

Yeşil çay ve deri

Dr. Stephen Hsu,
Augusta, Georgia

Bitki ekstraları yara iyileşmesinde, yaşlanmayı önlemede ve hastalıkların tedavisinde topikal olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Bunlar arasında ginkgo biloba, ekinasea, ginseng, üzüm çekirdeği, yeşil çay, limon, lavanta, biberiye, thuja, saparna, soya, hint inciri, adaçayı, jojoba, aloe vera, allantoin, feverwort, bloodroot, apache plume ve papaya bulunur. Bu bitkilerin ortak bir özelliği vardır: hepsi fenolik yapıda olan flavonoid bileşikler üretir. Bu fitokimyasallar reaktif oksijen türleri ve biyolojik makromoleküller gibi diğer bileşiklerle yüksek etkileşime sahiptirler, bu sayede serbest radikalleri nötralize eder veya biyolojik etkileri başlatırlar. İnsan sağlığı üzerinde faydalı etkileri olan fenolik fitokimyasallar arasında yeşil çayda bulunan ve kateşinler denilen polifenol bileşikler grubu bulunur. Bu makalede yeşil çay polifenollerinin kanser önleyici, iyileştirici ve insan derisinde yaşlanmayı geciktirici olarak kullanımını araştıran çalışmaların bulgularını özetlemekte ve muhtemel etki mekanizmalarını ele almaktadır (J Am Acad Dermatol 2005;52:1049-59).

Plant extracts have been widely used as topical applications for wound-healing, anti-aging, and disease treatments. Examples of these include ginkgo biloba, echinacea, ginseng, grape seed, green tea, lemon, lavender, rosemary, thuja, sarsaparilla, soy, prickly pear, sagebrush, jojoba, aloe vera, allantoin, feverwort, bloodroot, apache plume, and papaya. These plants share a common character: they all produce flavonoid compounds with phenolic structures. These phytochemicals are highly reactive with other compounds, such as reactive oxygen species and biologic macromolecules, to neutralize free radicals or initiate biological effects. A short list of phenolic phytochemicals with promising properties to benefit human health includes a group of polyphenol compounds, called catechins, found in green tea. This article summarizes the findings of studies using green tea polyphenols as chemopreventive, natural healing, and anti-aging agents for human skin, and discusses possible mechanisms of action. (J Am Acad Dermatol 2005;52:1049-59.)

JAAD TÜRKÇE BASKI • Cilt 2 Sayı 3 2005

JAAD TURKISH EDITION • Volume 2 No 3 2005

Amerikan Sağlık ve İnsan Servisi ile Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) tarafından yürütülen beş yıllık deri kanseri önleme ve eğitimi kampanyası Mayıs 2003'te sona erdi. Bu süreç boyunca Amerika'da deri kanseri insidansı yılda 1 milyon olguya ulaştı ve deri kanseri Amerika'da en sık görülen kanser tipi haline geldi.¹ Ne yazık ki en önüne geçilebilir faktör olan ultraviyole (UV) ışın maruziyeti popülasyonda görülen deri kanseri sayısını artırmaya devam etmektedir. Deri kanseri insidansındaki hızlı artış nedeniyle geçtiğimiz 2 dekat içerisinde deriyi güneş ışınlarından (ör, UVA, UVB) korumak için toksik olmayan ve etkili ajanlara yönelik araştırmalara hız verilmiştir. Deriyi bitkisel kaynaklı bileşikler kullanarak daha aktif bir şekilde korumayı amaçlayan bilim adamları ilk aday olarak yeşil çayın polifenolik fraksiyonunu tanımlamışlardır.²⁻⁴ Sudan sonra en popüler içecek olan çayın topikal

uygulandığı zaman deriye faydalı olduğu bulunmuştur. Yeşil çayın deri üzerindeki etkilerini değerlendiren in vivo ve in vitro çalışmalarla ilgili 150'den fazla yayın bulunmaktadır (PubMed arama; anahtar kelimeler "yeşil çay" ve "deri"). Bu çalışmalar başlangıçta sıçanlarda kimyasal karsinogenez veya fotokarsinogenezin önlenmesi üzerinde odaklanmakta idi. Yeşil çay ekstralarının veya özellikle (-)epigallocateşin (EGC)-3-gallat (EGCG) olmak üzere bir yeşil çay polifenolünün (GTTP) kimyasal karsinogenezde iki basamağı (ör; 7,12-dimethylbenz(a)anthracene [DMBA] ve 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate [TPA] ile indüklenen) ve fotokarsinogenez (UVB ile indüklenen) inhibe ettiği bulunmuştur.⁵ Sıçan modellerinde yapılan çalışmalar derinin yanında akciğer, mide, meme, oral kavite, oesofagus, pankreas, prostat, duodenum ve kolon gibi diğer organlarda da karsinogenezin GTTP tarafından inhibe edildiğini göstermiştir.⁶⁻⁸ GTTP'lerin moleküler hedefleri arasında mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz (MPAK) sinyal yolağının elemanları olan Ras ve aktivatör protein (AP)-1 bulunur.⁹ Geçenlerde GTTP'lerin antiinflamatuar, yaşlanmayı geciktirici ve yara iyileştirici özellikleri de keşfedilmiştir.¹⁰⁻¹² Temel bilim laboratuvarlarından elde edilen kanıtlar GTTP'lerin yalnızca epidermiste antioksidan olarak görev yapan bir grup reaktif oksijen türleri (ROT) yakalayıcısı olmadığı farklı gen gruplarının ve sinyal yollarının modülatörleri olarak da görev yapmaktadırlar. Bu derlemede yeşil çay ile derinin korun-

From the Department of Oral Biology and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Medical College of Georgia.
Çelişkili veri: Bulunmadı.
Yeniden basım talepleri: Stephen Hsu, PhD, AD1443 School of Dentistry, Medical College of Georgia, Augusta, GA 30912-1126. E-mail: shsu@mail.mcg.edu.
0190-9622

© 2005 by the American Academy of Dermatology, Inc.

Çeviren: Dr. Emek Özgür Kocaturk

ması ve geliştirilmesi araştırmalarındaki ilerlemeler incelenmekte, GTTP'ler tarafından düzenlenen çeşitli faktörler ve sinyal iletiminde yer alan muhtemel mekanizmalar ele alınmakta ve bu alanda ileri hedeflere bakış atılmaktadır. Ancak epidemiyolojik çalışmalar ve insan çalışmaları, hayvan çalışmalarında insanlardaki yeşil çay tüketimini yansıtmak için kullanılan şartlar açısından olabilecek farklılıklar ve insanlar ile sıçanlar arasında biyoyararlanım farklılıkları gibi çeşitli faktörler nedeniyle kesin sonuçlar üretememiştir.^{8,13}

YEŞİL ÇAY VE GTTP'LER

Çay bitkisi (*Camellia sinensis*) Asya'da binlerce yıldır yetiştirilmektedir. Günümüzde, dünya popülasyonunun üçte ikisinden fazlası bu popüler içeceği tüketmektedir. Ancak, dünyada tüketilen çayın büyük kısmı (%78) siyah çayken, yeşil çay tüketimi yalnızca %20'lik bir kısmını oluşturur.¹⁴ Çin dünyadaki ikinci büyük çay üreticisi ancak yeşil çayın en büyük üreticisi ve tüketicisidir. Yeşil çay üretiminin nadide özelliği, çay yapraklarının işlenmesinde herhangi bir fermentasyon işleminin olmamasıdır. Toplanan taze çay yaprakları herhangi bir katkı maddesi olmaksızın bir tepside veya buharda kısa bir süre ısıtılır. Bu kısa süreli ısıtma polifenol oksidazı inaktive eder ve böylece polifenollerin antioksidan etkinlikleri korunur. Yeşil çay yapraklarında bulunan 4 temel polifenolik kateşin (2)-epicatechin (EC), EGC, (2)-EC-3-gallate ve en fazla miktarda olan EGCG'dir.^{7,8,11} Çay yapraklarında bulunan toplam polifenol içeriği bitkinin alt türüne ve coğrafik konuma bağlı olarak yaklaşık %20-40 civarındadır. Polifenoller yeşil çay yapraklarından metanol ve etanol gibi organik çözücüler tarafından kolayca çıkarılır.

Buna karşın, siyah çayın üretimi soldurma ve fermentasyon (oksidasyon) gibi çok sayıda basamağı içerir. Bu basamaklar polifenolik kateşinlerin enzimatik oksidasyonunu sağlar. Oksidasyon bu polifenoller, siyah çayı Batı'daki tüketiciler için çekici hale getiren tat ve aromayı sağlayan teaflavinlere ve tearubiginlere dönüştürür. Çin'de çay tüketimi (daha çok yeşil çay) 330 g/kişi/yıl yani günde kişi başına bir fincandır (Çin Kültür Bakanlığı, 5 Haziran 2004). İstatistiksel olarak, Çin ve Japonya'da yeşil çay tüketen popülasyonlarda bazı kanserlerin insidansı, yeşil çay içmeyen popülasyonla karşılaştırıldığında çok daha düşüktür. Amerika ve Çin karşılaştırıldığında çarpıcı gerçekler ortaya çıkar: Çinli erkeklerde mesane, prostat, kolon ve oral kanserlerin insidansı daha düşüktür. Aslında, Çin popülasyonu 350 milyon sigara içiciyle tüm dünyada içilen sigaranın dörtte birinden fazlasını tüketerek birinci sırada yer almasına rağmen (Çin Kültür Bakanlığı, 2 Aralık 2004), sindirim sistemi ve üriner sistem kanserlerinin insidansı halen belirgin ölçüde düşüktür. Benzer düşüklükte bir oran diğer bir yeşil çay içen ve ağır sigara tüketen popülasyon olan Japonya'da bulunmuştur.^{15,16} Bu gerçekler, yeşil çay tüketiminin insanlarda epitelyal yüzeyi karsinogenezden koruduğunu düşündürmektedir.

YEŞİL ÇAYIN DERİ KARSİNOGENEZİNDEN KORUYUCU ETKİLERİ ÜZERİNE ÖNCÜ ÇALIŞMALAR

Deri tüm organlar arasında en geniş yüzeye sahip olandır ve CDC'ye göre Amerika'da en sık görülen kanser tipidir.¹ Melanoma hariç, bazal ve skuamöz hücreli karsinomların tahmini yıllık insidansı 1 milyonu aşmaktadır.¹⁷ Diğer yandan, deri kan-

serleri en önlenebilir kanserler arasındadır çünkü bu malignitelerin primer nedeni güneşten kaynaklanan kısa dalga boylu UV ışınıdır. GTTP'lerin deri kanserini önleyici etkileri ilk olarak kimyasal olarak indüklenmiş bir deri kanseri modelinde bulunmuştur. 1980'lerin sonlarında, Case Western Reserve Üniversitesinde (Cleveland, Ohio) Hasan Mukhtar'ın¹⁸ önderliğinde bir grup, sencar farelerine önce 7 gün süreyle topikal olarak 24 mg/fare dozunda GTTP, sonra başlatıcı olarak tek doz 200 nmol (+/-)7 β , 8 α -dihidroksi-9- α ,10- α epoksi-7,8,9,10-tetrahidrobenzo[a]piren uyguladılar. Daha sonra haftada iki kez tümör indükleyicisi TPA topikal olarak uygulandı. Sonuçlar, GTTP'lerin bu başlatma-indüklenme modelinde anlamlı inhibe edici etkilerinin olduğunu göstermiştir.¹⁸ Bu araştırmacılar, GTTP'lerin topikal etkilerini BALB/c faresinde 3-metilkolantrenin kullanıldığı bir komple deri tümör geniz protokolünde ve Sencar faresinde başlatıcı ajan olarak DMBA'yı ve tümör indükleyicisi olarak da TPA'yı kullanan iki aşamalı deri tümör geniz protokolünde de araştırmışlardır. Bu çalışmalarla, GTTP'lerin deri tümör genize karşı önemli derecede koruyucu etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır.¹⁹ Bu bulgular GTTP'lerin deri kanserinin önlenmesinde ilk topikal kullanımını temsil etmekte ve ileri çalışmalar için bir temel oluşturmaktadır. GTTP'lerin koruyucu etkileri üzerine bir çalışma ile GTTP'lerin antioksidan etkilerinin TPA'ya ve serbest radikallere karşı antikarsinogenik potansiyelinden sorumlu olabileceği gündeme gelmiştir.²⁰ Daha sonraları kimyasal olarak indüklenmiş bir deri kanseri modelinde EGCG'nin çok güçlü antikarsinogen aktivitesinin olduğu bulunmuştur. EGCG, 3H-ışaretili polisiklik aromatik hidrokarbonların epidermal DNA'ya bağlanmasını anlamlı oranda inhibe etmiştir. Farelerin önceden EGCG ile topikal olarak muamele edilmeleri bir DMBA tümör indüklenme modelinde fare başına düşen tümör boyutunda ve sayısında anlamlı azalmalar sağlamıştır.²¹ İki yıl sonra GTTP'leri koruyucu ajan olarak kullanan ilk UVB ışını tarafından indüklenen fotokarsinogeniz çalışması Mukhtar ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır.²² Dişi SKH-1 tüysüz fareleri %0.1 GTTP ile beslendi veya GTTP'ler topikal olarak uygulanıp sonra UVB ışınına maruz bırakıldılar. Her iki uygulama da UVB'ye karşı fotokoruma sağladı. Böylelikle, popüler bir içecekte bulunan fitokimyasallar ile deri kanserinin önlenmesini araştıran çalışmalar dönemi başlamış oldu.²³

HAYVAN MODELLERİNDEN ELDE EDİLEN BULGULAR

Yeşil çay ekstraları ile yapılan hayvan çalışmalarında temel odak noktası UV'den korunma üzerine idi.²⁴ Tüysüz farelerin kullanıldığı bir çalışmada demlenmiş yeşil çay, yeşil çay ekstraları veya GTTP'lerin oral veya topikal olarak kullanıldığında UV ile veya kimyasal olarak indüklenen karsinogenezde anlamlı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Daha önceki çalışmalardan birinde sırasıyla UVB veya DMBA ile başlatılan ve TPA veya UVB ile indüklenen karsinogenez süresince SKH-1 faresine tek sıvı kaynağı olarak demlenmiş yeşil çay verildi. İnsanların tükettiği miktarlara yakın konsantrasyonlarda demlenmiş çayın oral alımı (%1.25 ve 2.5) UVB veya TPA ile indüklenen karsinogenezi önemli oranda inhibe etmiştir.²⁵ Rutgers Üniversitesinde Conney²⁶ önderliğindeki bu grup sonra kafeinsiz yeşil çayın oral alımının da benzer antikarsinogen etkilerinin olduğunu bulmuştur. Daha sonraki çalışmalarında farelerde yeşil çayın oral alımının yalnızca deri tümör genizini inhibe etmekle kalmayıp, dermiste yağlı doku-

ları da azalttığını göstermişlerdir.²⁷ GTTP'lerin oral alımı ile UVB ile indüklenen ornitin dekarboksilaz ve siklooksijenaz (COX) aktiviteleri azalır.²⁸ GTTP'lerin oral alımı veya intraperitoneal enjeksiyonu sıçan modellerinde UV ile indüklenen deri papillomlarının çoğalmasında²⁹ veya TPA ile indüklenen COX2'nin inhibe edilmesinde benzer etkinliğe ulaşabilmiştir.³⁰

Topikal uygulama modellerinde, GTTP'ler CD-1 farelerinde DMBA ile başlatılan ve TPA ile indüklenen karsinogenezi ve benzo[*a*]piren ve TPA ile indüklenen tümör gelişimini baskılamıştır.^{31,32} Topikal olarak uygulandığında GTTP'lerin TPA ile indüklenen inflamasyon, ornitin dekarboksilaz aktivitesi, hiperplazi ve hidrojen peroksidad (H_2O_2) üretimini azaltması, bu maddelerin hem antioksidan hem de enzimatik aktivitelerin düzenleyicisi olarak görev yaptığını düşündürmüştür.³¹ Sencar faresinde topikal GTTP uygulaması, COX ve lipooksijenazın TPA ile indüklenen artışını anlamlı ölçüde inhibe etmiştir³¹ ve ECGC'nin, kimyasal tümör indükleyicilerinin neden olduğu epidermal ornitin dekarboksilaz aktivitesinin azaltılmasında en etkili ajan olduğu bulunmuştur.³³

Öyle görünüyor ki, GTTP'ler fotokarsinojenlerin indüklediği oksidatif strese karşı bir bariyer etkisi göstermektedir. SKH-1 tüysüz farelere UVB maruziyeti öncesinde GTTP'lerin (5 mg/hayvan) veya ECGC'nin (1 mg/cm²) topikal olarak uygulanması, UVB ile indüklenen antioksidan enzimler glutatyon peroksidad, katalaz ve glutatyonun tükenmesini azaltmış; lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu ile ölçülen UVB'nin indüklediği oksidasyonu inhibe etmiş ve MAPK ailesinin üyeleri olan ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz (ERK) 1 ve 2, c-jun N terminal kinaz (JNK) ve p 38'in aktivasyonunu baskılamıştır.^{34,35} GTTP'ler, ROS ile etkileşerek hızla metabolize olabilirler, böylece ROS'lara karşı in vivo ilk savunma hattını oluştururlar. Aynı zamanda, özellikle H_2O_2 olmak üzere serbest radikallere karşı ikinci savunma hattını oluşturan nitrik oksit sentaz, lipooksijenaz, COX ve ksantin oksidaz gibi pro-oksidan enzimleri de inhibe eder.³⁶ İlginç bir çalışmada fotokarsinojen olarak sık UVB maruziyetini taklit etmek amacıyla, deri kanserleri açısından yüksek riskli olan SKH-1 tüysüz fareleri kullanıldı. Farelere 20 hafta süreyle haftada 2 kez UVB, sonra 18 hafta süreyle her gün ECGC (6.5 µmol/L) uygulandı. Sonuçlar ECGC'nin malign olan ve olmayan tümörlerin sayısını fare başına sırasıyla %66 ve %55 oranlarında azalttığını gösterdi; bu etkinin ECGC'nin güneşten koruyucu/antioksidan etkilerinden kaynaklanmadığı düşünüldü. Aslında apoptotik aktiviteler normal hücrelerde değil tümör hücrelerinde yükselmişti.³⁷

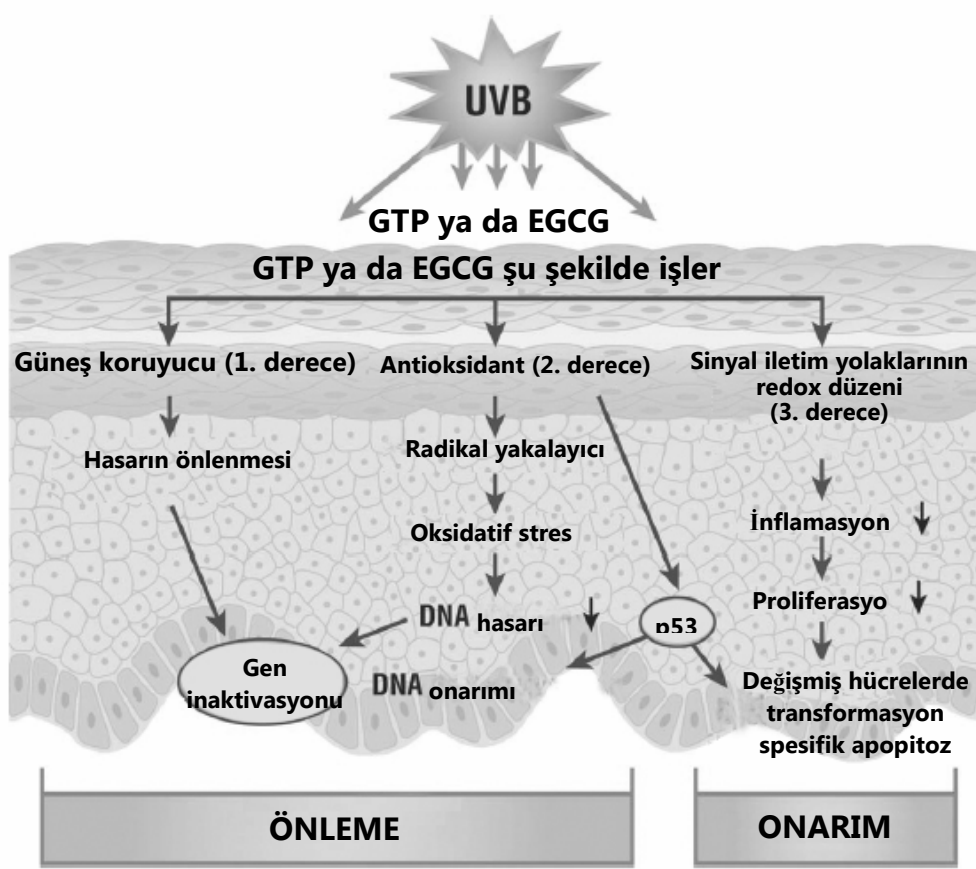
GTTP'lerin oral ve topikal uygulanmasının karşılaştırılması

Yukarıda ele alınan hayvan çalışmaları GTTP'lerin sıçanlarda derinin korunmasını sağladıklarını öne sürmektedir. Ancak, insanlarda yapılan benzer çalışmalar ile bu etkiler elde edilememiştir, bunun nedeni insan derisinin damar yatağından emilime karşı daha güçlü bir bariyer oluşturması olabilir.³⁸ Buna karşın, sıçanların daha zayıf bir bariyeri vardır ve ECGC'nin yüksek konsantrasyonlarda (%10 hidrofilik merhem *United States Pharmacopeia*) topikal uygulaması SKH-1 farelerinde toksisiteye neden olmuş ve günler içerisinde eritem ve papüler lezyonların oluşumuna yol açmıştır³⁹ ancak insan derisinde herhangi bir yan etki gözlenmemiştir.⁴⁰ Bu nedenle insanlarda GTTP'lerin topikal olarak uygulanması oral alıma göre muhtemelen daha etkili ola-

caktır.

İNSAN ÇALIŞMALARINDAN ELDE EDİLEN KANITLAR

Hayvan çalışmaları ile karşılaştırıldığında insan derisinde GTTP'lerin etkisini değerlendiren çalışma sayısı çok azdır. ECGC farelerde dermal bariyeri etkili bir şekilde aşarken, insanlarda bu bariyeri geçemez.³⁸ Bir insan biyopsi çalışmasında UV ışınına 2 dakikalık maruziyetten önce yeşil çay ekstraktları ve polifenoller 30 dakika süreyle topikal olarak uygulanmış ve deri örnekleri immunhistokimyasal olarak incelenmiştir. Bu ajanların topikal olarak uygulanması, UV ışını ile indüklenen eritem yanıtını doza bağımlı olarak baskılamıştır. Yeşil çay ekstraktları güneş yanığı hücrelerini ve DNA hasarını azaltmıştır. GTTP'ler arasında ECGC ve (2)-EC-3-gallat (gallat grubu olan polifenoller) etkili iken; EGC ve EC (gallat grubu olmayan polifenoller) etkisizdi.⁴¹ UVB maruziyetinden önce 3 mg/2.5 cm² dozunda ECGC uygulandığında, UVB ile indüklenen eritem ve lökosit infiltrasyonu azalmıştır.⁴² Bu nedenle GTTP'ler insanlarda güneşin etkilerinin önlenmesinde kullanılabilir. Şekil 1 GTTP'lerin fotokarsinogeneze karşı temel koruyucu etkilerini özetlemektedir. Psöriazis gibi bazı deri hastalıklarının tedavisinde sistemik ilaçların toksisitesinden kaçınmak için psoralen ve UVA kombinasyon (PUVA) tedavisi başarıyla kullanılmaktadır.⁴³ Ancak PUVA ile uzun süreli tedavi başta skuamöz hücreli kanser olmak üzere deri kanseri riskini artırmaktadır.⁴⁴ İnsanlar da dahil çok sayıda in vitro ve in vivo modelin kullanıldığı bir çalışmada 0.2 mg/cm² yeşil çay ekstraktının 30 dakika topikal uygulanması ile PUVA ile indüklenen eritemin neredeyse tamamen baskılandığını bulunmuştur; aynı ekstre PUVA'nın neden olduğu DNA hasarını da baskılamıştır; bu bulgular GTTP'lerin epidermal keratinositleri PUVA tedavisinin indüklediği karsinogeneze koruduğunu düşündürmüştür.^{45,46} Başka bir ilginç bulgu ise yeşil çayın kıl foliküllerini γ ışını tarafından indüklenen apoptozdan korumaya yardımcı olabileceğidir.⁴⁷ Bu sıralarda GTTP'leri deri karsinogeneze karşı önleyici olarak kullanan, COX-2 ve MAPK sinyal yollarını hedefleyen çok sayıda çalışma sürdürülmektedir. Bu çalışmaların amacı GTTP gibi ajanları içeren formülasyonları güneş filtrelerinde veya UVB ile indüklenen karsinogeneze karşı koruyucu başka deri uygulamalarında kullanılmak üzere geliştirmektir.^{48,49}



Şekil 1. Yeşil çayın UV ışınına karşı koruyucu etkilerinin şematik özeti. Yayınlanmış verilerden derlenmiştir.^{4,35,41,52,59,69,70} Yalnızca epidermis gösterilmiştir. EGCG, (-)-Epigallokateşin-3-gallat, GTP, yeşil çay polifenolleri

GTTP İLE İNDÜKLENEN ETKİLERİN MEKANİZMALARI

Sağlıklı ve kanserli hücrelerde farklı etkiler

GTTP ve EGCG'ler tümör hücrelerinde apoptozu indükleyip sağlıklı insan epidermal keratinositlerini (SİEK) etkilemediklerinden, GTTP'lerin kanser önleyici özelliklerinin moleküler mekanizmalarını araştırmak üzere in vitro çalışmalar başlatılmıştır.⁵⁰ Epidermoid karsinom hücreleri ile karşılaştırıldığında SİEK'lerin EGCG ile indüklenen nükleer faktör (NF) κ B (tümör hücrelerinde sıklıkla up-regüle olan bir prosurvival transkripsiyon faktörü) inhibisyonuna daha düşük duyarlılık gösterdiği bulunmuş, bu bulgu tümör hücrelerinin EGCG ile indüklenen apoptoz ve büyüme durmasına daha yatkın olduğunu düşündürmüştür.⁵¹ Diğer yandan SİEK'lerin EGCG ile ön tedavisi, NF κ B'nin UVB ile indüklenen aktivasyonunu doza ve zamana bağımlı olarak baskılamıştır.⁵² Benzer olarak bir fare hücre modelinde EGCG, TPA ile indüklenen NF κ B'yi inhibe etmiştir.⁵³ Öyle görünüyor ki bu gözlem EGCG'lerin SİEK'ler üzerindeki prosurvival etkisine ters düşmektedir. Ancak bu durum, kaspaz 14 aracılı planlı hücre ölümünü içeren bir terminal farklılaşma yolağının aktivasyonu olarak yorumlanabilir. Bu nedenle prosurvival transkripsiyon faktörü NF κ B'nin inhibisyonu gerekli olabilir.

UVB'ye karşı koruma

EGCG, insan keratinositlerinde UVB ile indüklenen AP-1 ekspresyonunu inhibe eder. Bu durum c-Fos ve c-Jun'u içeren MAPK yolağında yer alan bir grup downstream transkripsiyon faktörü olan AP-1'in EGCG fonksiyonu için bir hedef olabileceğini düşündürmektedir.⁵⁴ MAPK'ler seri fosforilasyon kaskadları

boyunca aktive olabilen ve eksojen uyarılara yanıt olarak oluşan gen ekspresyonunu düzenleyen önemli sinyal iletim proteinleridir. Uyarılara bağlı olarak MAPK yolağındaki downstream faktörleri tarafından indüklenen hücreyel yanıt antiapoptotik veya proapoptotik genlerin aktivasyonu yoluyla hücrenin kaderini belirler. Genel olarak, ERK, JNK ve p38'i içeren MAPK yolları arasında ERK mitojenler ve büyüme faktörleri ile, p38 ve JNK ise UV ışını veya oksidanlar gibi stres uyarıları ile aktive olur.⁵⁵ Bir keratinosit hücre modeli olan HaCaT'ta UVB ile indüklenen c-Fos ekspresyonu, EGCG tarafından hem messenger RNA hem de protein seviyelerinde spesifik olarak inhibe edilmiştir. C-Fos'un upstream faktörü olan MAPK p38'in UVB ile indüklenen aktivasyonu EGCG tarafından da inhibe edilmiştir. Ancak, c-Jun aktivasyonu EGCG veya onun upstream aktivatörü JNK tarafından düzenlenmemiştir.⁵⁶ Bu durum, JNK'ya bağlanarak aktivitesini inhibe eden siklin bağımlı bir kinaz inhibitörü olan p57/KIP2'nin indüklenmesinin bir sonucu olabilir.^{12,57,58} Daha kapsamlı bir çalışmada SİEK'lerin EGCG ile ön tedavisi ile UV tarafından indüklenen hücre içi H₂O₂ üretimi ve UV tarafından indüklenen ERK 1, 2, JNK ve p38 fosforilasyonunu baskılamıştır.⁵⁹ Ayrıca, I κ Ba'nın UVB ile indüklenen yıkımı ve fosforilasyonu ile IKK α 'nın aktivasyonu da 24 saat süreyle EGCG ön tedavisi ile baskılanmış ve bu sayede NF κ B'nin nükleer lokalizasyonunu önlemiştir.³⁶ Bu etkiler EGCG'nin MAPK yolağındaki düzenleyici etkilerine ve antioksidan özelliğine bağlanabilir çünkü EGCG ROS'ları ortadan kaldırabilir ve ROS miktarını SİEK seviyesine getirebilir.⁶⁰

UVA'ya karşı koruma

UVA, başka bir kısa dalga boylu UV ışını tipidir. EGC, epidermal keratinositlerde strese yanıt oluşturan bir gen ürünü

Tablo I. Yeşil çay polifenollerinin çoklu etkilerinin ve epidermal sistemlerde indüklenen hücresel/moleküler yanıtların özeti

| Yeşil çayla indüklenen etkiler | Hücresel/moleküler cevaplar | Kaynaklar |
|---|---|---|
| UV koruma | Tümörgeçin inhibisyonu; UV ile indüklenen MAPK aktivasyonunun inhibisyonu; UV ile indüklenen AP-1 aktivasyonunun inhibisyonu; UVA ile indüklenen LDH inhibisyonu; UVA up regülasyonu ile GSH-Px; makrofaj ve nötrofillerin infiltrasyonunda UVB ile indüklenen inhibisyon | 5, 11, 22-26, 29, 34, 35, 37, 41, 48, 49, 54-63, 71 |
| Antioksidanlar | Reaktif oksijen türlerinin eliminasyonu; GSH-Px stabilizasyonu; katalaz ve glutatyon; nitrik oksit sentaz inhibisyonu; lipooksijenaz; COX ve ksantil oksidaz; lipid peroksidaz inhibisyonu | 11, 31, 34-36, 60, 68, 69, 75 |
| Anti-inflamasyon | ODC inhibisyonu, COX, lipooksijenaz; IL-1 inhibisyonu, IL-8, IL-10 ve IL-12 salınımı; makrofaj ve nötrofillerin infiltrasyonunda UVB ile indüklenen inhibisyon | 28, 31, 33, 70-73 |
| Keratinosit diferansiyasyonunun hızlanması ve yara iyileşmesi | p57 indüksiyonu, filagrin, keratinler, involucrin ve transglutaminaz aktivitesi; kaspaz 14 indüksiyonu | 12, 31, 57, 64, 88 |
| Antikarsinojen | Tümörgeçin inhibisyonu; karsinojen inhibisyonu-DNA bağlantılı | 18-21, 30-33, 74 |
| PUVA tedavisinin indüklediği karsinogenez | Eritem inhibisyonu ve DNA hasarı | 45, 46 |
| Kıl foliküllerinin radyasyondan korunması | Radyasyonla indüklenen apoptozis inhibisyonu | 47 |

AP, Aktive edici protein; COX, cyclonoxigenase; GSH-Px, glutatyon peroksidaz; LDH, lactate dehidrogenaz; MAPK, mitojen-aktive protein kinaz; PUVA, psoralen plus ultraviyole A light.

olan ve UVA ile aktive edilen COX'u inhibe etmiştir. Bu durum GTTP'nin etkisinin antioksidan özelliklerine ek olarak sinyal iletimindeki doğrudan etkilerine de bağlı olabileceğini düşündürmüştür.⁶¹ Bu nedenle GTTP'ler, spesifik olarak MAPK olmak üzere strese yanıt oluşturan yolları düzenliyor olabilir. UVA ile indüklenen ROS açısından değerlendirildiğinde GTTP'ler sıçan epidermal keratinositlerinde UVA ile aktive olan plazma protein laktat dehidrogenaz salınımının inhibisyonu ve UVA ile baskılanan glutatyon peroksidaz aktivitesinin up regülasyonu sayesinde UVA tarafından indüklenen ROS'un neden olduğu toksisitenin azaltılmasında çok etkili bulunmuşlardır.⁶² Sağlıklı sıçan epidermal keratinositlerinde GTTP'ler %0.05 ila %0.1'lik konsantrasyonlarda laktat dehidrogenaz salınımını inhibe edici ve glutatyon peroksidaz aktivitesini artırıcı etkiler göstermiştir. Hücre çoğalması ve apoptozis ölçüldüğünde %0.01-0.1 konsantrasyonlarında GTTP'ler hücre çoğalmasını uyarı ve apoptozisü inhibe etmiştir, bu bulgu GTTP'lerin keratinosit proliferasyonunu indükleyerek yara iyileşmesinde faydalı olabileceklerini düşündürmüştür.⁶³ Çok amaçlı bir ajan olarak UVB, hücre içi H₂O₂ seviyelerini artırır ve SIEK'lerdeki MAPK yolağını aktive eder; EGCG ise her ikisini birden inhibe eder. 20 µmol/L EGCG ile ön tedavi, UVB ile yükselen H₂O₂ ile ERK 1, 2, JNK ve p38 düzeylerini %50'den fazla oranda azaltmıştır.⁶⁰ Ancak, EGCG'den kaynaklanan fotokoruyucu etkilerine ilave olarak, SIEK'lerdeki EGCG tarafından düzenlenen MAPK sinyal iletim yolağı diğer fonksiyonlarla da ilişkili gibi görünmektedir çünkü EGCG SIEK'lerdeki bu yolağı stres indükleyicileri olmadan da düzenlemektedir. EGCG ile muamele edilen tümör hücre serilerinin, ölümsüzleştirilmiş epitelyal hücre serileri ve UV ile muamele edilen SIEK'lerin (EGCG/GTTP'nin MAPK aktivasyonunu inhibe ettiği hücreler) aksine EGCG'ler hızla çoğalan SIEK'lerdeki MAPK yolağındaki bazı elemanların aktivitesini artırmıştır. AP-1 ile aktive olan bir

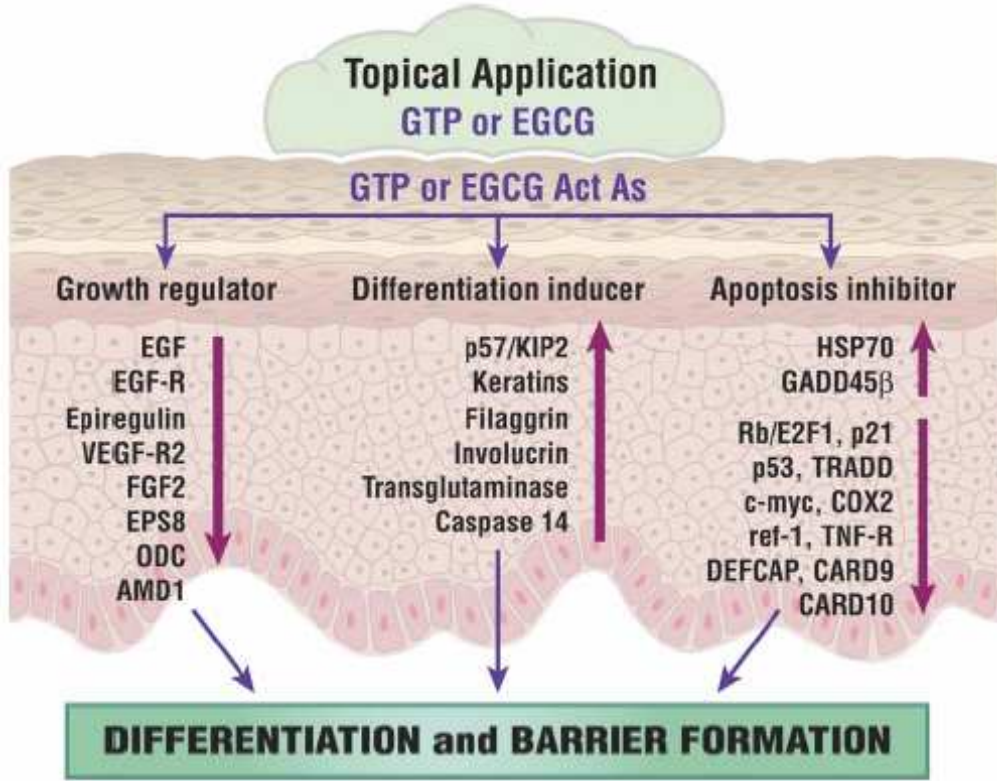
gen olan involucrinin EGCG tarafından spesifik olarak düzenlendiği bildirilmiştir.⁶⁴ İnsan involucrinini, SIEK'in ara-geç diferansiyasyonunun bir belirteçidir ve indükleyicisi AP-1 elemanları tarafından etkinleştirilebilir. EGCG, MAPK sinyal iletim yolağında yer alan Ras, MEKK1, MEK3 ve p38d'nin (p38'in bir izoformu) fosforilasyonunu indüklemiştir. Bunun yanında AP transkripsiyon faktörleri c-Jun ve c-Fos ile diğer AP-1 ailesinin üyeleri Fra-1, Fra-2, FosB, JunB ve JunD'yi (JNK aktivasyonu bu çalışmada ölçülmemiştir) de indüklemiştir. Ayrıca, SIEK'lerin kormifikasyonu gözlenmiştir.⁶⁴ Bu nedenle EGCG'nin SIEK diferansiyasyonunda yer alıp almadığı ilgi çekici bir konu haline gelmiştir. Biz, EGCG'nin gelişimde görev yapan siklin-bağımlı kinaz inhibitörlerinin KIP/CIP ailesine ait tek üyesi olan p57/KIP2'yi selektif olarak indüklediğini bildirdik. P57'nin EGCG tarafından indüksiyonu yalnızca SIEK'lerde bulunmuş, bu bulgu epitelyum kaynaklı tümör hücrelerinde gözlenmemiştir.⁵⁷ P57'nin MAPK yolağı ile ilişkisi, doğrudan bağlanarak JNK aktivasyonunu olumsuz yönde düzenlemesi şeklindedir.^{58,65} EGCG ile indüklenen p57, kaspaz 3 aracılı apoptozisi önlemek için JNK'nın aktivitesini düzenleyebilir çünkü JNK'nın sürekli aktivasyonu sonucu apoptozis meydana gelir.⁶⁵ Aslında p57 indüksiyonu olmayan hücreler EGCG'ye yanıt olarak kaspaz 3 bağımlı apoptozise uğramışlardır.⁶⁶ Daha sonra hızla çoğalan SIEK'lerde EGCG ile indüklenen p57'nin 24 saat içerisinde keratin ve filagrinin artmış üretimi ile karakterize hızlı terminal diferansiyasyon ve aktive olmuş transglutaminaz aktivitesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Diğer yandan yaşlı SIEK'lerde (çoğalmadan sonraki 25 gün) EGCG'nin yaşlı keratinositlerin çoğalmasında potansiyel bir rolü olduğunu düşündüren yeni DNA sentezi gözlemlendi.¹² Bir insan çalışmasında %10'luk EGCG'nin topikal olarak uygulanması ile SIEK proliferasyonu uyarılmış ve yaşlı erkeklerde deri kalınlığı artmıştır. Bu bulgular yaşlı

epidermiste EGCG'lerin muhtemel uyarıcı etkilerini daha muntazam olarak doğrulamıştır.¹³ Özetle, güçlü antioksidanlar olarak GTTP'ler, UV ve diğer kaynaklar tarafından üretilen ROS'u imha etmektedirler (ör; karsinojenik kimyasallar ve otosentez mekanizmaları). Aktif nutrisötikler olarak, GTTP'ler 1) ERK, JNK ve AP-1 gibi Ras-MAPK'de yer alan elemanları düzenleme 2) COX-2, faz I ve faz II enzimlerini inhibe etme, 3) IL-1, IL-10 ve IL-12 salınımı gibi inflamasyona bağlı yanıtları inhibe etme, 4) p57 ve kaspaz 14 salınımı ile ilişkili yeni bir terminal diferansiyasyon yolağını aktive eder ve deri bariyer formasyonunu hızlandırır, 5) kaspaz 3 aracılı apoptoz yolağını baskılar ve sağlıklı hücrelerde yer alan kaspaz 14 aracılı planlı hücre ölümü yolağını aktive eder ve 6) p53 ve p21 gibi proapoptotik genleri uyarır ve tümör hücrelerinde yer alan prosurvival transkripsiyon faktörü NF κB'nin aktivitesini baskılar.

Tablo 1 normal epidermal sistemlerdeki GTTP'lerin majör etkilerini listelemektedir.

FOTOYAŞLANMANIN ÖNLENMESİNDE POTANSİYEL UYGULAMALAR

Yeşil çay ve EGCG UV ile indüklenen reaktif ROS'u etkili bir şekilde uzaklaştırmış ve bu sayede DNA'yı UV'nin indüklediği hasardan korumuştur.^{67,69} Ayrıca, 3 mg/hayvan dozunda EGCG, deride UVB ile indüklenen IL-10 üretimini önlemiştir ki bu bulgu EGCG'lerin bağışıklık sistemini düzenleyici etkilerini göstermektedir.⁷⁰ EGCG, UVB'ye maruz kalan hayvanlarda aktive makrofağlar ve nötrofiller için bir yüzey belirteci olan CD11b'in ekspresyonunu düşürmüştür, bu da bağışıklık sistemin baskılanması ile ilişkili olarak bu hücrelerin UVB ile indüklenen infiltrasyonunda bir inhibisyon oluştuğunu düşündürmüştür.⁷¹ Ayrıca, kültür ortamındaki SİEK'lerde tümör nekroz faktörü-α ile indüklenen IL-8 salınımı, EGCG tarafından doza bağımlı olarak inhibe edilmiş, vasküler epitelyal büyüme faktörü ise uyarılmıştır.⁷² Başka bir çalışmada TPA ile indüklenen IL-1 salınımının GTTP'ler tarafından anlamlı ölçüde inhibe edildiği gösterilmiştir.⁷³ EGCG, fare epidermal hücrelerinde TPA ile indüklenen NF κB aktivasyonunu IκBa'nın (NF κB'nin inhibitörü) fosforilasyonunu Ser32'de bloke ederek inhibe etmiş ve NF κB'nin DNA'ya bağlanmasını engellemiştir.⁷⁴ GTTP'lerin UV ışımına karşı koruyucu etkileri, başta ciltte kabalaşma ve sarkmalara yol açan fotoyaşlanmanın önlenmesi olmak üzere yaşlanmaya karşı müdahaleler için potansiyel bir değere sahiptir. Kobaylar, tüysüz fare ve insan dermal fibroblast kültürlerinin kombinasyonunun kullanıldığı bir çalışmada EGCG'nin UVB ile indüklenen lipid peroksidaz seviyesini 3 kat azalttığı, UVA ile indüklenen deri hasarını (kabalaşma ve pürüzlenme) önlediği ve insan epidermal fibroblast kültürlerinde kollajenaz salınımı ile AP-1 ve NF κB'nin promotör bağlayıcı aktivitelerini inhibe ettiği bulunmuştur.⁷⁵ UVB ile indüklenen oksidatif stres, kollajenin çapraz bağlanması ve karbonil derivelerinin oluşumu gibi protein modifikasyonlarına neden olabilir; bu değişimler floresan tekniği ve redüksiyon reaksiyonu metodu ile ölçülebilir. C57BL/6 faresinin kullanıldığı bir çalışmada kollajen çapraz bağlanmasının 10 aylık farelerde yeşil çay alımı ile azaltılabileceği bulunmuştur.⁷⁵



Şekil 2. Daha önceki yayınlara dayanarak insan epidermal keratinositlerinde (-)epigallokateşin-3-gallat (EGCG) maruziyetine yanıt olarak yeşil çayın hedef aldığı genlerin ekspresyonu^{12,57,67,90}. Hücre çoğalmasını düzenleyen belirli genler inhibe olurken, keratinosit diferansiyasyonunun majör belirteçleri up regüle olmuş, diğer yandan proapoptozis faktörleri için kodlanan bir çok gen baskılanmıştır. Yalnızca epidermis gösterilmiştir. AMD1, S-adenozilmetionin dekarboksilaz 1; CARD, kaspaz dahili zinciri; COX-2, siklooksijenaz-2; EGF, epidermal büyüme faktörü; EGF-R, epidermal büyüme faktörreseptör; EPS8, epidermal büyüme faktör reseptör kinazın bir substratı; FGF2, fibroblast büyüme faktörü 2; GADD45b, büyüme durması ve DNA hasarı 45b; GTP, yeşil çay polifenolü; HSP70, ısı şok proteini 70; ODC, omitin dekarboksilaz; Rb, retinoblastom; TNF-R, tümör nekroz faktör reseptörü; TRADD, tümör nekroz faktör reseptörü 1 (TNFR1)-ilişkili ölü zincir proteini; VEGF-R2, vasküler epitelyal büyüme faktör reseptörü 2.

DİĞER DERİ HASTALIKLARINDA VE YARA İYİLEŞMESİNDE KULLANIM

Kanser önleyici ve fotokorunma potansiyellerinin yanında yeşil çay diğer deri hastalıklarında da alternatif bir tedavi seçeneği olabilir. Epidermiste keratinositler farklı diferansiyasyon aşamalarında bulunur.^{76,77} Programlı diferansiyasyon olaylarından herhangi birinde oluşan bir anormallik psoriasis ve deri kanseri gibi epidermal hastalıklara yol açabilir. Ancak, bazal hücrelerin (kök hücre) çoğalması ile diferansiyasyonunu sağlayan ve planlı hücre ölümünden sorumlu biyolojik olaylar pek az anlaşılmıştır⁶⁴. Keratinosit diferansiyasyonu, hücre dışındaki kalsiyum ve retinoitler gibi prodiferansiyasyon ajanları ile hızlandırılabilir ancak epidermal epitelden köken alan kanser hücreleri prodiferansiyasyon ajanlarına yanıt verme yeteneklerini kaybederler.⁷⁹ Psoriasis, aktinik keratoz, senil anjiomlar, Bateman purpurası, kondrodermatitis nodularis helisis, seboreik keratoz ve rozasea gibi deri hastalıklarında da anormal diferansiyasyon veya diferansiyasyon eksikliği bulunabilir. Bu hastalıklarda deri bariyeri sıklıkla bozulmuştur.⁸⁰ Kaspaz ailesinin üyelerinden

kaspaz 14 mürin dokularından izole edilmiş ve özellikle farklılaşmakta olan epidermis olmak üzere epitelyal dokularda dokularda bulunmuştur.⁸¹⁻⁸³ Diğer kaspazlardan farklı olarak kaspaz 14, iyi bilinen apoptotik kaspaz kaskadında yer almaz ancak SIEK'lerin terminal diferansiyasyonu ve deri bariyerinin oluşması ile ilişkilidir.^{57,79,84} Stratum korneumun oluşumu sırasında kaspaz 14'ün transkripsiyonel aktivasyona uğradığı bulunmuştur.⁸⁵ Kaspaz 14 ekspresyonu hücre diferansiyasyonunun inhibisyonu ile azalmıştır.⁸⁶ Bu nedenle kaspaz 14'ün muhtemelen planlı hücre ölümünü ve epidermal keratinositlerin deriden kornifikasyonunu aktive ederek epidermal diferansiyasyonu kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Buna karşın, kornifikasyonun bozulduğu psoriasis gibi patolojik durumlarda kaspaz 14'ün normal ekspresyon paterni bulunmaz.⁸⁷ Geçen çalışmalarımızda EGCG'nin, SIEK'lerde -bu hücrelerin terminal diferansiyasyonuna yardımcı olan- p57 ve kaspaz 14'ün koordine ekspresyonunu aktive ettiğini bulduk. Buna karşın bir skuamöz hücreli karsinom hücre dizisi OSC2 ile tükrük bezi kanseri hücre dizisi HSG ve insan psoriatik keratinositleri yalnızca bazal düzeyde kaspaz 14 salgıladılar. Bu

çalışma, EGCG'nin hızla büyümekte olan SİEK'lerde 24 saat içerisinde kaspaz 14 salınımını ve ardından p57 indüksiyonunu sağladığını göstermiştir⁸⁸ ancak insan psoriatik dokularında kaspaz 14'ün nükleer translokasyonu gerçekleşmez.⁸⁹ Psoriazisin immunolojik bir fenomen olarak kabul edilmektedir. Ancak, kliniğe fenotipik olarak anormal morfolojik ve fonksiyonel özelliklerle yansır. Bu bağlamda psoriatik keratinositlerde kaspaz 14'ün nükleer girdisinin olmadığı şeklindeki gözlemimiz psoriatik keratinositlerde kornifikasyon ve bariyer formasyonunun bozulduğuna bağlanabilir. Bu nedenle yeşil çayla kaspaz 14 salınımının ve nükleer lokalizasyonunun indüklenmesi ile diferansiyasyon ve deri bariyeri oluşumu indüklenebilir; bu şekilde diferansiyasyonun bozuk olduğu deri hastalıkları için yeni tedavi seçenekleri bulunabilir.

Epidermal keratinosit diferansiyasyonunun hızlandırılmasında yeşil çay ile düzenlenen gen ekspresyonları Şekil 2'de gösterilmektedir. Yaşlı keratinositlerin uyarılması ve apoptozisin inhibisyonu gibi diğer özellikleri ile birleştirildiğinde topikal olarak uygulanan yeşil çay epidermiste iyileşme sürecini yardımcı olabilir.

GELECEK İÇİN HEDEFLER

Kanıtın büyük bir kısmı yeşil çay bileşenlerinin belirgin antioksidan, antikanser, yaşlanmayı geciktirici ve anti-inflamatuar etkileri olduğunu göstermekle birlikte GTTP'ler için standart topikal uygulama yolları halen tam olarak belirlenmemiştir. Bunun nedeni kısmen bu yüksek derecede reaktif bileşiklerin çevrede kolayca okside olabilmeye ve hazırlandıktan hemen sonra kullanılmadığı taktirde etkinliklerini kaybetmeye özelliklerinden ileri gelir. Bu nedenle topikal bir formülasyonun birincil hedefi bu antioksidanların stabilitesini idame ettirebilmeleridir. EGCG ile yapılan bir preformülasyon çalışmasında stabilite konusu ile ilişkili olarak çoklu faktörlerin gözetilmesi gerektiği ve EGCG'nin aköz formülasyon içerisinde yer aldığı hızla yıkıldığı sonucuna varılmıştır. Potansiyel sinerjistik etkiler değerlendirilse bile, EGCG veya GTTP'lerin diğer antioksidanlarla basitçe karıştırılması stabiliteyi artırmayabilir.⁹⁰ %10'luk EGCG'yi hidrofilik bir merhem içerisinde test eden eski bir çalışmada ABD Pharmacopeia, bu formülasyona %0.1 butile edilmiş hidroksitoluenin eklenmesinin stabiliteyi anlamlı ölçüde artırdığını ileri sürmüştür.³⁸ Kombine aktif bileşikleri içeren bu tip formülasyonların halen insan çalışmalarıyla değerlendirilmesi gerekmektedir. Böylece GTTP'ler için topikal uygulamada stabilite konusu halen çözülememiş bir problemidir.

İkinci problem ise epidermal penetrasyon sorunudur. Travmatik açık yaralar, enfeksiyonlar gibi anormal durumlar veya patolojik lezyonların dışında insan derisi çok tabakalı kornifiye keratinositler tarafından korunan su geçirmez bir bariyerdir. Daha önceden gösterildiği gibi, bir formülasyonun aköz fazındaki hidrofilik bir GTTP stabilitesinden bağımsız olarak bu bariyeri geçmek ve etkinlik gösterebilmek için yüksek konsantrasyonlarda olmalıdır.¹³ Ancak in vitro modellerin kullanıldığı yeni testlerde, yeşil çay ekstresi ile satüre edilmiş solüsyonlar veya 1 mg/cm² yeşil çay ekstresi içeren adeziv bantların 24 saatlik bir periyottan sonra maksimum serum konsantrasyonlarından (<10 µmol/L) yüksek konsantrasyonlarda polifenol dağılımını sağlamada başarısız kaldığı gösterilmiştir.⁹¹ Diğer yandan %10 gibi yüksek konsantrasyonlarda EGCG uzun dönem toksisite açısından test edilmemiştir. Ayrıca, formülasyon içerisinde yüksek miktarlarda

GTTP veya EGCG bulunması maliyeti oldukça artıracaktır. Bu nedenle alternatif stratejiler olarak basitçe GTTP veya EGCG konsantrasyonlarının arttırmaktansa daha farklı yaklaşımlar gerekebilir. Örneğin, stabilitenin ve deri penetrasyonunun artırılması için moleküler modifikasyon yoluyla GTTP'lerin fiziksel özelliklerinin değiştirilmesi bir seçenek olabilir. Sonuç olarak, yeşil çayın insan derisi üzerindeki faydalarından etkin bir şekilde yararlanmak için 3 temel problem olan stabilite, penetrasyon ve maliyetin çözümlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Preventing skin cancer, findings of the task force on community preventive services on reducing exposure to ultraviolet light. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003;52:RR-15.
2. Draelos ZD. Botanicals as topical agents. Clin Dermatol 2001;19:474-7.
3. Chiu A, Kimball AB. Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. Br J Dermatol 2003;149:681-91.
4. Ahmad N, Mukhtar H. Cutaneous photochemoprotection by green tea: a brief review. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 2001;14:69-76.
5. Mukhtar H, Katiyar SK, Agarwal R. Green tea and skin—anticarcinogenic effects. J Invest Dermatol 1994;102:3-7.
6. Stoner GD, Mukhtar H. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. J Cell Biochem Suppl 1995;22:169-80.
7. Mukhtar H, Ahmad N. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. Am J Clin Nutr 2000;71(Suppl): 1698S-704S.
8. Yang CS, Maliakal P, Meng X. Inhibition of carcinogenesis by tea. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2002;42:25-54.
9. Stratton SP, Dorr RT, Alberts DS. The state-of-the-art in chemoprevention of skin cancer. Eur J Cancer 2000;36:1292-7.
10. Katiyar SK, Ahmad N, Mukhtar H. Green tea and skin. Arch Dermatol 2000;136:989-94.
11. Katiyar SK, Elmets CA. Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection [review]. Int J Oncol 2001;18: 1307-13.
12. Hsu S, Bollag WB, Lewis J, Huang Q, Singh B, Sharawy M, et al. Green tea polyphenols induce differentiation and proliferation in epidermal keratinocytes. J Pharmacol Exp Ther 2003;306: 29-34.
13. Chung FL, Schwartz J, Herzog CR, Yang YM. Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. J Nutr 2003; 133(suppl):3268S-74S.
14. Kuroda Y, Hara Y. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. Mutat Res 1999;436:69-97.
15. Bushman JL. Green tea and cancer in humans: a review of the literature. Nutr Cancer 1998;31:151-9.
16. Fujiki H, Suganuma M, Okabe S, Sueoka E, Suga K, Imai K, et al. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. Proc Soc Exp Biol Med 1999;220:225-8.
17. American Cancer Society. Cancer facts and figures 2002. Atlanta: American Cancer Society; 2002.
18. Khan WA, Wang ZY, Athar M, Bickers DR, Mukhtar H. Inhibition of the skin tumorigenicity of (1/)-7 beta,8 alpha-dihydroxy-9 alpha,10 alpha-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[a]pyrene by tannic acid, green tea polyphenols and quercetin in Sencar mice. Cancer Lett 1988;42:7-12.
19. Wang ZY, Khan WA, Bickers DR, Mukhtar H. Protection against polycyclic aromatic hydrocarbon-induced skin tumor initiation in mice by green tea polyphenols. Carcinogenesis 1989; 10:411-5.
20. Ruch RJ, Cheng SJ, Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis 1989;10:1003-8.
21. Katiyar SK, Agarwal R, Wang ZY, Bhatia AK, Mukhtar H. (-)-Epigallocatechin-3-gallate in Camellia sinensis leaves from Himalayan region of Sikkim: inhibitory effects against biochemical events and tumor initiation in Sencar mouse skin. Nutr Cancer 1992;18:73-83.
22. Wang ZY, Agarwal R, Bickers DR, Mukhtar H. Protection against ultraviolet B radiation-induced photocarcinogenesis in hairless mice by green tea polyphenols. Carcinogenesis 1991;12: 1527-30.
23. Mukhtar H, Agarwal R. Skin cancer chemoprevention. J Invest Dermatol Symp Proc 1996;1:209-14.
24. Conney AH, Wang ZY, Huang MT, Ho CT, Yang CS. Inhibitory effect of green tea on tumorigenesis by chemicals and ultraviolet light. Prev Med 1992;21:361-9.
25. Wang ZY, Huang MT, Ferraro T, Wong CQ, Lou YR, Reuhl K, et al. Inhibitory effect of green tea in the drinking water on tumorigenesis by ultraviolet light and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in the skin of SKH-1 mice. Cancer Res 1992;52:1162-70.
26. Wang ZY, Huang MT, Lou YR, Xie JG, Reuhl KR, Newmark HL, et al. Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea, and decaffeinated green tea on ultraviolet B light-induced skin carcinogenesis in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-initiated SKH-1 mice. Cancer Res 1994;54:3428-35.
27. Conney AH, Lu YP, Lou YR, Huang MT. Inhibitory effects of tea and caffeine on UV-induced carcinogenesis: relationship to enhanced apoptosis and decreased tissue fat. Eur J Cancer Prev 2002;11(Suppl):S28-36.
28. Agarwal R, Katiyar SK, Khan SG, Mukhtar H. Protection against ultraviolet B radiation-induced effects in the skin of SKH-1 hairless

- mice by a polyphenolic fraction isolated from green tea. *Photochem Photobiol* 1993;58:695-700.
29. Wang ZY, Huang MT, Ho CT, Chang R, Ma W, Ferraro T, et al. Inhibitory effect of green tea on the growth of established skin papillomas in mice. *Cancer Res* 1992;52:6657-65.
 30. Kundu JK, Na HK, Chun KS, Kim YK, Lee SJ, Lee SS, et al. Inhibition of phorbol ester-induced COX-2 expression by epigallocatechin gallate in mouse skin and cultured human mammary epithelial cells. *J Nutr* 2003;133(suppl): 3805S-10S.
 31. Huang MT, Ho CT, Wang ZY, Ferraro T, Finnegan-Olive T, Lou YR, et al. Inhibitory effect of topical application of a green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion in mouse skin. *Carcinogenesis* 1992;13:947-54.
 32. Katiyar SK, Mohan RR, Agarwal R, Mukhtar H. Protection against induction of mouse skin papillomas with low and high risk of conversion to malignancy by green tea polyphenols. *Carcinogenesis* 1997;18:497-502.
 33. Agarwal R, Katiyar SK, Zaidi SI, Mukhtar H. Inhibition of skin tumor promoter-caused induction of epidermal ornithine decarboxylase in SENCAR mice by polyphenolic fraction isolated from green tea and its individual epicatechin derivatives. *Cancer Res* 1992;52:3582-8.
 34. Vayalil PK, Elmets CA, Katiyar SK. Treatment of green tea polyphenols in hydrophilic cream prevents UVB-induced oxidation of lipids and proteins, depletion of antioxidant enzymes and phosphorylation of MAPK proteins in SKH-1 hairless mouse skin. *Carcinogenesis* 2003;24:927-36.
 35. Afaq F, Ahmad N, Mukhtar H. Suppression of UVB-induced phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor kappa B by green tea polyphenol in SKH-1 hairless mice. *Oncogene* 2003;22:9254-64.
 36. Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr* 2003;133(Suppl):3275S-84S.
 37. Lu YP, Lou YR, Xie JG, Peng QY, Liao J, Yang CS, et al. Topical applications of caffeine or (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) inhibit carcinogenesis and selectively increase apoptosis in UVB-induced skin tumors in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:12455-60.
 38. Dvorakova K, Dorr RT, Valcic S, Timmermann B, Alberts DS. Pharmacokinetics of the green tea derivative, EGCG, by the topical route of administration in mouse and human skin. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999;43:331-5.
 39. Stratton SP, Bangert JL, Alberts DS, Dorr RT. Dermal toxicity of topical (-) epigallocatechin-3-gallate in BALB/c and SKH1 mice. *Cancer Lett* 2000;158:47-52.
 40. Chung JH, Han JH, Hwang EJ, Seo JY, Cho KH, Kim KH, et al. Dual mechanisms of green tea extract (EGCG)-induced cell survival in human epidermal keratinocytes. *FASEB J* 2003;17:1913-5.
 41. Elmets CA, Singh D, Tubesing K, Matsui M, Katiyar S, Mukhtar H. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:425-32.
 42. Katiyar SK, Matsui MS, Elmets CA, Mukhtar H. Polyphenolic antioxidant (-)-epigallocatechin-3-gallate from green tea reduces UVB-induced inflammatory responses and infiltration of leukocytes in human skin. *Photochem Photobiol* 1999;69:148-53.
 43. Kostovic K, Pasic A. Phototherapy of psoriasis: review and update. *Acta Dermatovenerol Croat* 2004;12:42-50.
 44. Gasparro FP. The role of PUVA in the treatment of psoriasis: photobiology issues related to skin-cancer incidence. *Am J Clin Dermatol* 2000;1:337-48.
 45. Zhao JF, Zhang YJ, Jin XH, Athar M, Santella RM, Bickers DR, et al. Green tea protects against psoralen plus ultraviolet A-induced photochemical damage to skin. *J Invest Dermatol* 1999;113:1070-5.
 46. Bickers DR, Athar M. Novel approaches to chemoprevention of skin cancer. *J Dermatol* 2000;27:691-5.
 47. Kim SH, Kim SR, Lee HJ, Oh H, Ryu SY, Lee YS, et al. Apoptosis in growing hair follicles following gamma-irradiation and application for the evaluation of radioprotective agents. *In Vivo* 2003;17:211-4.
 48. Einspahr JG, Bowden GT, Alberts DS. Skin cancer chemoprevention: strategies to save our skin. *Recent Results Cancer Res* 2003;163:151-64; discussion 264-6.
 49. Linden KG, Carpenter PM, McLaren CE, Barr RJ, Hite P, Sun JD, et al. Chemoprevention of non-melanoma skin cancer: experience with a polyphenol from green tea. *Recent Results Cancer Res* 2003;163:165-71; discussion 264-6.
 50. Ahmad N, Feyes DK, Nieminen AL, Agarwal R, Mukhtar H. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1881-6.
 51. Ahmad N, Gupta S, Mukhtar H. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates nuclear factor kappaB in cancer cells versus normal cells. *Arch Biochem Biophys* 2000;376:338-46.
 52. Afaq F, Adhami VM, Ahmad N, Mukhtar H. Inhibition of ultraviolet B-mediated activation of nuclear factor kappaB in normal human epidermal keratinocytes by green tea Constituent (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Oncogene* 2003;22: 1035-44.
 53. Nomura M, Ma W, Chen N, Bode AM, Dong Z. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced NF-kappaB activation by tea polyphenols, (-)-epigallocatechin gallate and theaflavins. *Carcinogenesis* 2000;21:1885-90.
 54. Barthelman M, Bair WB III, Stickland KK, Chen W, Timmermann BN, Valcic S, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibition of ultraviolet B-induced AP-1 activity. *Carcinogenesis* 1998;19:2201-4.
 55. Owuor ED, Kong AN. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol* 2002;64:765-70.
 56. Chen W, Dong Z, Valcic S, Timmermann BN, Bowden GT. Inhibition of ultraviolet B-induced c-fos gene expression and p38 mitogen-activated protein kinase activation by (-)-epigallocatechin gallate in a human keratinocyte cell line. *Mol Carcinog* 1999;24:79-84.
 57. Hsu S, Lewis JB, Borke JL, Singh B, Dickinson DP, Caughman GB, et al. Chemopreventive effects of green tea polyphenols correlate with reversible induction of p57 expression. *Anticancer Res* 2001;21:3743-8.
 58. Chang TS, Kim MJ, Ryoo K, Park J, Eom SJ, Shim J, et al. p57KIP2 modulates stress-activated signaling by inhibiting c-Jun NH2-terminal kinase/stress-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2003;278:48092-8.
 59. Katiyar SK, Afaq F, Azizuddin K, Mukhtar H. Inhibition of UVB-induced oxidative stress-mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways in cultured human epidermal keratinocytes by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;176:110-7.
 60. Yamamoto T, Hsu S, Lewis J, Wataha J, Dickinson D, Singh B, et al. Green tea polyphenol causes differential oxidative environments in tumor versus normal epithelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;307:230-6.
 61. Soriani M, Rice-Evans C, Tyrrell RM. Modulation of the UVA activation of haem oxygenase, collagenase and cyclooxygenase gene expression by epigallocatechin in human skin cells. *FEBS Lett* 1998;439:253-7.
 62. Fu YC, Jin XP, Wei SM, Lin HF, Kacew S. Ultraviolet radiation and reactive oxygen generation as inducers of keratinocyte apoptosis: protective role of tea polyphenols. *J Toxicol Environ Health A* 2000;61:177-88.
 63. Fu YC, Jin XP, Wei SM. The effects on cell growth of tea polyphenols acting as a strong anti-peroxidant and an inhibitor of apoptosis in primary cultured rat skin cells. *Biomed Environ Sci* 2000;13:170-9.
 64. Balasubramanian S, Efimova T, Eckert RL. Green tea polyphenol stimulates a Ras, MEKK1, MEK3, and p38 cascade to increase activator protein 1 factor-dependent involucrin gene expression in normal human keratinocytes. *J Biol Chem* 2002;277:1828-36.
 65. Shaulian E, Karin M. AP-1 in cell proliferation and survival. *Oncogene* 2001;20:2390-400.
 66. Hsu S, Yu FS, Lewis J, Singh B, Borke J, Osaki T, et al. Induction of p57 is required for cell survival when exposed to green tea polyphenols. *Anticancer Res* 2002;22:4115-20.
 67. Wei H, Zhang X, Zhao JF, Wang ZY, Bickers D, Leibold M. Scavenging of hydrogen peroxide and inhibition of ultraviolet light-induced oxidative DNA damage by aqueous extracts from green and black teas. *Free Radic Biol Med* 1999;26: 1427-35.
 68. Katiyar SK, Perez A, Mukhtar H. Green tea polyphenol treatment to human skin prevents formation of ultraviolet light B-induced pyrimidine dimers in DNA. *Clin Cancer Res* 2000;6:3864-9.
 69. Katiyar SK, Afaq F, Perez A, Mukhtar H. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinogenesis* 2001;22:287-94.
 70. Katiyar SK, Challa A, McCormick TS, Cooper KD, Mukhtar H. Prevention of UVB-induced immunosuppression in mice by the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate may be associated with alterations in IL-10 and IL-12 production. *Carcinogenesis* 1999;20:2117-24.
 71. Katiyar SK, Bergamo BM, Vyalil PK, Elmets CA. Green tea polyphenols: DNA photodamage and photoimmunology. *J Photochem Photobiol B* 2001;65:109-14.
 72. Trompezinski S, Denis A, Schmitt D, Viac J. Comparative effects of polyphenols from green tea (EGCG) and soybean (genistein) on VEGF and IL-8 release from normal human keratinocytes stimulated with the proinflammatory cytokine TNFalpha. *Arch Dermatol Res* 2003;295:112-6.
 73. Katiyar SK, Rupp CO, Korman NJ, Agarwal R, Mukhtar H. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and other skin tumor-promoter-caused induction of epidermal interleukin-1 alpha mRNA and protein expression in SENCAR mice by green tea polyphenols. *J Invest Dermatol* 1995;105:394-8.
 74. Kim J, Hwang JS, Cho YK, Han Y, Jeon YJ, Yang KH. Protective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on UVA- and UVB induced skin damage. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14:11-9.
 75. Rutter K, Sell DR, Fraser N, Obrenovich M, Zito M, Starke-Reed P, et al. Green tea extract suppresses the age-related increase in collagen crosslinking and fluorescent products in C57BL/6 mice. *Int J Vitam Nutr Res* 2003;73:453-60.
 76. Bikle DD, Ng D, Tu CL, Oda Y, Xie Z. Calcium- and vitamin D-regulated keratinocyte differentiation. *Mol Cell Endocrinol* 2001;177:161-71.
 77. Bollag WB, Bollag RJ. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3), phospholipase D and protein kinase C in keratinocyte differentiation. *Mol Cell Endocrinol* 2001;177:173-82.
 78. Nickoloff BJ, Qin JZ, Chaturvedi V, Bacon P, Panella J, Denning MF. Life and death signaling pathways contributing to skin cancer. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2002;7:27-35.
 79. Lippens S, Kockx M, Knaepen M, Mortier L, Polakowska R, Verheijen A, et al. Epidermal differentiation does not involve the proapoptotic executioner caspases, but is associated with caspase-14 induction and processing. *Cell Death Differ* 2000;7:1218-24.
 80. Madson KC. Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis. *J Invest Dermatol* 2003;121:231-41.
 81. Ahmad M, Srinivasula SM, Hegde R, Mukattash R, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Identification and characterization of murine caspase-14, a new member of the caspase family. *Cancer Res* 1998;58:5201-5.
 82. Hu S, Snipas SJ, Vincenz C, Salvesen G, Dixit VM. Caspase-14 is a novel developmentally regulated protease. *J Biol Chem* 1998;273:29648-53.
 83. Van de Craen M, Van Loo G, Pype S, Van Criekeing W, Van der brande I, Molemans F, et al. Identification of a new caspase homologue: caspase-14. *Cell Death Differ* 1998;5:838-46.
 84. Pistritto G, Jost M, Srinivasula SM, Baffa R, Poyet JL, Kari C, et al. Expression and transcriptional regulation of caspase-14 in simple and complex epithelia. *Cell Death Differ* 2002;9:995-1006.

85. Eckhart L, Ban J, Fischer H, Tschachler E. Caspase-14: analysis of gene structure and mRNA expression during keratinocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;277: 655-9.
86. Rendl M, Ban J, Mrass P, Mayer C, Lengauer B, Eckhart L, et al. Caspase-14 expression by epidermal keratinocytes is regulated by retinoids in a differentiation-associated manner. *J Invest Dermatol* 2002;119:1150-5.
87. Lippens S, VandenBroecke C, Van Damme E, Tschachler E, Vandenaebelle P, Declercq W. Caspase 14 is expressed in the epidermis, the choroid plexus, the retinal pigment epithelium and thymic Hassall's bodies. *Cell Death Differ* 2003;10:257-9.
88. Hsu S, Yamamoto T, Borke J, Walsh DS, Singh B, Rao S, et al. Green tea polyphenol-induced epithelial cell terminal differentiation is associated with coordinated expression of p57/KIP2 and caspase 14. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;312: 884-90.
89. Walsh DS, Borke J, Singh B, Do N, Hsu S. Psoriatic epidermal cells are characterized by altered expression of caspase 14, a novel protease regulating keratinocyte terminal differentiation and barrier formation. *J Dermatol Sci* 2005;37:61-3.
90. Proniuk S, Liederer BM, Blanchard J. Preformulation study of epigallocatechin gallate, a promising antioxidant for topical skin cancer prevention. *J Pharm Sci* 2002;91:1111-6.
91. Batchelder RJ, Calder RJ, Thomas CP, Heard CM. In vitro transdermal delivery of the major catechins and caffeine from extract of *Camellia sinensis*. *Int J Pharm* 2004;283:45-51.