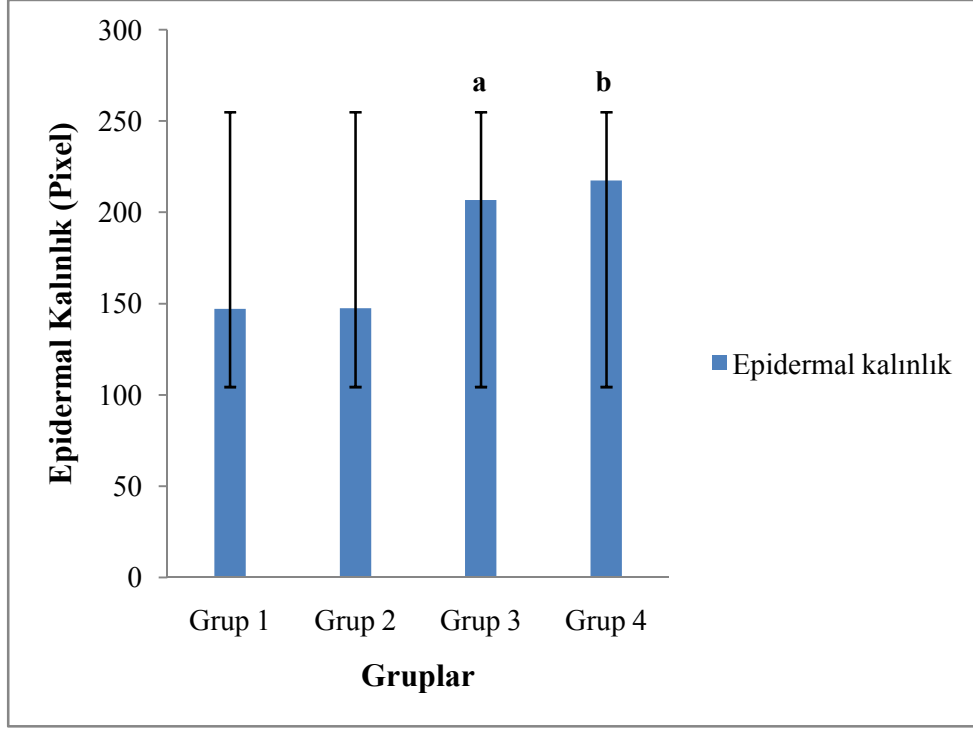
Şekil 3.6 : Gruplarda epidermal kalınlıklar. a. Grup 1; b. Grup 2; c. Grup 3; d. Grup 4. H&E, x400.

Gruplara ait epidermal kalınlık ölçümleri Tablo 3.2’de ve Şekil 3.7’de gösterilmiştir. Grup 1 ve Grup 2 arasında epidermal kalınlık bakımından istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Grup 3’te epidermal kalınlık istatistiksel olarak Gruplar 1 ve 2’den farklıdır ( $p<0,05$ ). Epidermal kalınlık Grup 1’den 1,404 kat ve Grup 2’den 1,402 kat daha fazladır. Grup 4’de ise epidermal kalınlık Grup 1 ve 2’den istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermektedir ( $p<0,05$ ). Grup 1’den 1,477 kat ve Grup 2’den 1,475 kat daha kalındır. Ayrıca, Grup 4 ile Grup 3 arasında epidermal kalınlık açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ).

Tablo 3.2 : Gruplara ait epidermal kalınlık ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
147,12±18,17 <sup>a</sup>	147,38±10,05 <sup>b</sup>	206,67±55,18 <sup>ab</sup>	217,39±85,33 <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup> İstatistiksel olarak birbirinden farklı olan gruplar (p<0,05)



Şekil 3.7 : UVB'ye maruz kalmış fare derisinde kontrol ile karşılaştırıldığında epidermal kalınlık-*O. hypericifolium* esansiyel yağı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. Her sütun ortalama±standart sapmayı göstermektedir. Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney test; a: p<0,05 Grup 1 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. b: p<0,05 Grup 1 ve Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

Buna göre:

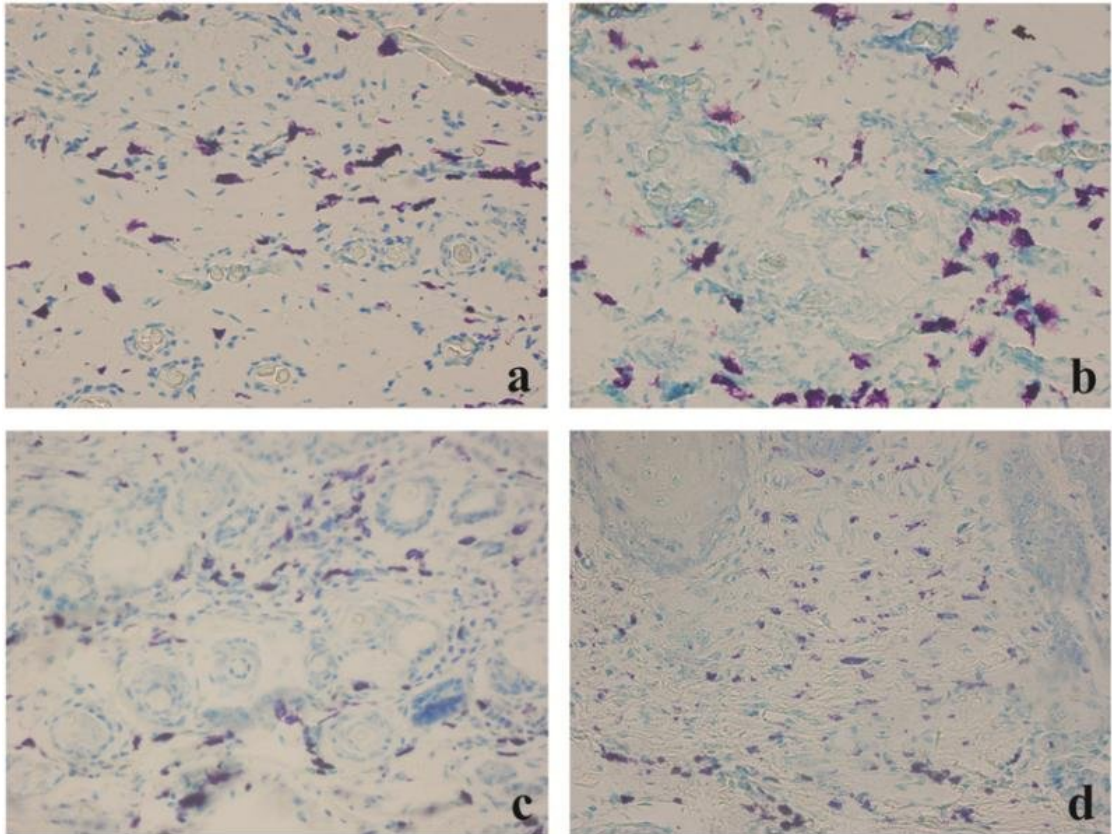
-Grup 1 ve Grup 2 arasında az farklılık olmasına karşın istatistiksel fark yoktur.

-Grup 1-Grup 3, Grup1-Grup 4, Grup 2-Grup3 ve Grup 2-Grup 4 arasında istatistiksel fark vardır.

İstatistiksel bulgular, deri kalınlığına başlıca seyreltilmemiş *O. hypericifolium* yağının neden olduğunu göstermektedir.

### 3.3.2 Mast hücre sayımlarının istatistik bulguları

Grupların mast hücre sayıları toluidin mavisi uygulanan preparatlarda erguvan renkli hücreler sayılarak tespit edilmiştir (Şekil 3.8). Grup 2’de mast hücre sayısı Grup 1’e göre %38,73 oranında artmıştır. Seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3’te, mast hücre sayısı Grup 1’e göre %48,98 ve Grup 2’ye göre ise %7,39 oranında artmıştır. Grup 4’teki mast hücre sayısı ise Grup 1’e göre %85,25, Grup 2’ye göre %33,54 ve Grup 3’e göre %24,35 oranında artış göstermiştir.



Şekil 3.8 : Dermiste erguvan renkte metakromazi gösteren mast hücreleri. a: Grup 1, b: Grup 2, c: Grup 3, d: Grup 4, TB, x400.

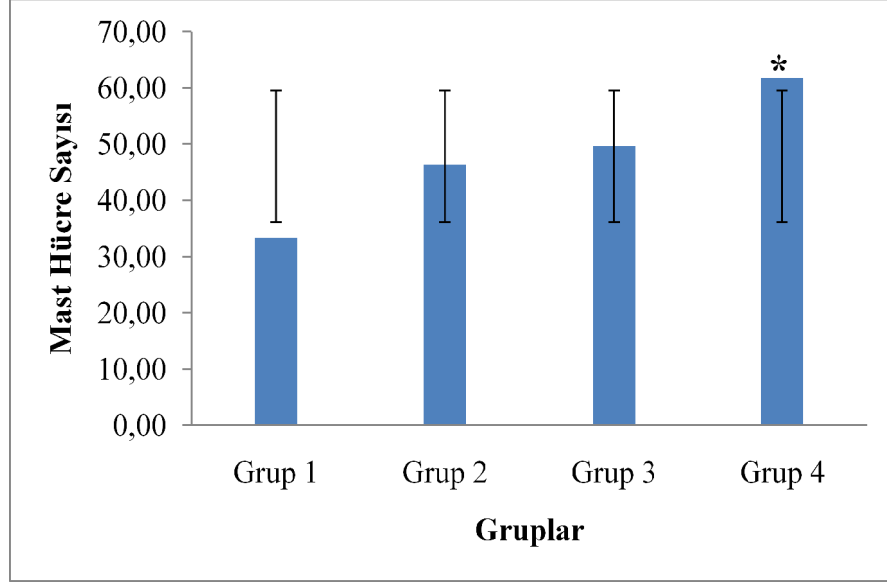
Tablo 3.3: Grupların mast hücre sayıları.

Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
33,36±15,30	46,28±31,66	49,70±23,73	61,80±15,09*

\* Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark görülen grup  $p < 0,05$ . Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Gruplara ait mast hücre sayıları Tablo 3.3’de ve Şekil 3.9’da gösterilmiştir. Grup 1 ile 2. ve 3. gruplar arasında mast hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir

fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Grup 4'te mast hücre sayısı istatistiksel olarak Grup 1'den farklıdır ( $p<0,05$ ). Mast hücre sayısı Grup 3 ve 4'te, Grup 2'ye göre daha fazladır ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemektedir ( $p>0,05$ ). Grup 4 ile Grup 3 arasında mast hücre sayısı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ).



Şekil 3.9 : Mast hücre sayılarının ortalamalarını gösteren grafik. Her sütun ortalama±standart sapmayı göstermektedir. Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney test; \*İstatistiksel olarak Grup 1'den farklı ( $p<0,05$ ).

Bulgular, UVB ve seyreltilmemiş esansiyel yağ uygulamasının birlikte, mast hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğunu göstermektedir.

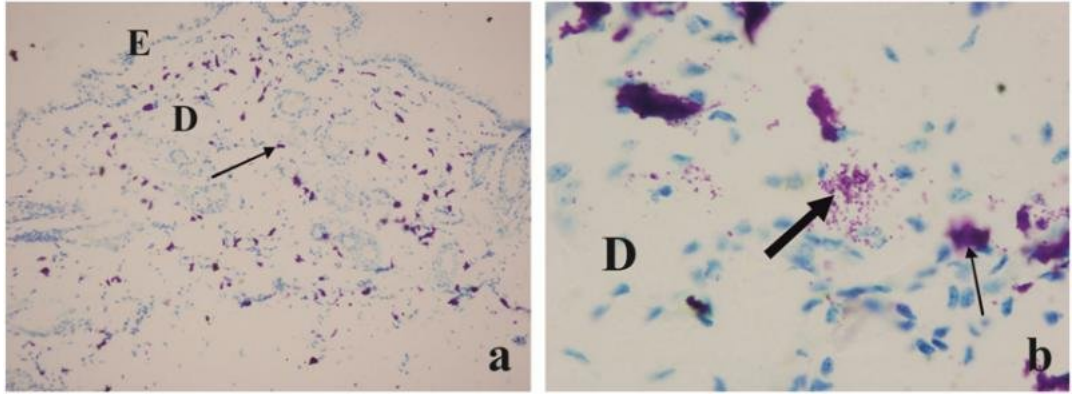
### 3.4 Histokimya Bulguları

#### 3.4.1 Toluidin mavisi bulguları

Grup 1:

Dermis içinde ve derin dermiste erguvan renkte boyanmış mast hücreleri ayırt edilmiştir. Az sayıda degranüle olmuş mast hücrelerine de rastlanmıştır (Şekil 3.10).

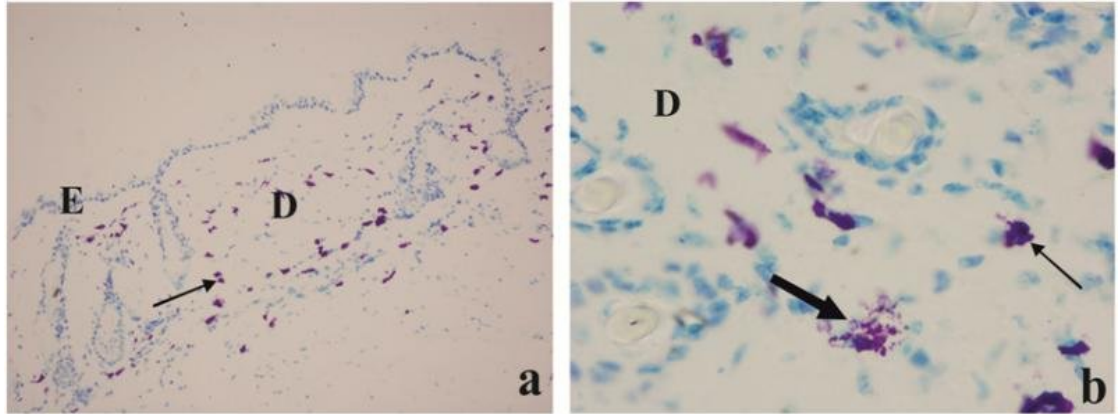




Şekil 3.10 : Grup 1’de toluidin mavisi ile boyanmış kesitler. Mast hücreleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, mast hücre degranülasyonu (kalın ok). TB, a: x200, b: x1000.

#### Grup 2:

Dermis içinde ve derin dermiste erguvan renkte boyanmış mast hücreleri ayırt edilmiştir. Az sayıda degranüle olmuş mast hücrelerine de rastlanmıştır (Şekil 3.11).

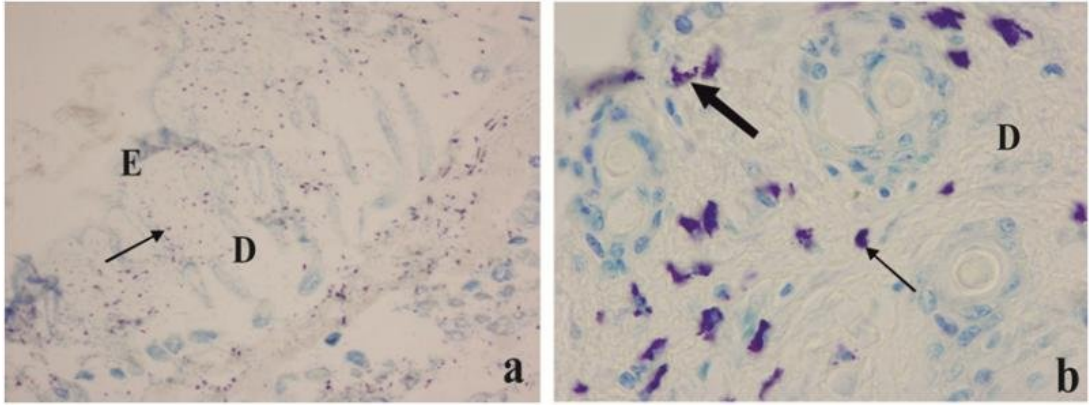


Şekil 3.11 : Grup 2’de toluidin mavisi ile boyanmış kesitler. Mast hücreleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, mast hücre degranülasyonu (kalın ok). TB, a: x200, b: x1000.

#### Grup 3:

Dermiste çok sayıda erguvan renkte boyanmış mast hücreleri ayırt edilmiştir. Yer yer degranüle olmuş mast hücrelerine de rastlanmıştır (Şekil 3.12).

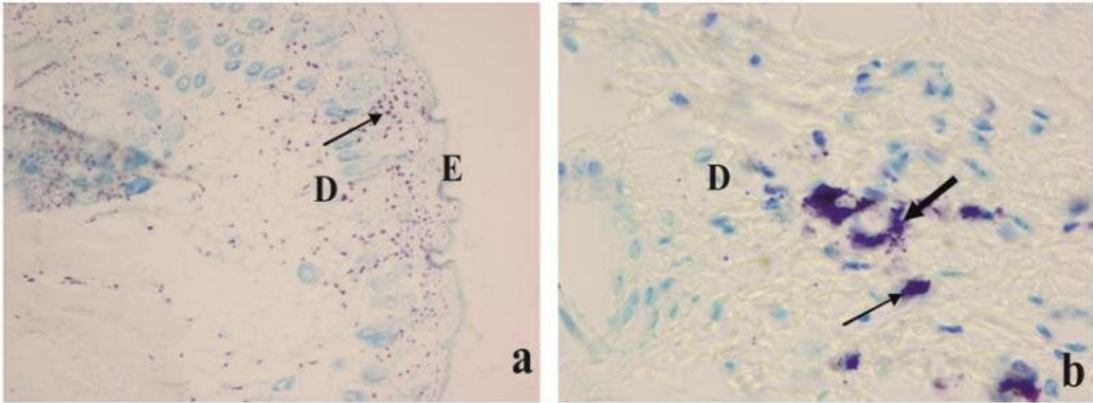




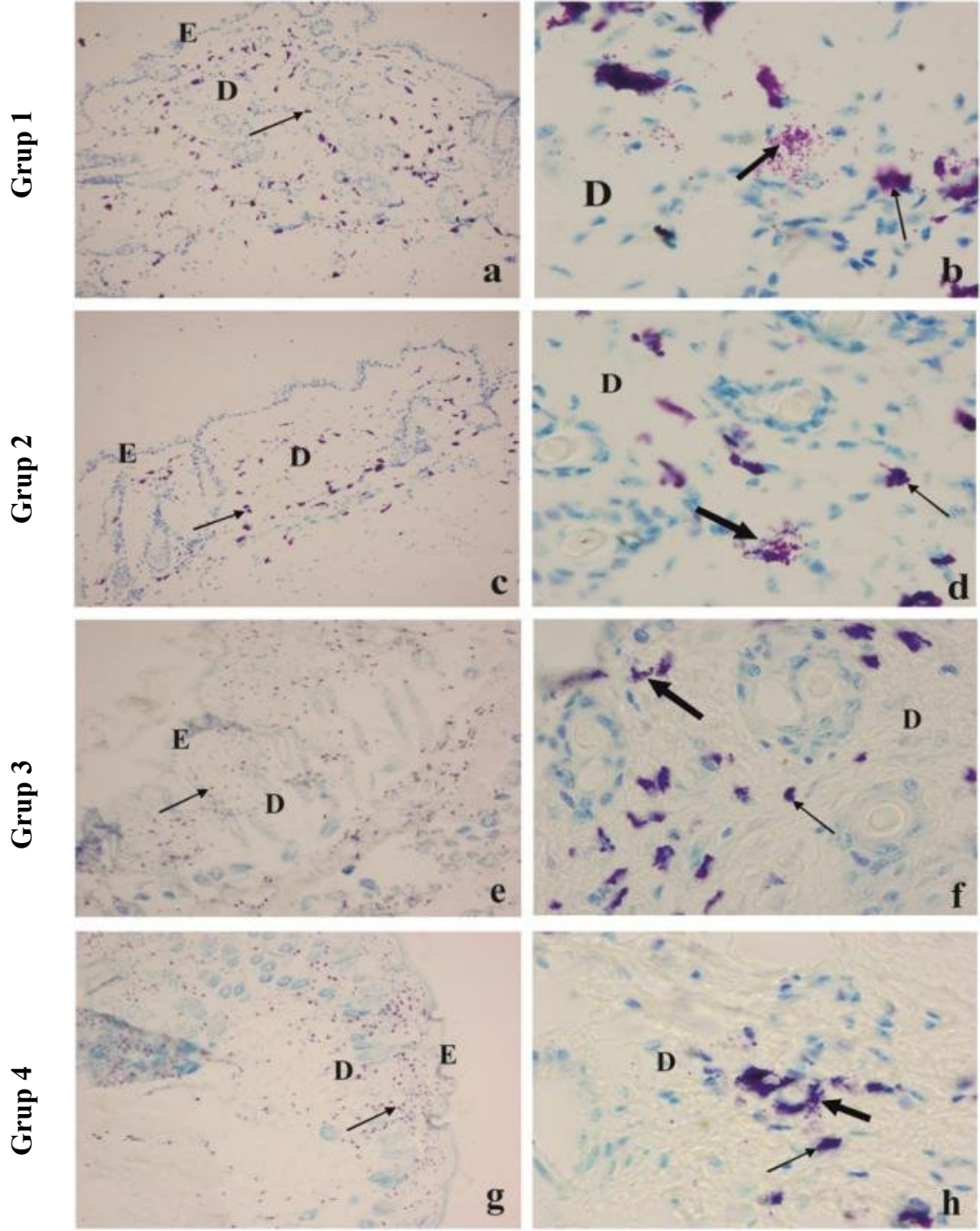
Şekil 3.12 : Grup 3’de toluidin mavisi ile boyanmış kesitler. Mast hücreleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, mast hücre degranülasyonu (kalın ok). TB, a: x100, b: x1000.

#### Grup 4:

Dermiste yoğun mast hücreleri, derin dermiste yer yer degranüle olmuş mast hücreleri gözlenmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13 : Grup 4’te toluidin mavisi ile boyanmış kesitler. Mast hücreleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, mast hücre degranülasyonu (kalın ok). TB, a: x100, b: x1000.



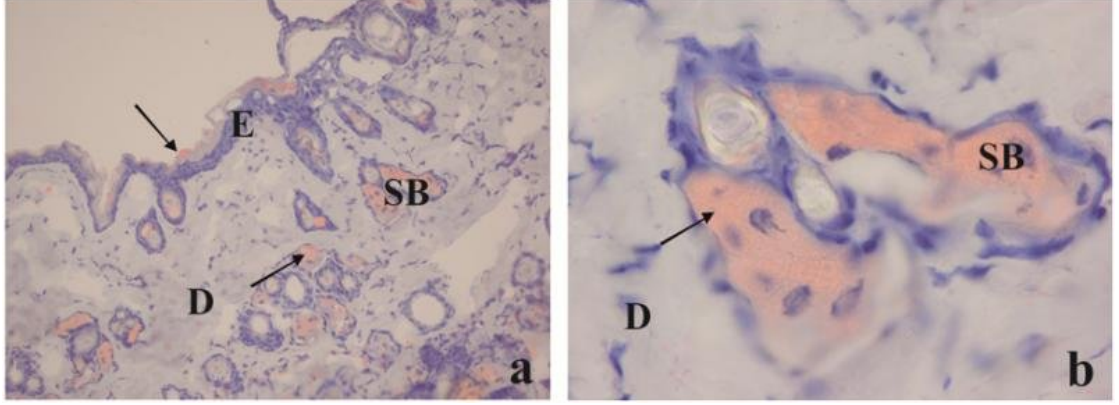
Şekil 3.14 : Tüm grupların mast hücre (ok) bulguları. E: Epidermis, D: Dermis, mast hücre degranülasyonu (kalın ok), TB, a, c: x200; e, g: x100; b, d, e, f: x1000.

Tüm gruplarda genel olarak dermiste çok sayıda mast hücrelerine ve yer yer degranüle olmuş mast hücrelerine rastlanmıştır. Grup 4'teki mast hücre sayısı, Grup 1'e göre anlamlı şekilde artmıştır (Şekil 3.14).

### 3.4.2 Oil red O bulguları

Grup 1:

Deri yüzey lipitleri ve sebace bez lipitleri Oil Red O ile zayıf şekilde reaksiyon göstermiştir (Şekil 3.15).

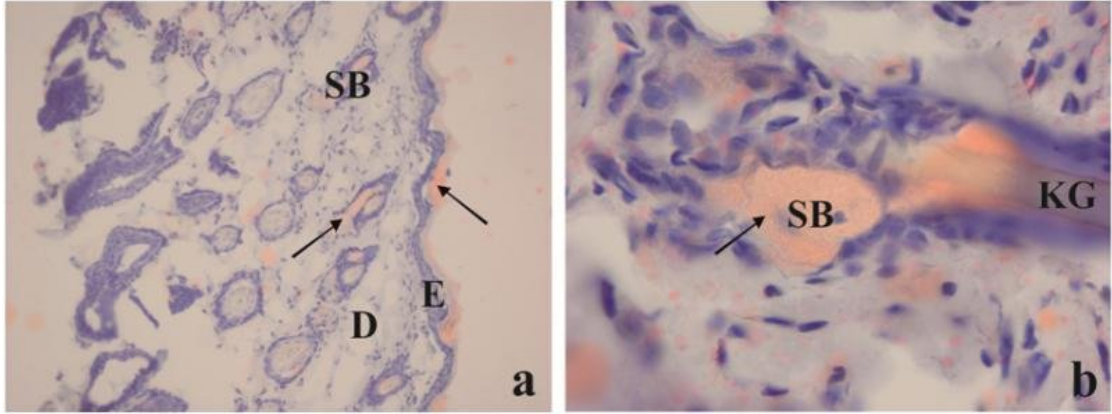


Şekil 3.15 : Grup 1’de Oil Red O ile boyanmış kesitler. Deri yüzey ve sebace bezi lipitleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, SB: Sebace bezi, Oil Red O, a: x200, b: x1000.



Grup 2:

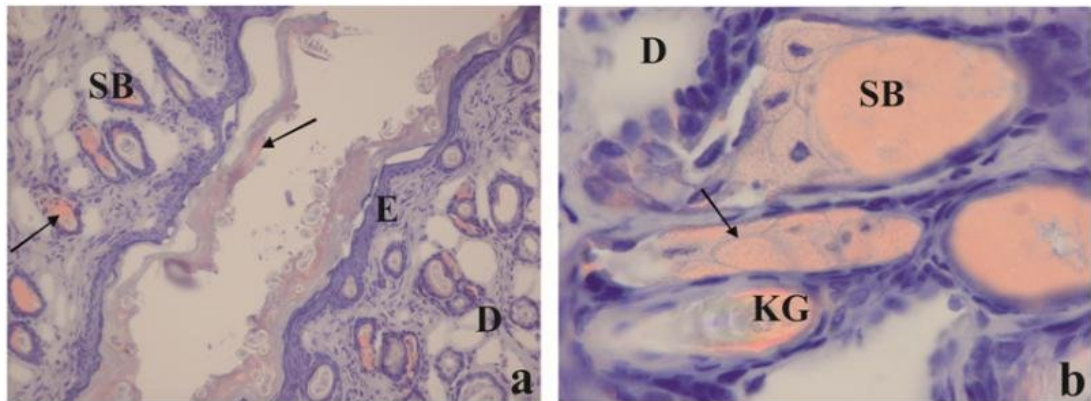
Oil red O ile yapılan boyama ile, deri yüzeyindeki ve sebase bezlerindeki lipit yoğunluğunda Grup 1'e göre bir artış gözlenmemiştir. Ayrıca, morfolojik olarak sebase bezlerinde hiperplazi izlenmemiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16 : Grup 2'de Oil Red O ile boyanmış kesitler. Deri yüzey ve sebase bezi lipitleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, KG: Kıl gövdesi, SB: Sebase bezi, Oil Red O, a: x200, b: x1000.

Grup 3:

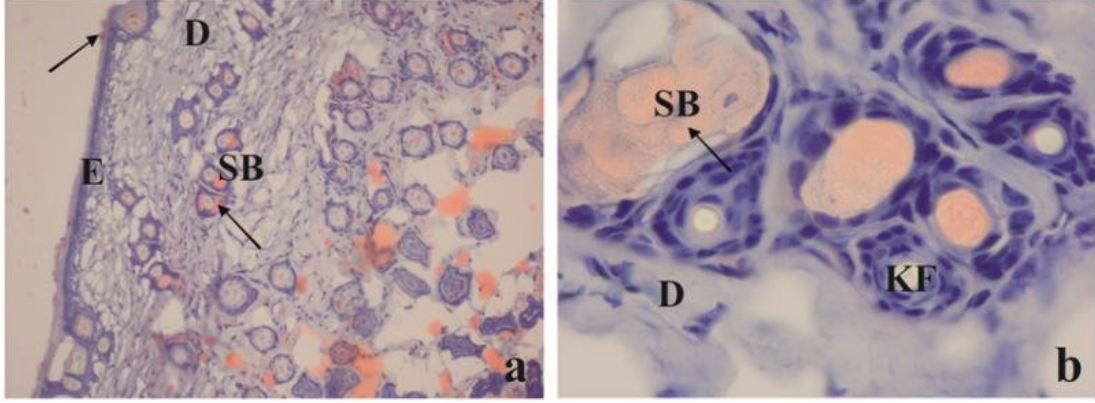
Deri yüzeyindeki ve sebase bezlerindeki lipit yoğunluğunda Grup 1'e göre bir artış izlenmemiştir. Oil Red O reaksiyonu, Grup 1 ile benzerdir (Şekil 3.17).



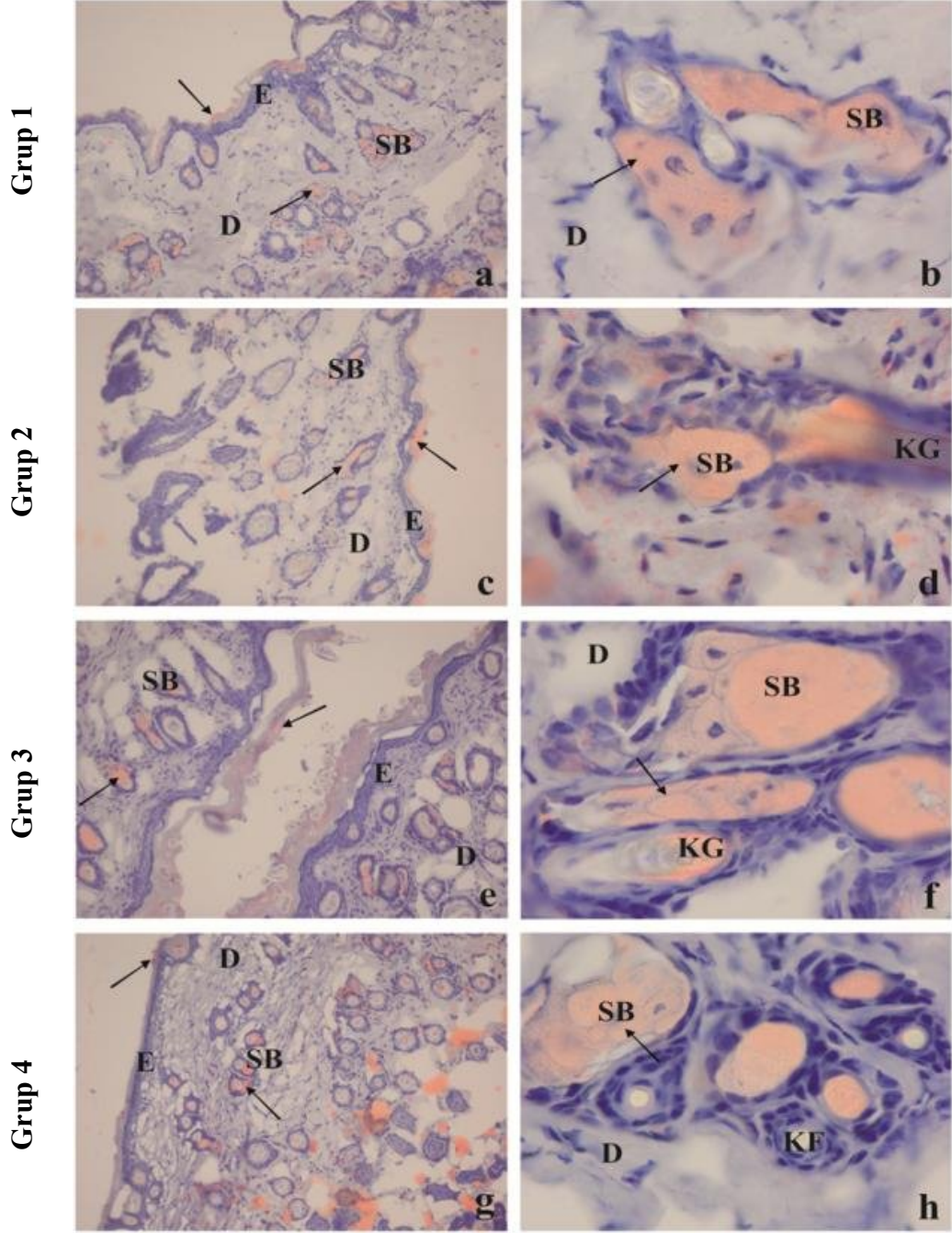
Şekil 3.17 : Grup 3'de Oil Red O ile boyanmış kesitler. Deri yüzey ve sebase bezi lipitleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, KG: Kıl gövdesi, SB: Sebase bezi, Oil Red O, a: x200, b: x1000.

Grup 4:

Deri yüzeyindeki ve sebase bezlerindeki lipitlerin Oil Red O ile verdikleri reaksiyon yoğunluğunda Grup 1, 2 ve 3'e göre herhangi bir fark izlenmemiştir. Sebase bezlerinde de morfolojik olarak bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18 : Grup 4'te Oil Red O ile boyanmış kesitler. Deri yüzey ve sebase bezi lipitleri (ok). E: Epidermis, D: Dermis, KF: Kıl folikülü, SB: Sebase bezi, Oil Red O, a: x200, b: x1000.



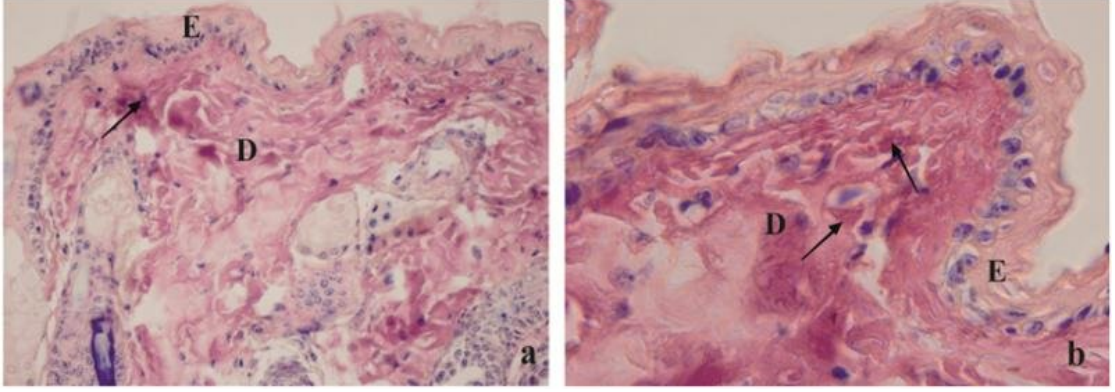
Şekil 3.19 : Tüm grupların deri yüzey ve sebase bezi lipitleri (ok) bulguları. E: Epidermis, D: Dermis, KG: Kıl gövdesi, KF: Kıl folikülü, SB: Sebase bezi, Oil Red O, a, c, e, g: x200, b, d, f, h: x1000.

Tüm gruplardaki (Grup 1, 2, 3 ve 4) deri yüzey ve sebase bezi lipitlerinin Oil Red O reaksiyon yoğunluğu benzerdir. Gruplar arasında sebase bezlerinde morfolojik olarak herhangi bir değişiklik izlenmemiştir (Şekil 3.19).

### 3.4.3 PTAH bulguları

Grup 1:

Dermiste genel olarak homojen ve yoğun kollajen fibriller bulunmaktadır (Şekil 3.20).

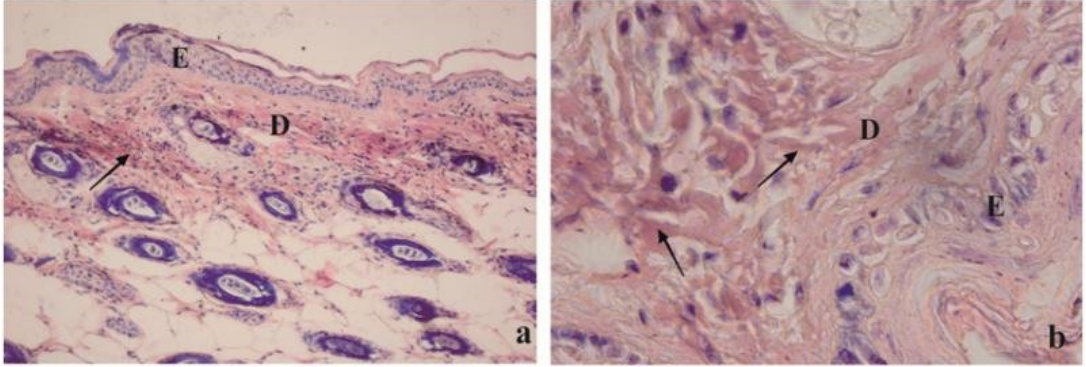


Şekil 3.20 : Grup 1’de PTAH ile boyanmış kesitler. Kollajen fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, PTAH, a: x400, b: x1000.



Grup 2:

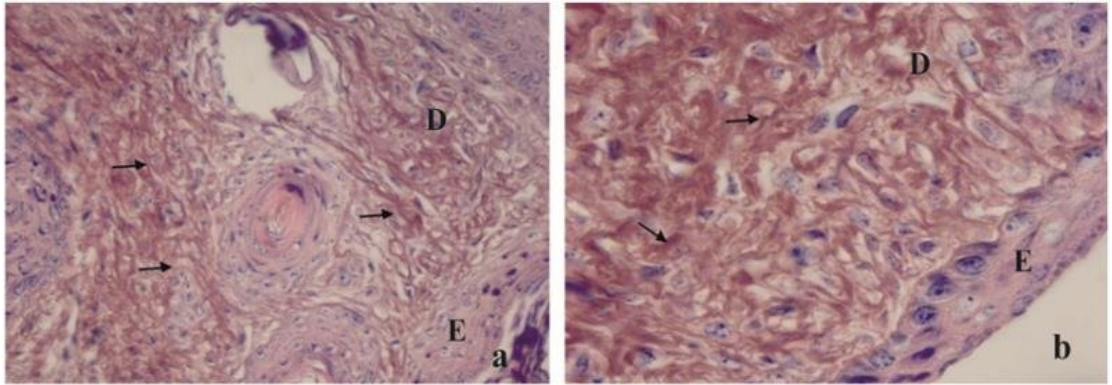
Kollajen, dermiste dağınıktır ve fragmentasyonlar şeklindedir (Şekil 3.21).



Şekil 3.21 : Grup 2’de PTAH ile boyanmış kesitler. Kollajen fibriller (ok), E: Epidermis, D: Dermis, PTAH, a: x200, b: x1000.

Grup 3:

Dermiste yoğun kollajen fibriller görülmektedir (Şekil 3.22).

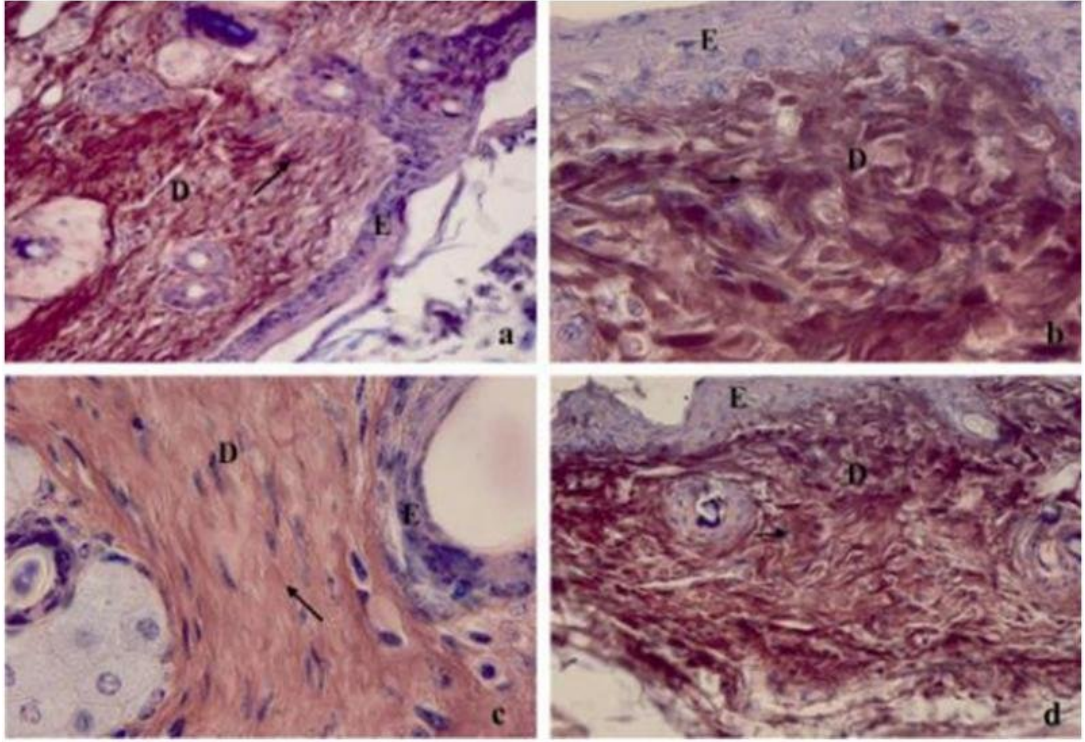


Şekil 3.22 : Grup 3’de PTAH ile boyanmış kesitler. Kollajen fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, PTAH, a: x400, b: x1000.

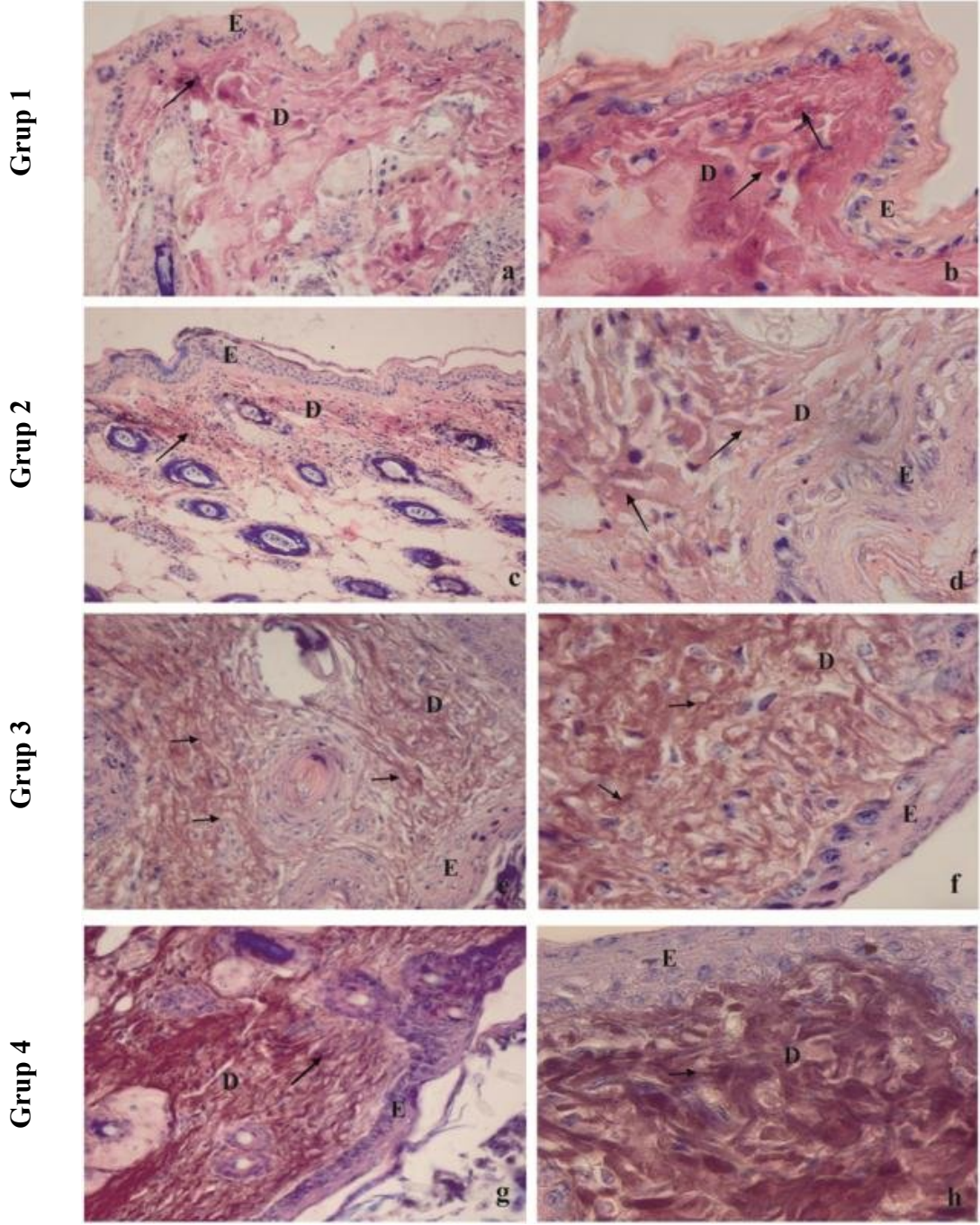


Grup 4:

Genel olarak kollajen, yoğun PTAH pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 3.23).



Şekil 3.23 : Grup 4'te PTAH ile boyanmış kesitler. Kollajen fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, PTAH, a: x400, b, c: x1000, d: x400.



Şekil 3.24 : Tüm grupların kollajen fibriller (ok) bulguları. E: Epidermis, D: Dermis, PTAH; a, e, g: x400; b: x200; b, d, f, h: x1000.

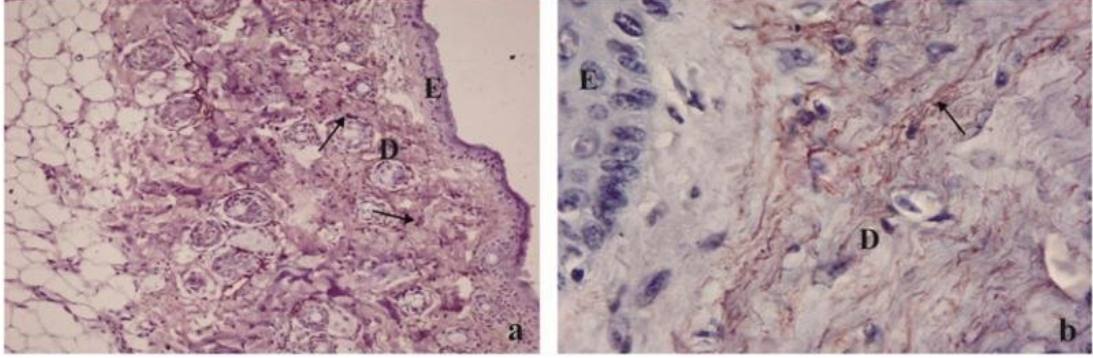
Gruplar 1, 3 ve 4’de yoğun kollajen fibriller gözlenmiştir. Ancak, Grup 2’de dermiste dağınık ve fragmentasyonlar şeklinde kollajen demetleri görülmüştür. Grup 4’te, Grup 2’de görülen UVB ile indüklenen kollajen yoğunluk değişimleri izlenmemiştir (Şekil 3.24).



### 3.4.4 Orsein bulguları

Grup 1:

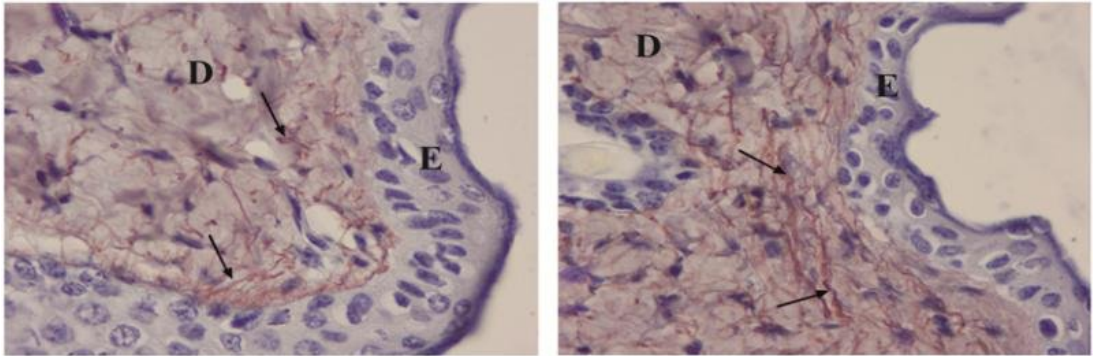
Dermiste kahverengi boyanmış ince, homojen dağılmış elastik fibriller ayırt edilmiştir (Şekil 3.25).



Şekil 3.25 : Grup 1’de orsein ile boyanmış kesitler. Elastik fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, Orsein, a: x200, b: x1000.

Grup 2:

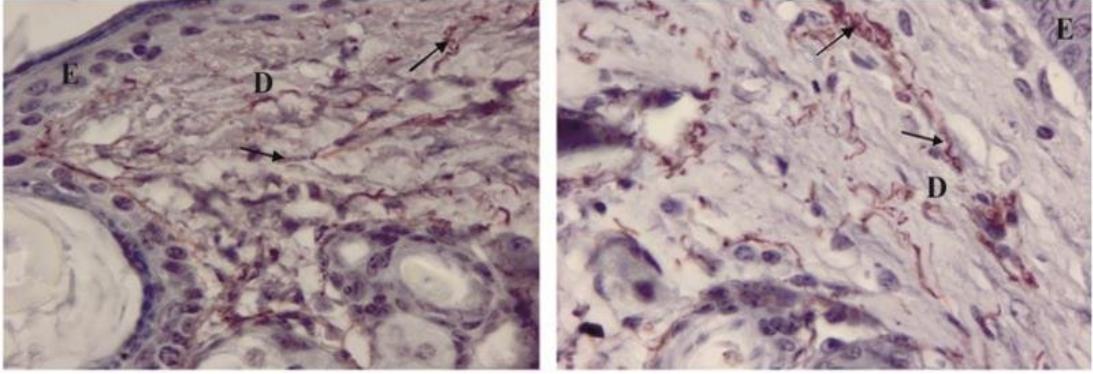
Kıvrılmış ve amorf elastik fibriller, epidermis altında ve dermiste bölgesel yoğun birikimler göstermiştir (Şekil 3.26).



Şekil 3.26 : Grup 2’de orsein ile boyanmış kesitler. Elastik fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, Orsein, x1000.

Grup 3:

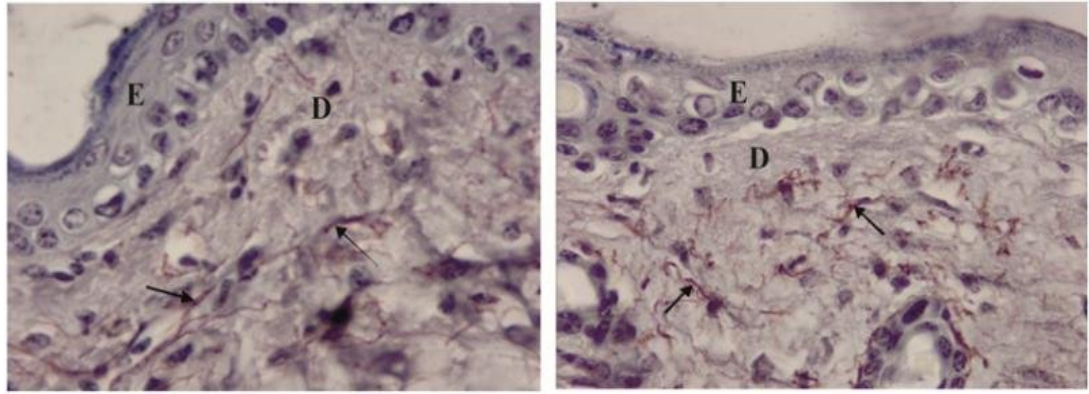
Dermiste elastik fibril birikimi gözlenmemiştir (Şekil 3.27).



Şekil 3.27 : Grup 3'de orcein ile boyanmış kesitler. Elastik fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, Orsein, x1000.

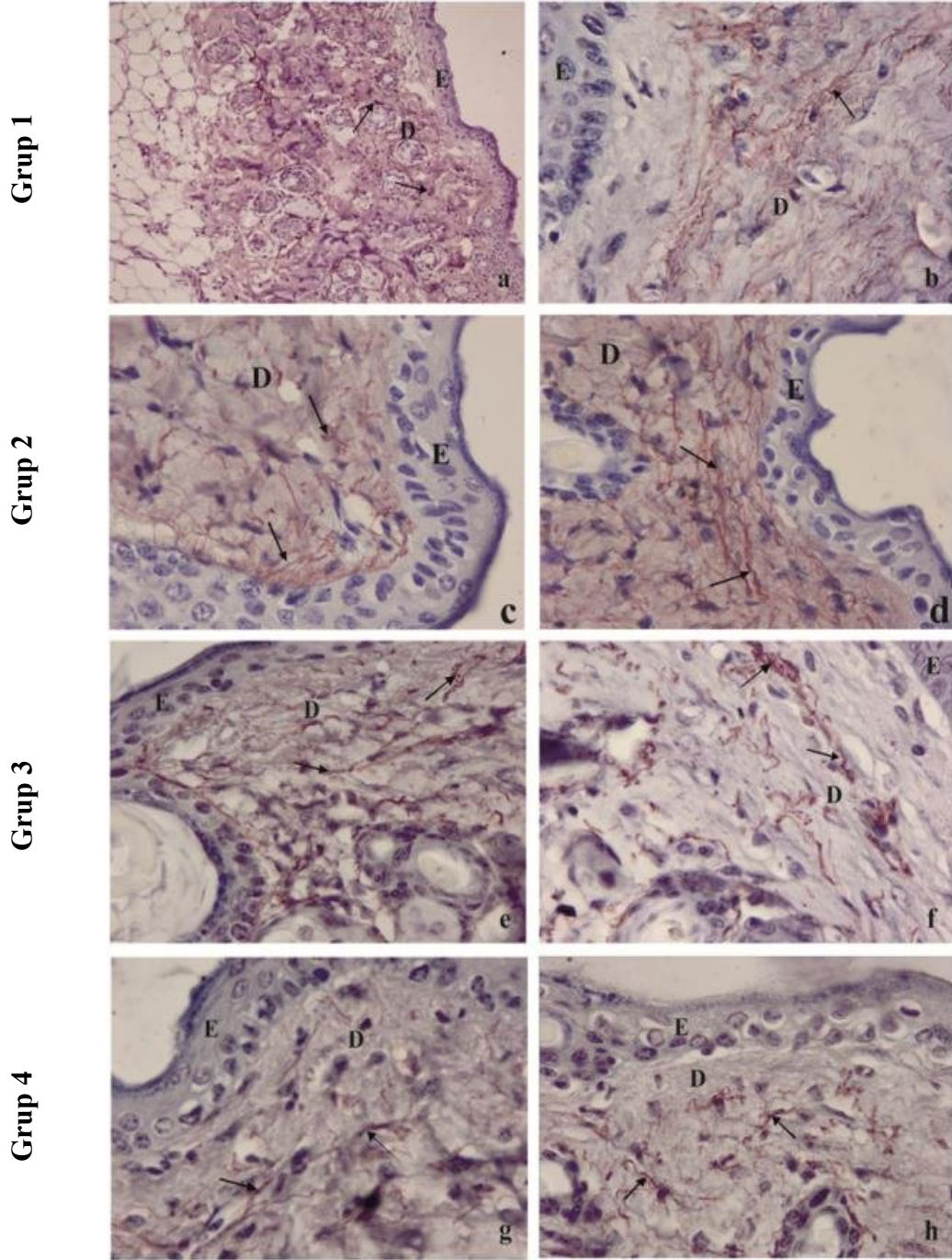
Grup 4:

Elastik fibrillerde birikimler gözlenmemiştir (Şekil 3.28).



Şekil 3.28 : Grup 4'te orcein ile boyanmış kesitler. Elastik fibriller (ok). E: Epidermis, D: Dermis, Orsein, x1000.





Şekil 3.29 : Tüm grupların elastik fibriller (ok) bulguları. E: Epidermis, D: Dermis, Orsein, a: x200, b, c, d, e, f, g, h: x1000.

Grup 1’de elastik fibriller homojen dağılımlı ve incedir. Ancak, Grup 2’de kıvrılmış, amorf ve birikmiş görünümlüdür. Grup 3 ve 4’te birikim ayırt edilememiştir (Şekil 3.29).

### **3.5 İmmünohistokimya Bulguları**

#### **3.5.1 Laminin immünohistokimya bulguları**

Grup 1:

Laminin reaksiyonu dermal-epidermal bağlantılarda, dermal kan damarlarının, kıl folikülleri ve kasların çevresinde görülmektedir. Reaksiyon dermal-epidermal bağlantılarda düzgün ve devamlıdır (Şekil 3.30).

Grup 2:

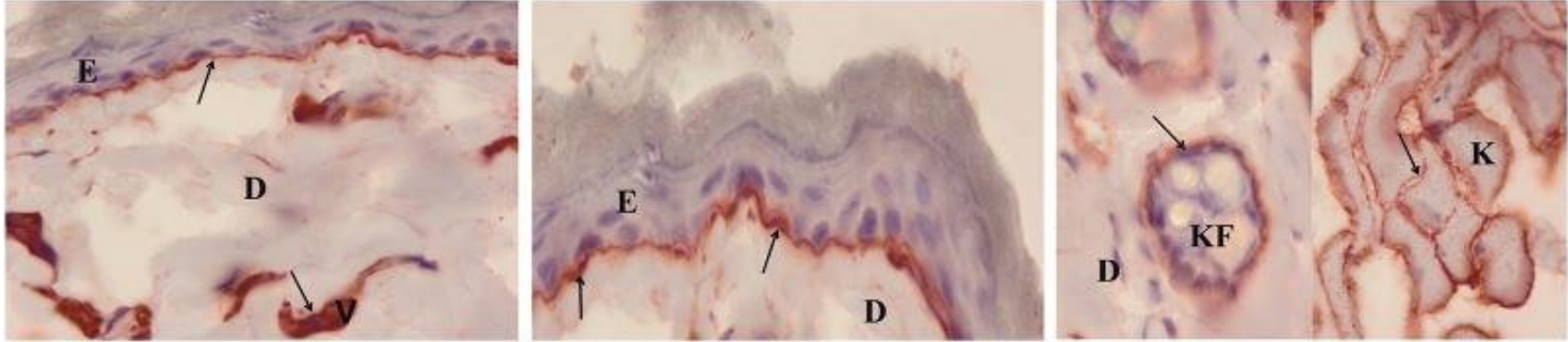
Laminin reaksiyonunun, düzensiz olduğu, birikimler yaptığı ve dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde yer yer dejenerasyonlar gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 3.31).

Grup 3:

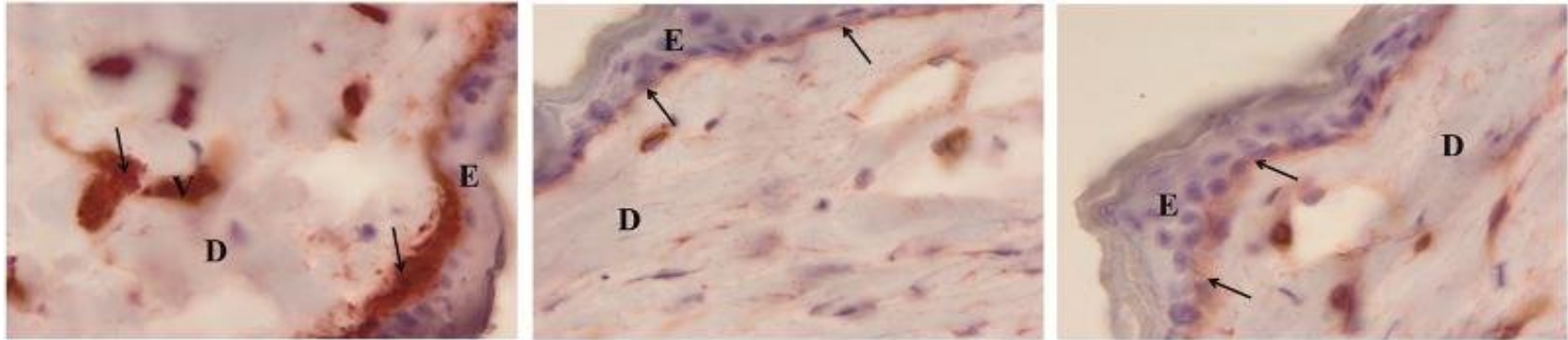
Laminin yaygın bir dağılım paterni göstermiştir (Şekil 3.32).

Grup 4:

Dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde düzensiz, devamlılığını kaybetmiş zayıf laminin reaksiyonu izlenmiştir (Şekil 3.33).

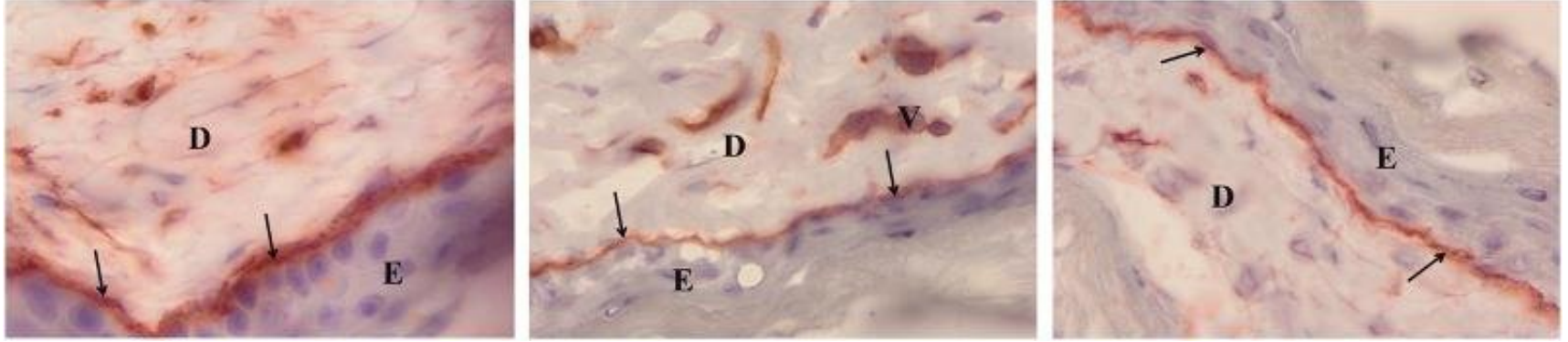


Şekil 3.30 : Grup 1'de laminin reaksiyonu (ok). E: Epidermis, D: Dermis, KF: Kıl folikülü, K: Kas, V: Damar. Laminin immünhistokimya, x1000.

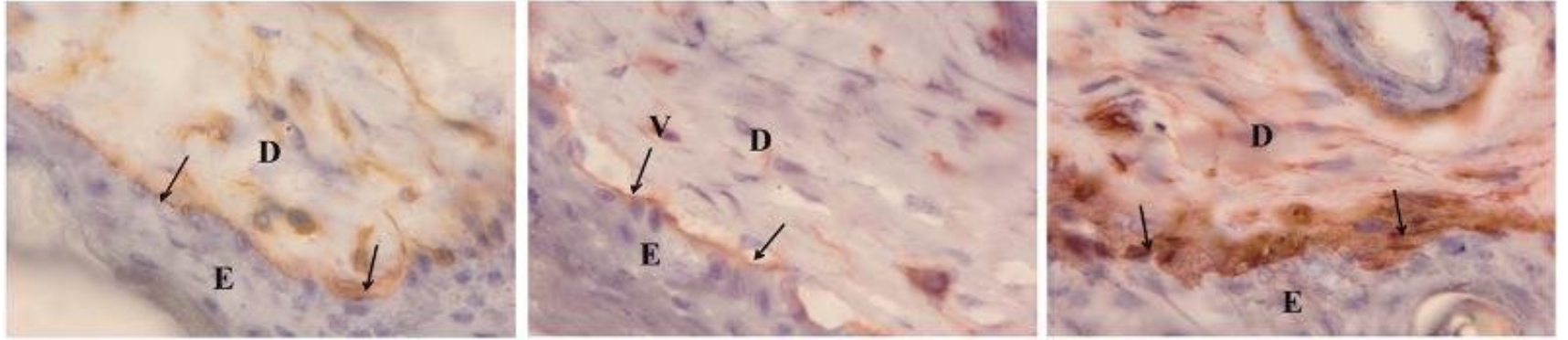


Şekil 3.31 : Grup 2'de laminin reaksiyonu (ok). E: Epidermis, D: Dermis, V: Damar. Laminin immünhistokimya, x1000.



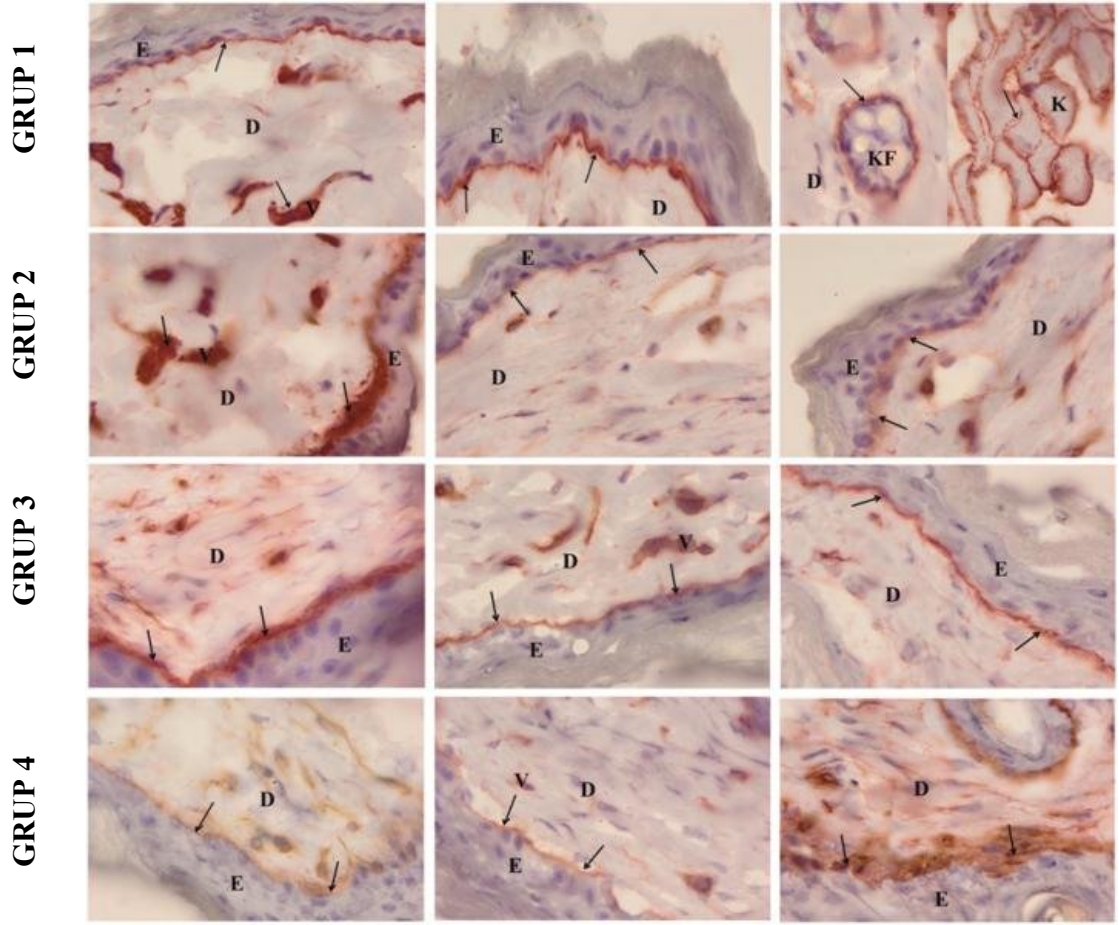


Şekil 3.32 : Grup 3’de laminin reaksiyonu (ok). E: Epidermis, D: Dermis, V: Damar. Laminin immünohistokimya, x1000.



Şekil 3.33 : Grup 4’te laminin reaksiyonu (ok). E: Epidermis, D: Dermis, V: Damar. Laminin immünohistokimya, x1000.





Şekil 3.34 : Tüm grupların laminin reaksiyonu (ok). E: Epidermis, D: Dermis, V: Damar, KF: Kıl folikülü, K: Kas. Laminin immünohistokimya, x1000.

Bitki esansiyel yağının, UVB'nin laminininde meydana getirdiği hasarlar üzerinde olumlu etkisi gözlenmemiştir (Şekil 3.34).

### 3.5.2 Galektin-3 immünohistokimya bulguları

Grup 1:

Keratin tabaka liflerinde, epidermiste hücre zarlarında, kıl folikülü hücrelerinde sebace bezi çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde Galektin-3-pozitif reaksiyon gözlenmiştir. Reaksiyon, derminin fibril yapılarında ve epidermal bağlantı bölgesinde genel olarak yoğundur (Şekil 3.35-36).

Grup 2:

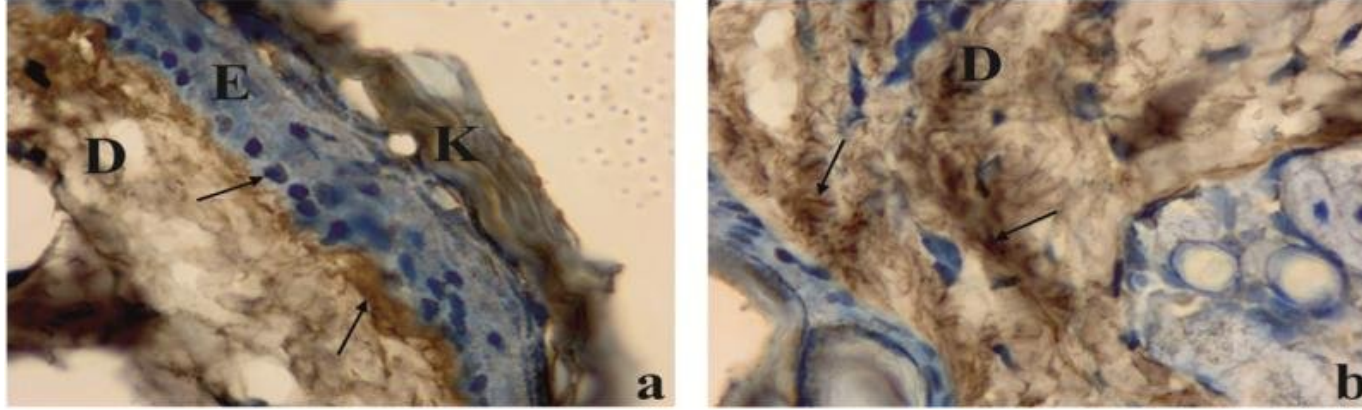
Galektin-3-pozitif reaksiyon, yer yer yoğun olmak üzere dermisin fibril yapılarında, epidermis ve kıl folikülü hücrelerinde oldukça yoğun olarak izlenmiştir. Sebace bezi çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde reaksiyon gözlenmiştir (Şekil 3.37-38).

Grup 3:

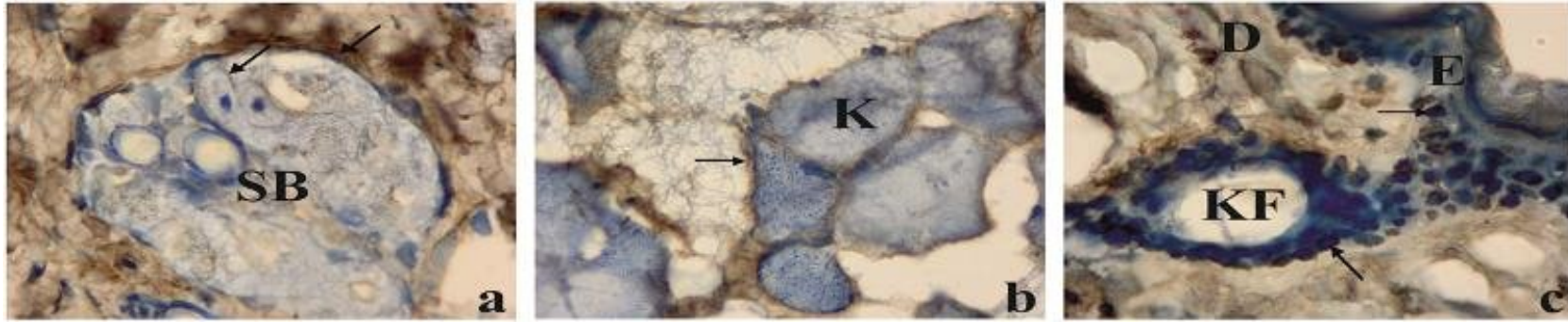
Dermiste özellikle galektin-3-pozitif reaksiyon gösteren hücelere rastlanmıştır. Bu hücrelerin, immün sistem hücreleri olabileceği düşünülmektedir. Reaksiyon, epidermiste hücrelerin zarlarında, sebace bezi çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, dermiste, kıl folikülü çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde, ter bezi hücre zarlarında izlenmiştir (Şekil 3.39-40).

Grup 4:

Dermiste, fibril yapılarda çok yoğun galektin-3-pozitif reaksiyon izlenmemiştir. Epidermiste reaksiyon daha çok hücre zarlarında gözlenmiştir. Sebace bezi ve kıl folikülü çevreleri ile hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde de reaksiyon ayırt edilmiştir (Şekil 3.41-42).

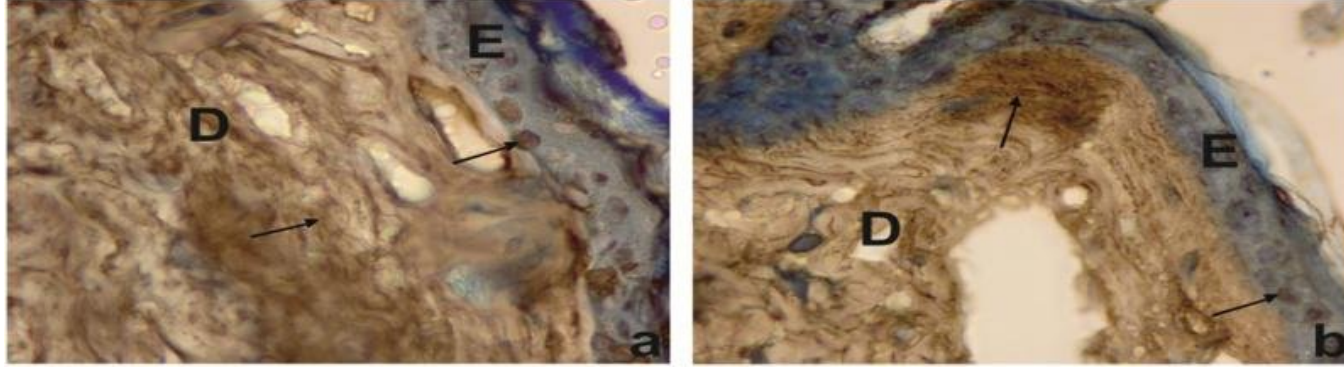


Şekil 3.35 : Grup 1’de galektin-3 reaksiyonu. Epidermis (E) bazal hücrelerinde, keratin tabakada (K) (a) ve dermis (D) fibrillerinde (b), Galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.

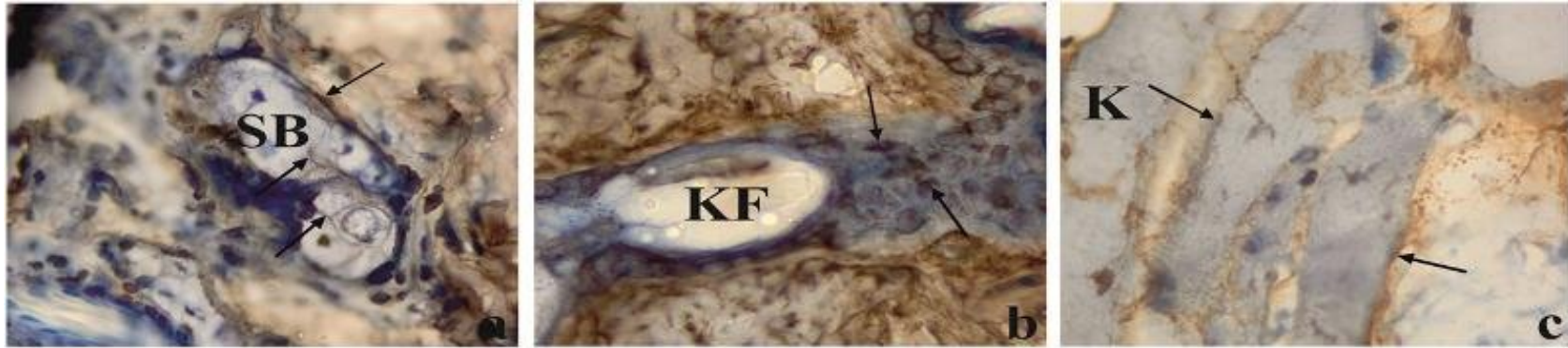


Şekil 3.36 : Grup 1’de galektin-3 reaksiyonu. Dermiste (D) sebase bezi (SB) (a) ve kasların (K) çevresinde (b), epidermis (E) bazal hücrelerinde, kıl folikülü (KF) hücrelerinde (c), galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.

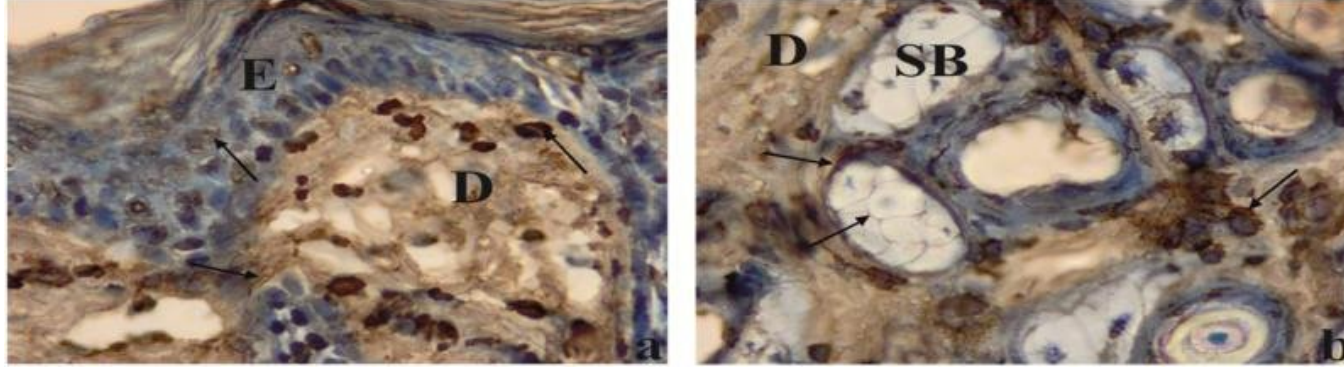




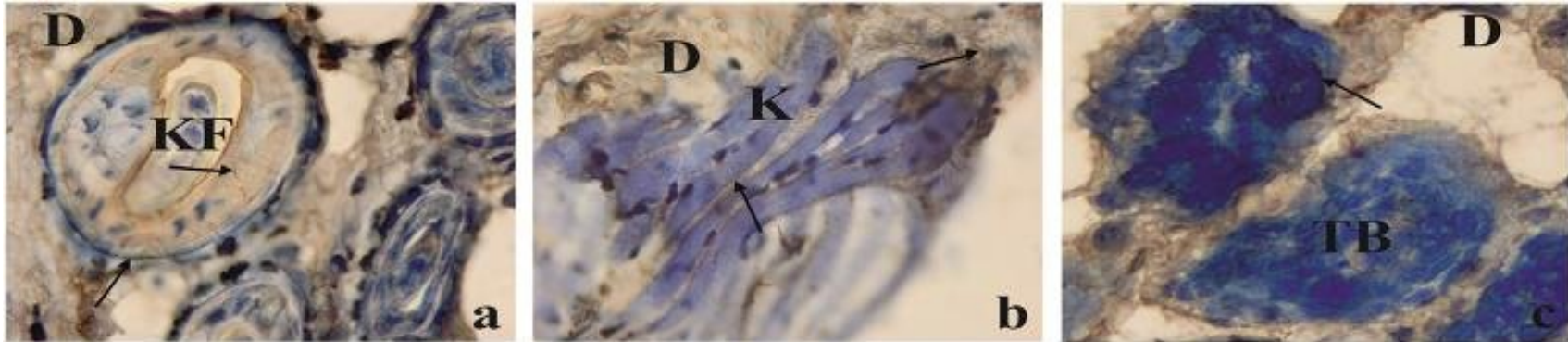
Şekil 3.37 : Grup 2’de galektin-3 reaksiyonu. Epidermis (E) hücrelerinde, dermis (D) fibrillerinde (a) ve yer yer birikimler şeklinde (b) Galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.



Şekil 3.38 : Grup 2’de galektin-3 reaksiyonu. Sebace bezi (SB) hücre zarlarında (a), kıl folikülü (KF) hücrelerinde (b) kas demetleri (K) çevresinde (c) Galektin-3-pozitif reaksiyon (ok), Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.

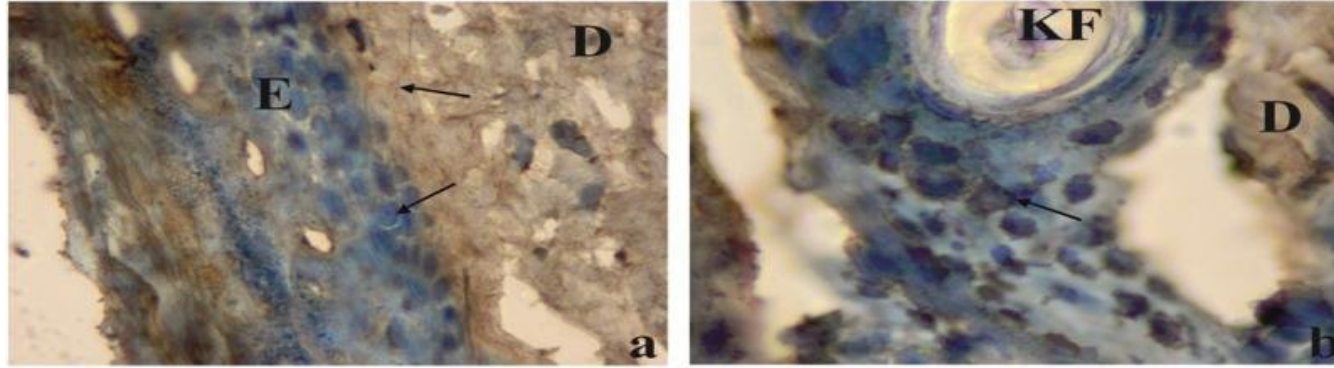


Şekil 3.39 : Grup 3’de galektin-3 reaksiyonu. Epidermis (E) hücrelerinde, dermisteki (D) hücrelerde (a) ve sebase bez (SB) hücreleri ile dermiste ki hücrelerde (b) galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.

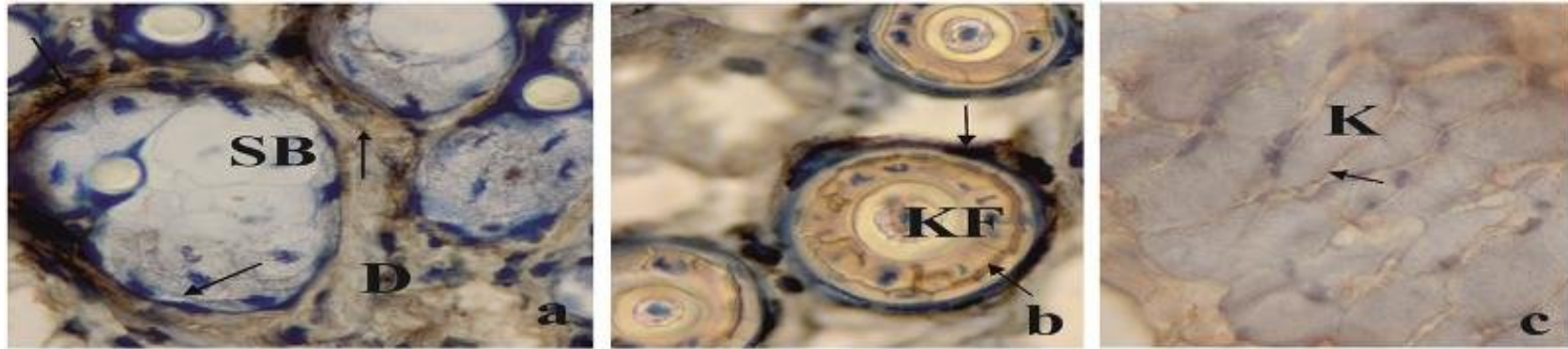


Şekil 3.40 : Grup 3’de galektin-3 reaksiyonu. Dermiste (D) kıl folikülü (KF) hücrelerinde ve çevresinde (a, b), kas demetleri (K) çevresinde (c) ve ter bezi (TB) hücre zarlarında (d) Galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.

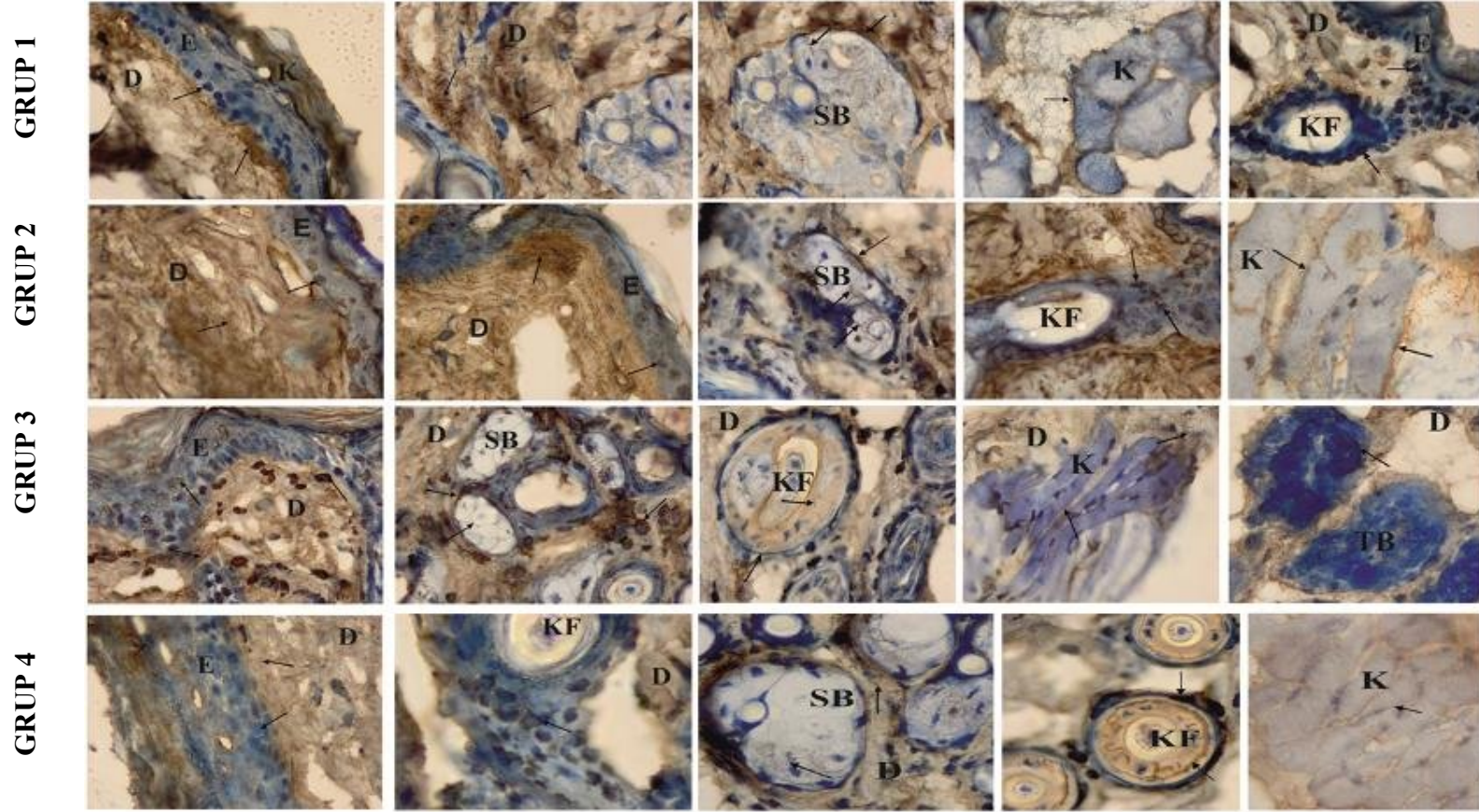




Şekil 3.41 : Grup 4'te galektin-3 reaksiyonu. Epidermis (E) hücrelerinde ve dermis (D) fibrillerinde (a), kıl folikülü (KF) hücre zarlarında (b) galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.



Şekil 3.42 : Grup 4'te galektin-3 reaksiyonu. Dermiste (D) sebase bezi (SB) hücreleri zarlarında (a), kıl şaftlarının çevrelerinde ve kıl folikülü (KF) hücre zarlarında (b) ve kas demetleri (K) çevresinde (c) galektin-3-pozitif reaksiyon (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.



Şekil 3.43 : Tüm grupların galektin-3 reaksiyonu (ok). Galektin-3 immünohistokimya+Hematoksilen, x1000.

Genel olarak, grup 1’de dermisin fibril yapılarında ve epidermal bağlantı bölgesinde yoğun reaksiyon görülmüştür. Grup 2’de, reaksiyon, epidermis ve kıl folikülü hücrelerinde, dermisin fibril yapılarında (yer yer yoğun birikimler şeklinde) yoğun olarak bulunmuştur. Grup 3’de, özellikle dermiste galektin-3-pozitif reaksiyon gösteren hücreler ayırt edilmiştir. Grup 4’de, dermiste, fibril yapılarda yoğun galektin-3-pozitif reaksiyon izlenmemiştir (Şekil 3.43).

### **3.6 Lektin Histokimya Bulguları**

Grup 1:

**GNA:** GNA+ reaksiyonu, epidermiste yoğun, dermiste az yoğundur (Şekil 3.44).

**DSA:** DSA+ reaksiyonu, epidermiste yoğun, dermiste az yoğundur (Şekil 3.44).

Grup 2:

**GNA:** GNA+ reaksiyonu, dermiste yoğun, epidermiste daha yoğundur (Şekil 3.44).

**DSA:** DSA+ reaksiyonu, epidermiste az yoğun, dermiste biraz daha yoğundur (Şekil 3.44).

Grup 3:

**GNA:** GNA+ reaksiyonu, epidermiste az yoğun, dermiste yoğundur (Şekil 3.44).

**DSA:** DSA+ reaksiyonu, epidermiste az yoğun, dermiste daha yoğundur (Şekil 3.44).

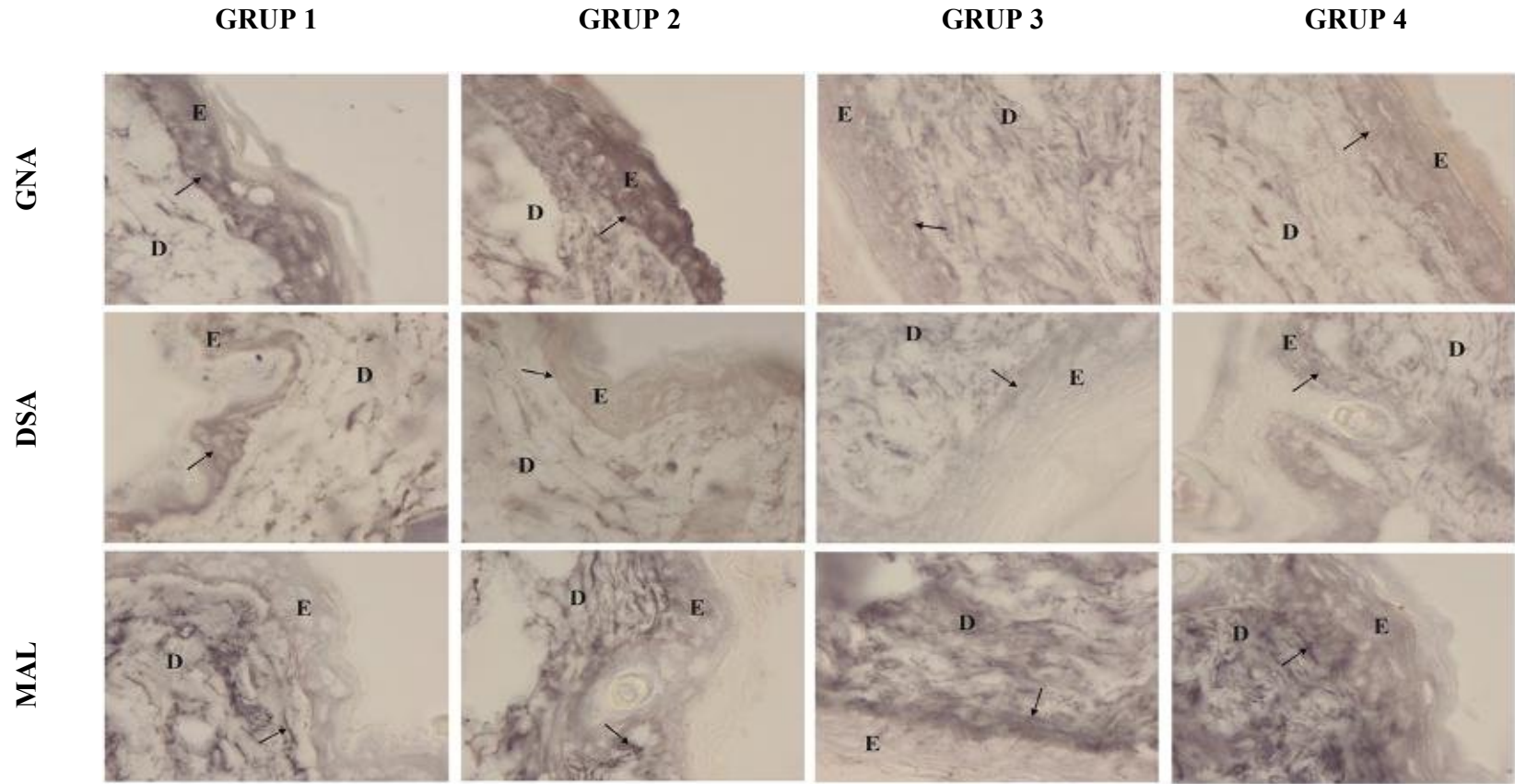
Grup 4:

**GNA+** ve **DSA+** reaksiyonları, epidermiste az, dermiste biraz daha yoğundur (Şekil 3.44).

### **MAL Bulguları**

Tüm gruplarda, MAL+ reaksiyonu, dermiste fibril yapılarda yoğun, epidermiste az yoğundur (Şekil 3.44).





Şekil 3.44 : Tüm grupların GNA, DSA ve MAL reaksiyonları (ok). E: Epidermis, D: Dermis. Lektin histokimya, x1000.

GNA+ reaksiyon; grup 1’de, epidermiste yoğun, dermiste az yoğun; grup 2’de, dermiste yoğun, epidermiste daha yoğun; grup 3’de, epidermiste az yoğun, dermiste yoğun; grup 4’de, epidermiste az, dermiste biraz daha yoğun olarak görülmüştür. DSA+ reaksiyonu; grup 1’de, epidermiste yoğun, dermiste az yoğun; grup 2’de, epidermiste az yoğun, dermiste biraz daha yoğun; grup 3’de, epidermiste az yoğun, dermiste daha yoğun; grup 4’de, epidermiste az, dermiste biraz daha yoğundur. MAL+ reaksiyonu, tüm gruplarda, epidermiste az yoğun, dermiste fibril yapılarda oldukça yoğundur (Tablo 3.5).

Tablo 3.4: Tüm grupların GNA, DSA ve MAL reaksiyon yoğunlukları.

Lektinler	Yapılar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
<b>GNA</b>	Epidermis	+++	+++	+	+
	Dermis	+	++	+++	++
<b>DSA</b>	Epidermis	+++	+	+	+
	Dermis	++	++	+++	++
<b>MAL</b>	Epidermis	+	+	+	+
	Dermis	++++	++++	++++	++++

Reaksiyon yoğunluğu: + (zayıf) → ++++ (çok daha yoğun)

### 3.7 TUNEL Bulguları

Grup 1:

Epidermiste TUNEL-pozitif hücelere genel olarak rastlanmamıştır. Bazı kıl folikülü hücrelerinde ve sebace bezinde TUNEL-pozitif reaksiyon veren hücelere rastlanmıştır (Şekil 3.45).

Grup 2:

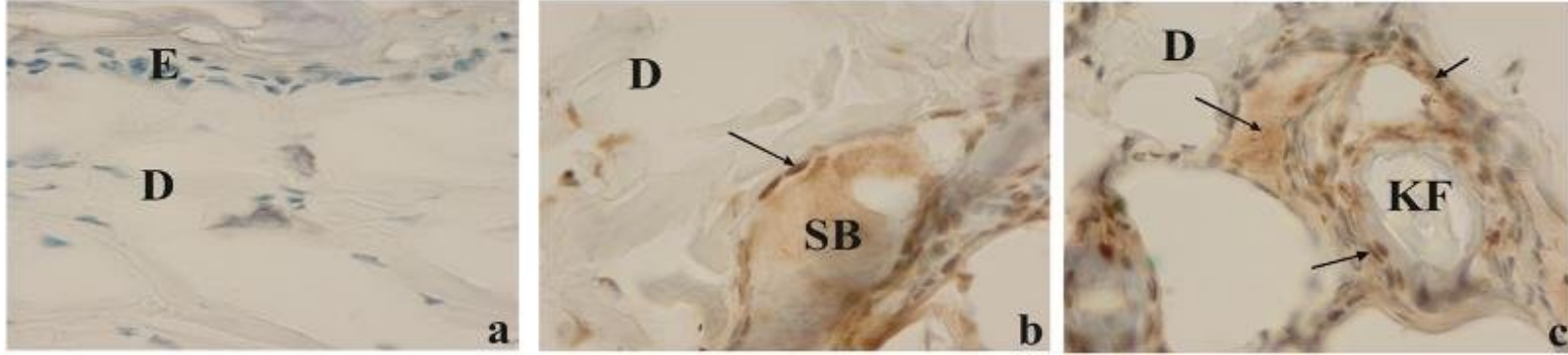
Epidermiste, kıl folikülü hücrelerinde ve sebace bezlerinde TUNEL-pozitif reaksiyon veren hücreler yer almaktadır. Epidermiste TUNEL-pozitif hücre Grup 3 (*O. hypericifolium* yağı sürülen grup) örneklerindeki gibi daha yoğundur (Şekil 3.46).

Grup 3:

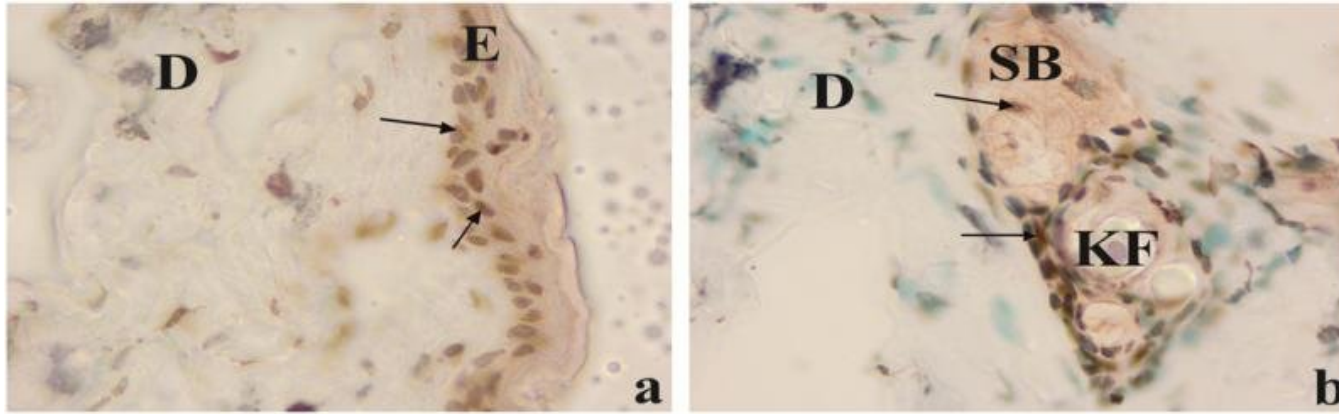
Genel olarak epidermiste TUNEL-pozitif hücelere az rastlanılmıştır. Dermiste degranüle mast hücreleri görülmüştür. Kıl foliküllerinde reaksiyon, sebace bezlerindeki gibi daha az yoğun olarak belirlenmiştir (Şekil 3.47).

Grup 4:

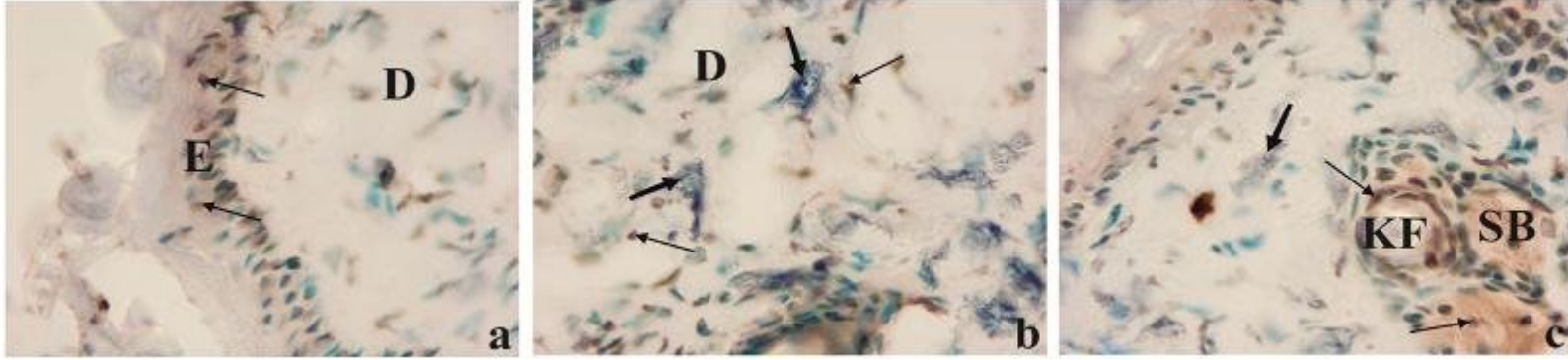
Epidermiste, kıl folikülü hücrelerinde ve sebace bezlerinde yoğun TUNEL-pozitif hücreler bulunmaktadır (Şeki 3.48-49).



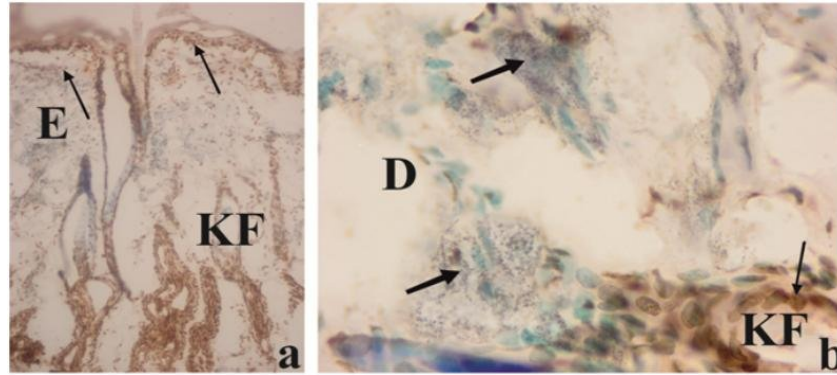
Şekil 3.45 : Grup 1’de TUNEL reaksiyonu. Epidermiste (E) ve dermiste (D) TUNEL-negatif reaksiyon (a). Sebase bezi (SB) hücrelerinde (b) ve kıl folikülü (KF) hücrelerinde (c) TUNEL-pozitif reaksiyon (ok). TUNEL + metil yeşili, x1000.



Şekil 3.46 : Grup 2’de TUNEL reaksiyonu. Epidermiste (E) (a) ve dermiste (D) sebase bezi (SB) ve kıl folikülü (KF) hücrelerinde (b) TUNEL-pozitif reaksiyon (ok). TUNEL + metil yeşili, x1000.

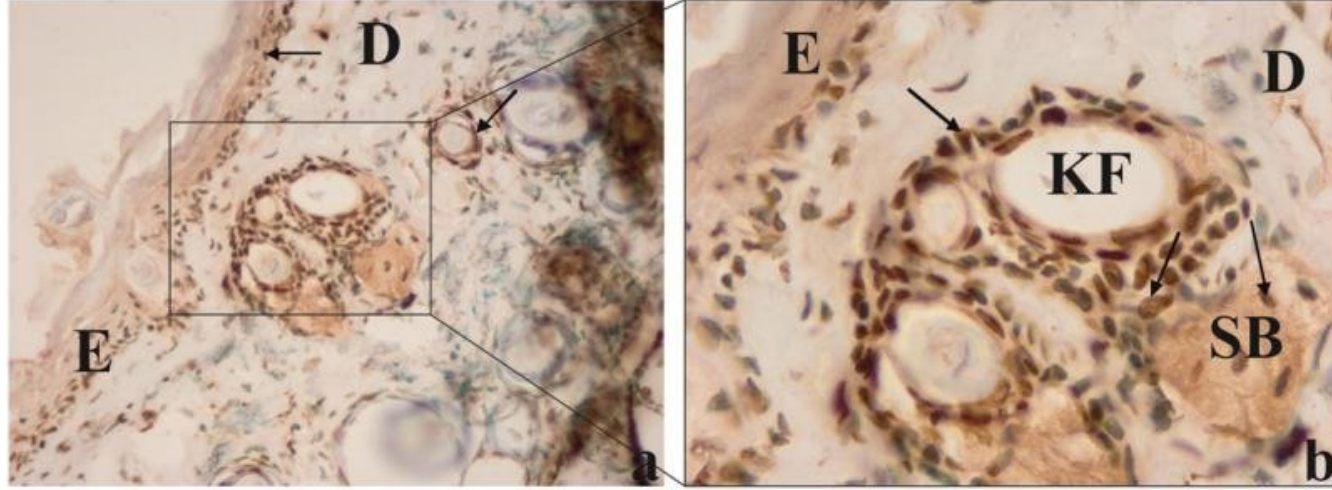


Şekil 3.47 : Grup 3’de TUNEL reaksiyonu. Epidermiste (E) (a), dermiste (D) (b) ve sebase bezi (SB) ve kıl folikülü (KF) hücrelerinde (c) TUNEL-pozitif reaksiyon (ok). Dermiste degranüle mast hücreleri (kalın ok). TUNEL + metil yeşili, x1000.

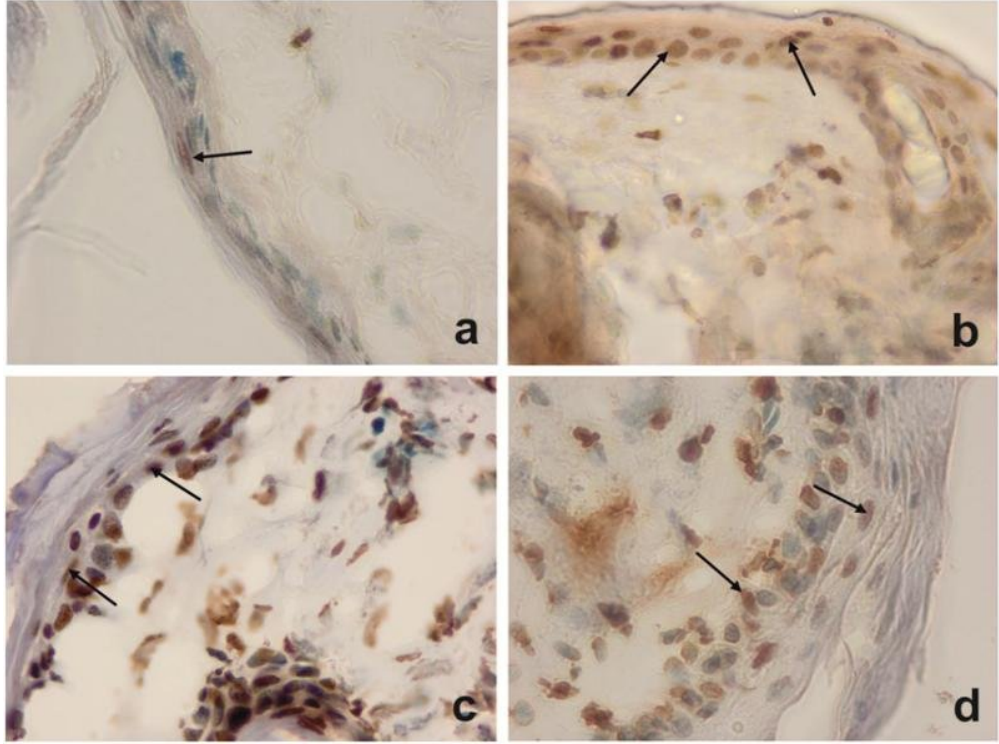


Şekil 3.48 : Grup 4’te TUNEL reaksiyonu. Epidermis (E) (a) ve kıl folikülü (KF) hücrelerinde (a, b) yoğun TUNEL-pozitif reaksiyon (ok). Dermiste degranüle mast hücreleri (kalın ok) (b). TUNEL, a: 200x, b: x1000.





Şekil 3.49 : Grup 4'te TUNEL reaksiyonu Epidermis (E) ve dermiste (D) sebase bezi (SB) ve kıl folikülü (KF) hücrelerinde yoğun TUNEL-pozitif reaksiyon (ok). TUNEL + metil yeşili, a: x400, b: x1000.



Şekil 3.50 : Tüm gruplara ait TUNEL bulguları. a: Grup 1, b: Grup 2, c: Grup 3, d: Grup 4. TUNEL, x1000.

UVB radyasyonu hem Grup 2 ve hem de Grup 4'de özellikle epidermiste apoptotik hücrelerin oluşumuna neden olmuştur. Apoptotik hücreler, kıl folikülleri ve sebace bezlerinde de gözlenmiştir (Şekil 3.50). Bitki esansiyel yağı sürülen gruplarda mast hücre degranulasyonuna rastlanılmıştır.

### 3.7.1 TUNEL-pozitif hücre sayımının istatistik bulguları

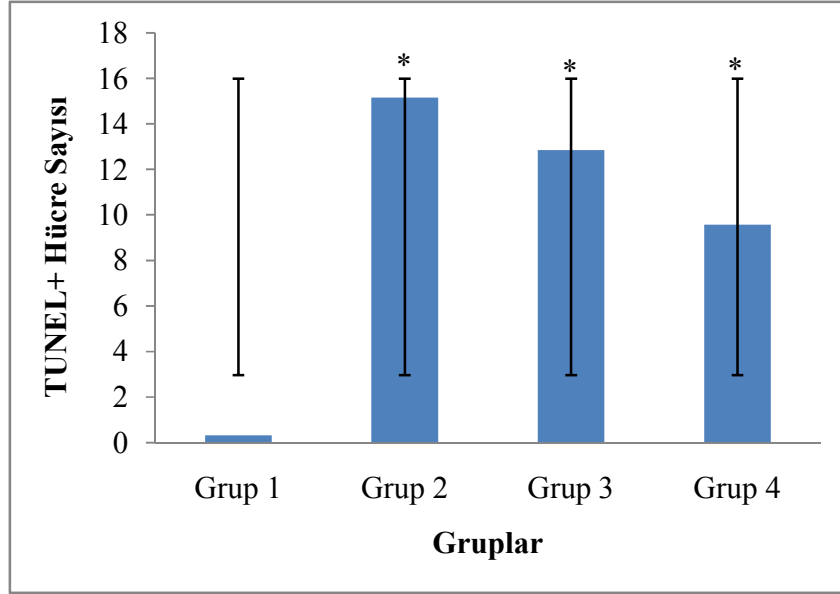
Epidermisteki TUNEL-pozitif hücre sayıları ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 16 (Kruskall Wallis ve Mann-Whitney test) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Buna göre, grupların TUNEL-pozitif hücre sayıları şu şekildedir: Grup 2 > Grup 3> Grup 4> Grup 1 (Tablo 3.6). Grup 1 ile Grup 2, 3 ve 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ancak, 2., 3. ve 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $p>0,05$ ) (Şekil 3.51).



Tablo 3.5 : Grupların TUNEL-pozitif hücre sayıları.

Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
0,32±0,521	15,15±12,490*	12,85±12,916*	9,56±7,489*

\* Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark görülen gruplar,  $p < 0,05$ . Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 3.51 : *O. hypericifolium* esansiyel yağının UVB uygulanmış fare derisindeki DNA fragmentasyonu üzerine etkisinin TUNEL yöntemi ile gösterilmesi. Her sütun TUNEL-pozitif hücre sayısına ait ortalama±standart sapma değerlerini ifade etmektedir. Kruskal Wallis ve Mann-Whitney test; \*Grup 1 ile karşılaştırıldığında  $p < 0,05$ .

## 4. TARTIŞMA

### 4.1 UVB ve Uçucu Yağ İçeriği

Kronik UV maruziyeti deride kırışık oluşumu, deri kalınlığında artış, elastotik materyal birikimi, kollajen sentezinde azalma ve dermal kollajen demetlerinde dejeneratif değişiklik gibi bazı değişikliklere yol açar (Murakami ve diğ., 2011; Jeon ve diğ., 2009; Bosset ve diğ., 2003; Mohamed ve diğ., 2003; Nishimori ve diğ., 2001; Seo ve diğ., 2001). Güneşin UV ışınları, özellikle UVB (280-320 nm), deride eriteme, ödeme, hiperplaziye, hiperpigmentasyona, güneş yanığı hücrelerinin oluşumuna, fotoyaşlanmaya, immün baskılanmaya ve tümörögenezise neden olabilir (Afaq ve Mukhtar, 2006).

UV radyasyonunun yıkıcı etkilerine karşı insan derisinin korunmasındaki bir yaklaşım, fotokoruyucu olarak bitkisel bileşenlerin kullanılmasıdır (Psotova ve diğ., 2006). Bu nedenle, bitkisel bileşenlerin UV hasarları üzerindeki etkilerini araştıran pek çok çalışma yapılmaktadır (Bae ve diğ., 2010; Sumiyoshi ve Kimura, 2009; Kim ve diğ., 2008; Sultana ve diğ., 2007; Baliga ve Katiyar, 2006; Heinrich ve diğ., 2006; Moore ve diğ., 2006; Gu ve diğ., 2005; Kim ve diğ., 2004; Reagan-Shaw ve diğ., 2004; Philips ve diğ., 2003; Svobodová ve diğ., 2003; Tsukahara ve diğ., 2001; Ichihashi ve diğ., 2000; Bonina ve diğ., 1996). Bu çalışmada, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* yağının UVB uygulanmış ve uygulanmamış derideki olası sitolojik ve histolojik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, öncelikle endemik bir tür olan *O. hypericifolium*'dan elde edilen esansiyel yağ, GC ve GC/MS yöntemleri ile analiz edilmiştir. *O. hypericifolium* ile yapılan bir çalışmada, çiçeklenmeden önce toplanan bitkilerden elde edilen yağda yüksek oranda (%64,33) karvakrol bulunurken, çiçeklenme döneminde toplanan bitkilerden elde edilen yağda yüksek oranda (%36,10-47,75) p-simen bulunmuştur (Baser ve diğ., 1994). Celik ve diğ. (2010b) ile Ocak ve diğ. (2012)'nin yapmış oldukları çalışmalarda, çiçeklenme

döneminde toplanmış *O. hypericifolium*'dan su distilasyonu ile elde edilen esansiyel yağın GC-MS analizleri sonucunda, yağda bulunan temel bileşenlerin p-simen, karvakrol ve  $\gamma$ -terpinen olduğu tespit edilmiştir. Ocak ve diğ. (2012), hidrodistilasyonla elde edilen *O. hypericifolium* meyve ve çiçeklerine ait uçucularında 15 bileşen tanımlamışlardır. Bu çalışmada da benzer şekilde, çiçeklenme döneminde toplanan *O. hypericifolium*'dan su distilasyonu yoluyla elde edilen esansiyel yağın GC-MS analizi sonucunda, temel bileşenleri simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen olan, yağın %98,87'sini meydana getiren 15 bileşen belirlenmiştir.

## 4.2 Epidermal Kalınlık

Derinin UV maruziyetinin epidermiste kalınlığa neden olduğu bilinmektedir (Svobodová ve Vostalova, 2010; Jeon ve diğ., 2009; Gonzales-Castañeda ve Gonzales, 2008; Winter ve diğ., 2001; Takema ve Imokawa, 1998; Ishii ve diğ., 1997). Bu çalışmada, UVB uygulanmayan kontrol grubu (Grup 1) ile UVB uygulanan Grup 2'nin epidermal kalınlık bulguları karşılaştırıldığında, Grup 2'de kalınlıkta az artış gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Daha önce UV'ye bağlı epidermal kalınlaşma tespit edilen çalışmalarda, uygulanan dozun 1.000-12.500 mJ/cm<sup>2</sup> arasında olduğu görülmektedir (Kim ve diğ., 2010; Kimura ve Simiyoshi, 2009; Sumiyoshi ve diğ., 2009; Kim ve diğ., 2008). Bu çalışmada, 4 haftada UVB dozu yaklaşık 780 mJ/cm<sup>2</sup> olarak uygulanmıştır (Kim ve diğ., 2004). Buna göre epidermal kalınlık sonuçlarının, uygulanan total UVB dozu ile uygulama periyoduna bağlı olabileceği söylenebilir.

UVB'nin epidermal kalınlık üzerine etkisinin araştırılmasıyla ilgili olarak son zamanlarda bitkisel ajanlarla yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Kim ve diğ. (2010), tüysüz farelerdeki epidermal kalınlığın UVB maruziyeti ile arttığını ancak 2-test bitkisel bileşen karışımının dorsal olarak uygulanmasının kalınlığı azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca farelerde, soya fasulyesinden elde edilen isoflavon ekstraktının (Huang ve diğ., 2010a), kahverengi şekerden elde edilen şeker olmayan fraksiyonunun (Sumiyoshi ve diğ., 2009), zeytin yaprağı ekstraktının ve oleuropeinin (Kimura ve Sumiyoshi, 2009) UVB kaynaklı epidermal kalınlaşmayı azalttığı bildirilmiştir. Sıçanlarla yapılan benzer

bir çalışmada, *Lepidium meyenii* sulu ekstraktının dorsal uygulamasının, UVB kaynaklı oluşan epidermal kalınlığı, ekstraktın dozuna bağlı olarak azalttığı gösterilmiştir (Gonzales-Castañeda ve Gonzales, 2008). Ancak, bu çalışmada epidermal kalınlığın esansiyel yağ uygulanan gruplarda (Grup 3 ve 4), kontrol gruplarına (Grup 1 ve 2) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, çeşitli deney sistemlerinde (insan derisi, fare derisi, deri biyopsileri gibi), konsantre soya izoflavonunun (Accorsi-Neto ve diğ., 2009), *Aloe vera* yaprak jeli etanolik ekstraktının (Dhanabal ve diğ., 2011), *Achillea millefolium* ekstraktının (Pain ve diğ., 2011) ve bir polifenol olan yeşil çayın ana bileşeni epigallocatechin-3-gallate (EGCG)'in %10'luk çözeltilisinin (Chung ve diğ., 2003) kullanıldığı ve epidermal kalınlık artışının gözlemlendiği çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Oreganonun yüzeysel olarak uygulandığında, allerjik kontak dermatite (drugs.com) ve allerjik kontakt dermatitinde epidermiste kalınlaşmaya neden olduğu (Hoon, 2001) bilinmektedir. *O. hypericifolium* esansiyel yağının da içeriğinde yer alan monotерpenlerin irritant etkileri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Benzer olarak, Hausen ve diğ. (1999), okside olmuş tea tree oil'in monotерpen fraksiyonunun gine domuzlarında yüksek hassasiyet etkisi gösterdiği ve bu yağ ile kendilerini tedavi eden bireylerde allerjik kontakt dermatit'in meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Yine, *O. onites* L. esansiyel yağının, bir monotерpen olan timol içerdiği ve bunun 10 µg/pellet'e kadar doza bağlı olarak irritant etki gösterdiği koryoallantoyik membran testi ile gösterilmiştir (Demirci ve diğ., 2004). Bununla birlikte, timol ve karvakrolün %4'lük konsantrasyonunun dermal irritasyona neden olmadığı da rapor edilmiştir (Andersen, 2006). Ekstra güçlü oregano yağının hindistan cevizi ya da zeytin yağı ile sırasıyla 25:1 ve 50:1 oranında seyreltilerek kullanılması tavsiye edilmektedir (<http://www.healthy-oregano-oil.com/AboutOreganoOil.html>). Bu nedenle, bu çalışmada Grup 3'de, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağının içeriğinde yer alan monotерpenlere bağlı olarak irritasyon ve sonrasında epidermal kalınlığın meydana geldiği ileri sürülebilir. Ayrıca, UVB'nin Grup 2'de neden olduğu hafif kalınlık artışı ve seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağı ve UVB uygulanan gruptaki (Grup 4) daha fazla kalınlık artışı dikkate alındığında, UVB'nin

yağın kalınlık üzerindeki artışına ek olarak katkısı olduğu söylenebilir. Bu bulgunun desteklenmesi için daha ileri analizlere ihtiyaç vardır.

### 4.3 Mast Hücreleri

Mast hücreleri, vücudun bağ dokusunda yaygın bir şekilde bulunan hücrelerdir. UV radyasyonuna maruz kalan deride mast hücre sayısı artar (Iddamalğoda ve diğ., 2008). Sıçan derisinde güneşe bağlı elastozis gelişiminde, mast hücrelerinin ürünleri önemlidir. Çünkü bu ürünler, doğrudan fibroblastların elastin üretimini indüklerler ya da dolaylı olarak bu hücrelerin elastin üretimini arttıran ürünleri üreten diğer hücre tiplerinin varlığına aracılık ederler (Gonzalez ve diğ., 1999). Gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada, vücudun güneşe en fazla maruz kalan kısmı olan elin üst tarafında dermal mast hücre yaygınlığının artması ile elastin içeriği arasında bulunan anlamlı ilişki, foto hasarın mast hücre yaygınlığını arttırdığını düşündürmektedir (Grimbaldeston ve diğ., 2006). Danno ve diğ. (1988) hipotezlerinde, yeterli miktardaki UVB dozunun sıçan peritoneal mast hücrelerinden histamin salınımını baskıladığını ileri sürmüşlerdir. Bu nedenle UV maruziyetinin mast hücreleri üzerindeki etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. UVB ile muamele edilen deride, kan damarları, sebace ve ter bezleri, kıl folikülleri çevresi (Mohamed ve diğ., 2003), doza bağlı olarak fare derisi alt ve üst dermisi (Kligman ve Murphy, 1996) ve lenf nod mast hücre sayısında belirgin bir artış olduğu (Byrne ve diğ., 2008) bildirilmiştir. Ayrıca, UVB'ye maruz bırakılan deride mast hücrelerinin, alt deride enflamasyonla, üst deride ise bağ dokunun yeniden yapılması ile ilişkili olabileceği ortaya konmuştur (Kligman ve Murphy, 1996). Bu çalışmada da diğer çalışmalarla benzer şekilde UVB uygulanan Grup 2'de, mast hücre sayısı Grup 1'e göre %38,73 oranında artmış, ancak Grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ).

Çeşitli ajanların deri mast hücreleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ise, sulu sarımsak ekstraktının sıçanlarda sudan kaçınma stresini tetiklediği, dermisteki mast hücre artışını ve yoğunluğunu azalttığı (Cikler ve diğ., 2005) ve equol ve sentetik analogu NV-38 gibi isoflavonoidlerin yüzeysel uygulamasının, doza bağlı olarak, dermis

içine infiltre olan mast hücre sayısını indirmediği gösterilmiştir (Bandara ve diğ., 2010). Bu çalışmada ise, *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3'te mast hücre sayısının Grup 1'e göre %48,98, Grup 2'ye göre ise %7,39 oranında arttığı gösterilmiştir. Ancak, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Tekeli (2008) karvakrol enjekte edilmiş Wistar albino sıçanlarda yaptığı çalışmada, deney gruplarının deri ve mide fundus kesitlerinde genel olarak mast hücrelerinde sayıca artış olduğunu, morfolojik ve kimyasal yapılarının kontrolden farklı olduğunu saptamıştır. Alkolik sıçan karaciğeri ile yapılan bir çalışmada da, karaciğerde, verilen karvakrol dozuna bağlı olarak mast hücre sayısı ve granülasyonunda artış olduğu bildirilmiştir (Aksoy, 2007). Bu çalışmada, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3'te mast hücre sayısındaki artışın *O. hypericifolium* esansiyel yağının ana bileşeni olan karvakrolden kaynaklandığı düşünülebilir.

Bitkisel kaynaklı ya da diğer ajanların, inflamasyon kaynaklı fotoyaşlanmada bir çözüm olabileceği düşünülmektedir ve bu nedenle birçok çalışma yapılmaktadır. Bu amaçla, *Polypodium leucotomos* (bir tropik eğrelti bitkisi) ekstraktının oral olarak alınmasının ya da yüzeysel olarak uygulanmasının foto koruma etkisi araştırılmıştır. Buna göre, *P. leucotomos* ekstraktının, oksidatif stresi, lipid peroksidasyonunu, dermal mast hücre infiltrasyonunu, inflamatuvar sitokinleri, DNA hasarlarını ve UV ile indüklenen tümörleri inhibe ettiği (Philips ve diğ., 2010), eritemi, güneş yanığı hücrelerini, siklobütan primidin dimerlerini, çoğalan epidermal hücreleri, vazodilatasyonu, triptaz pozitif mast hücre ve dermal mast hücre infiltrasyonunu anlamlı bir şekilde azalttığı ve langerhans hücrelerini koruduğu (Middelkamp-Hup ve diğ., 2004a, b) gösterilmiştir. Ancak, bu çalışmada, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağı ve UVB uygulanan Grup 4'teki mast hücre sayısının, Grup 1'e göre %85,25, Grup 2'ye göre %33,54 ve Grup 3'e göre ise %24,35 oranında arttığı bulunmuştur. Grup 4'te mast hücre sayısı istatistiksel olarak Grup 1'den farklıdır ( $p<0,05$ ), ancak Grup 2 ve 3 ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Eugenol, timol ve karvakrol, deri hassasiyetini uyaran ve alerjen maddeler olarak bilinirler (Xu ve diğ., 2006). Kontakt dermatitte, tekrar eden stres sonucunda epidermin belirgin şekilde kalınlaştığı ve dermisteki mast hücre sayısının belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (Kaneko ve diğ., 2003). Dolayısıyla, Grup



4'te gözlenen mast hücreleri sayısındaki belirgin artış, *O. hypericifolium* esansiyel yağı ana bileşenleri olan timol ve karvakrolün alerjik etkisinden ve esansiyel yağın beraberinde uygulanan UVB'nin mast hücre sayısında ilave arttırıcı etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, çalışmamızın sadece bu kısmı için, örnek sayısının yeterli olmaması ya da kullandığımız non parametrik testlerin duyarlılığının az olması, mast hücre sayıları bakımından bazı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamamıza neden olmuş olabilir. Bu nedenle, örnek sayısının arttırılarak daha ileri analizlerin yapılması ve sonuçların yeniden değerlendirilmesi uygun olacaktır.

#### 4.4 Oil Red O

Epidermal lipitler, kolesterol, serbest yağ asitleri ve sifingolipitleri (Mariano, 2001: [www.lni.wa.gov/Safety/.../skin\\_phys.pdf](http://www.lni.wa.gov/Safety/.../skin_phys.pdf)), sebum ise, yağ asitleri, yağ esterleri, skualen ve kolesterol içerir (Şenol M: [web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc](http://web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc)). Deri yüzey lipitleri ise, bu iki lipit kaynağının bir karışımıdır (De Luca ve Valacchi, 2010; Sheu ve diğ., 1999). Doğal güneş ışığı, deride lipitlerin peroksidasyonuna neden olur (Yamazaki ve diğ., 1999b) ve artan kolesterol esteri kolesterol-7-hidroperoksit, UVB'den kaynaklanan lipit peroksidasyonunun iyi bir göstergesidir (Yamazaki ve diğ., 1999a, b). Ayrıca, UV radyasyonu ve immün baskılanma, sebace bezi hiperplazisinin gelişiminde kofaktörler olarak da rol alır (Zouboulis ve Boschnakow, 2001).

UV maruziyetinin deri sebace bezleri ve yüzey lipitleri üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma vardır. Bu çalışmalardan birinde 19 gönüllünün sırtlarının UV ışık terapisi yapılan ve yapılmayan bölgelerinde lipit tespiti yapılmış ve 3 önemli sonuç elde edilmiştir: 1. deri yüzey lipit miktarı UV ışınlaması ile anlamlı şekilde artmıştır. Bu sonuç hem epidermal lipitlerin hem de sebace bezlerindeki lipitlerin artışından kaynaklanmaktadır. 2. deri yüzey lipitlerinde bulunan serbest kolesterol yüzdesi, UV ışınlaması ile belirgin bir şekilde artış göstermiştir. Bu artış olasılıkla stratum korneumun kalınlaşması ile bağlantılıdır. 3. deri yüzey lipitlerinde bulunan serbest yağ asitlerinin yüzdesi UV terapisiyle belirgin bir şekilde artmaktadır (Gloor ve Karenfeld, 1977). Yine, UVB'nin sebace bezlerinin fonksiyonunu *in vivo* olarak doğrudan aktive ederek üretilen sebum miktarını arttırabileceği ve bunun da UV ile peroksidasyona

uğrayarak derinin bariyer fonksiyonunu hasara uğratabileceği (Akimoto ve diğ., 2003), UV'nin sebase bezlerinde hiperplaziye (Lesnik ve diğ., 1992) ve stratum korneum lipidlerinin miktarında artışa neden olduğu (Wefers ve diğ., 1991) bildirilmiştir. Bununla birlikte, tüysüz sıçanların ve farelerin UVB maruziyeti ile stratum korneumun ana lipid bileşenleri olan serbest yağ asitleri, kolesterol ve seramitin total miktarlarında herhangi bir fark bulunmadığı (Holleran ve diğ., 1997; Meguro ve diğ., 1999), ancak SKH: hr 1 tip farelerde 72 saat sonra stratum korneum lipidlerinde anlamlı bir şekilde artış olduğu da tespit edilmiştir (Holleran ve diğ., 1997). Bu çalışmada, yaklaşık 780 mJ/cm<sup>2</sup> UVB uygulaması sonucunda, UVB uygulanan Grup 2'de Oil red O ile yapılan boyama ile, deri yüzeyindeki ve sebase bezlerindeki lipid yoğunluğunda Grup 1 ile karşılaştırıldığında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Ayrıca, sebase bezlerinde hiperplazi ya da genişleme de izlenmemiştir. Bu sonuçlar olasılıkla uygulanan UVB dozundan kaynaklanmaktadır. Ancak, morfolojik olarak yapılan bu gözlemler, morfometrik olarak da desteklenmeli ve daha ileri analizlerle araştırmalar yapılmalıdır. Birçok bitkisel ajanın deri yüzey lipidleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Berberin ve woganin gibi aktif bileşenleri olan bazı Japon Kampoh ilaçlarının (Japon-Çin geleneksel bitkisel ilaçları), lipogenezisi inhibe ettiği (Seki ve Morahashi, 1993), ökaliptüs ekstraktının ise stratum korneum seramitlerinde artışa neden olduğu (Ishikawa ve diğ., 2012) bildirilmiştir. Bu çalışmada, *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3 ve 4'te deri yüzeyindeki ve sebase bezlerindeki lipid yoğunluğunda Grup 1 ile karşılaştırıldığında artış izlenmemiştir. *O. hypericifolium* esansiyel yağının da temel bileşenlerinden olan timol ve karvakrolün, stratum korneum lipidlerini etkileyerek derinin geçirgenliğini arttırdığı bilinmektedir (Vaddi ve diğ., 2002; Gao ve Sing, 1997). Bu nedenle *O. hypericifolium* esansiyel yağı içeriğinde temel olarak timol ve karvakrol bulunduğundan, bu esansiyel yağın derinin geçirgenliğini arttırabileceği, dolayısıyla da bu yağın cilt ile temasında dikkatli davranılması gerektiğini önerebiliriz. UV maruziyetinin deri yüzey lipidleri üzerindeki olumsuz etkilerini gidermek için birçok bitkisel ajan kullanılmaktadır. *Citrus depressa* suyunun ana bileşeni olan nobiletinin (Tanaka ve diğ., 2004), UVB'ye maruz bırakılan hamsterların sebase bezlerindeki anormal sebum üretimini inhibe ettiği ve sebum sekresyonunu hızlandırarak, yağ

bezlerindeki lipitlerin tüketimini sağladığı bildirilmiştir (Sato ve diğ., 2007). Karabuğday (Trommer ve Neubert, 2005) ve *Caesalpinia paraensis* (ECP) (Someya ve diğ., 2003) ekstraktlarının lipit peroksidasyonu seviyesini anlamlı bir şekilde indirgediği, *Commipora myrrha* esansiyel yağının doza bağlı olarak skualen peroksidasyonuna karşı koruma sağladığı (Auffray, 2007) çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Esansiyel yağ karışımlarının (kekik, karanfil yaprağı, tarçın yaprağı, gül ya da maydonoz tohumu) UV ışınlanması ile okside olan skualen deri lipitleri üzerindeki antioksidan etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise, kekik ile tarçın yaprağı ya da gül yağı gibi bazı karışımların pro-oksidan etkisinin bulunduğu, kekik ve karanfil yaprağı yağından elde edilen potansiyel antioksidan etkinin, timol ve eugenol içeriklerinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Wei ve Shibamoto, 2007). Ayrıca, UVB maruziyetinin, sıçan derilerindeki kolesterol-7-hidroperoksit konsantrasyonunu arttırdığı ve tokoferoller gibi radikal süpürücülerin kullanılması ile kolesterol-7-hidroperoksitlerindeki artışın inhibe edildiği gösterilmiştir (Yamazaki ve diğ., 1999a). Bu çalışmada, UVB ve *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 4'teki deri yüzey ve sebace bez lipitlerinin yoğunluğunda Grup 1 ve 2'ye göre herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bitkinin yağının ana bileşenleri olan timol ve karvakrolün, antioksidan etkileri sebebiyle, deri yüzey lipit bileşenlerinin oksidasyonunu engelleyebileceği düşünülebilir. Ancak, timol ve karvakrolün derinin geçirgenliğini arttırabileceği ve bariyer fonksiyonunu bozabileceği de unutulmamalıdır. Bununla birlikte, Oil Red O'nun başlıca nötral lipitleri ve yağ asitlerini boyadığı göz önüne alındığında, değişimin diğer lipidlerde olabileceği düşünülebilir. Dolayısıyla bu konuda, diğer lipidlerle ilgili çalışmalar yapılabilir.

#### **4.5 Kollajen ve Elastik Fibriller**

Derinin güneş ışığına kronik olarak maruz kalması, dermal bağ dokuda kollajenin bazofilik yıkılımı ve elastotik materyal birikimi ile karakterize olan ciddi hasarlarla sonuçlanır (Schwartz ve diğ., 1989). Fotoyaşlanma karmaşık bir durumdur ve belirtisi dermal kollajenin yok olması (Yarosh ve diğ., 2008) ve elastik fibril bozulmasının son ürünü olan güneşe bağlı elastozistir (Choi, 2005; Rijken ve Bruijnzeel, 2009). Fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini inhibe eden ve kollajen yıkımını uyaran uzun

sürekli ya da tekrarlanan UVB radyasyonu, deri fotoyaşlanmasının temel nedenidir (Wirohadidjojo ve diğ., 2012). Bu nedenle, UV maruziyetinin deride kollajen ve elastik fibriller üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Güneşe maruz kalan derinin dermisinde, kollajenin önemli ölçüdeki kaybından kaynaklanan boşluklarla çevrili kollajen demetleri ve kalınlaşmış, kıvrılmış ya da amorf elastotik fibrillerin bulunduğu bildirilmiştir (Kligman ve diğ., 2000). Benzer şekilde bu çalışmada da, UVB'ye maruz kalmış grupta (Grup 2) parçalanmış ve dağınık kollajen demetleri ve kıvrılmış, amorf ve birikmiş elastik fibriller gözlenmiştir.

UV'nin deride kollajen ve elastik fibriller üzerindeki bu olumsuz etkileri nedeniyle, fenolik asitler, flavonoidler ve yüksek moleküler ağırlıklı polifenoller gibi bitkisel bileşenlerin fotokoruyucu etkilerine olan ilgi giderek artmaktadır (Svobodová ve diğ., 2003). Bir deniz çayı olan *Thalassia testudinum*'un etanolik ekstraktını içeren kremlerin UVB'ye maruz kalmış fare derisine günlük yüzeysel uygulamasının, kollajen ve elastik fibrillerin yeniden organize olmasını sağladığı tespit edilmiştir (Regalado ve diğ., 2009). Kim ve diğ. (2004), oral olarak isoflavon verilen farelerde dermisteki kollajen birikiminin, UV'ye maruz bırakılmış kontrol farelere göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde, *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan gruplarda (Grup 3 ve 4), dermiste yoğun kollajen fibriller gözlenmiştir. Karvakrolün insan dermal fibroblastlarında kollajen ekspresyonunu arttırdığı (Lee ve diğ., 2008) göz önüne alındığında, bu çalışmada ki kollajen fibrillerinin dağılımı ve boyanma özelliklerinin, *O. hypericifolium* esansiyel yağının ana bileşenlerinden biri olan karvakrol içeriğinden kaynaklandığı düşünülebilir. Ayrıca, *Polypodium leucotomos* ekstraktının farelere yüzeysel olarak uygulanmasının, dermal elastozeisinde dahil olduğu fotoyaşlanmaya bağlı histolojik parametreleri önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Alcaraz ve diğ., 1999). Benzer şekilde, bu çalışmada da, *O. hypericifolium* esansiyel yağının uygulandığı gruplarda (Gruplar 3 ve 4), elastik fibril birikimi ayırt edilememiştir. Ancak, daha ileri moleküler tekniklerle bu bulgunun desteklenmesi uygun olacaktır.

#### 4.6 Laminin

Birçok dokunun epitel/mezenşimal arayüzü BM ile örtülüdür. Bu ince örtü yüksek oranda özelleşmiş bir ekstrasellüler matrikstir ve bileşimi doku spesifik olarak, gelişim sürecinde ve onarımda değişiklik gösterir. BM'nin, lamininleri, entaktin-1/nidogen-1, tip IV kollajen ve proteoglikanları içerdiği bilinmektedir (Erickson ve Couchman, 2000). BM, epiderminin ve derminin sağlıklı bir şekilde korunabilmesi için önemli rollere sahiptir. Tekrar eden hasarlar deriyi stabil olmayan bir duruma getirir ve yaşlanma sürecini hızlandırır (Amano, 2009). Lamininler, BM'nin oluşumu, mimarisi ve stabilitesinde merkezi bir role sahiptir (Aumailley ve Smyth, 1998). Bu nedenle UV maruziyetinin deride laminin üzerindeki etkileri büyük önem taşımaktadır. Güneşe maruz kalan deride, epidermal hiperplazi ile birlikte, dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde ki BM hasarlanır, değişir, iki katına çıkar, çok tabakalı hale gelir ve bozulma görülür (Inomata ve diğ., 2003; Amano, 2005; Ogura ve diğ., 2008; Amano, 2009). Normal hücrelerle karşılaştırıldığında UV'ye maruz kalan hücrelerde artmış laminin sekresyonu gözlenmiştir (Jung ve diğ., 2009). Bu çalışmada, Grup 1 (kontrol)'de laminin reaksiyonu dermal-epidermal bağlantılarda, dermal kan damarlarının, kıl folikülleri ve kasların çevresinde görülmektedir. Bu reaksiyon dermal-epidermal bağlantılarda düzgün ve devamlıdır. Ancak, UVB uygulanan Grup 2'de, laminin reaksiyonun düzensiz olduğu, birikimler yaptığı ve dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde yer yer dejenerasyonların bulunduğu gözlenmiştir. Bu bulgular, daha önceki çalışmalarla uyum göstermektedir. Grup 2'de gözlenen laminin birikimlerine, UV kaynaklı olarak laminin sekresyonundaki artışın neden olabileceği söylenebilir.

Bitkisel ajanların deride BM'de yer alan laminin sentezi üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma vardır. *Aloe vera*'dan izole edilen anjiyogenik beta-sitosterol, von Willebrand faktör, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), VEGF reseptörü Flk-1 ve kan damarı matriks laminini gibi proteinlerin ekspresyonunu arttırmaktadır (Choi ve diğ., 2002). *Chromolaena odorata* (Eupolin) ekstraktının doza bağlı olarak laminin 5, laminin 1, kollajen IV ve fibronektin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Phan ve diğ., 2000). Ayrıca, pirinç şarabının prokollajen ve laminin 5 ekspresyonunu (Seo ve

diğ., 2009) ve soya lizolesitinin dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde laminin 5 birikimini ve BM oluşumunu (Akutsu ve diğ., 2000) arttırdığı bildirilmiştir. Ek olarak, laminin 5 ve soya lizolesitinin, dermal-epidermal bağlantılardaki BM hasarlarının onarımını arttırdığı da rapor edilmiştir (Amano ve diğ., 2004). Bu çalışmada, *O. hypericifolium* esansiyel yağının uygulandığı Grup 3'te, laminin yaygın bir boyanma paterni göstermiştir. Boyanma yoğunluğu olarak kontrol grubu (Grup 1) ile belirgin bir fark görülmemiştir. Dolayısıyla, *O. hypericifolium* esansiyel yağının laminin ekspresyonu üzerinde pozitif etkisi olduğu söylenemez.

Ayrıca, çeşitli ajanların BM lamininlerini UV hasarlarına karşı koruyucu etkisi olup olmadığı da araştırılmıştır. Hasarlı insan keratinositleri üzerine mineral ekstraktının (Loess 970 gr ve Sodyum hidroksit 30 gr eritilerek elde edilen karışım) etkisinin araştırıldığı çalışmada, UV'ye maruz bırakılan hücrelerin göreceli olarak daha fazla miktarda laminin salgıladığı, UV'ye maruz bırakılan keratinositlerin mineral ekstraktı ile muamele edilmesinin ise vakuol boyutlarını azalttığı ve doza bağlı olarak laminin sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Jung ve diğ., 2009). Bir başka çalışmada, engineered human skin (EHS) oluşturulmuş ve SPF 28 ve SPF 30 fiziksel güneş koruyucuları uygulanarak ya da uygulanmadan artan dozlarda (1000-6000 kJ m<sup>-2</sup>) simüle güneş ışığına maruz bırakılmışlardır. Simüle güneş ışığına maruz kalan EHS'de laminin birikiminin tam olarak gerçekleşmemesinin neden olduğu belirgin bir epidermal organizasyonsuzluk gözlenmiştir. Fiziksel güneş koruyucu, düşük dozlarda simüle güneş ışığı ile indüklenen epidermal hasara engel olmuş ve test edilen tüm simüle güneş ışığı dozlarında laminin birikimine izin vermiştir (Bissonauth ve diğ., 2000; Rouabhia ve diğ., 2002). Bu çalışmada, *O. hypericifolium* esansiyel yağı ve UVB uygulanan Grup 4'te lamininin, dermal-epidermal bağlantı bölgelerinde düzensiz, devamlılığını kaybetmiş ve zayıf reaksiyon göstermiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, *O. hypericifolium* esansiyel yağının, UVB maruziyetinin lamininde meydana getirdiği hasarlar üzerinde olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak, bu gözlemlerin daha ileri moleküler teknikler, spektroskopik yöntemlerle desteklenmesi gerekmektedir.

#### 4.7 Galektin-3

Galektin-3,  $\beta$ -galaktozid bağlayan bir lektindir (Castronovo ve diğ., 1999; Kapucuoglu ve diğ., 2009). Ekspresyonu, çok farklı stresörlerden etkilenir ve çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik şartlarda güçlü şekilde modifiye edilir (Dumic ve diğ., 2002). Mitokondriyal membran potansiyeli ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu üzerinde galektin-3'ün aşırı ekspresyonunun koruyucu etkisi vardır (Matarrese ve diğ., 2000b). Ayrıca, çeşitli apoptotik uyarımlarla perinükleer membranı geçer, mitokondriye ulaşır ve apoptozisin düzenlenmesinde önemli olan mitokondriyal hasara ve sitokrom c salınımına engel olur (Yu ve diğ., 2002). Keratinositlerinde dahil olduğu epitel hücrelerinde bol miktarda eksprese edilen ve immün hücrelerin fonksiyonlarına etki ederek inflamatuvar deri hastalıklarının patogenezi ile de ilgili olan galektin-3, çeşitli deri hastalıkları için yeni bir terapötik hedefdir (Larsen ve diğ., 2011). Çalışmalar, mast hücrelerinde bulunan galektin-3'ün bu hücrelerin bazal laminaya tutunmasıyla ilgili olabileceğini ve insan mast hücrelerinin ve bazofillerinin degranüle olmak üzere aktive olduklarında salgı granülleri üzerinde yer alan galektin-3'ü salgılayabileceklerini düşündürmektedir (Craig ve diğ., 1995). Ayrıca, endojenik galektin-3'ün, keratinositlerde anti-apoptotik bir molekül olduğu ve apoptozis ile ilgili deri hastalıklarının gelişimi ile ilişkili olabileceği de bildirilmiştir (Saegusa ve diğ., 2008). Yapılan çalışmalarda, normal deride galektin-3 immünreaktivitesinin özellikle epidermin orta bölgesinde (dikensi tabaka) ve ektrin ter bezlerinde görüldüğü (Castronovo ve diğ., 1999) ve normal epidermisteki galektin-3 ekspresyonunun, melanom dışı deri kanserlerine göre daha yüksek olduğu (Kapucuoglu ve diğ., 2009) gösterilmiştir. Bu çalışmada galektin-3-pozitif reaksiyon, normal deride (Grup 1), Castronovo ve diğ. (1999)'nin gözlemlediği gibi epidermiste görülmekle birlikte, keratin tabaka liflerinde, kıl folikülü hücrelerinde, sebace bezi çevresinde ve hücrelerinin zarlarında, kas demetleri çevresinde de gözlenmiştir. Reaksiyon, dermin fibril yapılarında ve epidermal bağlantı bölgesinde genel olarak yoğun bulunmuştur.

UVB'nin yaban tip keratinositlerde galektin-3 mRNA'sının sentezini geçici olarak uyardığı gösterilmiştir (Saegusa ve diğ., 2008). Yine, galektin-3'ün güneşe maruz kalan bölge lezyonlarındaki sitoplazmik ve nükleer ekspresyonları arasındaki güçlü ilişkinin,



UV ışınlarının galektin-3 aktivasyonuna etkisini gösterdiği bildirilmiştir (Prieto ve diğ., 2006). Bu çalışmada, galektin-3-pozitif reaksiyonu, UVB uygulanan grup 2'ye ait epidermal hücrelerde yoğun olarak izlenmiştir. Bu grupta, galektin-3-pozitif reaksiyon yer yer yoğun olmak üzere dermiste, epidermis ve kıl folikülü hücrelerinde oldukça yoğun olarak izlenmiştir. Epidermiste hücrelerde yoğun gözlenen galektin-3 reaksiyonu, epidermal bazal hücrelerde galektin-3 ekspresyonunun UV etkisi ile arttığını gösteren çalışmalarla (Saegusa ve diğ., 2008; Prieto ve diğ., 2006) benzerlik göstermektedir.

Çeşitli ajanların galektin ekspresyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, *Bifidobacterium breve* M-16V (GF/Bb) içeren diyetle beslenen farelerde, bu takviyenin, alerjik semptomların önlenmesiyle ilgili olan serum galektin-9 seviyesini arttırdığı bildirilmiştir (de Kivit ve diğ., 2012). Doğal bir polifenol olan kurkuminin galektin-3 ekspresyonu için potansiyel bir inhibitör olduğu (Dumic, ve diğ., 2002), modifiye edilmiş narenciye pektininin (MCP-turunçgil meyvelerindeki sindirilemeyen, suda çözünür polisakkarit fibrillerinden türevlenen, pH ve sıcaklıkla modifiye edilmiş pektin formu) spesifik olarak karbohidrat bağlayan protein galektin-3'ü inhibe ettiği (Liu ve diğ., 2008; Nangia-Makker ve diğ., 2002b) ve apoptozisteki düşüşle ilgili olarak, galektin-3'de de azalmaya neden olduğu (Kolatsi-Joannou ve diğ., 2011) gösterilmiştir. Bu çalışmada, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3'te, dermiste galektin-3-pozitif reaksiyon gösteren hücelere rastlanmıştır. Bu hücrelerin, immun sistem hücreleri olabileceği düşünülmektedir. Reaksiyon, genellikle epidermiste hücrelerin zarlarında izlenmiştir. Epidermal hücrelerdeki galektin-3 immünreaktivitesinin kontrol grubu (Grup 1) ile benzer olması, *O. hypericifolium* esansiyel yağının epidermal hücrelerde tek başına galektin-3 ekspresyonunda herhangi bir değişikliğe neden olmadığını düşündürmektedir. Ancak, dermiste galektin-3-pozitif hücrelerin izlenmesi, esansiyel yağın immün sistem hücrelerinde galektin-3 ekspresyonunu arttırmış olabileceğini akla getirmektedir.

UVB ve *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 4'te ise, dermiste, fibril yapılarda çok yoğun galektin-3-pozitif reaksiyon izlenmemiş, epidermiste reaksiyon kontrol grubu ile benzer olarak daha çok hücre zarlarında gözlenmiştir. Bu verilere göre bu grupta, *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulaması, UVB etkisi ile artan galektin-3

ekspresyonunu bir miktar baskılamış gibi görünmektedir. Bu bulgu, *O. hypericifolium* esansiyel yağının UVB öncesinde uygulanmasının galektin-3'ün UVB ile uyarılan ekspresyonunu bir miktar inhibe ettiğini düşündürmektedir.

Tüm bunlara ek olarak, UVB (Byrne ve diğ., 2008; Mohamed ve diğ., 2003; Kligman ve Murphy, 1996) ve karvakrol varlığında (Tekeli, 2008; Aksoy, 2007) derideki mast hücre sayılarının arttığı da bilinmektedir. Mast hücrelerinde ve bazofillerde yapılan galektin-3 immün işaretlemeye, bu lektinin çekirdek ve/veya sitoplazmada yerleştiği, nuklear olarak heterokromatin bölge işaretlenirken, ökromatinin işaretlenmeden kaldığı, sitoplazmik işaretlenmenin ise salgı granüllerinin üzerinde yoğunlaştığı ve boyanma yoğunluğunun, genel olarak deri mast hücrelerinde, diğer bölgelerinkilerden ve bazofillerden daha fazla olduğu bildirilmiştir (Craig ve diğ., 1995). Yapılan diğer çalışmalarda da galektin-3'ün mast hücrelerini degranüle olmadan mitokondriyal apoptozise girmeleri yönünde aktive ettiği (Suzuki ve diğ., 2008) ve galektin-3'ün alerjik hastalıkların kontrolünde potansiyel bir hedef olabileceği (Chen ve diğ., 2006) bildirilmiştir. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada grup 3'te, dermis içinde gözlenen galektin-3-pozitif reaksiyon gösteren hücrelerin, boyanma özelliklerinden dolayı mast hücreleri olabileceği de düşünülmektedir.

#### **4.8 Glikokonjugatlar**

Normal ve patolojik şartlarda, karbohidrat-protein ve karbohidrat-karbohidrat etkileşimleri üzerinde son yıllarda birçok bilginin ortaya çıkmasıyla birlikte, karbohidrat biyolojisi giderek daha çok önem kazanmıştır (Danguy ve diğ., 1994). Örneğin, transformasyon ve malignansi gelişimi sırasında glikan yapılarında farklılıklar bulunmuştur.

Lektinler, bakterilerde, hayvanlarda ve bitkilerde hücre yüzey karbohidratlarının tanınmasından sorumludurlar (Weis ve Drickamer, 1996). Çeşitli canlıların (insan, fare, mısır su mandası, yeni doğan sıçan ve köpek) normal derilerinde yapılan lektin histokimyası çalışmalarında, normal derinin epidermisinde genel olarak  $\alpha$ -D-mannoz,  $\alpha$ -ve  $\beta$ -galaktoz, N-asetilglukozamin, sialik asit, N-asetilgalaktozamin,  $\alpha$ -L-fukoz,  $\alpha$ -D-

glukoz (Mohamed ve diğ., 2008; Georgiou ve diğ., 2005; Schaumburg-Lever ve diğ., 1984; Nemanic ve diğ., 1983; Ookusa ve diğ., 1983; Brabec ve diğ., 1980) gibi şekerlerin bulunduğu belirlenmiştir. Epidermis yapısında bulunan şekerlerden  $\alpha$ -D-mannoz,  $\alpha$ -D-glukoz ve  $\alpha$ -L-fukoz, yaşa bağlı olarak anlamlı fark gösterir (Georgiou ve diğ., 2005). Kan grubu A olan bireylerin epidermisinin  $\alpha$ -D-N-asetilgalaktozamin, B kan gruplu kişilerin epidermisinin  $\alpha$ -D-galaktoz içeriklerinin zengin olduğu bildirilmiştir (Schaumburg-Lever ve diğ., 1984). Ayrıca, epidermisin N-asetilgalaktozamin içeriğinin keratinosit farklılaşması boyunca arttığı da gösterilmiştir (Ookusa ve diğ., 1983). Normal deride dermiste, mannoz,  $\alpha$ - ve  $\beta$ -galaktoz, N-asetilglukozamin ve sialik asit belirlenmiştir (Nemanic ve diğ., 1983). Bu çalışmanın lektin histokimyası kısmında, uç mannoz gruplarına spesifik olan GNA, N-asetilglukozamin'e  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağlı galaktoza [Gal $\beta(1\rightarrow4)$ GlcNAc] spesifik olan DSA ve galaktoza  $\alpha(2\rightarrow4)$  bağı ile bağlı sialik asite spesifik olan MAL lektinleri uygulanmıştır. Yapılan ışık mikroskopik incelemeler sonucunda, diğer çalışmalarla benzer olarak, kontrol grubu (Grup 1) epidermislerinin yoğun şekilde uç mannoz gruplarına sahip yapılar ve N-asetilglukozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağlı galaktoz ve daha az yoğun olarak sialik asit içerdiği, ancak dermiste uç mannoz gruplarının ve N-asetilglukozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağlı galaktozun daha az yoğun, sialik asit yoğunluğunun ise çok daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

UV'nin deri üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, tek başına UVA uygulamasının endotelial ve epidermal hücrelerdeki şeker uzantılarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı ve endotelial hücrelerin kullanılan lektinlerle reaksiyonunun tek doz UVB uygulamasına daha hassas olduğu gösterilmiştir (Sayeed ve diğ., 1993). Sedef hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada ise, normal deri plazma membranlarının  $\alpha$ -L-fukoz ve glukoz/mannoz ile reaksiyon verirken, bu şekerlerin sedef hastalarında epidermiste sadece sitoplazmik patern gösterdiği, PUVA (yüzeysel psoralen ve uzun dalga boylu UVR) uygulanan sedef hastalarında reaksiyon paterninin dereceli olarak normalleşirken, plazma membranlarında reaksiyonun görülmeye başladığı rapor edilmiştir (Danno ve diğ., 1986). Bu çalışmada, UVB uygulanan Grup 2'de, epidermal hücrelerin uç mannoz gruplarını içeren yapılarla sialik asitin yoğunluğunun Grup 1 ile benzerlik gösterdiği,

ancak N-asetilglukozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoz yoğunluğunun ise Grup 1'e göre daha az olduğu gözlenmiştir. Dermiste, UVB uygulamasının, hem uç mannoz grupları yoğunluğunu, hem de N-asetilglukozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoz yoğunluğunu, kontrol grubu Grup 1'e göre arttırdığı, ancak sialik asit yoğunluğunun kontrol grubu ile benzer olduğu izlenmiştir. Bu veriler, UVB'nin derinin bazı şeker bileşimlerini değıştirebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, UV radyasyonunun derinin şeker yapıları üzerinde değışikliklere neden olduğunu gösteren yukarıda belirtilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Çeşitli ajanların glikokonjugatlar üzerine etkilerini araştıran çalışmalar mevcuttur. Kumarin (kumarik asitin anhidriti), tonka fasülyesi, lavanta, tatlı yonca ve tarçın gibi çeşitli bitkilerden doğal olarak elde edilebilen ya da bir amino asit olan fenilalaninden sentetik olarak üretilebilen beyaz kristalli bir laktondur (SCCP, 2006) ve 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) ile indüklenen oral karsinogenez boyunca hücre yüzey glikokonjugatlarının korunmasında önemli bir potansiyele sahiptir (Baskaran ve diğ., 2011). Oral olarak alınan *Clerodendron inerme* yaprak etanolik ekstraktının (CILEE), DMBA ile indüklenen deri karsinogenezi süresince ortaya çıkan, membran lipid peroksidasyonundaki artışı, yetersiz antioksidan potansiyelini ve membran glikokonjugatlarının kaybı ile oluşan farelerin eritrositlerindeki yapısal ve fonksiyonel anormallikleri geri çevirdiği bildirilmiştir. Bu etkinin de muhtemelen, bitki ekstraktının içerdii biyoaktif bileşikler olan flavonoidler, izoflavonlar ve bunların sinerjistik etkisi ile ortaya çıktığı düşünölmektedir (Rajalingam ve diğ., 2008). Bir diğer çalışmada, *O. hypericifolium* ekstraktı enjekte edilmiş farelerde N-asetilgalaktozamine Gal  $\beta(1\rightarrow3)$  bağı ile bağı galaktoz yapılarının midede ve ince bağırsakta, Galaktoza  $\alpha(2\rightarrow3)$  bağı sialik asit yapılarının ince bağırsakta ve  $\alpha(1\rightarrow3)$  ve  $\alpha(1\rightarrow6)$  bağı yüksek mannozlu yapıların kalın bağırsakta azaldığı gösterilmiştir. Bu nedenle, bitki ekstraktının gastrointestinal sistemde bazı glikan yapılarında değışikliklere yol açtığı bildirilmiştir (Keskin ve diğ., 2012). Bu çalışmada *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3'te, kontrol grubu olan Grup 1 ile karşılaştırıldığında, epiderminin daha az uç mannoz gruplarını içeren yapılar ve N-asetilglukozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoz içerdii, sialik asit yoğunluğunun ise kontrol ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Dermiste ise uç

mannoz gruplarına sahip yapıların ve N-asetilglikozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoz yapılarının kontrol grubuna (Grup 1) göre daha yoğun olduğu, sialik asit içeren yapıların ise kontrol grubu ile benzer olduğu izlenmiştir. Bu sonuçlar, seyreltilmemiş *O. hypericifolium* uygulamasının derinin karbohidrat bileşimini değiştirebileceğini düşündürmektedir. Işık mikroskobu düzeyinde yapılan bu çalışmanın, spektroskopik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Radyasyon maruziyeti ve çeşitli ajanların glikokonjugat yapılarına etkilerinin araştırıldığı çalışmalar vardır. Ağız içi skuamöz hücre karsinomuna sahip hastalarda, serum heksoz, heksozamin, fukoz ve sialik asit seviyeleri artmıştır ve radyasyonla tedavi edilen hastalarda kontrolle karşılaştırıldığında belirgin bir azalma izlendiği, serum glikokonjugat seviyesinin vitamin E ile desteklenmiş radyasyon ile tedavi edilen hastalarda belirgin bir şekilde azaldığı rapor edilmiştir (Chitra ve Devi, 2008). Endotelial ve epidermal hücrelerdeki UV radyasyonu ile indüklenen değişiklikler incelendiğinde, PUVA radyasyonunun, UVB'ye göre terminal galaktoz ve  $\alpha$ -galaktoz üzerinde daha fazla değişikliğe neden olduğu ve tek başına psoralen ya da UVA uygulamasının belirgin bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (Sayeed ve diğ., 1993). Bu çalışmada, grup 4'te epidermisteki uç mannoz gruplarını içeren yapıların kontrol grubuna (Grup 1) ve UVB uygulanan Grup 2'ye göre azaldığı, *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3 ile benzer olduğu izlenmiştir. Dermiste bu şekerlerin yoğunluğunun, Grup 1'e göre bir miktar arttığı, Grup 2 ile benzer olduğu ve Grup 3'e göre bir miktar azaldığı tespit edilmiştir. N-asetilglikozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoz yoğunluğunun ise, UVB ve *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 4'te, epidermiste kontrol grubuna (Grup 1) göre bir miktar azalırken, UVB uygulanan Grup 2 ve *O. hypericifolium* esansiyel yağı uygulanan Grup 3 ile benzer olduğu gözlenmiştir. Dermiste bu şeker yapılarının, Grup 1 ve 2 ile benzer bir reaksiyon yoğunluğu gösterdiği, Grup 3'e göre ise bir miktar azaldığı tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, Grup 4'te sialik asit yoğunluğunun epidermis ve dermiste tüm gruplarla benzer olduğu izlenmiştir. Bu bulgular, yüzeysel olarak seyreltilmemiş *O. hypericifolium* esansiyel yağının UVB ile birlikte uygulanmasının, UVB'nin epidermiste neden olduğu N-asetilglikozamine  $\beta(1\rightarrow4)$  bağı ile bağı galaktoz yoğunluğundaki azalmayı

engelleyemediğini göstermektedir. UVB uygulaması epidermisteki uç mannoz gruplarına sahip yapılarda bir değişikliğe neden olmazken, esansiyel yağ uygulamasının bu şeker yoğunluğunda azalmaya neden olduğu izlenmiştir. Ayrıca, UVB, esansiyel yağ ya da hem UVB hem esansiyel yağın birlikte uygulanmasının derinin sialik asit yoğunluğunda bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir. Ancak, bu bulguların yapılacak diğer moleküler, biyokimyasal analizler gibi çalışmalarla birlikte değerlendirilmesine gerek vardır.

#### **4.9 TUNEL-Apoptozis**

Deri, güneş yanığı, foto hasar ve melanom olmayan deri kanserleri gibi deri hastalıklarının ana nedeni olan UV'ye maruz kalan bir yapıdır (Sies ve Stahl, 2004). UVB ile indüklenen hasarlar, güneş yanığı hücreleri ve DNA lezyonları gibi temel olarak epidermaldir (Bernerd ve Asselineau, 2008). Keratinositler çeşitli fizyolojik ve patolojik şartlarda apoptozise uğrarlar (Saegusa ve diğ., 2008). UVB radyasyonuna aşırı derecede maruz kalma, apoptotik keratinositleri gösteren güneş yanığı hücrelerinin ortaya çıkmasına neden olur (Zhuang ve diğ., 1999). İnsan epidermal kök hücreleri de UVB radyasyonuna bir yanıt olarak apoptozise uğrayabilirler ve keratinositlere göre daha duyarlı olabilirler (Mei ve Liang, 2011). UVB radyasyonundan sonra hasarlı DNA'nın apoptozisle süratli bir şekilde uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle UVB radyasyonundan sonra hızlı bir şekilde uyarılan apoptozisin hatasız bir şekilde işlemesi oldukça önemlidir (Honda ve diğ., 2009). Apoptozis, UVB radyasyonunun karsinojenik etkilerine karşı koruyucu bir mekanizmadır (Laethem ve diğ., 2005). UVB hasarları ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, dorsal derileri 10 kJ/m<sup>2</sup> UVB radyasyonuna maruz bırakılan WBN/ILA-*Ht* sıçanların epidermislerindeki güneş yanığı hücrelerinin nukleuslarının TUNEL metodu ile güçlü bir şekilde boyandığı ve bunların ince yapı düzeyinde apoptotik nukleus için karakteristik olan özellikler gösterdikleri ve TUNEL-pozitif keratinositlerin yüzde değerlerindeki değişikliğin, güneş yanığı hücrelerinin sayılarındaki değişiklik ile örtüştüğü gösterilmiştir (Kuroki ve diğ., 2001). Bu çalışmada da UVB uygulanan Grup 2'nin epidermisindeki TUNEL-pozitif hücre sayısındaki artış, Grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,05$ )

bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarla benzer şekilde, bu hücrelerin, TUNEL metodu ile güçlü bir şekilde boyanan ve apoptotik nukleus karakteristik özellikleri gösteren hücreler olabileceği söylenebilir.

*O. hypericifolium* esansiyel yağının temel bileşenlerinden olan timol ve karvakrolün hücre apoptozisi, hücre çoğalması ve gelişimi üzerine etkileriyle ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Timolün, A549 (Human lung adenocarcinoma epithelial cell line-adenokarsinom insan akciğer epitel hücre hattı) ve V79 379A (Chinese Hamster Akciğer fibroblast benzeri hücreler) hücre hatları üzerinde zamana ve doza bağlı sitotoksik etki gösterdiği ve düşük konsantrasyonlardaki timol dozlarının sağlıklı hücrelerdeki sitotoksik etkisinin, A549 hücrelerine göre çok az olduğu saptanmıştır (Kaya, 2007). Bununla birlikte, timolün 0,1 mM'ın altındaki konsantrasyonlarda DNA zincir kırıklarında artışa neden olmazken, 0,2 mM'ın üzerindeki konsantrasyonlarda DNA hasarında belirgin bir artışa neden olduğu ve çalışılan düşük dozlarda; 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]-quinoline (IQ) ve mitomisin C (MMC) tarafından indüklenen DNA zincir kırıklarını anlamlı bir şekilde indirmediği de (Aydın ve diğ., 2005) bildirilmiştir. HepG2 (karaciğer hepatosellüler karsinoma hücreleri) ve Caco-2 (insan kolonik karsinoma hücreleri) hücre hatlarının, çeşitli konsantrasyonlarda timol ile 24 saat inkübasyonunun her durumda da bu hücrelere hidrojen peroksit kaynaklı DNA zincir kırıklarına karşı anlamlı bir koruma sağladığı (Slamenova ve diğ., 2007) ve Hep-2 (insan larinks karsinomundan monolayer olarak üretilen hücre hattı) hücre kültürlerinin timol ile muamelesinin denenen dozların hiçbirinde herhangi bir apoptozis belirtisini indüklediği gösterilmiştir (Stammati ve diğ., 1999).

*O. hypericifolium* esansiyel yağının diğer bir ana bileşeni olan karvakrol, farmakolojik özellikleri açısından önemli ölçüde değerlendirilen, birçok aromatik bitkinin bileşenidir. Karvakrolün insan servikal kanseri, HeLa ve SiHa hücrelerinde doza bağlı sitotoksik etki gösterdiği, ölen hücrelerin, DNA fragmentasyonu gibi apoptozisin karakteristiklerini sergiledikleri bulunmuştur (Mehdi ve diğ., 2011). Diğer bir çalışmada, karvakrol ile muamele edilen hücrelerin, yuvarlaklaşması, sitoplazmik bleblerin oluşumu ve şekillerinde düzensizliklerin meydana gelmesi ile diskten koptukları ve bu verinin karvakrolün A549 hücre hattında hücre büyümesinin çok güçlü bir inhibitörü



olduğunu gösterdiği bildirilmektedir (Koparal ve Zeytinoglu, 2003). Karvakrolün, domuz lenfosit ve enterosit hücre hattı IPEC-1 proliferasyonunu apoptotik hücre ölümünü indükleyerek azalttığına (Bimczok ve diğ., 2008) dair bulgular da vardır. Bir başka çalışmada da, Hep-2 hücre kültürlerinin karvon, karvakrol ve sinnalaldehit ile muamelesinin apoptotik fenotip için tipik olan nukleus fragmentasyonunu tüm konsantrasyonlarda indüklediği bulunmuştur (Stammati ve diğ., 1999).

Bununla birlikte, karvakrolün karaciğer hücre rejenerasyonu hızını arttırdığı ortaya konmuştur (Uyanoglu ve diğ., 2008). Ayrıca, HepG2 ve Caco-2 hücre hattının karvakrolün çeşitli konsantrasyonları ile 24 saat inkübasyonunun, bu hücreleri hidrojen peroksit kaynaklı DNA zincir kırıklarına karşı anlamlı bir şekilde koruduğu bildirilmiştir (Slamenova ve diğ., 2007). Ek olarak, karvakrolün, 0,1 mM'dan yüksek konsantrasyonlarda DNA hasarlarını indüklediği, 0,05 mM konsantrasyonun altında ise IQ ve MMC tarafından indüklenen DNA zincir kırıklarını anlamlı bir şekilde indirgelediği gösterilmiştir. Konsantre *Thymus spicata* sulu metanolik ekstraktından elde edilen n-hekzan ve etil asetat fraksiyonlarının bileşenlerinin, IQ ve MMC ile indüklenen DNA hasarına karşı lenfositleri doza bağlı olarak koruduğu da gösterilmiştir (Aydin ve diğ., 2005). Bu çalışmada, esansiyel yağ uygulaması ile epidermiste görülen TUNEL-pozitif hücre sayısında Grup 1'e göre anlamlı bir artış ( $p<0,05$ ) tespit edilmiştir. Bu artış, seyreltilmeden kullanılan esansiyel yağ içeriğinde yer alan timol ve karvakrolün, sitotoksik etkisinden ya da DNA fragmentasyonuna neden olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bitki kaynaklı ajanların kullanılarak deride UV ile oluşturulan hasarların azaltılmasına yönelik birçok çalışmada, bu ajanların derideki TUNEL-pozitif hücre sayıları üzerindeki etkileri SKH-1 tüysüz fareler, HaCat hücre hattı, Balb/c fareler, insan fibroblast kültürleri, kan lenfositleri ya da gönüllülerden alınan biyopsi örneklerinin kullanıldığı sistemlerde araştırılmıştır. Renkli meyve ve sebzelerde bulunan bir antosiyanidin olan Delphinidin, ölümsüzleştirilmiş insan HaCaT keratinosit hücrelerinin ve fare derisi hücrelerini UVB ile indüklenen apoptozisten korumaktadır (Afaq ve diğ., 2007). Benzer şekilde, insan derisine OM24 losyonunun (placebo içeriğe ek olarak %4 *Camellia sinensis* yaprak ekstraktı) %10'luk karışım uygulaması, apoptotik keratinosit sayısında

anlamalı bir azalmaya neden olmaktadır (Mnich ve diğ., 2008). Ayrıca, diyetle alınan silibininin (dünyada ve Amerika’da yoğun bir şekilde besin takviyesi olarak kullanılan doğal bir flavonoid) UVB’nin neden olduğu apoptozisi ve güneş yanığı hücrelerinin oluşumunu inhibe ederek deri epidermisinde UVB ile indüklenen hasarlara karşı çeşitli yollarla koruma sağladığı bildirilmiştir (Gu ve diğ., 2005). Benzer şekilde, çoğunlukla çilek, sebzeler, çay, şarap ve bitkiler gibi doğal yiyeceklerde bulunan, kuersetine benzeyen bir flavonoid olan mirsetinin konsantrasyona bağlı olarak UVB ile indüklenen keratinosit ölümünü azalttığı (Huang ve diğ., 2010b) ve ballıbabagiller bitki köklerinden elde edilen bir flavon olan baikalin’in UVB kaynaklı dermal siklobütan pirimidin dimer miktarını ve apoptozisi (TUNEL-pozitif hücreler) azalttığı (Zhou ve diğ., 2008) rapor edilmiştir. Ek olarak, deve dikeninde (*Silybum marianum*) bulunan bir flavonoid olan silimarinin, DNA hasarları miktarını azaltarak epidermal keratinositlerinde apoptozisi azaltabileceği (Katiyar ve diğ., 2011) ve red Ginseng köklerinden izole edilen total saponinlerin ve ginsenosid Rb-1’in, UVB maruziyeti ile indüklenen apoptotik, Ki-67- ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin-pozitif hücrelerdeki artışı önlediği de (Kim ve diğ., 2009) bildirilmiştir. Ayrıca, yeşil ya da siyah çay ekstraktlarının, bunların polifenollerinin ya da kurkuminin insan fibroblast kültürüne ya da fitohemaglutinin (PHA) ile uyarılmış kan lenfositlerine ilave edilmesinin radyasyonla indüklenen kromatid kırıklarının frekansını anlamalı bir şekilde azalttığı (Parshad ve diğ., 1998) ve yeşil çay ekstraktının güneş yanığı hücrelerinin sayısını azaltmasının yanında langerhans hücrelerini de UV hasarlarından koruduğu ve UV radyasyonundan sonra oluşan DNA hasarlarını indirgediği de bildirilmiştir (Elmets ve diğ., 2001). Bununla birlikte, kahverengi alg olan *Sargassum sagamianum* temel bileşenlerinden ve bir plastokinon olan sargaquinoik asitin UVB uygulamasından (2,5 kJ/m<sup>2</sup>) önce yüzeysel uygulamasının kaspaz-3 aktivitesi de dahil olmak üzere apoptozisi arttırdığı bildirilmiştir (Hur ve diğ., 2008). Tek doz (45 mJ/cm<sup>2</sup>) UVB uygulamasından sonra kafein uygulamasının farelerde apoptotik keratinosit sayısını 2 katına çıkardığı (Koo ve diğ., 2007) ve yeşil yapraklı sebzelerde bulunan lutein ve zeaksantin gibi diyetel karotenoidlerin UVB maruziyeti ile indüklenen çoğalan hücre nükleer antijen, bromodeoksiuridin ve TUNEL-pozitif hücrelerin yüzdesindeki artışında etkili olduğu (Gonzalez ve diğ., 2003) da

gösterilmiştir. Bu çalışmada da, UVB ve esansiyel yağ uygulanan Grup 4'te, TUNEL-pozitif hücre sayısı, Grup 1 ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde artmıştır ( $p<0,05$ ). Grup 2'deki TUNEL-pozitif hücre sayısı, Grup 4'e göre fazla olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Bulgular, UVB'nin, esansiyel yağın, UVB ile esansiyel yağın birlikte TUNEL-pozitif hücre sayısında artışa neden olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, Grup 2, 3 ve 4'ün epidermisindeki fazla TUNEL-pozitif hücre sayısı, sadece apoptotik hücrelerin varlığına değil, aynı zamanda çoğalan ya da DNA tamiri olan hücelere de bağlı olabilir (Reefman ve diğ., 2006). Bu nedenle, deride 3'-OH DNA sonlanmaları (TUNEL-pozitifliği gibi) araştırılırken bunların hücre ölümü ya da hücre çoğalması ile ilgili olabileceği dikkate alınarak doğru yorumlanmalıdır (Wrone-Smith ve diğ., 1997). Bundan dolayı, bu konuda daha ileri moleküler analizlerin yapılmasına ihtiyaç vardır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

### SONUÇLAR:

1. GC-MS analizleri sonucunda, esansiyel yağın simen, karvakrol, timol ve  $\gamma$ -terpinen gibi monoterpenlerden oluşan 15 bileşen içerdiği tespit edilmiştir.
2. Derinin genel histolojisinde, tüm gruplarda, en dışta epidermis, altındaki dermiste kıl folikülleri ve saçları ile sebase bezleri ayırt edilmiştir. Derin dermiste ise yağ ve kas doku yer almaktadır.
3. *O. hypericifolium* esansiyel yağının kollajen ve elastik fibriller üzerinde, UVB ile indüklenen değişimleri önleyebileceği, yağın konsantrasyonuna bağlı olarak epidermal kalınlığı arttırabileceği görülmüştür.
4. Yağ ve UVB'nin birlikte uygulandığı grupta, mast hücre sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir.
5. Yağın, deri yüzey ve sebase bezlerinin nötral lipit ve yağ asitlerinin yoğunluklarına bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.
6. Yağın UVB radyasyonunun neden olduğu laminindeki yıkılım ve düzensiz dağılım üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür.
7. Yağ uygulanan deride, dermiste galektin-3-pozitif hücreler ayırt edilmiştir.
8. Yağ, bazı karbohidrat yapılarının yoğunluklarında değişikliklere yol açmıştır.
9. UVB'nin, yağın, UVB ile yağın birlikte, TUNEL-pozitif hücre sayısında artışa neden olabileceği belirlenmiştir.

### ÖNERİLER:

1. Bulguların yağın farklı konsantrasyonları ile yapılacak benzer çalışmaların ve daha ileri moleküler analizlerin bulgularıyla karşılaştırılması

2. Bulguların desteklenmesi için daha ileri moleküler analizlerin yapılması
3. Bitkisel ürünlerin etkilerinin, hayvan modellerinin dokularında çeşitli parametrelerle test edilmesi

## KAYNAKLAR

- Accorsi-Neto, A., Haidar, M., Simões, R., Simões, M., Soares-Jr, J. and Baracat, E.,** 2009: Effects of isoflavones on the skin of postmenopausal women: a pilot study. *Clinics*, **64**, 505-510.
- Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B. C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. and Aruoma, O. I.,** 1994: Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, **32**, 31-36.
- Afaq, F.,** 2011: Natural agents: cellular and molecular mechanisms of photoprotection. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **508**, 144-151.
- Afaq, F., Adhami, V. M., Ahmad, N. and Mukhtar, H.,** 2002: Botanical antioxidants for chemoprevention of photocarcinogenesis. *Frontiers in Bioscience*, **7**, 784-792.
- Afaq, F. and Mukhtar, H.,** 2006: Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. *Experimental Dermatology*, **15**, 678-684.
- Afaq, F., Syed, D. N., Malik, A., Hadi, N., Sarfaraz, S., Kweon, M. H., Khan, N., Zaid, M. A. and Mukhtar, H.** 2007: Delphinidin, an anthocyanidin in pigmented fruits and vegetables, protects human HaCaT keratinocytes and mouse skin against UVB-mediated oxidative stress and apoptosis. *Journal of Investigative Dermatology*, **127**, 222-232.
- Afaq, F., Zaid, M. A., Khan, N., Dreher, M. and Mukhtar, H.,** 2009: Protective effect of pomegranate derived products on UVB mediated damage in human reconstituted skin. *Experimental Dermatology*, **18**, 553-561.
- Akahani, S., Nangia-Makker, P., Inohara, H., Kim, H. R. C. and Raz, A.,** 1997: Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Research*, **57**, 5272-5276.
- Akay, M. T.,** 2001: Genel Histoloji. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Akimoto, Y., Akamatsu, H., Okano, Y., Masaki, H. and Horio, T.,** 2003: Effects of UV irradiation on the sebaceous gland and sebum secretion in hamsters. *Journal of Dermatological Science*, **31**, 151-159.
- Aksoy, A.,** 2007: Alkolik sıçan karaciğeri üzerine karvakrolün etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Akşit, H. ve Bildik, A.,** 2008: Apoptozis. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19**, 55-63.

- Akutsu, N., Amano, S. and Nishiyama, T.,** 2000: Upregulation of gene expression and protein synthesis of laminin 5 by soybean lysolecithin. *30th Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research*, September 21-23, Berlin.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P.,** 2008: Hücrenin Moleküler Biyolojisi, TÜBA, Ankara, sf:1106-1108.
- Alcaraz, M. V., Pathak, M. A., Rius, F., Kollias, N. and Gonzales, S.,** 1999: An extract of *Polypodium leucotomos* appears to minimize certain photoaging changes in a hairless albino mouse model. A pilot study. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **15**, 120-126.
- Al-Reza, S. M., Yoon, J. I., Kim, H. J., Kim, J. S. and Kang, S. C.,** 2010: Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujuba*. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 639-643.
- Amano, S.,** 2005: Structural and functional changes during skin aging process and their prevention and repair. *Biotherapy (Tokyo)*, **19**, 404-410.
- Amano, S.,** 2009: Possible involvement of basement membrane damage in skin photoaging. *Journal of Investigative Dermatology, Symposium Proceedings*, **14**, 2-7; doi:10.1038/jidsymp.2009.5
- Amano, S., Akutsu, N., Ogura, Y. and Nishiyama, T.,** 2004: Increase of laminin 5 synthesis in human keratinocytes by acute wound fluid, inflammatory cytokines and growth factors, and lysophospholipids. *British Journal of Dermatology*, **151**, 961-970.
- Andersen, A.,** 2006: Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. *International Journal of Toxicology*, **25**, 29-127.
- Aragane, Y., Kulms, D., Metze, D., Wilkes, G., Pöppelmann, B., Luger, T. A. and Schwarz, T.,** 1998: Ultraviolet light induces apoptosis via direct activation of CD95 (Fas/APO-1) independently of its ligand CD95L. *Journal of Cell Biology*, **140**, 171-182.
- Aristatile, B., Al-Numair, K. S., Al-Assaf, A. H., Veeramani, C. and Pugalendi, V. K.,** 2010: Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular DNA damage induced by UVB irradiation in human peripheral lymphocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **00**, 1-11.
- Auffray, B.,** 2007: Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using *Commiphora myrrha* essential oil. *International Journal of Cosmetic Science*, **29**, 23-29.
- Aumailley, M. and Smyth, N.,** 1998: The role of laminins in basement membrane function. *Journal of Anatomy*, **193**, 1-21.



- Aydın, K.**, 2011: Kilis ili Resulosman ve Acar dağlarındaki işlenmemiş alanların florası. *Yüksek Lisans Tezi*, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kilis.
- Aydın, S., Basaran, A. A. and Basaran, N.**, 2005: The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C. *Mutation Research*, **581**, 43-53.
- Bae, J. Y., Choi, J. S., Kang, S. W., Lee, Y. J., Park, J. and Kang, Y. H.**, 2010: Dietary compound ellagic acid alleviates skin wrinkle and inflammation induced by UVB irradiation. *Experimental Dermatology*, **19**, 182-190.
- Balan, V., Nangia-Makker, P. and Raz, A.**, 2010: Galectins as cancer biomarkers. *Cancers*, **2**, 592-610.
- Balasubramanian, K., Vasudevamurthy, R., Venkateshaiah, S. U., Thomas, A., Vishweshwara, A. and Dharmesh, S. M.**, 2009: Galectin-3 in urine of cancer patients: stage and tissue specificity. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **135**, 355-363.
- Baliga, M. S. and Katiyar, S. K.**, 2006: Chemoprevention of photocarcinogenesis by selected dietary botanicals. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **5**, 243-253.
- Bandara, M., Arun, S. J., Allanson, M., Widyarini, S., Chai, Z. and Reeve, V. E.**, 2010: Topical isoflavonoids reduce experimental cutaneous inflammation in mice. *Immunology and Cell Biology*, **88**, 727-733.
- Baser, K. H. C.**, 2002: Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure & Applied Chemistry*, **74**, 527-545.
- Baser, K. H. C., Ermin, N.; Kurkcuoğlu, M. and Tumen, G.**, 1994: Essential oil of *Origanum hypericifolium* O. Schwarz et P.H. Davis. *Journal of Essential Oil Research, JEOR*, **6**, 631-633.
- Baser, K. H.**, 2008: Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, **14**, 3106-3119.
- Baskaran, N., Manoharan, S., Silvan, S., Palanimuthu, D., Rajasekaran, D., Prabhakar, M. M., Karthikeyan, S., Srinivasan, R. and Wani, S. A.**, 2011: Protective effect of coumarin on cell surface glycoconjugates abnormalities during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) induced oral carcinogenesis. *International Journal of Biological and Medical Research*, **2**, 643-647.
- Baydar, H. and Gokturk Baydar, N.**, 2005: The effects of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascena* Mill.). *Industrial Crops and Product*, **21**, 251-255.
- Baytop, T.**, 1999: Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.

- Bedi, M. K. and Shenefelt, P. D.**, 2002: Herbal therapy in dermatology. *Archives of Dermatology*, **138**, 232-242.
- Beissert, S. and Schwarz, T.**, 1999: Mechanisms involved in ultraviolet light-induced immunosuppression. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, **4**, 61-64.
- Berg, R. J. W., Van Kranen, H. J., Rebel, H. G., De Vries, A., Van Vloten, W. A., Van Kreijl, C. F., Van Ser Leun, J. C. and De Grujl, F. R.**, 1996: Early p53 alterations in Mouse skin carcinogenesis by UVB radiation: immunohistochemical detection of mutant p53 protein in clusters of preneoplastic epidermal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 274-278.
- Bernerd, F. and Asselineau, D.**, 2008: An organotypic model of skin to study photodamage and photoprotection in vitro. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **58**, S155-S159.
- Bernerd, F., Sarasin, A. and Magnaldo, T.**, 1999: Galectin-7 overexpression is associated with the apoptotic process in UVB-induced sunburn keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, **96**, 11329-11334.
- Bigotti, G., Coli, A., Del Vecchio, M. and Massi, G.**, 2003: Evaluation of galectin-3 expression by sarcomas, pseudosarcomatous and benign lesions of the soft tissues. preliminary results of an immunohistochemical study. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, **22**, 255-264.
- Bimczok, D., Rau, H., Sewekow, E., Janczyk, P., Souffrant, W. B. and Rothkötter, H. J.**, 2008: Influence of carvacrol on proliferation and survival of porcine lymphocytes and intestinal epithelial cells *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, **22**, 652-658.
- Bissonauth, V., Drouin, R., Mitchell, D. L., Rhains, M., Claveau, J. and Rouabhia, M.**, 2000: The efficacy of a broad-spectrum sunscreen to protect engineered human skin from tissue and DNA damage induced by solar ultraviolet exposure. *Clinical Cancer Research*, **6**, 4128-4135.
- Bonina, F., Lnaza, M., Montenegro, L., Puglisi, C., Antonio, T., Trombetta, D., Castelli, F. and Siaja, A.**, 1996: Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *International Journal of Pharmaceutics*, **145**, 87-94.
- Bosset, S., Bonnet-Duquennoy, M., Barré, P., Chalon, A., Kurfurst, R., Bonté, F., Schnébert, S., Le Varlet, B. and Nicolas, J. F.**, 2003: Photoageing shows histological features of chronic skin inflammation without clinical and molecular abnormalities. *The British Journal of Dermatology*, **149**, 826-835.
- Bouwstra, J. A. and Gooris, G. S.**, 2010: The lipid organisation in human stratum corneum and model systems. *The Open Dermatology Journal*, **4**, 10-13.

- Brabec, R. K., Peters, B. P., Bernstein, I. A., Gray, R. H. and Goldstein, I. J., 1980:** Differential lectin binding to cellular membranes in the epidermis of the newborn rat. *Cell Biology*, **77**, 477-479.
- Budiyanto, A., Ahmed, N. U., Wu, A., Bito, T., Nikaido, O., Osawa, T., Ueda, M. and Ichihashi, M., 2000:** Protective effects of topically applied olive oil against photocarcinogenesis following UVB exposure of mice. *Carcinogenesis*, **21**, 2085-2090.
- Byrne, S. N., Limo´n-Flores, A. Y. and Ullrich, S. E., 2008:** Mast cell migration from the skin to the draining lymph nodes upon ultraviolet irradiation represents a key step in the induction of immune suppression. *The Journal of Immunology*, **180**, 4648-4655.
- Califice, S., Castronovo, V., Bracke, M. and van den Brule, F., 2004:** Dual activities of galectin-3 in human prostate cancer: tumor suppression of nuclear galectin-3 vs. tumor promotion of cytoplasmic galectin-3. *Oncogene*, **23**, 7527-7536.
- Castronovo, V., Liu, F. T. and van den Brule, F. A., 1999:** Decreased expression of galectin-3 in basal cell carcinoma of the skin. *International Journal of Oncology*, **15**, 67-137.
- Cecchinelli, B., Lavra, L., Rinaldo, C., Iacovelli, S., Gurtner, A., Gasbarri, A., Ulivieri, A., Del Prete, F., Trovato, M., Piaggio, G., Bartolazzi, A., Soddu, S. and Sciacchitano, S., 2006:** Repression of the antiapoptotic molecule galectin-3 by homeodomain-interacting protein kinase 2-activated p53 is required for p53-induced apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*, 4746-4757.
- Celik, A., Ergin, C., Arslan, I. and Kartal, T., 2010a:** Anticandidal activity of endemic *Salvia potentillifolia* Boiss. and Heldr. ex Bentham and *Origanum hypericifolium* Schwartz and P.H. Davis in Turkey. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, **1**, 22-24.
- Celik, A., Herken, E. N., Arslan, I., Ozel, M. Z. and Mercan, N., 2010b:** Screening of the constituents, antimicrobial and antioxidant activity of endemic *Origanum hypericifolium* O. Schwartz & P.H. Davis. *Natural Product Research*, **24**, 1568-1577.
- Chen, H. Y., Sharma, B. B., Yu, L., Zuberi, R., Chen, H. Y., Weng, I. C., Kawakami, Y., Kawakami, T., Hsu, D. K. and Liu, F. T., 2006:** Role of galectin-3 in mast cell functions: galectin-3-deficient mast cells exhibit impaired mediator release and defective JNK expression. *Journal of Immunology*, **177**, 4991-4997.
- Chitra, S. and Devi, C. S. S., 2008:** Effect of vitamin E on protein bound carbohydrate complexes in radiation treated oral squamous cell carcinoma patients. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **23**, 92-94.

- Choi, S., Kim, K. W., Choi, J. S., Han, S. T., Park, Y. I., Lee, S. K., Kim, J. S. and Chung, M. H.,** 2002: Angiogenic activity of beta-sitosterol in the ischaemia/reperfusion-damaged brain of Mongolian gerbil. *Planta Medica*, **68**, 330-335.
- Choi, W. S.,** 2005: Involvement of TGF-beta in skin photoaging. *Doctor of Phylosophy Thesis*, Massachusetts Institute of Technology, USA.
- Chung, J. H., Han, J. H., Hwang, E. J., Seo, J. Y., Cho, K. H., Kim, K. H., Youn, J. I. and Eun, H. C.,** 2003: Dual mechanisms of green tea extract (EGCG)-induced cell survival in human epidermal keratinocytes. *The FASEB Journal*, **17**, 1913-1915.
- Cikler, E., Saglam, B., Zeybek, A., Ercan, F., Cetinel, S. and Sener, G.,** 2005: The protective effects of aqueous garlic extract against water avoidance stress-induced mast cell degranulation in the dermis. *Marmara Medical Journal*, **18**, 103-108.
- Cooper, G. M. and Hausman, R. E.,** 2006: Hücreye Moleküler Yaklaşım, 3. Baskı. Eds: Meral Sakızlı ve Neşe Atabey. İzmir Tıp Kitapevi, İzmir.
- Craig, S. S., Krishnaswamy, p., Irani, A. M. A., Kepley, C. L., Liu, F. T. and Schwartz, L. B.,** 1995: Immunoelectron microscopic localization of galectin-3, an IgE binding protein, in human mast cells and basophils. *The Anatomical Record*, **242**, 211-219.
- Crocoll, C.,** 2011: Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450s in oregano and thyme. *Zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.). vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena.*
- Çebi, Z., Koçak, H., Taşyürekli, M. ve Kuntsal, L.,** 1997: Mast hücrelerinin irritasyon fibrinomlarındaki lokalizasyonu. *Türk Patoloji Dergisi*, **13**, 55-56.
- Danguy, A., Akif, F., Pajak, B. and Gabius, H. J.,** 1994: Contribution of carbohydrate histochemistry to glycobiology. *Histology and Histopathology*, **9**, 155-171.
- Danno, K., Fujii, K., Tachibana, T., Toda, K. and Horio, T.,** 1988: Suppressed histamine release from rat peritoneal mast cells by ultraviolet B irradiation: decreased diacylglycerol formation as a possible mechanism. *The Journal of Investigative Dermatology*, **90**, 806-809.
- Danno, K., Yoneda, K. and Horio, T.,** 1986: PUVA Irradiation restores altered binding patterns of lectins in psoriatic epidermis. *Archives of Dermatology*, **122**, 772-778.
- Davis, P. H.,** 1982: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 7. Edinburgh University Press, Edinburgh, UK. 297-313.

- de Kivit, S., Saeland, E., Kraneveld, A. D., van de Kant, H. J., Schouten, B., van Esch, B. C., Knol, J., Sprikkelman, A. B., van der Aa, L. B., Knippels, L. M., Garssen, J., van Kooyk, Y. and Willemsen, L. E., 2012: Galectin-9 induced by dietary synbiotics is involved in suppression of allergic symptoms in mice and humans. *Allergy*, **67**, 343-352.
- De Luca, C. and Valacchi, G., 2010: Surface lipids as multifunctional mediators of skin responses to environmental stimuli. *Hindawi Publishing Corporation, Mediators of Inflammation*, **2010**, Article ID 321494, 11 pages.
- Debeleç-Bütüner, B. ve Kantarcı, G., 2006: Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **35**, 149-170.
- Demirci, F., Paper, D. H., Franz, G. and Baser, K. H. C., 2004: Investigation of the *Origanum onites* L. essential oil using the Chorioallantoic Membrane (CAM) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 251-254.
- Dhanabal, S. P., Priyanka Dwarampudi, L., Muruganantham, N. and Vadivelan, R., 2011: Evaluation of the antipsoriatic activity of *Aloe vera* leaf extract using a mouse tail model of psoriasis. *Phytotherapy Research*, doi:10.1002/ptr.3589.
- Drake, D. R., Brogden, K. A., Dawson, D. V. and Wertz, P. W., 2008: Antimicrobial lipids at the skin surface. *Journal of Lipid Research*, **49**, 4-11.
- Dumic, J., Dabelic, S. and Flögel, M., 2002: Curcumin-A potent inhibitor of galectin-3 expression. *Food Technology and Biotechnology*, **40**, 281-287.
- Edris, A., 2007: Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*, **21**, 308-323.
- Eikani, M. H., Golmohammad, F., Rowshanzamir, S. and Mirza, M., 2005: Recovery of water-soluble constituents of rose oil using simultaneous distillation-extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, **20**, 555-558.
- Ellerhorst, J. A., Stephens, L. C., Nguyen, T. and Xu, X. C., 2002: Effects of galectin-3 expression on growth and tumorigenicity of the prostate cancer cell line LNCaP. *Prostate*, **50**, 64-70.
- Elmets, C. A., Singh, D., Tubesing, K., Matsui, M., Katiyar, S. and Mukhtar, H., 2001: Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *Journal of American Academy of Dermatology*, **44**, 425-432.
- Erickson, A. C. and Couchman, J. R., 2000: Still more complexity in mammalian basement membranes. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **48**, 1291-1306.
- Erden, S., 2008: *Galleria mellonella* (Lepidoptera)'nın kas dokusunda Neu5Ac( $\alpha$ 2,3)Gal $\beta$ 1,4GlcNAc, Neu5Ac( $\alpha$ 2,6)Gal/GalNAc ve

- Gal $\beta$ 1,3GalNAc şekerlerin bölgeler (baş, toraks, ve abdomen) ve gelişme evreleriyle (larva, pupa ve ergin) ilişkili belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- Eroschenko, V. P.**, 2008: di Fiore Histoloji Atlası, Fonksiyonel İlişkileriyle (Onuncu Baskıdan Çeviri). Palme Yayıncılık, Ankara.
- Esrefoglu, M., Seyhan, M., Aktas, A., Gul, M. and Ozturk, F.**, 2005: Histopathological findings and the distribution of laminin and fibronectin in psoriatic skin. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **12**, 217-222.
- Fazekas, Z., Gao, D., Saladi, R. N., Lu, Y., Lebwohl, M. and Wei, H.**, 2003: Protective effects of lycopene against Ultraviolet B-induced photodamage. *Nutrition and Cancer*, **47**, 181-187.
- F'guyer, S., Afaq, F. and Mukhtar, H.**, 2003: Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **19**, 56-72.
- Finlay-Jones, J. J. and Hart, P. H.**, 1997: Ultraviolet irradiation, systemic immunosuppression and skin cancer: role of urocanic acid. *Australasian Journal of Dermatology*, **38**, 7-12.
- Gallagher, C. H., Canfield, P. J., Greenoak, G. E. and Reeve, V. E.**, 1984: Characterization and histogenesis of tumors in the hairless mouse produced by low-dosage incremental ultraviolet radiation. *The Journal of Investigative Dermatology*, **83**, 169-174.
- Ganapaty, S., Chandrashekhar, V. M. and Laxshmi Narsu, M.**, 2010: Evaluation of anti-allergic activity of gossypin and suramin in mast cell-mediated allergy model. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, **47**, 90-95.
- Gao, S. and Singh, J.**, 1997: Mechanism of transdermal transport of 5-fluorouracil by terpenes: carvone, 1,8-cineole and thymol. *International Journal of Pharmaceutics*, **154**, 67-77.
- Gasparro, F. P., Mitchnick, M. and Nash, J. F.**, 1998: A review of sunscreen safety and efficacy. *Photochemistry and Photobiology*, **68**, 243-256.
- Georgiou, S., Pasmatzis, E., Monastirli, A., Sakkis, T. and Alachioti, S.**, 2005: Age-related alterations in the carbohydrate residue composition of the cell surface in the unexposed normal human epidermis. *Gerontology*, **51**, 155-160.
- Ghasemzadeh, A. and Ghasemzadeh, N.**, 2011: Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**, 6697-6703.
- Gloor, M. and Karenfeld, A.**, 1977: Effect of ultraviolet light therapy, given over a period of several weeks, on the amount and composition of the skin surface lipids. *Dermatologica*, **54**, 5-13.

- Gniadecki, R., Gajkowska, B., Bartosik, J., Hansen, M. and Wulf, H. C., 1998:** Variable expression of apoptotic phenotype in keratinocytes treated with ultraviolet radiation, ceramide, or suspended in semisolid methylcellulose. *Acta Dermato-Venereologica (Stockh)*, **78**, 248-257.
- Gonzales-Castañeda, C. and Gonzales, G. F., 2008:** Hypocotyls of *Lepidium meyenii* (maca), a plant of the Peruvian highlands, prevent ultraviolet A-, B-, and C-induced skin damage in rats. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **24**, 24-31.
- Gonzalez, S., Astner, S., An, W., Goukassianin, D. and Pathak, M. A., 2003:** Dietary Lutein/Zeaxanthin decreases ultraviolet B-induced epidermal hyperproliferation and acute inflammation in hairless mice. *Journal of Investigative Dermatology*, **121**, 399-405.
- Gonzalez, S., Moran, M. and Kochevar, I. E., 1999:** Chronic photodamage in skin of mast cell-deficient mice. *Photochemistry and Photobiology*, **70**, 246-253.
- Gould, M. N., 1997:** Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environmental Health Perspectives*, **105**, 977-979.
- Graevskaya, E. E., Akhalaya, M. Y., Ensu, C., Parkhomenko, I. M., Strakhovskaya, M. G. and Goncharenko, E. N., 2000:** Effect of middle-wave ultraviolet irradiation and red light on degranulation of peritoneal mast cell in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **4**, 357-358.
- Grassadonia, A., Tinari, N., Iurisci, I., Piccolo, E., Cumashi, A., Innominato, P., D'Egidio, M., Natoli, C., Piantelli, M. and Iacobelli, S., 2004:** 90K (Mac-2 BP) and galectins in tumor progression and metastasis. *Glycoconjugate Journal*, **19**, 551-556.
- Green, M. H., Petit-Frere, C., Clingen, P. H., Bentham, G., Cole, J. and Arlett, C. F., 1999:** Possible effects of sunlight on human lymphocytes. *Journal of Epidemiology*, **9**, 48-57.
- Grimbaldeston, M. A., Finlay-Jones, J. J. and Hart, P. H., 2006:** Mast cells in photodamaged skin: what is their role in skin cancer? *Photochemical & Photobiological Sciences*, **5**, 177-183.
- Grimbaldeston, M. A., Nakae, S., Kalesnikoff, J., Tsai, M. and Galli, S. J., 2007:** Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. *Nature Immunology*, **8**, 1095-1104.
- Grimbaldeston, M. A., Skov, L., Baadsgaard, O., Skov, B. G., Marshman, G., Finlay-Jones, J. J. and Hart, P. H., 2000:** Communications: high dermal mast cell prevalence is a predisposing factor for basal cell carcinoma in humans. *Journal of Investigative Dermatology*, **115**, 317-320.



- Gu, M., Dhanalakshmi, S., Singh, R. P. and Agarwal, R.,** 2005: Dietary feeding of silibinin prevents early biomarkers of UVB radiation-induced carcinogenesis in SKH-1 hairless mouse epidermis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **14**, 1344-1349.
- Gumus, A. and Balcan, E.,** 2010: Determination of glycoconjugate residues of erythrocytes at different age groups of rats. *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, **20**, 6-13.
- Guler Ozden, M. and Gurer M. A.,** 2007: Skin damage and protection. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*, **17**, 37-48
- Güleş, Ö. ve Eren, Ü.,** 2008: Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2**, 73-78.
- Haake, A. R.,** 1993: Cell death by apoptosis in epidermal biology. *The Journal of Investigative Dermatology*, **101**, 107-112.
- Harmanşah, C.,** 2008: UVB radyasyonun çevresel etkileri ve ölçüm teknikleri. *C B Ü Soma Meslek Yüksek Okulu Teknik Bilimler Dergisi*, **1**, 1-10.
- Hart, P. H., Grimbaldston, M. A., Swift, G. J., Jaksic, A., Noonan, F. P. and Finlay-Jones, J. J.,** 1998: Dermal mast cells determine susceptibility to ultraviolet B-induced systemic suppression of contact hypersensitivity responses in mice. *The Journal of Experimental Medicine*, **187**, 2045-2053.
- Hausen, B. M., Reichling, J. and Harkenthal, M.,** 1999: Degradation products of monoterpenes are the sensitizing agents in tea tree oil. *American Journal of Contact Dermatitis*, **10**, 68-77.
- Heck, D. E., Vetrano, A. M., Mariano, T. M. and Laskin, J. D.,** 2003: UVB light stimulates production of reactive oxygen species: Unexpected role for catalase. *The Journal of Biological Chemistry*, **278**, 22432-22436.
- Hedrych-Ozimina, A., Behrendt, K., Hao, Z., Pofahl, R., Ussath, D., Knaup, R., Krieg, T. and Haase, I.,** 2011: Enhanced contact allergen- and UVB-induced keratinocyte apoptosis in the absence of CD95/Fas/Apo-1. *Cell Death and Differentiation*, **18**, 155-163.
- Heinrich, U., Neukam, K., Tronnier, H., Sies, H. and Stahl, W.,** 2006: Long-term ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in women. *Journal of Nutrition*, **136**, 1565-1569.
- Hernandez, J. D. and Baum, L. G.,** 2002: Ah, sweet mystery of death! Galectins and control of cell fate. *Glycobiology*, **12**, 127R-136R.
- Holleran, W. M., Uchida, Y., Halkier-Sorensen, L., Haratake, A., Hara, M., Epstein, J. H. and Elias, P. M.,** 1997: Structural and biochemical basis for the UVB induced alterations in epidermal barrier function. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **13**, 117-128.

- Honda, A., Abe, R., Yoshihisa, Y., Makino, T., Matsunaga, K., Nishihira, J., Shimizu H. and Shimizu, T.,** 2009: Deficient deletion of apoptotic cells by macrophage migration inhibitory factor (MIF) overexpression accelerates photocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, **30**, 1597-1605.
- Honjo, Y., Inohara, H., Akahani, S., Yoshii, T., Takenaka, Y., Yoshida, J., Hattori, K., Tomiyama, Y., Raz, A. and Kubo, T.,** 2000: Expression of cytoplasmic galectin-3 as a prognostic marker in tongue carcinoma. *Clinical Cancer Research*, **6**, 4635-4640.
- Hoon, T. S.,** 2001: The histology of the contact dermatitis: In: Ket NS, Leok GC (eds.), *The Principles and Practice of Contact and Occupational Dermatology in Asia-Pacific Region*, World Scientific, 19.
- Hoppe, U., Bergemanna, J., Diembecka, W., Ennen, J., Gohlaa, S., Harris, I., Jacob, J., Kielholz, J., Mei, W., Pollet, D., Schachtschabel, D., Sauermann, G., Schreiner, V., Stäb, F. and Steckel, F.,** 1999: Coenzyme Q10, a cutaneous antioxidant and energizer. *BioFactors*, **9**, 371-378.
- Huang, C. C., Hsu, B. Y., Wu, N. L., Tsui, W. H., Lin, T. J., Su, C. C. and Hung, C. F.,** 2010a: Anti-photoaging effects of soy isoflavone extract (aglycone and acetylglucoside form) from soybean cake. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**, 4782-4795.
- Huang, J. H., Huang, C. C., Fang, J. Y., Yang, C., Chan, C. M., Wu, N. L., Kang, S. W. and Hung, C. F.,** 2010b: Protective effects of myricetin against ultraviolet-B-induced damage in human keratinocytes. *Toxicology in Vitro*, **24**, 21-28.
- Hughes, R. C.,** 2001: Galectins as modulators of cell adhesion. *Biochimie*, **83**, 667-676.
- Hur, S., Lee, H., Kim, Y., Lee, B. H., Shin, J. and Kim, T. Y.,** 2008: Sargaquinoic acid and sargachromenol, extracts of *Sargassum sagamianum*, induce apoptosis in HaCaT cells and mice skin: Its potentiation of UVB-induced apoptosis. *European Journal of Pharmacology*, **582**, 1-11.
- Ichihashi M., Ahmed, N. U., Budiyo, A., Wu, A., Bito, T., Ueda, M. and Osawa, T.,** 2000: Preventive effect of antioxidant on ultraviolet-induced skin cancer in mice. *Journal of Dermatological Science*, **23**, S45-S50.
- Iddamalgoda, A., Le, Q. T., Ito, K., Tanaka, K., Kojima, H. and Kido H.,** 2008: Mast cell tryptase and photoaging: possible involvement in the degradation of extra cellular matrix and basement membrane proteins. *Archives of Dermatological Research*, **300**, 69-76.
- Imokawa, G.,** 2008: Recent advances in characterizing biological mechanisms underlying UV-induced wrinkles: a pivotal role of fibroblast-derived elastase. *Archives of Dermatological Research*, **300**, 7-20.

- Inki, P., Stenback, F., Talve, L. and Jalkanen, M.,** 1991: Immunohistochemical localization of syndecan in mouse skin tumors induced by UV irradiation: loss of expression associated with malignant transformation. *American Journal of Pathology*, **139**, 1333-1340.
- Inomata, S., Matsunaga, Y., Amano, S., Takada, K., Kobayashi, K., Tsunenaga, M., Nishiyama, T., Kohno, Y. and Fukuda, M.,** 2003: Possible involvement of gelatinases in basement membrane damage and wrinkle formation in chronically ultraviolet B-exposed hairless mouse. *Journal of Investigative Dermatology*, **120**, 1-7.
- Ishii, Y., Kimura, T., Itagakil, S. and Doil, K.,** 1997: The skin injury induced by high energy dose of ultraviolet in hairless descendants of Mexican hairless dogs. *Histology and Histopathology*, **12**, 383-389.
- Ishikawa, J., Shimotoyodome, Y., Chen, S., Ohkubo, K., Takagi, Y., Fujimura, T., Kitahara, T. and Takema, Y.,** 2012: Eucalyptus increases ceramide levels in keratinocytes and improves stratum corneum function. *International Journal of Cosmetic Science*, **34**, 17-22.
- Iwakawa, K., Ueda, N., Murao, S. and Kobayashi, N.,** 1996: Altered carbohydrate composition in colorectal adenomas and carcinomas: histochemical characterization of N-acetylgalactosamine, L-fucose, and o-acetylated sialic acid. *Journal of Gastroenterology*, **31**, 24-32.
- Izzetoglu, S. and Karacali, S.,** 2012: The determination of N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) and N-glycolyl-neuraminic acid (Neu5Gc) types of sialic acids in hematopoietic organ of the silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **18**, 147-150.
- Jaafari, A., Mouse, H. A., Rakib, E. M., M'barek, L. A., Tilaoui, M., Benbakhta, C., Boulli, A., Abbad, A. and Zyad, A.,** 2007: Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **17**, 477-491.
- Jenkins, G.,** 2002: Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, **123**, 801-810.
- Jeon, H. Y., Kim, J. K., Kim, W. G. and Lee, S. J.,** 2009: Effects of oral epigallocatechin gallate supplementation on the minimal erythema dose and UV-induced skin damage. *Skin Pharmacology and Physiology*, **22**, 137-141.
- Jung, S. H., Seo, Y. K., Youn, M. Y., Park, C. S., Song, K. Y. and Park, J. K.,** 2009: Anti-aging and anti-inflammation effects of natural mineral extract on skin keratinocytes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **14**, 861-868.

- Jungersted, J. M., Hellgren, L. I., Jemec, G. B. E. and Agner, T.,** 2008: Lipids and skin barrier function –a clinical perspective. *Contact Dermatitis*, **58**, 255-262.
- Kane, K. and Maytin, E. V.,** 1995: Ultraviolet B-induced apoptosis of keratinocytes in murine skin is reduced by mild local hyperthermia. *The Journal of Investigative Dermatology*, **104**, 62-67.
- Kaneko, K., Kawana, S., Arai, K. and Shibasaki, T.,** 2003: Corticotropin-releasing factor receptor type 1 is involved in the stress-induced exacerbation of chronic contact dermatitis in rats. *Experimental Dermatology*, **12**, 47-52.
- Kapucuoglu, N., Yuksel Basak, P., Bircan, S., Sert, S. and Baysal Akkaya, V.,** 2009: Immunohistochemical galectin-3 expression in non-melanoma skin cancers. *Pathology–Research and Practice*, **205**, 97-103.
- Karaçalı, S.,** 2003: Glikobiyoloji güncel moleküler biyoloji. *Turkish Journal of Veterainary and Animal Science*, **27**, 489-495.
- Kariya, Y., Kawamura, C., Tabei, K. and Gu, J.,** 2010: Bisecting GlcNAc residues on Laminin-332 down-regulate Galectin-3-dependent keratinocyte motility. *The Journal of Biological Chemistry*, **285**, 3330-3340.
- Karp, G.,** 2008: Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments, 5th Edition. John Wily & Sons, Inc, United States of America.
- Katiyar, S. K., Ahmad, N. and Mukhtar, H.,** 2000a: Green tea and skin. *Archives of Dermatology*, **136**, 989-994.
- Katiyar, S. K., Mantena S. K. and Meeran, S. M.,** 2011: Silymarin protects epidermal keratinocytes from ultraviolet radiation-induced apoptosis and DNA damage by nucleotide excision repair mechanism. *PLoS ONE*, **6**, e21410. doi:10.1371/journal.pone.0021410.
- Katiyar, S. K., Perez, A. and Mukhtar, H.,** 2000b: Green tea polyphenol treatment to human skin prevents formation of ultraviolet light B-induced pyrimidine dimers in DNA. *Clinical Cancer Research*, **6**, 3864-3869.
- Kawagishi, N., Hashimoto, Y., Takahashi, H., Ishida-Yamamoto, A. and Iizuka, H.,** 1998: Epidermal cell kinetics of pig skin in vivo following UVB irradiation: apoptosis induced by UVB is enhanced in hyperproliferative skin condition. *Journal of Dermatological Science*, **18**, 43-53.
- Kaya, M.,** 2007: Bazı monoterpen ve uçucu yağların hücre çoğalması ve apoptozis üzerine etkilerinin memeli hücre kültürleriyle araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Kazozoğlu, C., Gökmen, S. S., Sunar, B., Aygıt, C. ve Çakır, B.,** 2007: Benin ve melanom dışı malin deri tümörlü hastalarda serum total ve lipide bağlı siyalik asit düzeyleri. *Turkish Journal of Biochemistry*, **32**, 17-21.

- Keskin, N., Ili, P. and Sahin, B.,** 2012: Histochemical demonstration of mucosubstances in the mouse gastrointestinal tract treated with *Origanum hypericifolium* O. Schwartz and P.H. Davis extract. *African Journal of Biotechnology*, **11**, 2436-2444.
- Kılıç, A.,** 2005: Bitkisel kaynaklı bazı uçucu yağ ve monoterpenlerin olası genotoksik etkilerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Kierszenbaum, A.,** 2006: Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş. Ed: Prof. Dr. Ramazan Demir. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kikkawa, Y., Takaki, S., Matsuda, Y., Okabe, K., Taniguchi, M., Oomachi, K., Samejima, T., Katagiri, F., Hozumi, K. and Nomizu, M.,** 2010: The influence of tribenoside on expression and deposition of epidermal laminins in HaCaT Cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **33**, 307-310.
- Kim, J. S., Bae, B. H., Park, H. J., Kang, B. S., Kim, D. Y., Hwang, S. Y., Ahn, B. K., Nam S. Y., Yun, Y. W. and Lee, B. J.,** 2010: Protective effect of herbal extracts against skin wrinkle induced by UVB irradiation in hairless mice. *Journal of Biomedical Research*, **11**, 151-160.
- Kim, S. Y., Kim, S. J., Lee, J. Y., Kim, W. G., Park, W. S., Sim, Y. C. and Lee, S. J.,** 2004: Protective effects of dietary soy isoflavones against UV-induced skin-aging in hairless mouse model. *Journal of The American College of Nutrition*, **23**, 157-162.
- Kim, Y. G., Sumiyoshi, M., Kawahira, K., Sakanaka, M. and Kimura, Y.,** 2008: Effects of red ginseng extract on ultraviolet B-irradiated skin change in C57BL mice. *Phytotherapy Research*, **22**, 1423-1427.
- Kim, Y. G., Sumiyoshi, M., Sakanaka, M. and Kimura, Y.,** 2009: Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng on ultraviolet B-induced skin aging in hairless mice. *European Journal of Pharmacology*, **602**, 148-156.
- Kimura, Y. and Sumiyoshi, M.,** 2009: Olive leaf extract and its main component Oleuropein prevent chronic Ultraviolet B radiation-induced skin damage and carcinogenesis in hairless mice. *Journal of Nutrition*, **139**, 2079-2086.
- Kligman, L. H., Akin, F. J. and Kligman, A. M.,** 1985: The contributions of UVA and UVB to connective tissue damage in hairless mice. *The Journal of Investigative Dermatology*, **84**, 272-276.
- Kligman, L. H., Gebre, M., Alper, R. and Kefalides, N. A.,** 1989: Collagen metabolism in ultraviolet irradiated hairless mouse skin and its correlation to histochemical observation. *The Journal of Investigative Dermatology*, **93**, 210-214.

- Kligman, L. H. and Murphy, G. F.**, 1996: Ultraviolet B radiation increases hairless mouse mast cells in a dose-dependent manner and alters distribution of UV-induced mast cell growth factor. *Photochemistry and Photobiology*, **63**, 123-127.
- Kligman, L. H., Schwartz, E., Sapadin, A. N. and Kligman, A. M.**, 2000: Collagen loss in photoaged human skin is overestimated by histochemistry. *Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine*, **16**, 224-228.
- Klíma, J., Lacina, L., Dvořánková, B., Herrmann, D., Carnwath, J. W., Niemann, H., Kaltner, H., André, S., Motlík, J., Gabius, H. J. and Smetana JR K.**, 2009: Differential regulation of galectin expression/reactivity during wound healing in porcine skin and in cultures of epidermal cells with functional impact on migration. *Physiological Research*, **58**, 873-884.
- Kolatsi-Joannou, M., Price, K. L., Winyard, P. J. and Long, D. A.**, 2011: Modified citrus pectin reduces galectin-3 expression and disease severity in experimental acute kidney injury. *PLoS ONE*, **6**, e18683. doi:10.1371/journal.pone.0018683.
- Koo, S. W., Hirakawa, S., Fujii, S., Kawasumi, M. and Nghiem, P.**, 2007: Protection from photodamage by topical application of caffeine after ultraviolet irradiation. *British Journal of Dermatology*, **156**, 957-964.
- Koparal, A. T. and Zeytinoglu, M.**, 2003: Effects of carvacrol on a human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line, A549. *Cytotechnology*, **43**, 149-154.
- Kulms, D., Pöppelmann, B., Yarosh, D., Luger, T. A., Krutmann, J. and Schwarz, T.**, 1999: Nuclear and cell membrane effects contribute independently to the induction of apoptosis in human cells exposed to UVB radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 7974-7979.
- Kulms, D. and Schwarz, T.**, 2002: Independent contribution of three different pathways to ultraviolet-B-induced apoptosis. *Biochemical Pharmacology*, **64**, 837-841.
- Kuroki, K., Kimura, T., Nakayama, H. and Doi, K.**, 2001: Acute dorsal skin responses to UVB-irradiation in wistar-derived hypotrichotic wbn/ila-ht rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **53**, 1-6.
- Laethem, A. V., Claerhout, S., Garmynb, M. and Agostinis, P.**, 2005: The sunburn cell: regulation of death and survival of the keratinocyte. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **37**, 1547-1553.
- Larsen, L., Chen, H. Y., Saegusa, J. and Liu, F. T.**, 2011: Galectin-3 and the skin. *Journal of Dermatological Science*, **64**, 85-91.
- Learn, D. B. and Moloney, S. J.**, 1991: Numbers of murine dermal mast cells remain unchanged during chronic ultraviolet B irradiation. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **8**, 195-199.

- Lee, J. H., An, H. T., Chung, J. H., Kim, K. H., Eun, H. C. and Cho, K. H., 2002:** Acute effects of UVB radiation on the proliferation and differentiation of keratinocytes. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **18**, 253-261.
- Lee, J., Jung, E., Yu, H., Kim, Y., Ha, J., Kim, Y. S. and Park, D., 2008:** Mechanisms of carvacrol-induced expression of type I collagen gene. *Journal of Dermatological Science*, **52**, 160-169.
- Legendre, H., Decaestecker, C., Nagy, N., Hendlisz, A., Schüring, M. P., Salmon, I., Gabius, H. J., Pector, J. C. and Kiss, R., 2003:** Prognostic values of galectin-3 and the macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human colorectal cancers. *Modern Pathology*, **16**, 491-504.
- Lehmann, P., Melnik, B. and Plewig, G., 1991:** Effects of ultraviolet A and B on the skin barrier: a function, electron microscopic and lipid biochemical study. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **8**, 129-134.
- Lesnik, R. H., Kligman, L. H. and Kligman, A. M., 1992:** Agents that cause enlargement of sebaceous glands in hairless mice. II. Ultraviolet radiation. *Archives of Dermatological Research*, **284**, 106-108.
- Lin, J. Y., Selim, M. A., Shea, C. R., Grichnik, J. M., Omar, M. M., Monteiro-Riviere, N. A. and Pinnell, S. R., 2003:** UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **48**, 866-874.
- Lippens, S., Hoste, E., Vandenabeele, P., Agostinis, P. and Declercq, W., 2009:** Cell death in the skin. *Apoptosis*, **14**, 549-569.
- Liu, F. T., Patterson, R. J. and Wang, J. L., 2002:** Intracellular functions of galectins. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1572**, 263-273.
- Liu, H. Y., Huang, Z. L., Yang, G. H., Lu, W. Q. and Yu, N. R., 2008:** Inhibitory effect of modified citrus pectin on liver metastases in a mouse colon cancer model. *World Journal of Gastroenterology*, **14**, 7386-7391.
- Mallory, F. B., 1938:** Pathological Technique. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Mantena, S. K. and Katiyar, S. K., 2006:** Grape seed proanthocyanidins inhibit UV-radiation-induced oxidative stress and activation of MAPK and NF- $\kappa$ B signaling in human epidermal keratinocytes. *Free Radical Biology & Medicine*, **40**, 1603-1614.
- Maruyama, M., Onodera, K. and Ooya, K., 2002:** A histopathological and lectin-histochemical study of the lining epithelium in postoperative maxillary cysts. *Oral Diseases*, **8**, 241-248.
- Matarrese, P., Fusco, O., Tinari, N., Natoli, C., Liu, F. T., Semeraro, M. L., Malorni, W. and Iacobelli, S., 2000a:** Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *International Journal of Cancer*, **85**, 545-554.



- Matarrese, P., Tinari, N., Semeraro, M. L., Natoli, C., Iacobelli, S. and Malorni, W.,** 2000b: Galectin-3 overexpression protects from cell damage and death by influencing mitochondrial homeostasis. *FEBS Letters*, **473**, 311-315.
- Mathieu, A., Saal, I., Vuckovic, A., Ransy, V., Vereerstraten, P., Kaltner, H., Gabius, H. J., Kiss, R., Decaestecker, C., Salmon, I. and Rimmelink, M.,** 2005: Nuclear galectin-3 expression is an independent predictive factor of recurrence for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Modern Pathology*, **18**, 1264-1271.
- Meguro, S., Arai, Y., Masukawa, K., Uie, K. and Tokimitsu, I.,** 1999: Stratum corneum lipid abnormalities in UVB-irradiated skin. *Photochemistry and Photobiology*, **69**, 317-321.
- Mehdi, S. J., Ahmad, A., Irshad, M., Manzoor, N. and Rizvi, M. M. A.,** 2011: Cytotoxic effect of carvacrol on human cervical cancer cells. *Biology and Medicine*, **3**, 307-312.
- Mei, X. L. and Liang, S.,** 2011: Ultraviolet B light-induced apoptosis in human keratinocytes enriched with epidermal stem cells and normal keratinocytes. *Chinese Medical Journal*, **124**, 591-598.
- Middelkamp-Hup, M. A., Pathak, M. A., Parrado, C., Garcia-Caballero, T., Rius-Díaz, F., Fitzpatrick, T. B. and González, S.,** 2004a: Orally administered *Polypodium leucotomos* extract decreases psoralen-UVA-induced phototoxicity, pigmentation, and damage of human skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **50**, 41-49.
- Middelkamp-Hup, M. A., Pathak, M. A., Parrado, C., Goukassian, D., Rius-Díaz, F., Mihm, M. C., Fitzpatrick, T. B. and González, S.,** 2004b: Oral *Polypodium leucotomos* extract decreases ultraviolet-induced damage of human skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **51**, 910-918.
- Mishra, A. K., Mishra, A. and Chattopadhyay, P.,** 2011: Herbal cosmeceuticals for photoprotection from ultraviolet B radiation: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **10**, 351-360.
- Mnich, C. D., Hoek, K. S., Virkki, L. V., Farkas, A., Dudli, C., Laine, E., Urošević, M. and Dummer, R.,** 2008: Green tea extract reduces induction of p53 and apoptosis in UVB-irradiated human skin independent of transcriptional controls. *Experimental Dermatology*, **18**, 69-77.
- Mohamed, K., Ahmed, A., Amin, H. and Tokuma, Y.,** 2008: Histochemical analysis of glycoconjugates in the Muzzle Skin of Egyptian water Buffalos (*Bubalus bubalis*) with special reference to the glandular structure. *Journal of Veterinary Anatomy*, **1**, 73-80.
- Mohamed, S. H., Badr, F. M., El-Aal, H. A., Mohamed, R. W. and Ahmed, B. S.,** 2003: Quantitative microscopical and histochemical study of the skin of

- mice under the effect of exposure to ultra violet rays type-B. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, **12**, 92-100.
- Moon, B. K., Lee, Y. J., Battle, P., Jessup, J. M., Raz, A. and Kim, H. R.**, 2001: Galectin-3 protects human breast carcinoma cells against nitric oxide-induced apoptosis: implication of galectin-3 function during metastasis. *American Journal of Pathology*, **159**, 1055-1060.
- Moore, J. O., Wang, Y., Stebbins, W. G., Gao, D., Zhou, X., Phelps, R., Lebwohl, M. and Wei, H.**, 2006: Photoprotective effect of isoflavone genistein on ultraviolet B-induced pyrimidine dimer formation and PCNA expression in human reconstituted skin and its implications in dermatology and prevention of cutaneous carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **27**, 1627-1635.
- Mostafa, W. Z., Mahfouz, S. M., Bosseila, M., Sobhi, R. M. and El-Nabarawy, E.**, 2010: An immunohistochemical study of laminin in basal cell carcinoma. *Journal of Cutaneous Pathology*, **37**, 68-74.
- Mourad-Zeidan A. A., Melnikova, V. O., Wang, H., Raz, A. and Bar-Eli, M.**, 2008: Expression profiling of Galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry. *The American Journal of Pathology*, **173**, 1839-1852.
- Mudiyanselage, S. E., Hamburger, M., Elsner, P. and Thiele, J. J.**, 2003: Ultraviolet A induces generation of squalene monohydroperoxide isomers in human sebum and skin surface lipids *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Investigative Dermatology*, **120**, 915-922.
- Muizzuddin, N.**, 1996: Solar induced skin damage and protective effect of antioxidants in hairless mice and human volunteers. *M. Sc. Thesis*, University of Punjab, Department of Zoology, Faisalabad, Pakistan.
- Murakami, H., Shimbo, K., Inoue, Y., Takino, Y. and Kobayashi, H.**, 2011: Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice. *Amino Acids*, DOI: 10.1007/s00726-011-1059-z.
- Muta-Takada, K., Terada, T., Yamanishi, H., Ashida, Y., Inomata, S., Nishiyama, T. and Amano, S.**, 2009: Coenzyme Q10 protects against oxidative stress-induced cell death and enhances the synthesis of basement membrane components in dermal and epidermal cells. *Biofactors*, **35**, 435-441.
- Mutlu, B., Toros, H. ve Şen, O.**, 2003: Ultraviöle radyasyonun insan sağlığı üzerine etkileri, III. *Atmosfer Bilimleri Sempozyumu*, 19-21 Mart, İTÜ, İstanbul. ISBN.975-561-236-X.
- Nakahara, S., Oka, N. and Raz, A.**, 2005: On the role of galectin-3 in cancer apoptosis. *Apoptosis*, **10**, 267-275.

- Nakahara, S., Oka, N., Wang, Y., Hogan, V., Inohara, H. and Raz, A., 2006:** Characterization of the nuclear import pathways of galectin-3. *Cancer Research*, 9995-10006.
- Nakayama, S., Katoh, E. M., Tsuzuki, T. and Kobayashi, S., 2003:** Protective effect of  $\alpha$ -tocopherol-6-o-phosphate against ultraviolet B-induced damage in cultured mouse skin. *Journal of Investigative Dermatology*, **121**, 406-411.
- Nangia-Makker, P., Balan, V. and Raz, A., 2008:** Regulation of tumor progression by extracellular galectin-3. *Cancer Microenvironment*, **1**, 43-51.
- Nangia-Makker, P., Conklin, J., Hogan, V. and Raz, A., 2002a:** Carbohydrate-binding proteins in cancer, and their ligands as therapeutic agents. *Trends in Molecular Medicine*, **8**, 187-192.
- Nangia-Makker, P., Hogan, V., Honjo, Y., Baccarini, S., Tait, L., Bresalier, R. and Raz, A., 2002b:** Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *Journal of the National Cancer Institute*, **94**, 1854-1862.
- Nemanic, M. K., Whitehead, J. S. and Elias, P. M., 1983:** Alterations in membrane sugars during epidermal differentiation: visualization with lectins and role of glycosidases. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, **31**, 881-897.
- Nirmal, S. A., Pal, S. C. and Mandal, S. C., 2012:** Mast cell stabilizing and bronchodilatory activity of *Nyctanthes arbortristis* bark. *Phytopharmacology*, **2**, 234-242.
- Nishimori, Y., Edwards, C., Pearse, A., Matsumoto, K., Kawai, M. and Marks, R., 2001:** Degenerative alterations of dermal collagen fiber bundles in photodamaged human skin and UV-irradiated hairless mouse skin: possible effect on decreasing skin mechanical properties and appearance of wrinkles. *Journal of Investigative Dermatology*, **117**, 1458-1463.
- Norling, L. V., Perretti, M. and Cooper, D., 2009:** Endogenous galectins and the control of the host inflammatory response. *Journal of Endocrinology*, **201**, 169-184.
- Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C., Cioni, P. L., Procopio, F. and Blanco, A. R., 2007:** Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, **56**, 519-523.
- Ocak, I., Çelik, A., Özel, M. Z., Korcan, E., Konuk, M., 2012:** Antifungal activity and chemical composition of essential oil of *Origanum hypericifolium*. *International Journal of Food Properties*, **15**, 38-48.
- Ogura, Y., Matsunaga, Y., Nishiyama, T. and Amano, S., 2008:** Plasmin induces degradation and dysfunction of laminin 332 (laminin 5) and impaired

assembly of basement membrane at the dermal–epidermal junction. *British Journal of Dermatology*, **159**, 49-60.

- Okamoto, H., Mizuno, K., Itoh, T., Tanaka, K. and Horio, T.**, 1999: Evaluation of apoptotic cells induced by ultraviolet light B radiation in epidermal sheets stained by the TUNEL technique. *Journal of Investigative Dermatology*, **113**, 802-807.
- Ono S., Imai, T., Shimizu, N. and Nagao, K.**, 2000: Increased expression of laminin 1 in the skin of amyotrophic lateral sclerosis. *European Neurology*, **43**, 215-220.
- Ookusa, Y., Takata, K., Nagashima, M. and Hirano, H.**, 1983: Distribution of glycoconjugates in normal human skin using biotinyl lectins and avidin-horseradish peroxidase. *Histochemistry*, **79**, 1-7.
- Ouhtit, A. and Anathaswamy, H. N.**, 2001: A model for UV-induction of skin cancer. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **1**, 5-6.
- Ozkan, A. and Erdogan, A.**, 2011: A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and its two major phenolic components. *Turkish Journal of Biology*, **35**, 735-742.
- Öktem, S., Özhan, M. H. ve Özol, D.**, 2001: Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, **2**, 91-95.
- Özdamar, Ş. O., Seçkin, D., Yıldız, L., Cantürk, T., Kandemir, B. ve Turanlı, A. Y.**, 1995: Psoriasis’de mast hücrelerinin rolü. *Türk Patoloji Dergisi*, **11**, 39-42.
- Özdemir, Ö. ve Savaşan, S.**, 2005: Gözardı edilmiş bir hücrenin dönüşü: mast hücresi ve hematoloji-onkoloji/immunoloji alanlarında tanımlanan yeni roller. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **48**, 85-92.
- Pain, S., Altobelli, C., Boher, A., Cittadini, L., Favre-Mercuret, M., Gaillard, C., Sohm, B., Vogelgesang, B. and Andre’-Frei, V.**, 2011: Surface rejuvenating effect of *Achillea millefolium* extract. *International Journal of Cosmetic Science*, **33**, 535-542.
- Parat, M. O., Richard, M. J., Pollet, S., Hadjur, C., Favier, A. and Béani, J. C.**, 1997: Zinc and DNA fragmentation in keratinocyte apoptosis: its inhibitory effect. *Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology*, **37**, 101-106.
- Parshad, R., Sanford, K. K., Price, F. M., Steele, V. E., Tarone, R. E., Kelloff, G. J. and Boone, C. W.**, 1998: Protective action of plant polyphenols on radiation-induced chromatid breaks in cultured human cells. *Anticancer Research*, **18**, 3263-3266.

- Patarroyo, M., Tryggvason, K. and Virtanen, I., 2002:** Laminin isoforms in tumor invasion, angiogenesis and metastasis. *Seminars in Cancer Biology*, **12**, 197-207.
- Peşkircioğlu, S. ve Bostancı, S., 1994:** Fotoyaşlanma. *Turkish Journal of Dermatology*, **4**, 196-200.
- Pettersson, A., Nagy, J. A., Brown, L. F., Sundberg, C., Morgan, E., Jungles, S., Carter, R., Krieger, J. E., Manseau, E. J., Harvey, V. S., Eckelhoefer, I. A., Feng, D., Dvorak, A. M., Mulligan, R. C. and Dvorak, H. F., 2000:** Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Laboratory Investigation*, **80**, 99-115.
- Phan, T. T., Allen, J., Hughes, M. A., Cherry, G. and Wojnarowska, F., 2000:** Upregulation of adhesion complex proteins and fibronectin by human keratinocytes treated with an aqueous extract from the leaves of *Chromolaena odorata* (Eupolin). *European Journal of Dermatology*, **10**, 522-527.
- Philips, N., Bynum, D. and Hwang, H., 2010:** Counteraction of skin inflammation and aging or cancer by polyphenols and flavonoids from *Polypodium leucotomos* and Xanthohumol. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, **9**, 142-149.
- Philips, N., Smith, J., Keller, T. and Gonzalez, S., 2003:** Predominant effects of *Polypodium leucotomos* on membrane integrity, lipid peroxidation, and expression of elastin and matrixmetalloproteinase-1 in ultraviolet radiation exposed fibroblasts, andkeratinocytes. *Journal of Dermatological Science*, **32**, 1-9.
- Picardo, M, Zompetta, C., Luca, C., Cirone, M., Faggioni, A., Nazzaro-Porro, M., Passi, S. and Protta, G., 1991:** Role of skin surface lipids in UV-induced epidermal cell changes. *Archives of Dermatological Research*, **283**, 191-197.
- Pinnell, S. R., 2003:** Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **48**, 1-19.
- Prieto, V. G., Mourad-Zeidan, A. A., Melnikova, V., Johnson, M. M., Lopez, A., Diwan, A. H., Lazar, A. J. F., Shen, S. S., Zhang, P. S., Reed, J. A., Gershenwald, J. E., Raz, A. and Bar-Eli, M., 2006:** Galectin-3 expression is associated with tumor progression and pattern of sun exposure in melanoma. *Clinical Cancer Research*, **12**, 6709-6715.
- Psotova, J., Svobodova, A., Kolarova, H. and Walterova. D., 2006:** Photoprotective properties of *Prunella vulgaris* and rosmarinic acid on human keratinocytes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **84**, 167-174.

- Pugliese, P. T.**, 1998: The skin's antioxidant systems. *Dermatology Nursing*, **10**, 401-416.
- Raj, D., Brash, D. E. and Grossman, D.**, 2006: Keratinocyte apoptosis in epidermal development and disease. *Journal of Investigative Dermatology*, **126**, 243-257.
- Rajalingam, K., Renju, G. L., Balakrishnan, S. and Manoharan, S.**, 2008: Effect of *Clerodendron inerme* on erythrocyte membrane integrity during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. *Asian Journal of Scientific Research*, **1**, 246-255.
- Ramachandran, S., Rajendra, N. and Karthikeyan, P. S.**, 2010: Sesamol inhibits UVB-induced ROS generation and subsequent oxidative damage in cultured human skin dermal fibroblasts. *Archives of Dermatological Research*, **302**, 733-744.
- Ranjith, M. S., Ranjitsingh, A. J. A., Gokul Shankar, S., Vijayalakshmi, G. S., Deepa, K., Babu, K. and Sidhu, H. S.**, 2010: *Solanum trilobatum* in the management of atopy: through inhibition of mast cell degranulation and moderation of release of interleukins. *Pharmacognosy Research*, **2**, 10-14.
- Reagan-Shaw, S., Afaq, F., Aziz, M. H. and Ahmad, N.**, 2004: Modulations of critical cell cycle regulatory events during chemoprevention of ultraviolet B-mediated responses by resveratrol in SKH-1 hairless mouse skin. *Oncogene*, **23**, 5151-5160.
- Redondo, P. A. G., Nakamura, C. V., Souza, W. and Morgado-Diaz, J. A.**, 2004: Differential expression of sialic acid and N-acetylgalactosamine residues on the cell surface of intestinal epithelial cells according to normal or metastatic potential. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **52**, 629-640.
- Reefman, E., Limburg, P. C., Kallenberg, C. G. M. and Bijl, M.**, 2006: Do apoptotic cells accumulate in the epidermis of patients with cutaneous lupus erythematosus after ultraviolet irradiation? Comment on the article by Kuhn et al. *Arthritis and Rheumatism*, **54**, 939-950. DOI 10.1002/art.22125.
- Regalado, E. L., Rodríguez, M., Menéndez, R., Concepción, Á. A., Nogueiras, C., Laguna, A., Rodríguez, A. A., Williams, D. E., Lorenzo-Luaces, P., Valdés, O. and Hernandez, Y.**, 2009: Repair of UVB-damaged skin by the antioxidant sulphated flavone glycoside Thalassiolin B isolated from the marine plant *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Journal of Marine Biotechnology*, **11**, 74-80.
- Reynolds, R. J., Kelly, W.**, 1995: Radiation, cell cycle and cancer. *Los Alamos Science*, **23**, 51-89.

- Rhie, G., Shin, M. H., Seo, J. Y., Choi, W. W., Cho, K. H., Kim, K. H., Park, K. C., Eun, H. C. and Chung, J. H.,** 2001: Aging- and photoaging-dependent changes of enzymic and nonenzymic antioxidants in the epidermis and dermis of human skin *in vivo*. *Journal of Investigative Dermatology*, **117**, 1212-1217.
- Ribatti, D. and Crivellato, E.,** 2012: Mast cells, angiogenesis, and tumour growth. *Biochimica Et Biophysica Acta*, **1822**, 2-8.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G.,** 1996: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, **20**, 933-956.
- Rijken, F. and Bruijnzeel, P. L.,** 2009: The pathogenesis of photoaging: the role of neutrophils and neutrophil-derived enzymes. *The Journal of Investigative Dermatology. Symposium Proceedings/The Society For Investigative Dermatology, Inc. [And] European Society For Dermatological Research*, **14**, 67-72.
- Rouabhia, M., Mitchell, D. L., Rhains, M., Claveau, J. and Drouin, R.,** 2002: A physical sunscreen protects engineered human skin against artificial solar ultraviolet radiation-induced tissue and DNA damage. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **1**, 471-477.
- Saegusa, J., Hsu, D. K., Liu, W., Kuwabara, I., Kuwabara, Y., Yu, L. and Liu, F. T.,** 2008: Galectin-3 protects keratinocytes from UVB-induced apoptosis by enhancing AKT activation and suppressing ERK activation. *Journal of Investigative Dermatology*, **128**, 2403-2411.
- Sainte-Marie, G.,** 1962: A paraffin embedding technique for studies employing immunofluorescence. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 250-256.
- Sames, K., Schumacher, U., Halata, Z., van Damme, E. J. M., Peumans, W. J. and Asmus, B.,** 2001: Lectin and proteoglycan histochemistry of Merkel cell carcinomas. *Experimental Dermatology*, **10**, 100-109.
- Sansilvestri-Morel, P., Fioretti, F., Rupin, A., Senni, K., Fabiani, J. N., Godeau, G. and Verbeuren, T. J.,** 2007: Comparison of extracellular matrix in skin and saphenous veins from patients with varicose veins: does the skin reflect venous matrix changes?. *Clinical Science*, **112**, 229-239.
- Santos, M. R. V., Moreira, F. V., Fraga, B. P., De Sousa, D. P., Bonjardim, L. R. and Quintans-Junior, L. J.,** 2011: Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **21**, 764-771.
- Sato, T., Takahashi, A., Kojima, M., Akimoto, N., Yano, M. and Ito, A.,** 2007: A citrus polymethoxy flavonoid, nobiletin inhibits sebum production and sebocyte proliferation, and augments sebum excretion in hamsters. *Journal of Investigative Dermatology*, **127**, 2740-2748.



- Sayeed, Q. K., Danno, K., Horiguchi, Y. and Imamura, S.,** 1993: Lectin staining of the endothelial cell membrane is more sensitive to ultraviolet radiation than the epidermal cell staining in guinea-pig skin. *Journal of Dermatological Science*, **5**, 190-196.
- SCCP (Scientific Committee On Consumer Products),** 2006: Opinion on coumarin (sensitisation only). Adopted by the SCCP during the 8th plenary meeting of 20 June 2006.
- Schauer, R.,** 2004: Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man. *Zoology*, **107**, 49-64.
- Schaumburg-Lever, G., Alroy, J., Ucci, A. and Lever, W. F.,** 1984: Distribution of carbohydrate residues in normal skin. *Archives of Dermatological Research*, **276**, 216-223.
- Schwartz, E., Cruickshank, F. A., Perlish, J. S. and Fleischmajer, R.,** 1989: Alterations in dermal collagen in ultraviolet irradiated hairless mice. *Journal of Investigative Dermatology*, **93**, 142-146.
- Seki, T. and Morohashi, M.,** 1993: Effect of some alkaloids, flavonoids and triterpenoids, contents of Japanese-Chinese traditional herbal medicines, on the lipogenesis of sebaceous glands. *Skin Pharmacology*, **6**, 56-60.
- Seo, J. Y., Lee, S. H., Youn, C. S., Choi, H. R., Rhie, G. E., Cho, K. H., Kim, K. H., Park K. C., Eun, H. C. and Chung, J. H.,** 2001: Ultraviolet radiation increases tropoelastin mRNA expression in the epidermis of human skin *in vivo*. *The Journal of Investigative Dermatology*, **116**, 915-919.
- Seo, M. Y., Chung, S. Y., Choi, W. K., Seo, Y. K., Jung, S. H., Park, J. M., Seo, M. J., Park, J. K., Kim, J. W. and Park, C. S.,** 2009: Anti-aging effect of rice wine in cultured human fibroblasts and keratinocytes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **107**, 266-271.
- Seyrek, K. ve Bildik, A.,** 2001: Lektinler. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1-2**, 96-100.
- Seyrek, K., Çulhacı, N., Kargın Kırıl, F., Bildik, A. ve Saraçoğlu, H. İ.,** 2004: Meme karsinomlarında galektin-3'ün ekspresyonu ve lokalizasyonu. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, **5**, 11-15.
- Sharma, M. R., Werth, B. and Werth, V. P.,** 2011: Animal models of acute photodamage: comparisons of anatomic, cellular and molecular responses in C57BL/6J, SKH1 and Balb/c mice. *Photochemistry and Photobiology*, **87**, 690-698.
- Sheu, H. M., Chao, S. C., Wong, T. W., Yun Lee, J. Y. and Tsai, J. C.,** 1999: Human skin surface lipid film: an ultrastructural study and interaction with corneocytes and intercellular lipid lamellae of the stratum corneum. *British Journal of Dermatology*, **140**, 385-391.

- Sies, H. and Stahl, W.**, 2004: Nutritional protection against skin damage from sunlight. *Annual Review of Nutrition*, **24**, 173-200.
- Slamenova, D., Horvathova, E., Sramkova, M. and Marsalkova, L.**, 2007: DNA-protective effects of two components of essential plant oils carvacrol and thymol on mammalian cells cultured in vitro. *Neoplasma*, **54**, 108-112.
- Smith, K. R. and Thiboutot, D. M.**, 2008: Sebaceous gland lipids: friend or foe? *Journal of Lipid Research*, **49**, 271-281.
- Someya, K., Shimizu, H., Uchiyama, C., Nakajima, I., Hayashi, T., Takada, K., Kuroyanagi, M. and Miyazawa, T.**, 2003: Antioxidant effects of *Caesalpinia paraensis* extract on human skin lipid peroxidation. *Journal of Oleo Science*, **52**, 463-470.
- Somogyi, Z.**, 2000: Radiation response of cell organelles. *Micron*, **31**, 165-181.
- Sonmez, S.**, 1999: Morphological, anatomical and chronological investigations local endemic *Origanum hypericifolium* growing in Denizli Region. *M.Sc. Thesis*, Balikesir University, Institute of Science, Department of Biology Education Balikesir, Turkey.
- Stahl, J., Niedorf, F. and Kietzmann, M.**, 2008: Characterisation of epidermal lipid composition and skin morphology of animal skin ex vivo. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **72**, 310-316.
- Stammati, A., Bonsi, P., Zucco, F., Moezelaar, R., Alakomi, H. L. and von Wright, A.**, 1999: Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food and Chemical Toxicology*, **37**, 813-823.
- Starcher, B., Pierce, R. and Hinek, A.**, 1999: UVB irradiation stimulates deposition of new elastic fibers by modified epithelial cells surrounding the hair follicles and sebaceous glands in mice. *Journal of Investigative Dermatology*, **112**, 450-455.
- Sultana, Y., Kohli, K., Athar, M., Khar, R. K. and Aqil, M.**, 2007: Effect of pre-treatment of almond oil on ultraviolet B-induced cutaneous photoaging in mice. *Journal of Cosmetic Dermatology*, **6**, 14-19.
- Sumiyoshi, M., Hayashi, T. and Kimura, Y.**, 2009: Effects of the nonsugar fraction of brown sugar on chronic ultraviolet B irradiation-induced photoaging in melanin-possessing hairless mice. *Journal of Natural Medicines*, **63**, 130-136.
- Sumiyoshi, M. and Kimura, Y.**, 2009: Effects of a turmeric extract (*Curcuma longa*) on chronic ultraviolet B irradiation-induced skin damage in melanin-possessing hairless mice. *Phytomedicine*, **16**, 1137-1143.
- Suzuki, Y., Inoue, T., Yoshimaru, T. and Ra, C.**, 2008: Galectin-3 but not galectin-1 induces mast cell death by oxidative stress and mitochondrial permeability transition. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1783**, 924-934.

- Svobodová, A., Psotová, J. and Walterová, D.,** 2003: Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomedical Papers*, **147**, 137-145.
- Svobodova', A. and Vostalova, J.,** 2010: Solar radiation induced skin damage: review of protective and preventive options. *International Journal of Radiation Biology*, **86**, 999-1030.
- Takema, Y. and Imokawa, G.,** 1998: The effects of UVA and UVB irradiation on the viscoelastic properties of hairless mouse skin *in vivo*. *Dermatology*, **196**, 397-400.
- Takenaka, Y., Fukumori, T. and Raz, A.,** 2004a: Galectin-3 and metastasis. *Glycoconjugate Journal*, **19**, 543-549.
- Takenaka, Y., Fukumori, T., Yoshii, T., Oka, N., Inohara, H., Kim, H. R. C., Bresalier, R. S. and Raz, A.,** 2004b: Nuclear export of phosphorylated galectin-3 regulates its antiapoptotic activity in response to chemotherapeutic drugs *Molecular and Cellular Biology*, **24**, 4395-4406.
- Tan, A.,** 1992: Plant diversity and plant genetic resources in Turkey. *Journal of Agean Agricultural Research Institute*, **2**, 50-64.
- Tanaka, S., Sato, T., Akimoto, N., Yano, M. and Ito, A.,** 2004: Prevention of UVB induced photoinflammation and photoaging by a polymethoxy flavonoid, nobiletin, in human keratinocytes *in vivo* and *in vitro*. *Biochemical Pharmacology*, **68**, 433-439.
- Tekeli, S.,** 2008: Bazı bitki ekstrelerinin mast hücreleri üzerine etkilerinin *in vivo* araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Terranova, V. P., Liotta, L. A., Russo, R. G. and Martin, G. R.,** 1982: Role of laminin in the attachment and metastasis of murine tumor cells. *Cancer research*, **42**, 2265-2269.
- Trautinger, F.,** 2001: Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*, **26**, 573-577.
- Trommer, H. and Neubert, R. H. H.,** 2005: Screening for new antioxidative compounds for topical administration using skin lipid model systems. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, **8**, 494-506.
- Tsuiji, H., Takasaki, S., Sakamoto, M., Irimura, T. and Hirohashi, S.,** 2003: Aberrant O-glycosylation inhibits stable expression of dysadherin, a carcinoma-associated antigen, and facilitates cell-cell adhesion. *Glycobiology*, **13**, 521-527.
- Tsukahara, K., Moriwaki, S., Fujimura, T. and Takema, Y.,** 2001: Inhibitory effect of an extract of *Sanguisorba officinalis* L. on Ultraviolet-B-induced

photodamage of rat skin. *Biological & Pharmaceuticaical Bulletin*, **24**, 998-1003.

**Ullrich, S. E. and Schmitt, D. A.**, 2000: The role of cytokines in UV-induced systemic immune suppression. *Journal of Dermatological Science*, **23**, 10-12.

**Url-1** <[http://0.tqn.com/d/dermatology/1/0/e/4/Epidermis\\_Full\\_lucid.jpg](http://0.tqn.com/d/dermatology/1/0/e/4/Epidermis_Full_lucid.jpg)> alındığı tarih 12.04.2012.

alındığı tarih 12.04.2012. **Url-3** <<http://medic-aide-memoire.blogspot.com/>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-4** <<http://www.drugs.com/npp/oregano.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-5** <<http://www.flashcardmachine.com/chapter-4-and5theintegumentarysystem.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-6** <<http://www.healthy-oregano-oil.com/AboutOreganoOil.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-7** <[http://www.imperial.edu/~thomas.morrell/cha\\_5\\_tortora\\_integument.htm](http://www.imperial.edu/~thomas.morrell/cha_5_tortora_integument.htm)> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-8** <[http://www.nature.com/ki/journal/v58/n77s/fig\\_tab/4491973f1.html](http://www.nature.com/ki/journal/v58/n77s/fig_tab/4491973f1.html)> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-9** <[http://www.nature.com/ni/journal/v7/n3/fig\\_tab/ni0306-223\\_F1.html](http://www.nature.com/ni/journal/v7/n3/fig_tab/ni0306-223_F1.html)> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-10** <<http://www.premaqua.com/uvsystem.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-11** <<http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/ChemicalSomaticSenses.htm>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-12** <[http://saglik.tr.net/genel\\_saglik\\_solar\\_radyasyon.shtm](http://saglik.tr.net/genel_saglik_solar_radyasyon.shtm)> **Karaduman, A.**, 1999: Solar Radyasyon ve Deri Üzerine Etkileri, alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-13** <<http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/TOLUID.PDF>> Mast Cells-Toluidin Blue. WebPath: Internet Pathology Laboratory: alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-14** <<http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/OILRED.PDF>> OIL RED O - PROPYLENE GLYCOL – FAT WebPath: Internet Pathology Laboratory: alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-15** <<http://www.ciltuzmani.com/anti%20aging.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-16** <<http://www.glycoforum.gr.jp/science/glycogenes/05/05E.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-17** <[www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf](http://www.eolss.net/Sample.../E6-151-03-00.pdf)> **Wink, M.**, Occurence and function of natural products in plants. *Phytochemistry and Pharmacognosy*, alındığı tarih 12.04.2012.

**Url-18** <<http://www.biocompare.com/Articles/ApplicationNote/866/In-Situ-Cell-Death-Detection-Kit.html>> alındığı tarih 12.04.2012.

- Url-19** <[www.dako.com/.../28829\\_2010\\_conn14\\_c...](http://www.dako.com/.../28829_2010_conn14_c...)> **Kiernan, J.**, 2010: Chapter 9: Special Stain and H&E, 75-92, alındığı tarih 12.04.2012.
- Url-20** <<http://www.proprofs.com/flashcards/cardshowall.php?title=mcb-block-3-organelles-cell-membrane>> alındığı tarih 12.04.2012.
- Url-21** <[web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc](http://web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc)> **Şenol, M.**, Derinin yapısı, görevleri ve histopatolojisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, alındığı tarih 12.04.2012.
- Url-22** <[www.istanbul.edu.tr/.../079\\_dis.faktorlerin.deri.uzerindeki.etkileri.ve...](http://www.istanbul.edu.tr/.../079_dis.faktorlerin.deri.uzerindeki.etkileri.ve...)> Güneş Işıklarının Deri Üzerindeki Etkileri Güneş Işıklarına Bağlı Dermatozlar ve Korunma. alındığı tarih 12.04.2012.
- Url-23** <[http://www.radcliffe-oxford.com/books/samplechapter/7750/01\\_bensouillah-241a6c80rdz.pdf](http://www.radcliffe-oxford.com/books/samplechapter/7750/01_bensouillah-241a6c80rdz.pdf)> Alındığı tarih 13.04.2012.
- Url-24** <[http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Apoptosis\\_Overview.html](http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Apoptosis_Overview.html)> alındığı tarih 11.05.2012.
- Url-25** <[www.ini.wa.gov/Safety/.../skin\\_phys.pdf](http://www.ini.wa.gov/Safety/.../skin_phys.pdf)> **Marinao, C.**, 2001: Skin physiology, irritants, dry skin and moisturizers. Alındığı tarih 17.04.2012.
- Url-26**<<http://antranik.org/integumentary-system-part-2>> alındığı tarih 12.04.2012.
- Uyanoglu, M., Canbek, M., Aral, E. and Baser, K. H. C.**, 2008: Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. *Phytomedicine*, **15**, 226-229.
- Vaddi, H. K., Ho, P. C., Chan, Y. W. and Chan, S. Y.**, 2002: Terpenes in ethanol, haloperidol permeation and partition through human skin and stratum corneum changes. *Journal of Controlled Release*, **81**, 121-133.
- Vardı, N., Cengiz, N. ve Otlu, A.**, 2000: Kronik alkol tüketiminin sıçanların ileum mast hücre popülasyonu üzerine etkileri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, **7**, 63-66.
- Varki, A., Cummings, R., Esko, J., Freeze, H., Hart, G. and Marth, J.**, 1999: Essentials of Glycobiology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Varki, A., Cummings, R., Esko, J., Freeze, H., Hart, G. and Marth, J.**, 2009: Essentials of Glycobiology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Vayalil, P. K., Mittal, A., Hara, Y., Elmets, C. A. and Katiyar, S. K.**, 2004: Green tea polyphenols prevent ultraviolet light-induced oxidative damage and matrix metalloproteinases expression in mouse skin. *Journal of Investigative Dermatology*, **122**, 1480-1487.
- Vereecken, P., Debray, C., Petein, M., Awada, A., Lalmand, M. C., Laporte, M., Van Den Heule, B., Verhest, A., Pochet, R. and Heenen, M.**, 2005: Expression of galectin-3 in primary and metastatic melanoma:

- immunohistochemical studies on human lesions and nude mice xenograft tumors. *Archives of Dermatological Research*, **296**, 353-358.
- Walker, j. A. and Quirke, P.**, 2001: Viewing apoptosis through a 'TUNEL'. *The Journal of Pathology*, **195**, 275-276.
- Walls, A., Jones, D., Williams, J., Church, M. and Holgate, S.**, 1990: Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissues using monoclonal antibodies specific to tryptase. *The Journal of Pathology*, **162**, 119-126.
- Wang, P. H.**, 2005: Altered glycosylation in cancer: sialic acids and sialyltransferases. *Journal of Cancer Molecules*, **1**, 73-81.
- Wefers, H., Melnik, B. C., Flür, M., Bluhm, C., Lehmann, P. and Plewig, G.**, 1991: Influence of UV irradiation on the composition of human stratum corneum lipids. *The Journal of Investigative Dermatology*, **96**, 959-962.
- Wei, A. and Shibamoto, T.**, 2007: Antioxidant activities of essential oil mixtures toward skin lipid squalene oxidized by UV irradiation. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, **26**, 227-233.
- Weis, W. I. and Drickamer, K.**, 1996: Structural basis of lectin-carbohydrate recognition. *Annual Review of Biochemistry*, **65**, 441-73.
- Winter, S. D., Vink, A. A., Roza, L. and Pavel, S.**, 2001: Solar-simulated skin adaptation and its effect on subsequent UV-induced epidermal DNA damage. *Journal of Investigative Dermatology*, **117**, 678-682.
- Wirohadidjojo, Y. W., Trisnowati, N. and Budiyo, A.**, 2012: Collagen deposition and cellular viability among UVB irradiated human dermal fibroblasts treated by platelets. *Journal of Clinical Medicine and Research*, **4**, 29-33.
- Wrone-Smith, T., Mitra, R. S., Thompson, C. B., Jasty, R., Castle, V. P. and Nickoloff, B. J.**, 1997: Keratinocytes derived from psoriatic plaques are resistant to apoptosis compared with normal skin. *The American Journal of Pathology*, **151**, 1321-1329.
- Xu, H., Delling, M., Jun, J. C. and Clapham, D. E.**, 2006: Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels. *Nature Neuroscience*, **9**, 628-635.
- Xu, J., Zhou, F., Ji, B. P., Pei, R. S. and Xu, N.**, 2008: The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, **47**, 174-179.
- Yamamoto, K., Furuya, T., Kameoka, Y. and Kawanaka, M.**, 1998a: Changes in serum levels of sialoglycoproteins in mice exposed to UVB radiation. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **21**, 1000-1002.
- Yamamoto, K., Tsuji, T. and Osawa, T.**, 1998b: Analysis of asparagine-linked oligosaccharides by sequential lectin-affinity chromatography. *From*

*Methods in Molecular Biology*, **76**, Glycoanalysis Protocols, Edited by E F Hounsell, Humana Press, Inc, Totowa, NJ.

- Yamazaki, S., Ozawa, N., Hiratsuka, A. and Watabe, T.**, 1999a: Cholesterol 7-hydroperoxides in rat skin as a marker for lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, **58**, 1415-1423.
- Yamazaki, S., Ozawa, N., Hiratsuka, A. and Watabe, T.**, 1999b: Increases in cholesterol 7-hydroperoxides in lipids of human skin by sunlight exposure. *Free Radical Biology & Medicine*, **26**, 1126-1133.
- Yang, R. Y., Hsu, D. K. and Liu, F. T.**, 1996: Expression of galectin-3 modulates T cell growth and apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 6737-6742.
- Yang, R. Y., Rabinovich, G. A. and Liu, F. T.**, 2008: Galectins: structure, function and therapeutic potential. *Cambridge University Press*, **10**, doi:10.1017/S1462399408000719.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H. and Raneva, V. G.**, 1999: Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, **64**, 59-66.
- Yarosh, D., Dong, K. and Smiles, K.**, 2008: UV-induced degradation of collagen I is mediated by soluble factors released from keratinocytes. *Photochemistry and Photobiology*, **84**, 67-68.
- Yin, Q. H., Yan, F. X., Zu, X. Y., Wu, Y. H., Wu, X. P., Liao, M. C., Deng, S. W., Yin, L. L. and Zhuang, Y. Z.**, 2011: Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of carvacrol on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2. *Cytotechnology*, DOI 10.1007/s10616-011-9389-y.
- Yong, L. C.**, 1997: The mast cell: origin, morphology, distribution, and function. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **49**, 409-424.
- Youdim, K. A. and Deans, S. G.**, 2000: Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *British Journal of Nutrition*, **83**, 87-93.
- Young, A. R.**, 1997: Chromophores in human skin. *Physics in Medicine and Biology*, **42**, 789-802.
- Young, A.**, 1987: The sunburn cell. *Photodermatology*, **261**, 1442-1445.
- Young, M. R., Ileva, L. V., Bernardo, M., Riffle, L. A., Jones, Y. L., Kim, Y. S., Colburn, N. H. and Choyke, P. L.**, 2009: Monitoring of tumor promotion and progression in a mouse model of inflammation-induced colon cancer with magnetic resonance colonography. *Neoplasia*, **11**, 237-246.
- Yu, F., Finley, R. L. Jr, Raz, A. and Kim, H. R.**, 2002: Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome C release from the

- mitochondria. A role for synexin in galectin-3 translocation. *The Journal of Biological Chemistry*, **277**, 15819-15827.
- Yurin, V. O., Kim, Y. A. and Muzafarov, E. N.**, 2004: Structural changes in lipid membranes and collagen exposed to UV light and the protective effect of plant extracts. *Biofizika*, **49**, 666-673.
- Zhou, B. R., Jin, S. L., Chen, X. E., Lin, X. F., Cai, B. X., Gao, J. and Luo, D.**, 2008: Protective effect of the baicalin against DNA damage induced by ultraviolet B irradiation to mouse epidermis. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **24**, 175-182.
- Zhuang, L., Wang, B., Shinder, G. A., Shivji, G. M., Mak, T. W. and Sauder, D. N.**, 1999: TNF receptor p55 plays a pivotal role in murine keratinocyte apoptosis induced by Ultraviolet B irradiation. *The Journal of Immunology*, **162**, 1440-1447.
- Zouboulis, C. C. and Boschnakow, A.**, 2001: Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland. *Clinical and Experimental Dermatology*, **26**, 600-607.



## ÖZGEÇMİŞ



**Ad Soyad** : Pınar İLİ  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Erzincan, 1974  
**Adres** : Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü Kınıklı/Denizli.  
**Lisans Üniversitesi** : Dokuz Eylül Üniversitesi  
**Yayın Listesi** :

### 1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

- Keskin, N. and İli, P., 2012: Investigation of particular matters on the leaves of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe in Denizli (Turkey). *Pakistan Journal of Botany*, **44**.
- Keskin, N., İli P. and Sahin B., 2012: Histochemical demonstration of mucosubstances in the mouse gastrointestinal tract treated with *Origanum hypericifolium* O. Schwartz and P.H. Davis extract. *African Journal of Biotechnology*, **11**, 2436-2444.
- Mammadov, R., İli, P., Ertem Vaizoğulları, H. and Afacan Makascı, A., 2011: Antioxidant activity and total phenolic content of *Gagea fibrosa* and *Romulea ramiflora*. *Iranian Journal of Chemistry & Chemical Engineering (IJCCE), in English*, **30**, 57-62.
- Keskin, N. and İli, P., 2011: Glycohistochemical study on the Denizli Cock testis. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **10**, 1327-1331.
- İli, P., Kaska, Y., Ozel, M. Z., Genc, O., Turgut, S. and Turgut, G., 2007: Chemical composition of the *Origanum onites* L. and *Thymbra spicata* L. and their cardio respiratory effects in rabbits. *Fresenius Environmental Bulletin*, **16**, 1401-1406.

### 2. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

- İli, P., Keskin, N. and Celik, A., 2011: Histochemical analysis of the collagen and elastic fibers in UVB-irradiated and *Origanum hypericifolium* essential oil applied skin of mice. *ISSMET2011, 1<sup>st</sup> International Symposium on Secondary Metabolites, Chemical and Biotechnological Properties*, 12-15 September, Denizli, Turkey. Abstract Book, pp. 171.

- Keskin, N., İli, P., Celik, A. and Solgun, S. H., 2011: Effects of *Nepeta cadmea* Boiss. essential oil/olive oil mixture and *Nepeta cadmea* Boiss. extract on UVB-irradiated skin of mice: a lectin histochemical study. *ISSMET2011, 1<sup>st</sup> International Symposium on Secondary Metabolites, Chemical and Biotechnological Properties*, 12-15 September, Denizli, Turkey. Abstract Book, pp. 170.
- İli, P., Keskin, N. and Celik, A., 2011: Immunohistochemical study of laminin in UVB irradiated and *Origanum hypericifolium* oil applied skin of mice. *36th FEBS Congress, Biochemistry for Tomorrows Medicine*, Jun 25-30, Torino, Italy, *The FEBS Journal*, Vol. **278**, Sup. **1**, pp. 210-211.
- İli, P., Keskin, N., Celik, A. and Sahin, B., 2010: A lectin histochemical study of the skin treated with *Origanum hypericifolium* essential oil in mice. *35<sup>th</sup> FEBS Congress, Molecules of Life*, June 26-July 1, Gothenburg, Sweden, *The FEBS Journal*, Vol. **277**, Sup. **1**, pp.202.
- Kaska, Y., İli, P., Baskale, E., Kaska, A. and Sari, F., 2010: Spatial and temporal variation in sex ratio estimations: a case of Dalaman-Sarigerme Beach, Mugla-Turkey . *30th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, 24-30 April, Goa, India.
- Keskin, N. and İli, P., 2009: Investigation of particles on the leaves of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe in some regions of Denizli, Turkey. *ULE 2009, International Workshop on Urbanisation, Land Use, Land Degradation and Environment*, 28 September-01 October, Pamukkale, Denizli, Turkey. Book of Abstract pp:68.
- Kaska, Y., İli, P., Sari, F. and Sirin, A., 2008: Sex ratios of Loggerhead Turtle Hatchlings on Dalaman Beach, Turkey: Analyses of 6 years data. *Third Mediterranean Conference on Marine Turtles*, 20-23 October, Yasmine Hammamet, Tunisia.
- Kaska, Y., İli, P., Kaska, A., Aureggi, M., Gidis, M., Urhan, R., Baskale, E. and Katilmis, Y., 2006: Nest temperatures and sex ratio variations among the hatchlings and embryos of Loggerhead Turtles along the Mediterranean Coast of Turkey. *Proceedings of the Twenty-sixth Annual Sea Turtle Biology and Conservation*, Crete, Greece, Proceedings Book, pp.299.

### 3. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

- Keskin, N., Mammadov, R. ve İli, P., 2012: *Crataegus aronia* var. *dentata* Browicz ekstraktının dalak üzerindeki etkilerinin araştırılması: Histokimyasal çalışma. *Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **5**, 28-30.
- Keskin, N. ve İli, P., 2011: Denizli horozu genital sistemi üzerinde histokimyasal araştırmalar. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **6**, 231-237.
- Mammadov, R. ve İli, P., 2009: Muğla ilinde yayılış gösteren bazı *Muscari* Mill. türleri üzerinde toprak-bitki ilişkilerinin araştırılması. *Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **14**, 131-137.

▪ Mammadov, R. ve İli, P., 2008: Muğla İli Çevresinin *Gagea Salisb* Türleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **8**, 247-258.

#### 4. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

▪ İli, P. ve Keskin, N., 2012: Ultraviyole B uygulanmış fare deri lipitleri üzerine *Origanum hypericifolium* (Lamiaceae) esansiyel yağının etkilerinin araştırılması: histokimyasal çalışma. 21. *Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, 3-7 Eylül, İzmir.

▪ İli, P. ve Keskin, N., 2012: *Origanum hypericifolium* esansiyel yağının UVB uygulanmış fare derisinde DNA fragmentasyonu üzerine etkilerinin TUNEL yöntemiyle araştırılması. XI. *Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi*, 16-19 Mayıs, Denizli, *Cell&Tissue Biology Research*, pp: 232-233.

▪ Keskin, N., İli, P. ve Özdemir, F., 2010: Denizli Horozu trakesinde histomorfolojik ve histokimyasal araştırmalar. 20. *Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, 21-25 Haziran, Denizli, Bildiriler kitabı, sf. 759.

▪ Keskin, N., İli, P. ve Boztaş, S., 2010: Denizli Horozu testisinde histomorfolojik ve histokimyasal araştırmalar. 20. *Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, 21-25 Haziran, Denizli, Bildiriler kitabı, sf. 758-759.

▪ Keskin, N., İli, P., Salgın, S.H., Çelik, A. ve Şahin, B., 2010: *Nepeta cadmea* Boiss. esansiyel yağının uygulandığı deride histokimyasal araştırmalar. X. *Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, Çeşme, İzmir, Bildiriler Kitabı, sf. 141.

▪ Keskin, N., İli, P., Salgın, S.H., Elmas, E., Tevruz, F., Metin, H. ve Şahin, B., 2009: *Origanum hypericifolium*'um mide, ince ve kalın barsak mukus maddesi üzerindeki etkilerinin histokimyasal araştırılması. XI. *Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, Bodrum, Bildiriler Kitabı, sf. 89.

▪ Kaska, Y., İli, P., Kırac, A., Akın, S., Sari, F., Fak, Ç., Teksoy, Ö., Kesim, A. ve Madak, E., 2008: Dalaman-Sarıgerme kumsallarında deniz kaplumbağa yavru cinsiyet oranlarının, zamansal ve mekansal açıdan farklılıklarının araştırılması. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, Trabzon, Bildiriler Kitabı, sf. 212.

▪ Akdemir, D., Kabasakal, A., Mammadov, R. ve İli, P., 2008: *Lilium candidum* L. türünün ekstraksiyonları üzerinde bazı antioksidan çalışmalar. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, Trabzon, Bildiriler Kitabı, sf. 355.

▪ Mammadov, R., Mammadov, T. ve İli, P., 2008: Muğla İlinin *Muscari* Mill. türleri. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, Trabzon, Bildiriler Kitabı, sf. 389.

▪ İli, P., Salgın, S.H., Keskin, N. ve Kaska, Y., 2008: *Caretta caretta* (İribaş Kaplumbağa) ve *Chelonia mydas* (Yeşil Kaplumbağa) türlerinin gonad histolojileri. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, Trabzon, Bildiriler Kitabı, sf. 571-572.

▪ İli, P., Kaska, A., Akyer, H., Keskin, N. ve Kaska, Y., 2007: Deniz kaplumbağa yavru cinsiyetlerini doğrudan ve dolaylı olarak araştırma yöntemleri. II. *Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu*, Dalyan/Muğla, Bildiriler Kitabı, sf. 133-138.

- Kaska, Y., Kırac, A., Kaska, A. ve **İli, P.**, 2007: Dalaman ve Sarıgerme (Muğla) kumsallarına yuva yapan deniz kaplumbağalarının yavru ve cinsiyet oranlarının ve yuva dağılımının araştırılması. *II. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu*, Dalyan/Muğla, Bildiriler Kitabı, sf. 71-80.
- Mammadov, R., Makascı, A., Isık, H. İ. ve **İli, P.** (2007). *Gagea fibrosa* (desf) Schultes fil. türünün antioksidan etkilerinin incelenmesi. *21. Ulusal Kimya Kongresi*, 23-27 Ağustos, Malatya.
- Afacan (Makascı), A., Mammadov, R., Isık, H. İ. ve **İli, P.**, 2007: *Romulea ramiflora* Ten Subsp. Ramiflora türünün antioksidan etki açısından incelenmesi. *21. Ulusal Kimya Kongresi*, 23-27 Ağustos, Malatya.
- Kaska, Y., Urhan, R., **İli, P.**, Kaska, A., Başkale, E. ve Katılmış, Y., 2006: Muğla-Dalaman Kumsalındaki deniz kaplumbağalarının durumu ve cinsiyet oranlarının araştırılması. *18. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 26-30 Haziran, Kuşadası-Aydın.

### 5. Diğer yayınlar

- Kara, Y., **İli, P.** ve Arslan, İ., 2007: Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Kılavuzu. Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli.
- Şen, A., Kırıkbakan, A., Zeytinlülüoğlu, A. ve **İli, P.**, 2006: Genel Biyoloji Laboratuvar Kılavuzu II. Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli.
- Kaska, A. ve **İli, P.**, 2005: Histoloji Laboratuvar Kılavuzu. Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli.
- Kaska, A. ve **İli, P.**, 2004: Sitoloji Laboratuvar Notları. Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli.

### 6. Projeler

- Keskin, N. ve **İli, P.** (Kasım 2009/-). *Origanum hypericifolium*'un Deri'de UV Radyasyonu Hasarları Üzerindeki Sitolojik ve Histokimyasal Etkilerinin Araştırılması. Proje No: 2009FBE021, Araştırmacı.
- Keskin, N., Çelik, A., Şahin, B., **İli, P.** ve Salgın, S. H. (Haziran 2008/2010). *Nepeta cadmea* Boiss'in UV ile Oluşan Deri Hasarları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. Proje No: 2008FBE009, Araştırmacı.
- Keskin, N., Kaska, A. ve **İli, P.** (2008/-). Denizli Horozu Sirinks ve Akciğer Dokularının İnce Yapı Düzeyinde Araştırılması. Proje No: 2006 FEF 015, Araştırmacı.

### 7. Katıldığı Kurslar

- Oksidatif DNA Hasarı, DNA Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi (Teorik ve Uygulamalı Kurs) (2012). Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Optimization Techniques for Western Blot, Immunoprecipitation, and Immunohistochemistry konulu seminer (2012). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar.

- Elektroforez Teknikleri ve Uygulamaları Çalıştayı (2009). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar.
- Fizyolojide Moleküler Teknikler Kursu (2006). Uluslararası Katılımlı "Türk Fizyolojik Bilimler Derneği XXXII. Ulusal Kongresi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.

#### **8. Toplantı Organizasyonu**

- XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 16-19 Mayıs, 2012, Denizli.
- ISSMET2011, 1<sup>st</sup> International Symposium on Secondary Metabolites, Chemical and Biotechnological Properties, 12-15 September, 2011, Denizli, Turkey.
- 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran, 2010, Denizli.
- ULE 2009, International Workshop on Urbanisation, Land Use, Land Degradation and Environment, 28 September-01-October, 2009, Pamukkale, Denizli, Turkey.

#### **9. Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler**

- Histoloji ve Embriyoloji Derneği
- Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği
- Türk Biyokimya Derneği
- Hücre Ölümü Araştırma Derneği