

## AKTİNİK KERATOZ VE BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM TANISI KONMUŞ OLGULARDA PLAZMA NİTRİT/NİTRAT (NOX) DÜZEYLERİ

Dilek Kocabalkan SELÇUKİ\*, Pervin VURAL\*\*, Dilek ERZENGİN\*,  
Mukaddes CANBAZ\*\*

### ÖZET

Nitrik oksid (NO) birçok hücre ve dokuda sitotoksik ve sitostatik etki gösteren inorganik bir moleküldür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda NO'din karaciğer, akciğer ve prostat kanserlerin gelişmesinde rol aldığı gösterilmiştir. Aktinik keratoz (AK) ve bazal hücreli karsinom (BCC), keratinizasyon artışı ve keratinosit proliferasyonu ile karakterize, ve etyopatolojilerinde ultraviyole (UV) ışınlarının önemli yer aldığı yaygın dermatolojik problemlerdir. NO'din purin ve pirimidin bazların deaminasyonu ile DNA hasarına, apoptoz ve karsinogeneze yol açtığı bilinmektedir. Çalışmaya 13 AK, 12 BCC ve 10 miks olmak üzere toplam 35 hasta dahil edildi. Kontrol grubu 16 sağlıklı kişiden oluşturuldu. NO'din stabil metabolizma ürünleri olan plazma nitrit/nitrat düzeyleri Griess reaksiyonu ile tayin edildi. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ANOVA testi ile gerçekleştirildi. BCC ve miks gruplarının kontrollere kıyasla, ayrıca miks vakalarının AK'a kıyasla plazma NO düzeyleri istatistiki yönden anlamlı bir artış gösterdiği saptandı ( $p < 0.05$ ). Sonuç olarak artmış olan plazma NO düzeylerinin deri kanserlerinde biyokimyasal olarak önemli bir bulgu olacağı kanısındayız.

**Anahtar kelimeler:** Aktinik keratoz (AK), bazal hücreli karsinom (BCC), nitrik oksid (NO)

### SUMMARY

*Plasma nitric oxide levels in skin cancers.* Nitric oxide (NO) is an inorganic molecule with cytotoxic and cytostatic effects on many cell types and tissues. Recent studies have postulated that NO plays an important role in the developing of hepatocellular, lung and prostatic carcinoma. Actinic keratosis (AK) and basal cell carcinoma (BCC) are common dermatologic problems with accentuated hyperkeratinization and keratinocyte proliferation, in which etiopathogenesis ultraviolet (UV) light is very important. It is known that NO can directly damage DNA by deamination of purine and pyrimidine bases, which trigger apoptosis and carcinogenesis. A total number of 35 patients with AK (13), BCC (12) and 10 mix skin cancer were included into the study. Control group consisted of 16 healthy subjects. Plasma nitrite/nitrate (the stabile end products of NO metabolism) were measured by Griess reaction. Statistical evaluation of the data was performed by the ANOVA test. Plasma NO levels of BCC and mix groups according to controls, and of mix group according to AK were significantly elevated ( $p < 0.05$ ). As a conclusion we can suggest that elevation of plasma NO levels will be an important biochemical parameter for skin cancer.

**Key words:** Actinic keratosis (AK), basal cell carcinoma (BCC), nitric oxide (NO)

### GİRİŞ

Aktinik keratoz ve bazal hücreli karsinom, artmış epidermal pigmentasyon, hiperkeratinizasyon, ve keratinosit proliferasyonu ile karakterize, ve etyopatolojilerinde UV ışınlarının yer aldığı yaygın dermatolojik problemlerdir. Bilindiği gibi UV ışınların

deri üzerindeki akut etkileri eritem ve pigmentasyon, kronik etkileri ise karsinogeneze ve yaşlanma ile ilgilidir. UV ışınları ile meydana gelen deri destruksiyonu artmış oksijen radikal üretimi, artmış membran doymamış yağ asidi fotoperoksidasyonu ve belkide artmış prostaglandin üretimi ile meydana geldi-



ği düşünülmektedir. Nitekim, çalışma grubumuz tarafından yapılmış olan ve 1. Uluslararası Dermatopatoloji Kongresinde (Ankara) tebliğ edilen araştırmamızda, AK ve BCC'da prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) düzeylerinin arttığı, prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) düzeylerinin ise azaldığı saptandı<sup>(1)</sup>. Söz konusu fotoperoksidasyon sonucu meydana gelen reaktif oksijen radikaller, reaktif peroksinitrit anyonu oluşturmak üzere, keratinositlerde sentez edilen, ve serbest radikal özellikleri olan nitrik oksid ile reaksiyona girerek, tümör inisiyasyon ve proliferasyonuna neden olmaktadır<sup>(2)</sup>. Son yıllarda yapılan çalışmalarda nitrik oksidin karaciger, akciğer, ve prostat kanserlerinin gelişmesinde rol aldığı gösterilmiştir<sup>(3)</sup>. Ayrıca nitrik oksidin pürin ve pirimidin bazlarının deaminasyonu yolu ile DNA hasarına ve mutasyonlara yol açtığı bildirilmiştir<sup>(4)</sup>. Nitrik oksidin DNA üzerindeki mutajenik etkilerinden dolayı bu reaktif inorganik molekülün AK ve BCC etyopatogenezinde önemli olabileceğinden yola çıkarak bu çalışmayı gerçekleştirdik.

## MATERYAL ve METOD

Çalışma gruplarımız (AK, BCC ve miks) İstanbul Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalına başvuran ve gerek klinik gerekse histopatolojik incelemeler sonucu kesin aktinik keratoz (AK, n= 13), bazal hücreli karsinom (BCC, n= 12) tanısı konmuş ve 10 miks (hem AK, hemde BCC olan) hastalardan oluşturulmuştur. Kontrol grubu herhangi bir sistemik ve deri hastalığı olmayan, yaşları 49-79 (ortalama 63) arası değişen 10 kadın ve 6 erkek olmak üzere 16 sağlıklı kişiden meydana gelmektedir. AK hastalarının (3 kadın, 10 erkek) ortalama yaşı 64 (47-80 aralığında), BCC hastalarının (7 kadın, 5 erkek) ortalama yaşı 61 (43-73 aralığında), miks hastalarının ise (4 kadın, 6 erkek) ortalama 62 (41-70 aralığında) değişmekte idi. Hipertansiyon, ateroskleroz, endokrinolojik veya kalb rahatsızlığı olan ve sigara kulla-

nan kişiler çalışmaya dahil edilmedi. Venöz kan örnekleri bir gece açlık sonrası sabah saat 10.00 da EDTA'lı tüplere alındı, hemen 1000 g de 10 dak santrifüj edilip, plazmalar ayrıldı, ve -80°C de depolandı. Bir serbest radikal olan nitrik oksid, oksijenli ortamda stabil değildir, ve spontan olarak moleküler oksijenle reaksiyona girerek, çeşitli nitrojen ürünlerine dönüşmektedir<sup>(5)</sup>. Bu oluşan ürünlerden en stabil olanları NO<sub>2</sub>- (nitrit) ve NO<sub>3</sub>- (nitrat) olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden AK ve BCC'lu hastalarda in vivo NO radikali yapımını belirtmek için plazma NO düzeylerinin bu iki göstergesi ölçülmüştür. Plazma nitrit ve nitrat düzeylerini ölçmek için Grisham'ın metodu kullanıldı<sup>(5)</sup>. NO<sub>3</sub>-, Aspergillus nitrat redüktaz enzimi yardımı ile NO<sub>2</sub>'e indirgendi ve bunu takiben NO<sub>2</sub>- tayini Griess reaksiyonu ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar one way ANOVA testi ile değerlendirildi. 0.05'den küçük olan p değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Tablo 1'den de görüldüğü gibi AK ve kontrol grubu plazma nitrit/nitrat düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Fakat BCC hastalarında plazma nitrit/nitrat düzeylerini kontrol olgularına kıyasla anlamlı olarak (p<0.05) artmış olduğu bulunmuştur. Miks vakaların nitrit/nitrat düzeyleri ise büyük bir artışla hem kontrollere (p<0.05), hem de AK hastalarına (p<0.05) kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. BCC ve miks vakaları arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır.

## TARTIŞMA

Aktinik keratoz ve bazal hücreli karsinom patojenezlerinde UV ışınlarının önemli yer aldığı sık görülen dermatozlardır. Bilindiği gibi UV ışınlarının deri üzerindeki akut etki-



**Tablo 1.** AK, BCC, miks hastalarında ve kontrol grubu olgularında plazma nitrit/nitrat (NOx) ( $\mu\text{mol/L}$ ) düzeyleri (ortalama  $\pm$  SD)

	PLAZMA NİTRİT/NİTRAT (NOX) DÜZEYLERİ
Kontrol (n=16)	50.76 $\pm$ 14.37
AK (n=13)	75.57 $\pm$ 24.53, AD <sup>d</sup>
BCC (n=12)	89.39 $\pm$ 47.23 <sup>a</sup> , AD <sup>e</sup>
Miks (n=10)	116.9 $\pm$ 47.08 <sup>b,c</sup>

0.05 den küçük olan p değerleri anlamlı olarak kabul edildi. AD - anlamlı değil

- a) BCC kontrollere kıyasla  
 b) Miks kontrollere kıyasla  
 c) Miks AK'a kıyasla  
 d) AK kontrollere kıyasla  
 e) BCC miks'e kıyasla

leri eritem ve pigmentasyon, kronik etkileri ise karsinogenez ve yaşlanma ile ilgilidir. UV ışınları ile meydana gelen deri destrüksiyonu, artmış oksijen radikal üretimi ve artmış membran doymamış yağ asidi fotoperoksidasyonu sonucu meydana geldiği düşünülmektedir. Söz konusu fotoperoksidasyon sonucu meydana gelen reaktif oksijen radikaller, reaktif peroksinitrit anyonu oluşturmak üzere, keratinositlerde sentez edilen nitrik oksid ile reaksiyona girerek, tümör inisiyasyon ve proliferasyonuna neden olmaktadır (2). UV ışınlarına uzun süre (kronik UV deri hasarı) maruz kalınması, UVB ışınlarının DNA tarafından absorbe edilmesine ve böylece DNA hasarına ve mutasyonlara yol açmaktadır. Nitrik oksidin de purin ve pirimidin bazlarının deaminasyonu ile DNA hasarına ve mutasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (4). Bununla birlikte, nitrik oksidin keratinositleri hiperproliferasiyona uğrattığı söylenmektedir (5). Bizim sonuçlarımızın da incelenmesinden anlaşılacağı gibi, BCC ve miks (AK + BCC) vakaların plazma nitrit/nitrat düzeyleri hem kontrollere ve hemde AK hastalarına göre daha yüksektir. Bu iki

çalışma grubu hastaların deri keratinositlerindeki nitrik oksid sentezinin hızlandırıldığını ve böylece plazmadaki nitrit/nitrat düzeyinin daha yüksek olmasına yol açtığını akla getirmektedir. Diğer yandan UV ışınlarının etkisi ile keratinositlerde interlökin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), tümör nekrosis faktör  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) gibi sitokinlerin sentezi artmaktadır. Bu sitokinler de keratinositlerde mitojenik ve hiperproliferatif etkilere sahip olan endotelin üretimini arttırmaktadır (6). Endotelin bir yandan keratinositlerin hiperproliferasiyonuna neden olurken, diğer yandan belki de ETB reseptörlerinin aracılığıyla artmış olan nitrik oksidin sentezini daha da arttırmaktadır (7).

Sonuç olarak NO'din metabolitleri olan plazma NOx konsantrasyonlarındaki artışın deri kanserlerinde biyokimyasal yönden önemli bir bulgu olacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. Selçuki D, Çetiner B, Vural P, Canbaz M, Köse AA: Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) and prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  (PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ) levels in actinic keratosis and skin cancer. Dermatopatoloji Dergisi 4: 3 (1995).
2. Deliconstantinos G, Vassiliki V, Stravides JC: Alteration of nitric oxide synthase and xantine oxidase activities in human keratinocytes by ultraviolet B radiation. Potential role of peroxynitrite in skin inflammation. Biochem Pharmacol 1996; 28: 1727 (1996).
3. Jenkins DC, Charles IG, Thomsen LL, Moss DW, Holmes LS, Baylis SA, Rhodes D, Westmore K, Emson PC, Moncada S: Roles of nitric oxide in tumor growth. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 4392 (1995).
4. Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR: DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 3030 (1992).
5. Grisham MB, Johnson GG, Gautreaux MD, Berg RD: Measurement of nitrate and nitrite in extracellular fluids: a window to systemic nitric oxide metabolism. Methods: A companion to methods in enzymology 7: 84 (1995).
6. Krischel V, Bruch-Gerharz D, Suschek C, Kröncke KD, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V: Biphasic effect of exogenous nitric oxide on proliferation and differentiation in skin-derived keratinocytes but not fibroblasts. J Invest Dermatol 111: 286 (1998).
7. Tsuboi R, Sato C, Shi C: Endothelin-1 acts as an autocrine growth factor for normal keratinocytes. J Cell Physiol 159: 213 (1994).