



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE EHRLİCH ASİT SOLİD TÜMÖRÜNDE
HYPERİCUM PERFORATUM'UN KARACİĞER DOKUSU
ADENOSİN DEAMİNAZ, SÜPEROKSİT DİSMUTAZ,
GLUTATYON PEROKSİDAZ VE KATALAZ ENZİM
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Veteriner Hekim Saadet Nur MUTLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Burcu Menekşe BALKAN**

BURDUR-2019

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE EHRİCH ASİT SOLİD TÜMÖRÜNDE
HYPERİCUM PERFORATUM'UN KARACİĞER DOKUSU
ADENOSİN DEAMİNAZ, SÜPEROKSİT DİSMUTAZ,
GLUTATYON PEROKSİDAZ VE KATALAZ ENZİM
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Veteriner Hekim Saadet Nur MUTLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Burcu Menekşe BALKAN**

Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0528-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

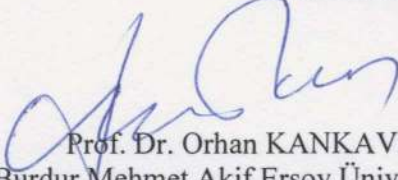
BURDUR-2019

KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ' NE

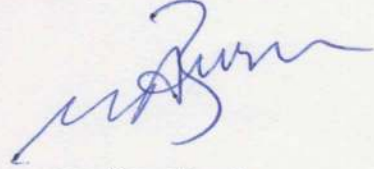
Saadet Nur MUTLU tarafından *Dr. Öğr. Üyesi Burcu Menekşe BALKAN* yönetiminde hazırlanan "*Farelerde Ehrlich Asit Solid Tümöründe Hypericum Perforatum'un Karaciğer Dokusu Adenozin Deaminaz, Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz ve Katalaz Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri*" başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Biyokimya Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 26/08/2019


Prof. Dr. Orhan KANKAVI
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Başkan



Prof. Dr.
Tevhide SEL
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Jüri



Dr. Öğr. Üyesi
Burcu Menekşe BALKAN
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu' nun **27/08 / 2019** Tarih ve **38** sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOYLU

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürü**



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her konuda destek veren, yardım ve tavsiyelerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Burcu Menekşe BALKAN'a, her konuda bana destek olan, kıymetli bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine, tezimin laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirmemde Hayvan Hastalıkları Tanı Teknolojileri Merkezi Laboratuvar altyapısını kullanmam konusunda desteklerinden dolayı Prof. Dr. Aynur BAŞALP'e, istatistik analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Şükrü GÜNGÖR'e, hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu aşamasında da desteklerini esirgemeyen aileme ve eşime teşekkürü bir borç bilirim.



ETİK BEYAN

“Farelerde Ehrlich Asit Solid Tümöründe Hypericum Perforatum’un Karaciğer Dokusu Adenozin Deaminaz, Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz ve Katalaz Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Dr. Öğr. Üyesi Burcu Menekşe BALKAN danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Saadet Nur MUTLU Tarih: 26.07.2019

İmza: 

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN SAYFASI	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TÜRKÇE ÖZET	ix
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	3
2.2. Antioksidanların Sınıflandırılması	4
2.2.1. Endojen Antioksidanlar	5
2.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	5
2.2.1.1.1. Süperoksit Dismutaz	5
2.2.1.1.2. Katalaz	6
2.2.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz	6
2.2.1.1.4. Glutasyon Redüktaz	7
2.2.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	7
2.2.1.2.1. Glutasyon	8
2.2.1.2.2. Melatonin	9
2.2.1.2.3. Ürik Asit	9
2.2.1.2.4. Bilirubin	10
2.2.1.2.5. Albumin	10
2.2.1.2.6. Koenzim Q10	10
2.2.1.2.7. α-Lipoik asit	10
2.2.1.2.8. Selenyum	11
2.2.1.2.9. Transferrin	11
2.2.1.2.10. Seruloplazmin	11
2.2.2. Eksojen Antioksidanlar	12
2.2.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar	12
2.2.2.1.1. Vitamin E	12
2.2.2.1.2. Vitamin C	13
2.2.2.1.3. β-karoten	13
2.2.2.1.4. Folik Asit	13
2.3. Adenozin Deaminaz (ADA)	14
2.3.1. ADA'nın Klinik Önemi	15
2.4. Hypericum Perforatum	17
2.4.1. H. Perforatum'un Kimyasal Bileşenleri	18
2.4.1.1. Naftodiantronlar	19
2.4.1.2. Flavonoidler	19
2.4.1.3. Lipofilik bileşikler	19

2.4.1.4. Ek bileşikler	20
2.4.2. H. Perforatum'un Farmakolojik Özellikleri	20
2.4.2.1. Anti-depresan Özellik	20
2.4.2.2. Anti bakteriyel ve anti viral özellik	21
2.4.2.3. Antikanser Özellik	22
2.4.2.4. Nöroprotektif Özellik	23
2.5. Kanser	24
2.5.1. Kanser ve Hypericum Perforatum	24
2.5.2. Kanser ve ADA	24
2.5.3. Kanser ve Oksidatif Stres	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Gereç	28
3.1.1. Deney Hayvanları	28
3.1.2. Meme Tümörü Oluşturulması	28
3.1.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	30
3.1.4. Kullanılan Cihazlar	31
3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi	33
3.2.2. Adenozin Deaminaz Ölçüm Metodu	33
3.2.3. Süperoksit Dismutaz Ölçüm Metodu	36
3.2.4. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Metodu	39
3.2.5. Katalaz Aktivitesi Ölçüm Metodu	42
3.2.6. Lowry Protein Ölçüm Metodu	44
3.2.7. Verilerin Analizinde Uygulanan İstatistik Yöntemler	47
4. BULGULAR	48
4.1. Farklı dozlarda H. perforatum uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularında GPx, CAT, SOD ve ADA enzim aktiviteleri	48
4.1.1. GPx enzim aktivitesi	48
4.1.2. CAT enzim aktivitesi	49
4.1.3. SOD enzim aktivitesi	50
4.1.4. ADA enzim aktivitesi	51
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	86

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	ADA enziminin metabolizması	15
Şekil 2.2.	Hypericum perforatum bitkisinin genel görüntüsü	17
Şekil 2.3.	Hypericum perforatum'un içerdiği kimyasal bileşikler	18
Şekil 2.4.	Hypericum perforatum'un depresyon tedavi mekanizması	21
Şekil 3.1.	Deneyssel meme tümörü oluşturulan farelerin görünümü	29
Şekil 3.2.	Lowry Protein Ölçüm Metoduna göre BSA ile hazırlanan Protein Standart Grafiği (ADA için)	45
Şekil 3.3.	Lowry Protein Ölçüm Metoduna göre BSA ile hazırlanan Protein Standart Grafiği (GPx ve CAT için)	46
Şekil 3.4.	Lowry Protein Ölçüm Metoduna göre BSA ile hazırlanan Protein Standart Grafiği (SOD için)	46
Şekil 4.1.	Farklı dozlarda H. perforatum uygulanan EAC oluşturulan farelerin karaciğer dokularındaki GPx aktivitesi	48
Şekil 4.2.	Farklı dozlarda H. perforatum uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularındaki CAT aktivitesi	49
Şekil 4.3.	Farklı dokularda H. perforatum uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularındaki SOD aktivitesi	50
Şekil 4.4.	Farklı dokularda H. perforatum uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularındaki ADA aktivitesi	51

TABLÖLAR

Tablo 2.1.	Antioksidanların sınıflandırılması- endojen antioksidanlar	4
Tablo 2.2.	Antioksidanların sınıflandırılması- eksojen antioksidanlar	12
Tablo 3.1.	Çalışmada oluşturulan deney grupları	30
Tablo 3.2.	Kullanılan cihazlar	31
Tablo 3.3.	Kullanılan kimyasal maddeler	32
Tablo 3.4.	ADA aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler	34
Tablo 3.5.	ADA aktivitesi ölçümü deney protokolü	35
Tablo 3.6.	SOD aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler	37
Tablo 3.7.	Reaktif karışımı	38
Tablo 3.8.	SOD aktivitesi ölçüm protokolü	38
Tablo 3.9.	GPx aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler	40
Tablo 3.10.	GPx aktivitesi ölçüm protokolü	41
Tablo 3.11.	CAT aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler	42
Tablo 3.12.	CAT aktivitesi ölçüm protokolü	43
Tablo 3.13.	Lowry protein ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler	44
Tablo 3.14.	Protein ölçüm yöntemi protokolü	45
Tablo 4.1.	Farklı dozlarda H.bperforatum uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularındaki GPx, CAT, SOD ve ADA enzim aktiviteleri ve istatistik değerlendirilmesi	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

(NH₄)₂SO₄	Amonyum sülfat
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
µmol	Mikromol
5HT	Serotonin
ADA	Adenozin deaminaz
AIDS	Edinilmiş immun yetmezlik sendromu
ATP	Adenozintrifosfat
BPO	Benzoil peroksit
BSA	Sığır albümini çözeltisi
BVDV	Sığır ishali virüsü
CAT	Katalaz
CNS	Merkezi sinir sistemi
COMT	Katekol O-metil transferaz
Cu	Bakır
CuCl₂.2H₂O	Bakır klorür
DA	Dopamin
dATP	Deoksiadenozintrifosfat
DHLA	Dihidrolipoik asit
dk	Dakika
DMBA	7,12 dimetilbenz(a)antrasen
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EAC	Ehrlich asit hücresi
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FAD	Flavin adenin dinükleotit
Fe	Demir
g	Gram
GCL	Glutamin-sisteinligaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSS	Glutasyon sentetaz
GSSG	Okside glutasyon
GST	Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
ICD	İmmunojenik hücre ölümü
IU	International ünite
kg	Kilogram
kHz	Kiloherz
L	Litre
LA	α-Lipoik asit
M	Molar
MAO	Monoamin oksidaz
MAOB	Monoamin oksidaz B

MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
mIU	Mili international ünite
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
Mn	Mangan
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
N	Normal
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
NaCl	Sodyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	Nitrobluetetrazolium
NE	Norepinefrin
Ni	Nikel
NK	Doğal öldürücü
nm	Nanometre
NO⁻	Nitrik oksit
°C	Santigrat
OD	Optik dansite
OH[•]	OH radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit
PDT	Fotodinamik terapi
RNS	Rektif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RPM	Dakikadaki devir sayısı
SCID	Ağır kombine immun yetmezlik
Se	Selenyum
Se-GPx	Selenyuma bağımlı glutatyon peroksidaz
sn	Saniye
SOD	Süperoksit dismutaz
XO	Ksantin oksidaz
Zn	Çinko

ÖZET

Farelerde Ehrlich Asit Solid Tümöründe *Hypericum Perforatum*'un Karaciğer Dokusu Adenozin Deaminaz, Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz ve Katalaz Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar hastalarda ciddi yan etkiler meydana getirmektedir. Bu sebeple kanseri tedavisinde kullanılabilecek, yan etkileri olmayan bitkisel kaynaklı ilaçların geliştirilmesi konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Organizmada oksidan ve antioksidan dengenin korunmasında GPx, SOD ve CAT başlıca antioksidan enzimlerdir. Meme kanserinde karsinojenik süreç ve bazı enzimlerin aktivasyonu arasında önemli bir ilişki olduğu, kanser doku ve hücrelerinde ise ADA aktivitesinin artabileceği ya da azalabileceği bildirilmiştir. Antioksidanların kanserden koruyucu etkinliği birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada ise kanser tedavisinde kullanımları antioksidan etkileri bilinen *H. Perforatum*'un sulu ekstratının meme kanseri oluşturulan farelerde, karaciğer dokusu antioksidan ve ADA enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada deney hayvanları, sağlıklı kontrol grubu (Grup 1, n=8), kanserli kontrol grubu (Grup 2, n=9), düşük doz *H. Perforatum* (grup 3, n=8), yüksek doz *H. Perforatum* (grup 4, n=11) ve Doksorubisin (Grup 5, n=12) uygulanan gruplar olmak üzere beş gruba ayrıldı. Grup 4'te karaciğer dokusu GPx aktivitesi, Grup 2, Grup 3 ve Grup 5'e göre arttı (p<0.05); karaciğer dokularındaki CAT aktivitesinin, Grup 4'te Grup 5'e göre arttı (p<0.05); SOD aktivitesinin Grup 1 ve Grup 2'de diğer gruplara göre arttı (p<0.05); ADA aktivitesi, Grup 2'de Grup 4'e göre arttı (P<0.05) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Adenozin deaminaz, Antioksidan Enzimler, *Hypericum perforatum*, Kanser

ABSTRACT

Effects of Hypericum Perforatum on Liver Tissue Adenosine Deaminase, Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase and Catalase Enzyme Activities in Ehrlich Acid Solid Tumor in Mice

Drugs used in cancer treatment have serious side effects in patients. For this reason, studies are being carried out on the development of herbal based drugs that can be used in the treatment of cancer without side effects. GPx, SOD and CAT are the major antioxidant enzymes, in the protection of oxidant and antioxidant balance in the organism. It has been reported that there is an important relationship between carcinogenic process and activation of some enzymes in breast cancer and ADA activity may increase or decrease in cancer tissues and cells. The aim of this study is to investigate the effects of aqueous extract of *H. perforatum* on liver tissue antioxidant and ADA enzyme activities in breast cancer-induced mice. In the study, mice divided into five groups; healthy control group (Group 1, n = 8), cancer control group (Group 2, n = 9), low-dose *H. Perforatum* (group 3, n = 8), high-dose *H. Perforatum* (group 4), n = 11) and doxorubicin (Group 5, n = 12). Liver tissue GPx activity increased in Group 4 compared to Group 2, Group 3 and, Group 5 ($p < 0.05$); liver tissue CAT activity increased in Group 4 compared to Group 5 ($p < 0.05$); SOD activity increased in Group 1 and Group 2 compared to other groups ($P < 0.05$); ADA activity increased in Group 2 compared to Group 4 ($P < 0.05$).

Keywords: Adenosine deaminase, Antioxidant enzymes, Cancer, *Hypericum perforatum*,

1. GİRİŞ

Kanser, günümüzde en çok ölümlle sonuçlanan hastalıkların başında gelmektedir. Bunun yanında, kansere yakalanan insan sayısı da her geçen gün artmaktadır. Meme kanseri ise dünya çapında kadınlarda en çok ölümlle sonuçlanan ikinci hastalıktır (Patnaik ve ark., 2011).

Meme kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlar hastalarda ciddi yan etkiler meydana getirmektedir (Guo-Shiou Liao ve ark., 2013). Bu sebeple meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek, yan etkileri olmayan birçok tıbbi bitkinin etkileri araştırılmaktadır. Bu sebeple mevcut farmakolojik çalışmalar moleküler hedeflere yönelik anti-kanser ilaçların geliştirilmesi üzerinde durmaktadır. Üretilen ilaçların yaklaşık %20'si geleneksel tıbbi bitkiler kullanılarak hazırlanmaktadır. Bu bitkilerden çok fazla sayıda bileşik izole edilmiştir. Bu bileşikler başta kanser olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların hazırlanmasında etken madde olarak kullanılmaktadır (Robinson ve Zhang, 2011; Rogers, 2005). *Hypericum perforatum* bir antioksidan ve nöro-protektif ajan olarak kanser, inflamatuvar bozukluklar, bakteriyel ve viral hastalıkların tedavisinde etkileri bilinmektedir (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Nahrstedt ve Butterwick, 1997).

Hücrelerde oluşturulan reaktif oksijen türleri (ROS), hücre için hem zararlı (toksik) hem de yararlı etkiler gösterebilmektedir. Önemli olan bu zıt etkiler arasındaki hassas dengenin ayarlanmasıdır. ROS'un düşük/orta konsantrasyonlardaki miktarı hücrelerde enfeksiyöz ajanlara karşı korumada, sinyal iletim yollarını biçimlendirmede ve mitojenik uyarılara karşı yanıtın başlatılmasında etkilidir. ROS'un aşırı üretilmesi sonucunda hücreler, üretilen fazla ROS'u yok edemez ve oksidatif stres adı verilen durum ortaya çıkar. Bu dengeyi bozan ROS, hücre membranlarına ve protein, lipid, lipoprotein, deoksiribonükleik asit (DNA) gibi diğer yapılara ciddi şekilde zarar verir. Hidroksil radikali ve peroksinitrit özellikle hücre membranlarına ve lipoproteinlere zarar verir (Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2004; Valko ve ark., 2007; Marnett, 2002). ROS'un meydana getirdiği bu zararlı etkiler antioksidanlar tarafından engellenmeye çalışılır. Bu dengenin korunmasında glutayon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) başlıca antioksidan enzimlerdir.

Meme kanserinde çeşitli enzimlerin rollerin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmış ve karsinojenik süreç ve bazı enzimlerin aktivasyonu arasında önemli bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (Aghaeia ve ark., 2005). Adenozin deaminaz (ADA), adenozinin deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Adenozin tarafından katalizlenen bu basamağın geri dönüşümsüz olması, adenozinin yıkılmasındaki hız sınırlayıcı basamağı oluşturur (Lizuka ve ark., 1981). Total ADA aktivitesi, çeşitli tümör gruplarında çalışılmıştır. Kanser doku ve hücrelerinde ADA aktivitesinin artabileceği ya da azalabileceği birçok çalışmada gösterilmiştir (Camici ve ark., 1990; Canbolat ve ark., 1996; Durak ve ark., 1994; Eroglu ve ark., 2000; Namiot ve ark., 1996; Sanphilipo ve ark., 1994; Sufrin ve ark., 1977; Sufrin ve ark., 1978; Ten Kate ve ark., 1984; Vannoni ve ark., 2004).

Antioksidanların kanserden koruyucu etkinliği birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada ise kanser tedavisinde kullanımları antioksidan etkileri bilinen *Hypericum perforatum*'un sulu ekstratının meme kanseri oluşturulan farelerde, karaciğer dokusu antioksidan ve ADA enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Metabolizma sonucu oluşan bazı reaktif oksijen türleri sebebiyle vücutta hasar oluşturma potansiyeline sahip olan oksijen, aynı zamanda insan yaşamı için büyük önem taşımaktadır (Diplock, 1998). Serbest radikaller, genellikle kararsız ve oldukça reaktif olan eşleşmemiş elektronlara sahip atomlar veya moleküllerdir (Finkel ve Holbrook, 2000).

Biyolojik sistemde, oksijen ve azot içeren radikaller olmak üzere iki tip serbest radikal bulunmaktadır. Süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerinin, hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve ozon gibi radikal olmayan bileşiklere eklenmesiyle, metabolizma sırasında ROS meydana gelir. (Apel ve Hirt, 2004). Reaktif nitrojen türleri (RNS) ise nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$), peroksinitrit ($\text{ONOO}^\cdot$) gibi bileşiklerdir (Freeman ve Crapo, 1982; Gutteridge, 1995; Halliwell, 1994).

Sahip oldukları kimyasal özelliklerle, ROS ve RNS, lipid peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçik kopmalarına neden olabilir, biyolojik zarlarda ve dokulardaki hemen hemen tüm molekülleri oksitleyebilir, sonuç olarak doku hasarına neden olabilir. Bununla birlikte, normal şartlarda ROS ve RNS belirli bir dereceye kadar tolere edildiğinden, fizyolojik koşullar altında her zaman için zararlı etki oluşturmaz (McCord, 2000; Mittler, 2002). Nitekim önemli fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirmek için vücutta belirli bir seviyede ROS gerekmektedir. ROS üretimi, sinyal iletim yolları, mikroorganizmalara karşı savunma ve büyüme ya da ölüm gibi hücrel fonksiyonların devamından sorumlu olan aerobik yaşamın doğal bir parçasıdır (Finkel, 2000).

Yüksek seviyelerde ROS ve oksidatif stres, nekrotik ve / veya apoptotik mekanizmalarla hücrel ve doku hasarı oluşturarak hücreyi ölüme götürür (Medina ve Moreno-Otero, 2005; Singal ve ark., 2011). Reaktif oksijen türlerinin normal seviyelerin üzerine çıktığı, yani oksidatif stresin meydana geldiği durumlarda ise

aerobik organizmalarda bu bileşikleri etkisizleştirmek için enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler geliştirmiştir. Enzimatik sistemlere örnek olarak SOD, CAT ve GPx gibi enzimler verilebilir (Fink ve Scandalios, 2002).

Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011.).

Tablo 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması- endojen antioksidanlar (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011.).

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR	
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR
Süperoksit Dismutaz (SOD) Glutasyon Peroksidaz (GPx) Katalaz (CAT) Glutasyon Redüktaz (GR) Ksantin Oksidaz (XO)	Glutasyon Melatonin Ürik Asit Bilirubin Koenzim Q10 Selenyum Transferrin α -lipoik asit Seruloplazmin

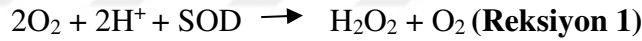
2.1.1. Endojen Antioksidanlar

2.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

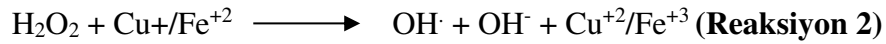
2.1.1.1.1. Süperoksit Dismutaz

HücreSEL ve ekstraselüler olmak üzere iki çeşidi bulunan süperoksit dizmutaz (SOD) enzimi reaktif oksijen türleriyle mücadele de ilk devreye giren enzimdir (Sen ve ark., 2010; Sen ve Chakraborty, 2011.). Vücutta en çok sitoplazmada CuZn- SOD formunda ve mitokondrilerde Mn-SOD olarak bulunur. Bunun yanında bakterilerde Fe-SOD (anaeorobik), Mn-SOD (aeorobik) enzimlerinin kullanıldığı sistemler bulunmaktadır. Streptomyces griseus bakterisinde Ni-SOD şeklinde izoenzimi bulunur (Baskin ve Salem, 1997).

SOD, mitokondride süperoksit radikali üzerinden etki ederek hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijen oluşumunu sağlar (**Reaksiyon 1**). Oluşan H_2O_2 'yi suya indirgemek üzere ise sonraki adımlarda CAT ve GPx gibi enzimler devreye girer (Kinnula ve Crapo, 2004).



Yapısında eşleşmemiş elektron bulundurmadığından radikal olarak nitelenmeyen H_2O_2 , bu özelliğiyle biyolojik moleküllerle reaksiyona girmez. Ancak Cu ve Fe iyonlarıyla birlikte Fenton reaksiyonu (**Reaksiyon 2**) sonucunda en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali ($OH^\cdot$) oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Cheung ve ark., 2001; Larson, 1988; Lasik ve ark. 2007).

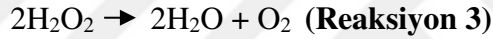


Fenton reaksiyonu

2.1.1.1.2. Katalaz

Katalaz (CAT), her bir alt birim, bir hem grubu ve bir nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) molekülü içeren dört protein alt birimden meydana gelir (Kirkman ve ark., 1987; Young ve Woodside, 2001). Yapısındaki NADPH molekülü CAT'ın yüzey kısmına yakın bölgede sıkı bir şekilde bağlı olarak bulunur (Zamocky ve Koller, 1999). CAT'ın temel fonksiyonu, SOD'un katalizlediği reaksiyon sonucu meydana gelen H₂O₂'yi su ve oksijene çevirerek zararlı radikallerin oluşumunu engellemektir (**Reaksiyon 3**). CAT hücrede mitokondri ve peroksizomlarda bulunur (Singh ve ark.,2009).

CAT, canlılardaki aerobik solunum yapan hücrelerde en yüksek düzeyde eritrositlerde ve karaciğerde bulunur. Bunun yanında beyin, kalp ve iskelet kaslarında ise düşük miktarda bulunmaktadır (Garewal, 1997).



2.1.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Hücrelerin sitoplazmasında yer alan Glutasyon Peroksidaz (GPx), her bir alt birimi bir selenyum atomu içeren dört protein alt biriminden oluşur. Başlıca koruyucu etkisi, H₂O₂'in suya indigenmesini sağlayarak OH[·] radikali meydana gelmesini engelleyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktır (Sen ve Chakraborty, 2011). GPx, glutasyon (GSH)'dan elektron alarak H₂O₂ ve lipid peroksitler ve DNA peroksitler gibi organik peroksitleri metabolize eder. GPx'in selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se- GPx) ve selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST) olmak üzere iki ana tipi bulunmaktadır. Se-GPx, aktif bölgesinde selenyum içerir ve H₂O₂ ve organik hiperoksitlerle reaksiyona girer. GST çoğunlukla organik hidroperoksitler üzerinde etki gösterir (Cnubben ve ark., 2001; Deaton ve Marlin, 2003; Guemouri ve ark., 1991; Halliwell, 1999; Reiter ve ark.,1995). Se-GPx ve GST'nin katalize ettiği reaksiyonlarda hidrojen vericisi olarak GSH kullanılır.

Bu reaksiyonlar sırasında H_2O_2 ve hidroperoksitler indirgenirken GSH okside olarak (Reiter ve ark.,1995) okside glutatyon (GSSG) meydana gelir (**Reaksiyon 4**). Reaksiyonun devamında ise GSSG, glutatyon redüktaz (GR) enzimi ile okside olarak redükte glutatyon formuna indirgenir. GR'nin katalizlediği bu reaksiyonda ise elektron vericisi olarak NADPH kullanılır (Sen ve Chakraborty, 2011; Reiter ve ark.,1995).



2.1.1.1.4. Glutatyon Redüktaz

GPx reaksiyonu ile meydana gelen GSSG'nin tekrar indirgenerek GSH oluşmasında glutatyon redüktaz enzimi rol oynar. Bu etkisiyle GR, hücre içi antioksidan metabolizmada dolaylı bir rol oynar (Meister, 1994).

GR yapısında flavin adenin dinükleotid (FAD) bulundurur. NADPH'tan aldığı elektronu GSSG'deki disülfid bağlarına vererek tekrar GSH oluşmasını sağlar. Bu reaksiyonun devamlılığı için çoğunlukla heksoz monofosfat yolundan sağlanan NADPH'lar kullanılır (**Reaksiyon 5**) (Özkan ve Fışkın, 2004; Sen ve ark., 2010).



2.2.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

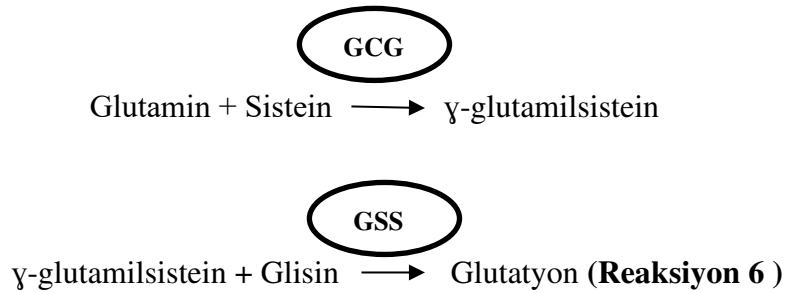
Glutatyon, selenyum, seruloplazmin, melatonin, bilirubin, ürik asit, α -lipoik asit, albümin, koenzim Q10 ve transferrin başlıca enzimatik olmayan antioksidanlardır. (Droge, 2002; Sen ve ark., 2010; Sen ve Chakraborty, 2011; Pham-Huy ve ark.,2008; Valko ve ark., 2007; Willcox ve ark.,2004).

2.2.1.2.1. Glutasyon

GSH birçok biyolojik süreçte rol oynayan, tripeptit yapısında bir moleküldür (Bannai ve Tateishi, 1986). Serbest oksijen radikallerinin zararsız hale getirmede bir antioksidan olarak etki eden GSH (Brezeninska-Slebozinska ve ark., 1995; Milne ve ark., 1993), aynı zamanda lenfositlerin aktivasyonunu sağlayarak bağışıklık sisteminin normal bir şekilde çalışması için de gereklidir (Li ve ark.,2007). Ksenobiyotikler gibi maddelerin zararlı etkilerinden korumak üzere karaciğer ve böbrek gibi organlarda yüksek düzeyde mevcuttur (Jewell ve O'Brien, 1999). GSH ayrıca, hücredeki redoks dengesinin sağlanmasında eikosonoidlerin sentezinde hücresel sinyal yollarının regülasyonunda, apoptotik hücre ölüm mekanizmasında etki gösterir (Townsend ve ark., 2003).

Başlıca olarak sitoplazmada bulunan GSH, bazı durumlarda mitokondri, çekirdek, endoplazmik retikulum ve peroksizomlar gibi organellerde bulunabilir (Green ve ark., 2006; Kalinina ve ark.,2014).

GSH, glutamin-sistein ligaz (GCL) ve glutasyon sentetaz (GSS) enzimlerinin etkisiyle glutamin, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenir (**Reaksiyon 6**) (Lagman ve ark., 2015; Pei ve ark.,2013).



2.2.1.2.2. Melatonin

Başlıca pineal bezden endojen olarak üretilen melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin) birçok dokuda da sentezlenir. Melatonin oluşumunda öncül madde triptofandır ve sentez özellikle karanlıkta meydana gelir (Hevia ve ark., 2014).

Melatoninin, protein, lipit, çekirdek ve mitokondriyal DNA'yı oksidatif hasardan koruma mekanizması serbest radikallerin etkilerini azaltmasıyla ilgilidir. Melatonin, reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller üzerinde süpürücü etki göstermesinin yanı sıra, bazı antioksidan enzimleri uyararak antioksidan savunmada rol oynar. γ -glutamilsistein sentetazı uyararak hücre içi GSH seviyesini artırdığı deneysel olarak gösterilen melatonin, aynı zamanda prooksidatif enzimlerden olan nitrik oksit sentaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe eder. Melatonin, oksidatif strese karşı en duyarlı yapı olan hücre membranlarının yapısını korur. Aynı zamanda, serbest radikal üretimini ve elektron kaçaklarının azaltılması amacıyla elektron taşıma sistemi üzerine etki eder (Reiter ve ark., 2006).

2.2.1.2.3. Ürik Asit

Oksijen radikallerini nötrleştirip, Fe ve Cu gibi metal iyonlarından şelatlar oluşturan ürik asit, total antioksidan kapasitenin neredeyse yarısını meydana getirir. Lipit peroksidasyonun önlenmesi, serbest radikal süpürücü etkisiyle antioksidan görev alır (Kumar ve ark., 2015; Waring, 2002).

İnsanda pürin yıkımında son basamakta hipoksantin, ksantin oksidoredüktaz enzimi ile ürik aside dönüştürülür. İnsanda pürin katabolizmasının son oksidasyon ürünüdür. Bu reaksiyon sırasında ROS üretimi meydana gelmektedir (Iliesiu ve ark., 2010).

2.2.1.2.4. Bilirubin

Yapısında hem ve globülin bulunan hemoglobin, eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkar. Hemoglobinin yıkımlanmasıyla ise hem ve protein yapısı birbirinden ayrılarak metabolize olurlar. Hem ise karaciğerde oksitlenerek bilirubine dönüşür. Bilirubin peroksil radikalleri üzerinde zincir kırıcı etki yaparak antioksidan özellik gösterir (Gutteridge, 2005).

2.2.1.2.5. Albumin

Kan plazmasının yaklaşık % 60'nı oluşturan albümin, serbest radikalleri tutarak güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Roche ve ark., 2008).

2.2.1.2.6. Koenzim Q10

Ubikinon ailesinin bir üyesi olan koenzim Q10, hücrelerde tirozin aminoasitinden sentezlenir. Lipofilik özellikte olan koenzim Q10, hücre membranları ve lipoproteinlerin yapısında bulunur. Koenzim Q10 oksidatif fosforilasyonda görev alan mitokondri iç zarında bulunan, elektron transport zincirinde görevli mitokondriyal enzim komplekslerinin yapısında kofaktör olarak etki eder. Bu şekilde oksidatif stresi azaltarak serbest radikallerin hücre ve dokular üzerinde meydana getirdiği zararlı etkileri engeller (Gürkan ve Bozdağ-Dündar, 2005).

2.2.1.2.7. α -Lipoik asit

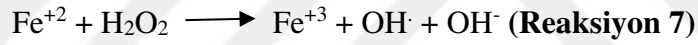
Hidroksil, peroksinitrit anyonu, hipokloröz asit ve singlet oksijeni üzerine süpürücü etkisi olan α -Lipoik asit (LA) ve bunlara ek olarak süperoksit ve peroksil radikallerini de süpüren α -lipoik asitin indirgenmiş formu dihidrolipoik asit (DHLA) güçlü antioksidan etkinlik gösterirler (Packer ve ark., 2001).

2.2.1.2.8. Selenyum

Selenyum yapısında bulunduğu antioksidan enzim olan GPx'in aktivitesini arttırarak ROS üretimini engelleyerek antioksidan etkinlik gösteren ve bağışıklığın düzenlenmesinde etkilere sahip olan bir elementtir. Antioksidan ve bağışıklık düzenleyici fonksiyona sahip temel bir elementtir (Kim ve ark.,2014).

2.2.1.2.9. Transferrin

Temel olarak kan serumunda ve az bir miktarda diğerk vücut sıvılarında bulunan transferrin esas olarak çoğalan hücrelerin gelişiminde gerekli olan demirin taşınmasında rol oynar (**Reaksiyon 7**). Serbest demir iyonları, fenton reaksiyonuna katılarak hidrojen peroksitten hücreler için zararlı hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olarak oksidatif stresi arttırır. Transferrin ise serbest demir iyonlarını bağlayarak, fenton reaksiyonlarının oluşumunu azaltarak antioksidan aktivite gösterir (Loeffler ve ark., 1995).



2.2.1.2.10. Seruloplazmin

Kandaki bakırın büyük bir çoğunluğunun taşınmasında görevli olan seruloplazmin birçok dokuda sentezlenir. Eritrositlerde bulunan poliansetüre yağ asitlerini oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı koruyarak antioksidan etkinlik gösterir (Sass-Kortsak, 1965).

Tablo 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması-Eksojen Antioksidanlar

EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
VİTAMİNLER	İLAÇ OLARAK KULLANILANLAR
α - Takoferol (Vitamin E) β - Karoten (Vitamin A) Askorbik asit (Vitamin C) Folik asit (Vitamin B)	Ksantin oksidaz inhibitörleri NADPH oksidaz inhibitörleri Rekombinant süperoksit dismutaz Trolox-C Mannitol Albümin Sitokinler Demir şelatörleri

2.1.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler ve ilaç olarak kullanılanlar şeklinde ikiye ayrılır.

2.1.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar

2.1.2.1.1. Vitamin E

Lipofilik özellikte olan vitamin E, yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. α , β , γ , δ tokoferol ve α , β , γ , δ tokotrienol olarak formları bulunan vitamin E'nin insanlarda en çok bulunan formu α -tokoferoldür. Temel olarak, lipid peroksidasyonunun engellenmesinde rol oynayan vitamin E, hücre membranlarında meydana gelebilecek serbest radikal hasarlarını engeller (Pham-Huy ve ark., 2008).

Vitamin E, peroksidasyon zincirinin kırılması amacıyla serbest radikal etkilerini giderir (Dündar ve Aslan, 1999). GPx ve α - tokoferol antioksidan savunma sisteminde yakın ilişki içerisinde. α -Tokoferol öncelikli olarak peroksitlerin üretilmesini baskımlarken, GPx ise meydana gelen peroksitleri yok eder (Aydın ve ark., 2001).

2.1.2.1.2. Vitamin C

Hidrofilik bir yapıya sahip olan vitamin C (Askorbik asit) aynı zamanda kollajen, karnitin ve nörotransmitter sentez reaksiyonlarında kullanılır (Li ve Schellhorn, 2007). Vitamin C, diğer antioksidanlar gibi ROS ve RNS türlerini temizler ve böylelikle oluşan oksidatif hasara karşı koruma sağlar. α -tokoferol hücre zarlarında meydana gelen oksidatif hasarı giderirken α -tokoferol radikalleri oluşur. Vitamin C ise oluşan bu radikallerden tekrar α -tokoferol oluşumunu destekleyerek, α - tokoferol'un devamlılığında önemli rol oynar (Carr ve Frei, 1999). Ancak bahsedilen bu antioksidan etkilerinin yanında vitamin C Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye dönüşümünü sağlayarak, lipid peroksidasyonunu artırır ve oksidan bir özellik gösterir (Dündar ve Aslan, 1999).

2.1.2.1.3. β -karoten

Karotenoidler grubunda bulunan β -karoten, yağda çözünen bir özellik gösterir. Provitamin olarak bulunan β -karoten, aktif formu olan vitamin A'ya dönüşür. Karanlıkta görme mekanizmasında retinada retinole dönüştürülen β -karoten güçlü bir antioksidan ve oksijen radikali süpürücüsüdür (Pham-Huy ve ark., 2008).

2.1.2.1.4. Folik Asit

B grubu vitamini olan folik asit (pteroilglutamik asit, vitamin B9 ya da vitamin M) DNA sentezi ve eritrosit üretiminde kullanılır. Normal fertilitenin devamı, gebelik ve büyüme dönemindeki çocuklarda hücre bölünmesinde yer alır (Hussein ve ark., 2012). Folik asit'in antioksidan etkinliği ROS'u süpürücü etkisiyle ilişkilidir (Ebaid ve ark., 2013). Folik asit, hem plazma homosistein seviyesinin azalmasında hem de antioksidan vitaminlerle (vitamin C ve E) birlikte homosisteinle oluşan oksidatif hasarın önlenmesinde rol oynar (Title ve ark., 2000).

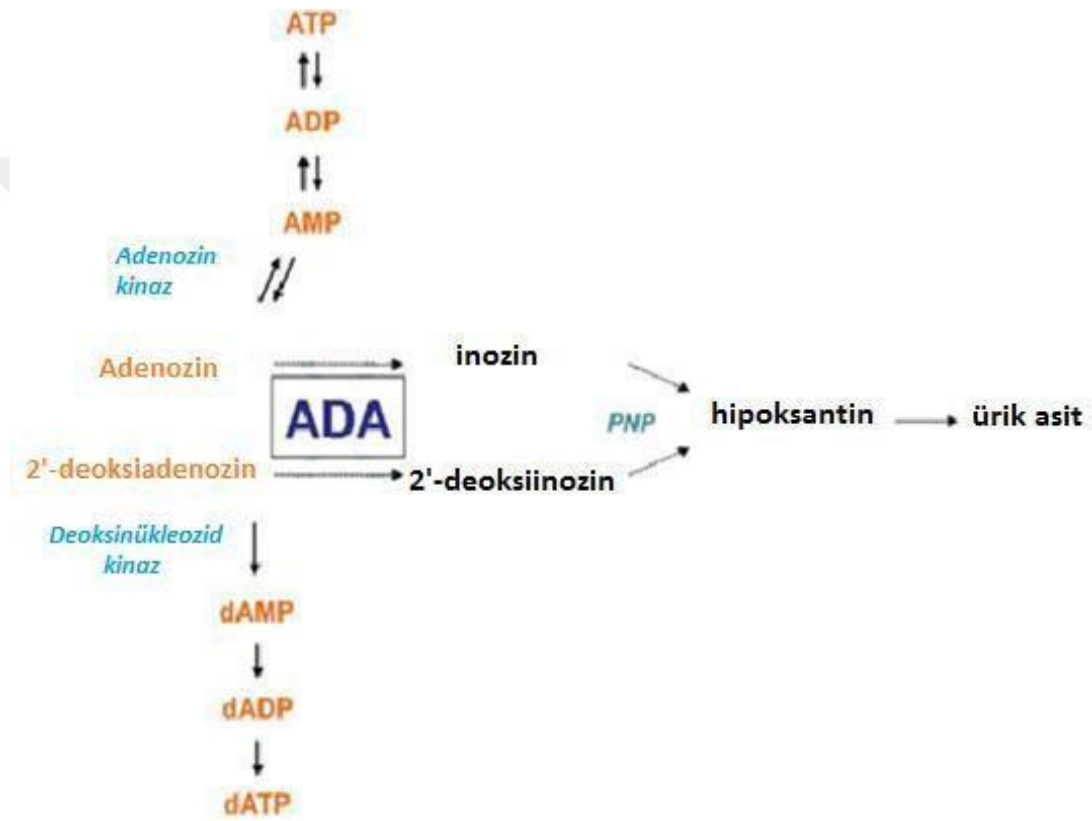
23. Adenozin Deaminaz (ADA)

ADA (EC 3.5.4.4), adenosin veya deoksiadenozinin deaminasyonunu katalize eden bir enzimdir. Adenosin, ADA tarafından inosine dönüştürülür. Bu reaksiyon, geri dönüşümsüz olmasına bağlı olarak adenozinin yıkımlanmasında hız sınırlayıcı adımlardan biridir (Gakis, 1996).

İnsan dokularında ADA1 ve ADA2 olmak üzere iki ADA izoenzimi vardır (Ratech ve ark., 1988; Stancikova ve ark., 1998). ADA1 tüm insan dokularında bulunur ve ADA aktivitesinin büyük bir kısmından sorumludur. Bununla birlikte, insan hücrelerinin çoğu çok az miktarda ADA2 içerir ve ana kaynağının monosit-makrofaj hücre sistemidir (Gakis, 1996).

ADA, purin metabolizmasında merkezi bir rol oynayan, monomerik bir enzimdir (He ve ark., 2015; Kutryb-Zajac ve ark., 2016). ADA fonksiyonuna ilgi, kalıtsal immün yetmezliklerin yaklaşık % 15'inin, bu proteinin fonksiyon kaybına neden olan ADA genindeki mutasyonlardan kaynaklandığının keşfinden sonra artmıştır (Buckley, 2004). Bu düzensizlikler T, B ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin işlevsizliği ve ciddi lenfopeni ile karakterize ağır kombine immün yetmezlik (SCID) olarak bilinir. ADA aktivitesinin yokluğu, olgunlaşmamış timositlerde apoptozise yol açan lenfotoksik deoksiadenozin trifosfat birikimine neden olur (Buckley, 2004; Shaw ve ark., 2017; Turel ve ark., 2017). ADA doğal protein stabilitesi ve katalitik fonksiyonu için yapısında Zn^{2+} içerir (Bottari ve ark., 2014; Cooper ve ark., 1997; Grosskopf ve ark., 2017; Khare ve ark., 2012; Kinoshita ve ark., 2005; Niu ve ark., 2010; Wang ve Quirocho, 1998; Wilson ve ark., 1991). ADA, birçok insan dokusunda lokalize olan ve yüksek seviyelerin lenfoid sistemde (lenf düğümleri, dalak ve timus) bulunan sitozolik bir enzimdir (Beyazıt ve ark., 2012; Maiuolo ve ark., 2016).

ADA'nın aynı zamanda lenfositler dışında dendritik hücreler (Casanova ve ark., 2012; Desrosiers ve ark., 2007; Pacheco ve ark., 2005), eritrositler (Da Silva ve ark.,2013), endotel ve epitel hücreleri (Eltzschig ve ark., 2006; Ginés ve ark.,2002), fibroblastlar (Torvinen ve ark.,2002), trombositler (Souza ve ark., 2012) ve nöronlar (Hawryluk ve ark., 2012; Ruiz ve ark., 2000) gibi çeşitli hücre tiplerinin yüzeyinde ekto-enzim olarak da ifade edilebileceği gösterilmiştir (Blackburn ve Kellems, 2005; Martín ve ark., 1995).



Şekil 2.1. ADA enziminin metabolizması (Torğutalp, 2015)

2.3.1. ADA'nın Klinik Önemi

ADA, T lenfosit aktivasyonunun bir belirteci olarak bilinir. Tüberkülozla ilişkili enfeksiyonlarda ADA seviyelerinin arttığı bulunmuştur. Klinik pratikte, sıklıkla tüberküloz için % 90-100 duyarlılık ve % 89-100 özgüllük ile invazif olmayan bir tanı testi olarak kabul edilir (Gupta ve ark.,2010).

Ek olarak, bazı çalışmalarda ADA aktivitelerinin bazı malignitelerin hem tanısında hem de izlenmesinde faydalı olabileceği gösterilmiştir (Aghaei ve ark.,2005; Buyukberber ve ark., 2006; Eroglu ve ark., 2000).

ADA'nın hücresel immünite belirteci olabileceği hipotezi ile yapılan bazı çalışmalarda; romatoid artrit (Sarı ve ark., 2003), still hastalığı (Xun ve ark., 2012), sistemik lupus eritematozus (Hitoglou ve ark., 2001; Saghiri ve ark., 2012), crohn hastalığı (Maor ve ark., 2011) ve ülseratif kolit (Beyazıt ve ark., 2012) gibi inflamatuvar hastalıklarda, hastalık aktivasyonu ile ADA düzeyi arasında ilişki bulunmuştur.

Bu hastalıkların yanında viral hepatitlerde de ADA düzeyinin artmış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Viral hepatitlerde viremi ile beraber T hücre cevabının oluştuğu gösterilmiştir (Thimme ve ark., 2002). Buna ek olarak, ADA düzeyinin viral hepatitlerde yüksek saptandığı ve hastalığın seyri sırasında karaciğerin durumunu değerlendirmede ve takipte önemli bir parametre olabileceği gösterilmiştir (Kaya ve ark., 2007; Umaramani ve ark., 2012).

24. *Hypericum Perforatum*

Dünyada 465 tür içeren *Hypericum L.* (Guttiferae / Clusiaceae / Hypericaceae) türü, potansiyel tıbbi değere sahip geniş bir bitki familyasıdır (Nogueira ve ark., 2008; Robson, 1977; Robson, 2006). Bununla birlikte, *Hypericum perforatum*, ağırlıklı olarak depresyon tedavisinde kullanımından dolayı içindeki etken maddeler araştırılmıştır. Yaygın olarak St. John's wort, sarı kantaron, binbir delik otu olarak bilinir (Robson, 1977). Asya ve Avrupa'ya özgü geleneksel birçok yıllık bir bitkidir (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Nahrstedt ve Butterwick, 1997).



Şekil 2.2. *Hypericum perforatum* bitkisinin genel görünümü (Üstün, 1998)

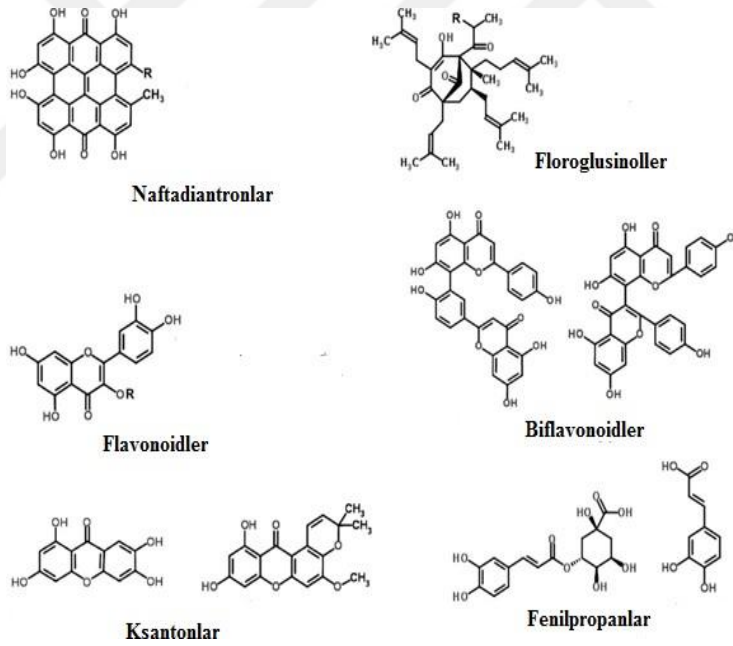
Hypericum perforatum'un çeşitli iç ve dış rahatsızlıkları tedavi etmek için bitkisel bir ilaç olarak kullanılması eski Yunanlıların zamanına kadar uzanmaktadır. O zamandan beri anksiyete, enfeksiyon ve yara iyileşmesi için popüler bir tedavi olarak kalmıştır (Nahrstedt ve Butterwick, 1997; Wagner ve Bladt, 1994; Zdunek ve Alfermann, 1992).

Hypericum perforatum üzerine yapılan araştırmaların çoğunluğu anti-depresan olarak kullanımı üzerine kurulmuştur ve bu nedenle en çok kullanılan bitki takviyeleri arasına girmiştir (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Erdelmeier, 1998). Ticari olarak bulunan bitki ekstraktları standart formülasyona göre hazırlanır. *Hypericum perforatum* özellikle anti- inflamatuvar ve anti-mikrobik özelliklerinden dolayı araştırmacıların dikkatini çekmektedir (Erdelmeier, 1998; Hudson ve ark., 1991).

Yapılan araştırma sonuçlarına göre kanser, inflamatuvar bozukluklar, bakteriyel ve viral hastalıkların tedavisinde *Hypericum perforatum* bir antioksidan ve nöro-protektif ajan olarak kullanılmaktadır (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Nahrstedt ve Butterwick, 1997).

2.4.1. *Hypericum Perforatum*'un Kimyasal Bileşenleri

Kimyasal araştırmalarda *Hypericum Perforatum*'da yapısında, naftodiantronlar, floglölüsinooller ve flavonoidler (fenilpropanlar, flavonol glikozitler ve biflavonlar gibi) ve uçucu yağlar bulunur (Barnes ve ark., 2001; Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Der Marderosian ve Beutler, 2002; Reuter, 1998). Bu bileşenlerden iki ana aktif bileşen belirlenmiştir. Bunlar; hiperisin (bir naftodianthron) ve hiperforin (bir floriglukinol)'dir.



Şekil 2.3. *Hypericum perforatum*'un içerdiği kimyasal bileşikler (Bruni ve Sacchetti, 2009; Guedes ve ark., 2012; Tatsis ve ark., 2007)

2.4.1.1. Naftodiantronlar

Hypericum perforatum'dan elde edilen bileşikler içerisinde en çok araştırılan naftodiantronlardır (Grainger Bisset ve Wichtl, 2001; Greeson ve ark., 2001; Robbers ve Tyler, 1999). Bunlar arasında hiperisin, psödohiperisin, izofizperin ve protohiperisin bulunur (Barnes ve ark. 2001; Der Marderosian ve Beutler, 2002). Hiperisin, çiçeklerin içinde, yapraklar boyunca bulunan siyah beyaz noktalar şeklindedir. Hiperisin, kimyasal yapısı nedeniyle oldukça fotoreaktiftir. Hiperisin, kanser fotodinamik tedavisi için ümit verici bir madde olarak (Dudek-Peri ve ark., 2015; Garg ve ark., 2010; Garg ve ark., 2012) ve bir tip II immünojenik hücre ölümü (ICD) indükleyicisi (Krysko ve ark., 2013) olarak kabul edilir.

Ek olarak, hiperisin, Alzheimer hastalığının tedavisinde β -amiloid fibril oluşumunun bir inhibitörü olarak da işlev görebilir (Bramanti ve ark., 2010; Sgarbossa ve ark., 2008).

2.4.1.2. Flavonoidler

Hypericum perforatum'daki flavonoidlerin, % 7'si saplarda, % 12'si çiçeklerde (Der Marderosian ve Beutler, 2002) ve yapraklarda (Greeson ve ark., 2001) bulunmaktadır. Flavonoidler arasında, biyogenetik olarak ilişkili olan flavonoller (kaempferol, kersetin), flavonlar (luteolin), glikozitler (hipersid, izokerkitrin ve rutin), biflavonlar (biapigenin), amentoflavon, mysetin, hiperin, oligomerik proantosiyadinler ve miquelianin bulunur (Barnes ve ark., 2001; Robbers ve Tyler, 1999).

2.4.1.3. Lipofilik bileşikler

Hypericum perforatum ekstraktları, floroglukinol türevleri ve yağlar dahil olmak üzere, terapötik değere sahip çeşitli lipofilik bileşikler sınıfları içerir. Bunlarda bir floroglukiniol olan hiperforin (%24.5) (Chatterjee ve ark., 1998; Robbers ve Tyler, 1999) hem ışık hem de oksijen varlığında kararsız bir maddedir (Barnes ve ark., 2001; Der Marderosian ve Beutler, 2002; Greeson ve ark., 2001; Hahn, 1992). Bunun

yanında floglobulinoller, adhiperforin (% 0.2, % 1.9), furohipperforin ve diğer hiperforin analoglarını içerir (Hostanska ve ark., 2003). Esansiyel yağlar ise %0,05-%0,9 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur (Hahn, 1992). Bunlar ise ana olarak özellikle 2-metiloktan, nonan, α ve β -pinen, α terpineol, geranil ve eser miktarda mikren, limonen ve karyofilenden içeren mono ve sesquiterpenlerden oluşmaktadır (Hahn, 1992; Reuter, 1998).

2.4.1.4. Ek bileşikler

Hypericum perforatum'un yapısında ayrıca tanenler (% 3-16 arasında değişen), ksantonlar (1.28 mg / 100g), fenolik bileşikler (kafeik asit, klorojenik asit ve pcoumaric asit) ve bileşik asitler (nikotik, miristik, palmitik ve stearik), karotenoidler, kolin, pektin, hidrokarbonlar ve uzun zincirli alkoller bulunur (Der Marderosian ve Beutler, 2002).

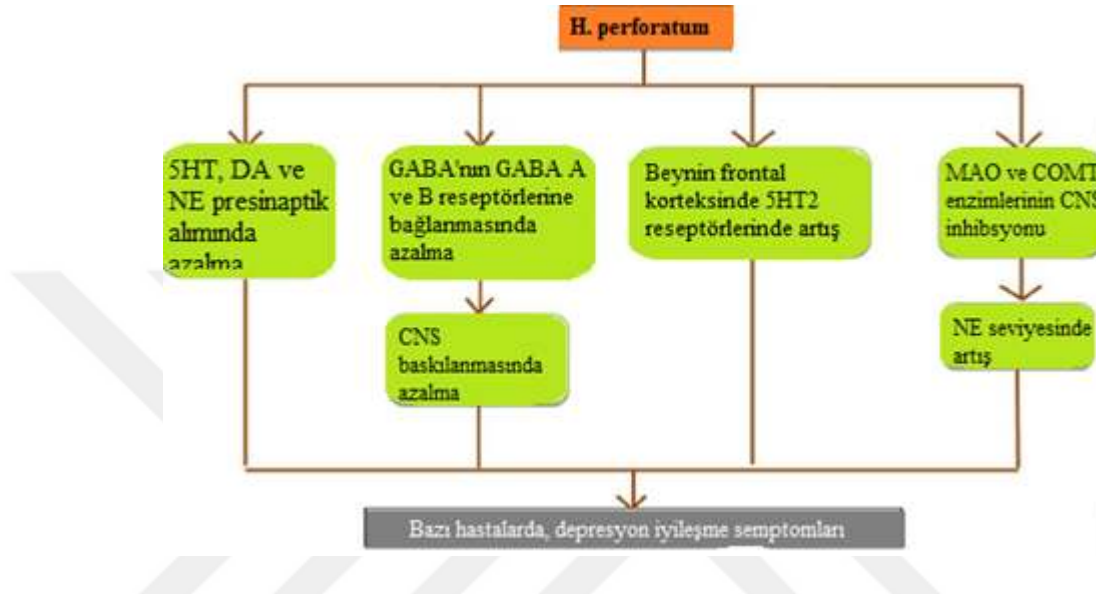
2.4.2. *Hypericum Perforatum*'un Farmakolojik Özellikleri

2.4.2.1. Anti-depresan Özellik

Hypericum perforatum'un sahip olduğu siklopedikondipiperisin, hiperisin, hiperforin, izohidperisin, protohiperisin, psödohiperisin ve bazı flavonoidler'in (Butterweck, 2003; Ebadi, 2007.) *Hypericum perforatum*'un anti-depresan özelliklerine farklı seviyelerde katkı sağladığı bilinmektedir (Butterweck, 2003).

Hypericum perforatum'un anti-depresan etkisi birbirine bağlı nöronların sinaptik yarıklarından serotonin (5HT), dopamin (DA) ve norepinefrinin (NE) alımının inhibe etmesiyle ilişkilidir (Chatterjee ve ark., 1998; Neary ve Bu, 1999). Diğer bir mekanizma ise *Hypericum perforatum*'un GABA'nın nöroinhibitör etkili reseptör olan GABA A ve GABA B reseptörlerine bağlanmasını engellemesiyle ilgilidir (Baureithel ve ark., 1997; Simmen ve ark., 2001) GABA ligand bağlamasındaki bu azalma, merkezi sinir sistemi (CNS) depresyonuyla sonuçlanır. Üçüncü bir mekanizma, beynin frontal korteksindeki 5HT2 reseptörlerinin sayısındaki veya yoğunluğundaki artışı ile ilgilidir. Bu artış ise depresyon tedavisinde etkilidir (Muller ve ark., 1997).

Hypericum perforatum'un etkisiyle ilgili diğer mekanizmalar ise monoamin oksidaz (MAO) katekol O-metil transferaz (COMT) enzimlerinin aktivitesini engellenmesidir (Muller ve ark., 1997; Thiede ve ark., 1994). Merkezi sinir sisteminin enzimlerinden olan MAO ve COMT, dopaminin norepinefrine metabolize olmasını sağlar (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. *Hypericum perforatum*'un depresyon tedavi mekanizması (Muller ve ark., 1997; Thiede ve Walper, 1994)

2.4.2.2. Anti bakteriyel ve anti viral özellik

Hypericum perforatum ekstraktlarıyla tedavisinde çok uzun yılladır kullanılmaktadır. Bunun yanında antiinflamatuvar ve anti bakteriyel etkileri de bulunmaktadır. Anti bakteriyel etkinlikten ana olarak sorumlu olan bileşik hiperforin, özellikle Gram pozitif bakteriler için etkili olmakla birlikte gram negatif bakteriler üzerinde de etki göstermektedir (Bystrov ve ark., 1975).

Flavonoid ve kateşin içeren *Hypericum perforatum*'un influenza virüsüne karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Mishenkova ve ark., 1975). İnsan kanında mevcut olan bazı zarflı virüsün inaktivasyonunda ve Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu (AIDS) tedavisinde hiperisinin etkinliği bildirilmiştir (Holden, 1991; Meruelo, 1993). Ayrıca Hepatit B ve C (HBV ve HCV) virüsünün in vitro olarak hiperisin tarafından çoğalmasının engellendiği gösterilmiş (Muller ve ark., 1997; Thiede ve Walper, 1994),

ancak yapılan doz çalışmasında hiperisinin hepatit C virüsüne karşı etkisiz kaldığı tespit edilmiştir (Jacobson ve ark., 2001).

Hypericum perforatum ekstraktında bulunan izokuarsetrinin, MDCK hücrelerinde H1N1 influenza virüs replikasyonunu inhibe edebildiğini bildirilmiştir. *Hypericum*'un anti-viral aktivitesine ilişkin çalışmaların çoğu, in vitro ve sınırlı sayıdaki hayvan çalışmalarında elde edilmiş, insanlarda yapılan klinik araştırmalarda ise çok az etki gösterdiği veya hiç etkili olmadığı bildirilmiştir. Bunun yanında diğer virüsler üzerine yapılan çalışmalarda, hiperisinin in vitro olarak sığır ishali virüsünü (BVDV) inaktive ettiği gösterilmiştir (Prince ve ark., 2000).

2.4.2.3. Antikanser Özellik

Hiperforin ve hiperisin antikanser özellikleri açısından incelenmiştir. Hiperforin, in vitro tümör hücre büyümesini inhibe eder (Schempp ve ark., 2002). Hiperisin, beyaz ışık ya da ultraviyole ışığı ile fotoaktif hale getirilmiş formunda kutanöz T hücrelerinde ve lenfoma T hücrelerinde neredeyse tamamen apoptozu (%94) indükleyebilmektedir (Fox ve ark., 1998).

Dikkat edilmesi gereken bir hususta, tek başına hiperisin kanserli hücre büyümesinde zayıf bir inhibitör etkiye sahipken, *Hypericum perforatum*'un metanolik ekstraktı, hücre büyümesi inhibisyonuna neden olarak apoptozu indükler ve fototoksititeyi azaltır (Roschetti ve ark., 2004; Schmitt ve ark., 2006). Anti-kanser ajanlar olarak hiperforin ve hiperisinin umut verici sonuçlarını ele alındığında etki mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur. Çalışmalar sonucunda ise memeli hücrelerinde kaspazların aktivasyonu yoluyla apoptozu arttırdığı görülmüştür. Hiperisin, fotodinamik özellikleri sayesinde oksijen ve ışığın varlığında güçlü bir doğal fotosensitizer görevi görür. Peroksit veya hidroksil radikallerini oluşturan süperoksit radikallerini ve singlet oksijen molekülleri üreterek tümör hücrelerinin ölümüne yol açtığından fotodinamik terapide (PDT) kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Agostinis ve ark., 2002).

2.4.2.4. Nöroprotektif Özellik

Hypericum perforatum, farelerde MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) ile oluşturulan Parkinson hastalığı modelinde nöroprotektif etki göstermiştir (Mohanasundari ve Sabesan, 2007). Yine benzer çalışmada farelerde *Hypericum perforatum* ekstraktı, MAOB (monoamin oksidaz B) aktivitesinin inhibisyonuna ve astrosit aktivasyonunun azalmasına neden olmuştur. *Hypericum perforatum*'un yapısında bulunan flavonollerden olan quercetin ve kaempferol, mitokondriyal lipid zarının oksidasyonunu azaltarak ve mitokondriyal transmembran potansiyelini sürdürerek nöroprotektif etki sağlar (Silva ve ark., 2008). Mitokondrinin kalsiyum geçirgenliğini azaltırlar. *Hypericum perforatum* ekstraktları, Alzheimer hastalığında beyinde plakalar oluşturan amiloid P peptidlerinin (Abeta) neden olduğu hücre ölümüne karşı korurlar. Hiperisin ayrıca Alzheimer hastalığının başlangıcından sorumlu olan beta-amiloid peptidinin polimerizasyon aşamasına etki edebilir (Griffith ve ark., 2010).

25. Kanser

Kanser, günümüzde en çok ölümlle sonuçlanan hastalıkların başında gelmektedir. Bunun yanında, kansere yakalanan insan sayısı da her geçen gün artmaktadır. Meme kanseri ise dünya çapında kadınlarda en çok ölümlle sonuçlanan ikinci hastalıktır (Patnaik ve ark., 2011). Meme kanserinde çeşitli enzimlerin rollerin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmış ve karsinojenik süreç ve bazı enzimlerin aktivasyonu arasında önemli bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (Aghaeia ve ark., 2005).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, bitki ekstraktlarından elde edilen etken maddelerden bazıları, meme kanseri tedavisinde klinik kullanım alanı bulmuştur (El-Sayed ve Cordell, 1981; El-Sayed ve ark., 1983; Leveque ve Jehl, 1996; Wall ve Wani, 1995).

2.5.1. Kanser ve *Hypericum Perforatum*

Hiperforin ve hiperisin antikanser özellikleri açısından incelendiğinde, hiperforinin in vitro tümör hücre büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Schempp ve ark., 2002). Hiperisin ayrıca gliom, nöroblastoma, adenom, mezotelyoma, melanom, karsinoma, sarkom ve lösemi gibi çeşitli neoplastik dokularda hücrelerin büyümesini engeller (Fox ve ark., 1998). Tümör hücrelerinde hiperisinle birlikte lazer uygulamaları, insan prostat kanseri hücrelerinde (Colasanti ve ark., 2000), insan mesane karsinom hücrelerinde (Kamuhabwa ve ark., 2000) ve pankreatik kanser hücrelerinde (Liu ve ark., 2000) toksik etkilere neden olduğu bildirilmektedir.

2.5.2. Kanser ve ADA

Kanser oluşumu incelendiğinde pürin ve pirimidin metabolizması büyük önem taşımaktadır. Pürin ve pirimidin metabolizmasında ve bu metabolizmalarda yer alan enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikler kanser çalışmalarında incelenmektedir. Genel görüş kanserli hücrede pürin-pirimidin metabolizmasında de-novo sentaz ve salvaj ara yolunda görev alan enzim aktivitelerinin arttığı, yıkım yolu enzim aktivitelerinin ise azaldığı yönündedir (Camici ve ark., 1990; Koizumi ve ark., 1983;

Natsumeda ve ark., 1985; Sufrin ve ark., 1978; Weber ve ark., 1981).

Kanser hücrelerinde DNA turn-over'inin çok yüksek olması, salvaj ara yoluna gerekli olan substratların çok fazla miktarda oluşmasına yol açar. Gerçekten kanser hücrelerinde metabolik yolda görev alan enzimlerin aktivitelerinin de büyük oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu ara yolda görev alan enzimlerin en önemlilerinden biri ADA'dır. (Durak ve ark., 1994; Durak ve ark., 1996).

ADA özellikle adenozin yıkımında rol aldığı ve salvaj yoluna substrat sağladığı için bazı yazarlar tarafından pürin salvaj yolu enzimi olarak düşünülmüştür. Özellikle hücre siklusu hızlanmış olan kanser hücrelerinin DNA sentezi için normal hücreye göre daha fazla nükleotide ihtiyaç vardır. Pürin nükleotidlerinin yeniden elde edilmesinde ise en avantajlı yol pürinlerin salvaj yoludur. Kanser hücrelerinde bu yolu kontrol eden esas enzim olan hipoksantin-guanin fosforibosil transferaz enziminin yanı sıra 5'nükleotidaz ve ADA'nın aktivitesinin normale göre arttığı birçok araştırmada gösterilmiştir. Buna karşılık bazı araştırmacılar ise ADA'yı yıkım yolunun bir enzimi olarak değerlendirmektedir. Kanser hücrelerinde pürin yıkım yolunun baskılanıp salvaj yolunun arttırılması çok karakteristik davranıştır. Değişik kanser türlerinde ADA aktivitesini düşük olarak bulan araştırmacılar ise bu durumu yıkım yolunun baskılanması çabasına bir örnek olarak değerlendirmişlerdir (Durak ve ark., 1993).

Bunun yanı sıra ADA özellikle kanser kemoterapisi açısından da önemli bir enzimdir. Bir kemoterapötik ajan olan ve ADA'yı inhibe eden deoksiformisin kullanıldığında kanser hücrelerinin bu durumdan etkilendiği gözlenmiştir (Bemi ve ark., 1998).

ADA'nın deoksiformisin ile inhibisyonu durumunda ortamda biriken molekül ADA'nın substratı olan adenzindir. Artan adenozin özellikle hücre içerisinde adenozin trifosfat (ATP) ve deoksiadenozin trifosfat'a (dATP) çevrilmektedir. Artan dATP düzeyleri ise hücre içerisinde çok önemli yere sahip olan ve nükleotidlerin deoksi formunu katalizleyen ribonükleotid redüktazı inhibe etmektedir. Bu olay da doğrudan DNA sentezini etkilemektedir.

ADA inhibisyonuna bağlı olarak artan adenosin ayrıca s-adenozil hidrolaz enzimini bloke etmekte ve bu durumdan hücresel metilasyon reaksiyonları etkilenmektedir. Bahsedilen bu iki mekanizma özellikle hücresel siklusu hızlanmış olan kanser hücresinin kontrolü ve kanser kemoterapisi açısından önemlidir.

2.5.3. Kanser ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva ettiklerinden oldukça reaktiftirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan reaktif oksijen türleridir. ROS'un kanser oluşumunun farklı evrelerine etki ettiği ve böylece kanser oluşumunda birçok roller üstlendiğine dair önemli kanıtlar vardır (Williams, 1992; Yokus ve ark., 2008).

Artan metabolik aktivite, mitokondriyal disfonksiyon, peroksizom aktivitesi, pek çok enzimin artan ve azalan aktivitesi, kanserli bir hücrede onkogen aktivitesi, reseptör sinyal artışı hücrelerde ROS'un üretimine kaynak oluşturabilecek başlıca olaylar arasındadır. Süperoksit/ hidrojen peroksit'in hücre içi kaynakları mitokondri, sitokrom P-450, sitoplazmik oksidazlar, ksantin oksidaz, mikrozomlar ve peroksizomlardır. Süperoksitin hücre dışı kaynağı membran NADPH oksidazlardır. Mitokondride gerçekleşen oksidatif fosforilasyon da ROS üretimine neden olur. Süperoksit, elektron taşıma sisteminde (solunum zinciri) kompleks I ve kompleks III üzerinden elektronların taşınması sırasında üretilir. Mitokondriyal matrikste veya sitozolde süperoksit radikalının dismutasyonu sonucu hidrojen peroksit oluşur. Aquaporin ailesinin spesifik üyelerinden biri olan aquaporin-8'in de H₂O₂'in geçişi için kanal vazifesi gördüğü ileri sürülür. Bazı büyüme faktörleri ve sitokinler, kanser hücrelerinde hidrojen peroksit ve nitrik oksit düzeylerinde artışa neden olur. Bu da birçok kanserin enfeksiyon, kronik hasar veya yangı ile ortaya çıktığı veya ilerlediği fikrini doğurur. Diğer taraftan aktif makrofajların peroksinitrit radikalleri üreterek tümör hücre apoptozuna katkıda bulunduğu da belirtilmiştir (Liou ve Storz, 2010; Valko ve ark., 2004).

Çok kademeli karsinogenezin hem başlamasında hem de artmasında ROS'u işaret eden güçlü bulgular vardır (Cerutti, 1985). Hidrojen peroksitin kanserin

başlaması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Shamberger, 1972). Pek çok sınıftan tümör destekleyicisi pro-oksidan bir mekanizma aracılığıyla etki gösterir. Ultraviyole radyasyon, ROS üreten bileşenler ve peroksisom proliferatörleri bunlara dahil edilebilir (Slaga ve ark., 1981). Örneğin; östrojen metabolitleri ve prostatta üretilen ROS'un da dahil olduğu endojen kaynaklı ve DNA'yı hasara uğratan toksik karsinojenlerin kanserojenik aktivitesini arttırdığı androjen-reseptör aracılı mekanizmalar ile güçlü bir tümör destekleyicisi gibi davrandığı gösterilmiştir (Schairer ve ark., 2000). Akne tedavisinde kullanılan Benzoil peroksit (BPO) (Decker ve ark., 1989; Taylor ve Shalita, 2004), lipofilik yapısından dolayı lipitleri kolayca oksitler. Bunları faydalı bir ajana dönüştürür ve bu ajanlar cildin florasında bulunan bir bakteri türü *Propionibacterium acnes* (P.acnes) populasyonunu azaltır. BPO deride tam bir karsinojen veya tümör başlatıcısı olarak aktivite göstermez. Ancak kansere yüksek derecede yatkın hale getirilen farelere BPO'nun tek bir topikal uygulaması bile tümör oluşumunu teşvik ettiği bildirilmiştir. Bu etkinin BPO'nun serbest radikal üretiminden kaynakladığı düşünülmektedir (O'Connell ve ark., 1986; Slaga ve ark., 1981).

Düşük seviyedeki ROS, proteinlerin tiyol gruplarını geri dönüşümlü olarak okside edebilir. Bu durum sinyal iletim elemanlarını aktive ederek hücrenin işlev ve fonksiyonlarını değiştirir. Devreye onarım mekanizmaları girer. Antioksidan sistemler bir taraftan ROS'u daha az zararlı hale getirmeye çalışırken diğer taraftan tiyol/disülfid redoks düzeyindeki oksidatif modifikasyonun tersine çevrilmesinde etkili olur. Yüksek seviyedeki ROS ise protein, lipid ve DNA'ya saldırarak, protein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı üzerinden hücreye zarar verir. Hasarlı DNA, kanserin oluşumunu tetikleyecek mutasyonlara da neden olur (Schumacker, 2015). Dolayısıyla, kanserin başlamasında ve ilerlemesinde ROS faktörü son derece önemlidir (Kong ve ark., 2015; Schumacker, 2015).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Yüksek lisans çalışmalarında yapılan deney hayvan çalışmaları 19.01.2018 tarihli ve 18 nolu Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu kararına uygun olarak yapılmıştır.

Çalışmada Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deney Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen, toplam 48 adet, 12-16 haftalık, ağırlıkları 25-40 g arasında değişen Balb-c dişi fare kullanıldı. Fareler, özel polipropilen kafeslerde her bir grupta 8-11 adet fare, her bir kafeste yaklaşık 4-6 fare olacak şekilde, kontrollü şartlarda (12 saat karanlık/12 saat aydınlık), standart fare yemi ve normal musluk suyu ile ad libitum olarak beslendi.

3.1.2. Meme Tümörü Oluşturulması

Çalışmada meme tümör modeli oluşturmak amacıyla Ehrlich asit tümör hücreleri kullanıldı. Hücreler, İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edildi ve daha önce intraperitoneal enjeksiyon yolu ile tümör geliştirilmiş olan donör farenin asit sıvısından sağlandı. Enjektör yardımıyla donör farenin periton boşluğundan, Ehrlich asit tümör hücrelerinin bulunduğu asit sıvısı alınarak Thoma lamında hücre sayımı yapıldı. Uygun hücre sayısı hesaplanarak Grup 1 (sağlıklı kontrol grubu) dışında, diğer gruplardaki farelere katı tümör oluşturmak üzere 2.5×10^6 EAC hücre içeren asit sıvısı sırt bölgesine subkutan yolla enjekte edildi. Grup 1'deki farelere ise subkutan yolla % 0.9'luk NaCl uygulandı. EAC hücreleri uygulandıktan sonra fareler tartıldı ve rastgele olarak gruplara ayrıldı.



Şekil 3.1. Deneysel meme tümörü oluşturulan farelerin görünümü



3.1.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Tablo 3.1. Çalışmada oluşturulan deney grupları

Çalışma grupları	Hücre uygulaması	Deneyisel uygulama-1	Deneyisel uygulama -2
Grup 1	-	İçme suyu (p.o)	% 0,9 NaCl (ip)
Grup 2	EAC hücre	içme suyu (p.o)	% 0,9 NaCl (ip)
Grup 3	EAC hücre	<i>H. perforatum</i> (100 mg/kg, BW, p.o)	% 0,9 NaCl (ip)
Grup 4	EAC hücre	<i>H. perforatum</i> (900 mg/kg, BW, p.o)	% 0,9 NaCl (ip)
Grup 5	EAC hücre	içme suyu (p.o)	Doxorubicin (3 mg/kg, ip)

Grup 3 ve 4'teki farelere farklı dozlarda hazırlanan *Hypericum perforatum*, diğer gruplarda bulunan hayvanlara ise içme suyu (normal beslenmeye ek olarak) 14 gün boyunca gün aşırı olarak gavaj ile uygulandı. Tümör uygulamasından sonraki 2., 7. ve 12. günlerde grup 5'de bulunan farelere Doxorubicin (3 mg/kg), diğer gruplardaki farelere ise % 0,9'luk NaCl toplam 3 kez intraperitoneal olarak uygulandı.

Tümör uygulamasından sonraki 15. günde hayvanlar kurban edildi. Sakrifikasyon için yüksek dozda ksilazin (Rampun®) ve ketamin (ketasol®) kas içine uygulandı.

Alınan karaciğer örnekleri % 0,9'luk NaCl ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdında kurulandı ve alınan karaciğer doku örnekleri çalışma yapılınca kadar derin dondurucuda (- 20°C'de) saklandı.

H. perforatum hazırlanması:

Standartize (300mg St John's Wort, 0,5 mg -% 0,3 – hiperisin) *Hypericum perforatum* (St. John's Wort *Hypericum perforatum* SOLGAR®) ekstraktı uygun dozlarda %0,9'luk NaCl içerisinde hazırlandı.

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihazlar	Markaları
Vorteks	Wisd Laboratory İstrumend
Hassas terazi	Shimadzu UW6200H
Analitik terazi	Shimadzu ATX224
Manyetik karıştırıcı	WiseStir
pH metre	İnolab WTW PH7110
ELISA okuyucu	Thermo Scientific Multiskango
Su banyosu	Wisd WiseBath
Buz makinesi	Hoshizaki
Etüv	Daihan Scientific
Santrifüj	Beckman Coulter, Allegra, X-22R Centrifuge
Ultra saf su cihazı	Arium, pro VF, sartorius stedim biotech
Distile su cihazı	Tuğrul mühendislik, Reserve osmosis System
Homojenizatör	WiseTis
Otomatik pipet	İzolab (farklı hacimlerde)

3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Maddeler	Markaları
KH_2PO_4	Sigma Aldrich
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck
NaOH	Merck
Adenozin	Acros orgonic
Amonyum sülfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Merck
Fenol	Merck
Sodyum nitroprussid	Merck
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Riadel-DeHaën
Sodyum sitrat dihidrat	Merck
Folin-Ciocalteu	Merck
BSA	Sigma
Kloroform	Merck
Absolut etanol	Sigma Aldrich
Ksantin	Alfa Aesar
Ksantin oksidaz	Roche
EDTA	Alfa Aesar
NBT	Alfa Aesar
Sodyum karbonat	Merck
Bakır klorür dihidrat	Merck
Na-Azid	Merck
Glutasyon redüktaz	Sigma
$\text{NADPH} + \text{H}^+$	Alfa Aesar
Redükte glutasyon	Alfa Aesar
t-butil hidroperoksit	Merck
H_2O_2	Merck

3.2. Yöntem

3.2.1. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi

Çalışma öncesinde dokular fosfat tampon ile 1/10 oranında sulandırılarak homojenize (Wisetis homojenizatör, 50kHz/15sn) edildi. Homojenizasyon işleminde Adenozin Deaminaz ölçümü için fosfat tampon pH 6.5, diğer analizler için ise fosfat tampon pH 7.2 kullanıldı. Homojenizatlar çalışmaya kadar -20°C’de muhafaza edildi.

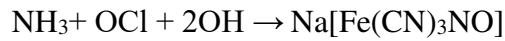
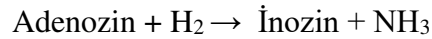
Homojenizasyon için Fosfat tampon (50 mM): 6,805 g KH₂PO₄ ve 8,895 g Na₂HPO₄.2H₂O tartılarak toplam hacim 1 L’ye tamamlandı ve +4°C’de saklandı. Çalışma öncesinde uygulanacak deney protokolüne göre pH ayarlandı.

3.2.2. Adenozin Deaminaz Ölçüm Metodu

ADA enzim aktivitesi Guisti (1974) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü.

Testin prensibi: ADA, adenozinden inozin oluşumunu katalize eder. Bu reaksiyon sonucunda amonyak açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan amonyak, sodyum nitroprussid ve alkali ortamda fenol çözeltisiyle mavi renkli indofenol bileşiğine dönüşmektedir. Bu reaksiyonda sodyum nitroprussid katalizör olarak görev yapmaktadır. Amonyak konsantrasyonu oluşan indofenol ile doğru orantılıdır. Reaksiyonlar aşağıda gösterilmektedir.

ADA



Kullanılan Çözeltiler

Tablo 3.4. ADA aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler

Kullanılan Çözeltiler	Hacim	Kimyasallar	Saklanma Koşulları
Fosfat tamponu (pH: 6,5; 50 mM)	1000 ml	6,805 gr KH_2PO_4 8,895gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	+4°C’de saklandı.
Adenozin çözeltisi (21 mM)	100 ml	562 mg adenozin 100 ml fosfat tampon	Sıcak su banyosunda çözülerek çalışmadan hemen önce taze olarak hazırlandı ve soğutuldu.
Amonyum sülfat stok çözeltisi (15 mM)	10 ml	19,8 mg anhidroz amonyum sülfat	+4°C’de saklandı.
Amonyum sülfat standart çözeltisi (75 µM)	100 ml	0,5 ml amonyum sülfat stok çözeltisi	Çözelti taze olarak hazırlandı
Fenol nitroprussid çözeltisi	1000 ml	10 gr fenol (106 mM) 50 mg sodyum nitroprussid (0,17 mM)	+4°C’de saklandı
Alkali hipoklorid çözeltisi	1000 ml	125 ml 1N NaOH ,4 ml sodyum hipoklorid (%5’lik)	Elimizdeki sodyum hipoklorid %6-14’lük olduğundan ortalama %10 kabul edilip %5’lik hipoklorid çözeltisi hazırlandı

Testin Yapılışı:

Tablo 3.5. ADA aktivitesi ölçümü deney protokolü

Kullanılan çözeltiler	Örnek tüpü	Kör tüpü	Standart tüpü	Standart Kör tüpü
Adenozin Çözeltisi	0,5 ml	0,5 ml	-	-
Numune	25 µl	-	-	-
Standart Çözelti	-	-	0,5 ml	-
Fosfat tampon	-	-	-	0,5 ml
Distile su	-	-	25 µl	25 µl
37 °C su banyosunda 60 dk inkübasyon				
Fenol Nitroprussid	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Numune	-	25 µl	-	-
Alkali hipoklorid Çözeltisi				

Deney tüpleri karıştırıldıktan sonra 37oC su banyosunda 30 dk süre ile daha inkübe edilir ve 628 nm dalga boyunda distile suya karşı numune ve kör deney tüplerindeki absorbanslar (OD) okundu.

Testin hesaplanması:

$$\text{ADA aktivitesi (mIU/mg)} = \left[\frac{(\text{NOD}-\text{NKOD})}{(\text{SOD}-\text{SKOD})} \right] \times F / \text{protein konsantrasyonu (mg/ml)}$$

Faktör Değeri (F) Hesaplaması:

Analiz sırasında 75 µM amonyum sülfat standart çözeltisi hazırlandı. Bu şartlarda adenozinden inozin oluşumu ile 150 µM amonyak meydana gelmektedir. 500 µl standart hacmine karşılık 25 µl örnek kullanıldığından dolayı, örnek 20 kat sulandırılmış olmaktadır. Kullanılan bu verilerle dakikadaki amonyak oluşumu $150 \times 20 = 3000$ µM olarak hesaplanır. 60 dakika içinde gerçekleşen reaksiyon ele alındığında dakikada $3000/60 = 50$ µM amonyak meydana gelmiştir.

1 IU ADA aktivitesi, IU'nun tanımı gereği 1 µmol/dk amonyak oluşmasını sağlayan enzim aktivitesi olduğundan $1 \text{ IU/L ADA} = 1 \text{ mIU/ml ADA} = 1 \text{ µmol/ (dk x L)}$ amonyak oluşumuna karşılık gelmelidir.

$$\text{ADA aktivitesi (mIU/mg)} = \frac{[(\text{NOD}-\text{NKOD}) / (\text{SOD}-\text{SKOD})] \times F}{\text{protein konsantrasyonu (mg/ml)}}$$

Yukarıda gösterilen hesaplamadan dolayı çalışmada $F=50$ alınmıştır.

3.2.3. Süperoksit Dismutaz Ölçüm Metodu

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi Sun ve ark., (1988) tarafından geliştirilen yöntemle ölçüldü.

Testin Prensibi:

Reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyon ile üretilen süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin örnekteki SOD tarafından engellenmesi prensibine dayanır. Yöntemde süperoksit radikali üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikalleri, NBT ile reaksiyona girerek bu maddeyi indirgemesi sonunda maksimum absorbansını 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen radikalleri dismutasyona uğratması nisbetinde, NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değerleri düşer. Dolayısıyla formazon oluşumunun inhibisyonunun tayin edilmesiyle SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler

Tablo 3.6. SOD aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler

Kullanılan çözeltiler	Hacim	Kimyasallar	Saklanma koşulları
Ksantin stok çözeltisi (3 mmol/L)	50 ml	22,8 mg ksantin (C ₅ H ₄ N ₄ O ₂) 5.0 ml 0.1 N NaOH	+4 °C’de saklandı. Çözelti kullanılacağı zaman 10 kat seyreltildi
Ksantin oksidaz enzim çözeltisi (25 U/ml)	2 ml	20 µl ksantin oksidaz çözeltisi 2 ml 2 M amonyum sülfat çözeltisi	Taze olarak hazırlandı
Etilendiamintetra asetik asit çözeltisi (EDTA) (0.6 mmol/L)	1000ml	0.223 g EDTA tristile su	+4 °C’de saklandı
Nitroblue tetrazolium çözeltisi (NBT) (0.15 mmol/L)	100 ml	12.3 mg NBT tristile su	+4 °C’de saklandı
Sodyum karbonat çözeltisi (400 mmol/L)	100 ml	4.24 g sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃) Tridistile su	+4 °C’de saklandı.
Sığır albümini çözeltisi (1.0 g/L)	100 ml	100 mg sığır albumini Tridistile su	+4 °C’de saklandı
Bakır klorür çözeltisi (0.8 mmol/L)	100 ml	13.6 mg bakır klorür (CuCl ₂ .2H ₂ O) Tridistile su	+4 °C’de saklandı
Amonyum sülfat çözeltisi (2 M)	25 ml	6,608 g amonyum sülfat (NH ₄) ₂ SO ₄ Tridistile su	+4 °C’de saklandı

Tablo 3.7. Reaktif karışımı

Reaktif karışımı	20 örnek için	60 örnek için
Ksantin çalışma çözeltisi	20 ml	60 ml
EDTA çözeltisi	10 ml	30 ml
NBT çözeltisi	10 ml	30 ml
Sodyum karbonat çözeltisi	6 ml	18 ml
Sığır albumini çözeltisi	3 ml	9 ml

Testin Yapılışı:**Tablo 3.8.** SOD aktivitesi ölçüm protokolü

Kullanılan Çözeltiler	Kör	Test
Reaktif Karışımı	2,45 ml	2,45 ml
Bidistile su	0,5 ml	-
Doku homojenizatı (süpernatant) 1 ml alınıp üzerine 0.3 ml kloroform ve 0.5 ml etanol ilave edilerek 3000 RPM’de 10 dakika santrifüj edilip üstte kalan berrak kısım kullanılır.	-	0,5 ml
Ksantin oksidaz	50 µl	50 µl
20 dakika 25 °C’lik su banyosunda inkubasyon		
Bakır klorür	1 ml	1 ml

Oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda köre karşı okundu

Testin Hesaplanması:

SOD enzim aktivitesinin hesaplanmasında aşağıdaki formülden yararlanılarak yüzde inhibisyon hesaplandı.

$$\%inhibisyon = (\text{körün absorbansı} - \text{testin absorbansı} : \text{körün absorbansı}) \times 100$$

Bir SOD ünitesi, NBT reaksiyonunu %50 inhibe eden aktivite olarak kabul edildiğinden reaksiyon ortamında bulunan enzim aktiviteleri, bu ünite cinsinden hesaplandı ve U/mg-protein olarak değerlendirildi.

3.2.4. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Metodu

Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine (1967) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü.

Testin Prensipleri:

Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi indirgenmiş nikotinamid dinükleotid fosfatın ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) glutasyon redüktaz aracılığı ile oksidasyona bağlıdır. Glutasyonun, t- butil hidroperoksit ile glutasyon peroksidaz katalizörlüğünde reaksiyonu sonucunda okside glutasyon (GSSH) ve su açığa çıkar. Bu reaksiyonda oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktaz tarafından $\text{NADPH} + \text{H}^+$ varlığında tekrar indirgenir. Bu reaksiyonda redükte glutasyon (GSH) miktarı sabit kalır. $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ise NADP^+ a dönüşür.

Kullanılan Çözeltiler

Tablo 3.9. GPx aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler

Kullanılan çözeltiler	Hacim	Kimyasallar	Saklanma koşulları
Sodyum Fosfat Tampon (pH 7.0) (100 mmol/L)	250 ml	4,448 g Na ₂ HPO ₄ 3,402 g KH ₂ PO ₄ tridistile su	+4 °C'de saklandı
Redükte Glutasyon (GSH) (20 mmol/L)		30.7 mg redükte glutasyon 5 ml tridistile suda 1 N NaOH	pH 6.0'ya ayarlandı. Testten önce taze olarak hazırlandı
EDTA (10 mmol/L)	100 ml	372 mg EDTA tridistile su	+4 °C'de saklandı
Na-Azid (NaN₃) (20 mmol/L)	100 ml	130 mg Na-Azid tridistile su	+4 °C'de saklandı
Glutasyon Redüktaz (10 U/ml)	5.856 ml	144 µl enzim tridistilesu	Elimizde bulunan enzim 100 U/ml olduğundan 1/10 oranında sulandırıldı. Çalışmadan önce taze olarak hazırlandı.
NADPH+H⁺ (3 mmol/L)	5 ml	12.5 mg NADPH fosfat tampon	Çalışmadan önce taze olarak hazırlandı
t- butil hidroperoksit (% 70, 10mM)	20 ml	28.6 µl t- butil hidroperoksit tridistile su	Çalışmadan önce taze olarak hazırlandı

Testin Yapılışı:

Çalışmaya başlamadan önce numuneler 10400 rpm’de santrifüj edildi.

Tablo 3.10. GPx aktivitesi ölçüm protokolü

Kullanılan Çözeltiler	Kör	Test
Sodyum fosfat tampon	1 ml	1 ml
EDTA çözeltisi	0,1 ml	0,1 ml
Na-Azid çözeltisi	0,1 ml	0,1 ml
NADPH+H⁺	0,1 ml	0,1 ml
Redükte glutatyon	0,1 ml	0,1 ml
Glutatyon redüktaz	0,2 ml	0,2 ml
Bidistile su	0,2 ml	-
Homojenizat	-	0,2 ml
3 dakika 37 °C’de inkübe edildi, sonra 3 dakika boyunca fotometrede 366 nm dalga boyunda, absorbansta meydana gelen değişiklikler kaydedildi		
C-OOH	0,2 ml	0,2 ml

3 dakika 37 °C’de inkübe edildi. Daha sonra 3 dakika boyunca fotometrede 366 nm dalga boyunda, absorbansta meydana gelen değişiklikler kaydedildi

Testin Hesaplanması:

Absorbanstaki düşmeye bağlı olarak meydana gelen değişikliklerden aşağıdaki formül yardımı ile enzim aktivitesi tespit edildi.

$$\text{GPx Aktivitesi} = \text{nmol NADPH+H}^+/\text{dakika} = (\Delta E \times V \times 100) / (\text{dakika} \times d \times v \times \epsilon)$$

ΔE = Absorbansta meydana gelen düşme/dakika
 V = Küvetin toplam hacmi (2 ml)
 v = Test hacmi (0,2 ml)
 d = Küvet ışık yolu (1 cm)
 ϵ = 366 nm’de absorbans sabitesi = 3.45 cm²/ μ mol (37 °C)

GPx aktivitesi, nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olarak değerlendirildi.

3.2.5. Katalaz Aktivitesi Ölçüm Metodu

Katalaz enzim aktivitesi Aebi (1983) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü.

Testin Prensibi:

Uygun tampon içinde bulunan hidrojen peroksitin katalaz enziminin etkisi ile yıkılması sonucu, bu maddenin 240 nm’de sebep olduğu absorbans azalmasının ölçülmesi esasına dayanır. Absorbansta gözlenen azalma hızı, katalaz enzim aktivitesi ile orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler

Tablo 3.11. CAT aktivitesi ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler

Kullanılan çözeltiler	Hacim	Kimyasallar	Saklanma koşulları
Fosfat Tamponu (50 mmol/L) (pH 7.0)	1000 ml	3.52 g KH ₂ PO ₄ 7.26 g Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O tridistile su	+4 °C’de saklandı
H ₂ O ₂ çözeltisi (10 mmol/L)	100 ml	0.13 ml %35’lik H ₂ O ₂ Fosfat tampon	Taze olarak hazırlandı.

Bu karışım 240 nm’deki absorbansın 0.5 olması gerekir. Okunan absorbans, bu değerden küçük ise H₂O₂, büyük ise tampon eklenerek absorbansın 0.5 olması sağlandı.

Testin Yapılışı:

Çalışmaya başlamadan önce numuneler 10400 rpm’de santrifüj edildi.

Tablo 3.12. CAT aktivitesi ölçüm protokolü

Kullanılan çözeltiler	Kör	Test
Fosfat tampon	2,95 ml	-
Örnek	50 µl	-
Spektrofotometre her numune için körlerine göre sıfırlandı.		
Fosfat tampon içinde hazırlanmış H ₂ O ₂ çözeltisi	-	2,95 ml
Örnek	-	50 µl

Spektrofotometreden absorbanstaki azalma takip edildi. Absorbansın 0.45’ten 0.40’a inmesi için geçen süre tespit edildi. Absorbansın 0.45’ten 0.40’a inmesi için gerekli sürenin 60 saniyeyi aşması durumunda örnek daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılarak, çok hızlı düşmesi durumunda ise dilüe edilerek test tekrarlandı. Sonuç k/mg-protein olarak verildi.

Testin Hesaplanması:

$$k = (0.1175 / \Delta t) \times \text{sn}^{-1}$$

Formülün çıkarılması: Çok kısa bir reaksiyon süresi içerisinde ve nispeten yüksek enzim konsantrasyonlarında, zaman içinde H₂O₂ konsantrasyonunda meydana gelen azalma birinci dereceden bir reaksiyondur. Buna göre reaksiyonun hız sabiti;

$$k = (1/\Delta t) \cdot \ln S_2/S_1 = (2.3 / \Delta t) \cdot \log S_1/S_2$$

Bu formülde $\Delta t = t_2 - t_1$

$S_1 = t_1$ anındaki H₂O₂ konsantrasyonu, $S_2 = t_2$ anındaki H₂O₂ konsantrasyonu

Tespit edilen süre içindeki konsantrasyon azalması, absorbans azalması ile orantılı olduğundan, yukarıda belirtilen (1) numaralı formüldeki S_1 yerine A_1 (başlangıçtaki absorbans = 0.45), S_2 yerine A_2 (reaksiyon sonundaki absorbans = 0.40) koyabiliriz. Buna göre (1) numaralı formülü gibi yazabiliriz:

$$k = (2.3 / \Delta t) \times \log A_1/A_2 = (0.1175 / \Delta t) \cdot \text{sn}^{-1}$$

3.2.6. Lowry Protein Ölçüm Metodu

Örneklerin protein içerikleri Lowry yöntemine göre tayin edildi (Lowry ve ark., 1951).

Testin prensibi:

Fosfomolibdik asit ve fosfotungustik asidin, Cu^{+2} - protein kompleksi ile reaksiyonunun sonunda oluşan mavi renkli kompleksin ölçümü şeklinde tanımlanabilir.

Kullanılan Çözeltiler

Tablo 3.13. Lowry protein ölçüm metodunda kullanılan çözeltiler

Kullanılan Çözeltiler	Hacim	Kimyasallar
A reaktifi	100 ml	0,5 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1 gr sodyum sitrat Distile su
B reaktifi	1000 ml	20 gr Na_2CO_3 0,1 N 1 L NaOH
C reaktifi	51 ml	1 ml A reaktifi 50 ml B reaktifi
D reaktifi	10 ml	10 ml Folin-Ciocalteu reaktifi distile su

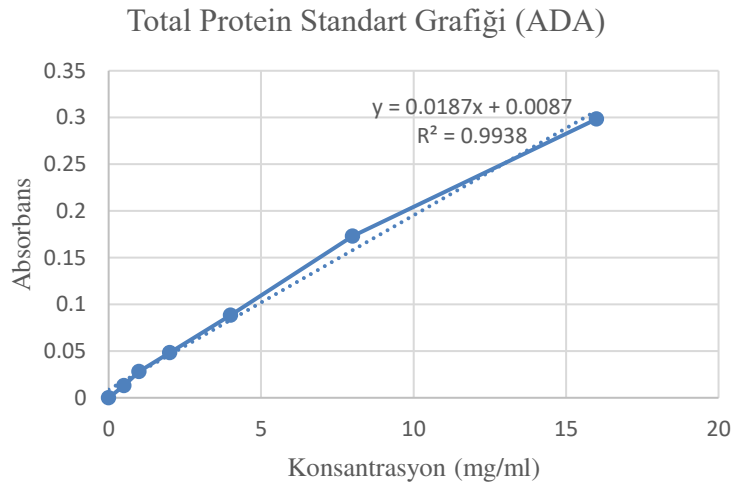
Testin Yapılışı:

Tablo 3.14. Protein ölçüm yöntemi protokolü

Kullanılan çözeltiler	Kör	Numune
Süpernatant	-	10 µl
Distile su	500 µl	490 µl
C Reaktifi	2,5 ml	2,5 ml
10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.		
D Reaktifi	0,25 ml	0,25 ml

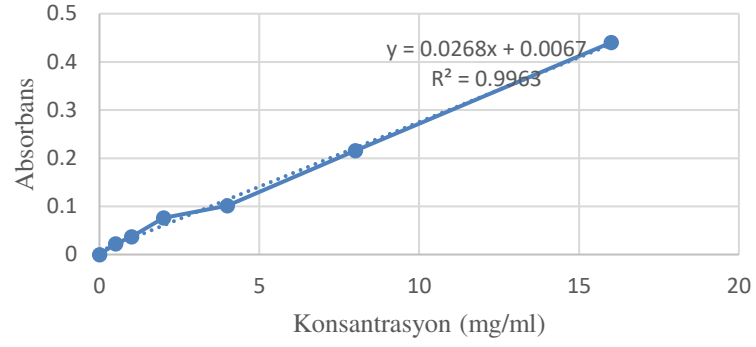
20-30 dakika kadar oda ısısında inkübasyon sonrasında spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda, kör ve numunenin absorbansı distile suya karşı okunur.

- Bu deney için hazırlanan albümin standartlarının optik dansite değerlerinden yararlanılarak çizilen standart grafiğinden faktör değeri hesaplanır.
- Bu durumda protein konsantrasyonu (mg/ml)= (ODnumune-ODkör)xF formülü ile hesaplanır.
- Lowry protein ölçüm metodu BSA standardı için ½ oranında seri dilüsyon yapıldı. (16 mg + 1 ml distile su)



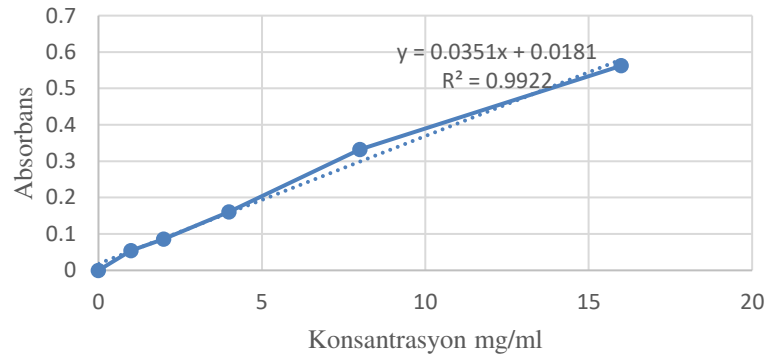
Şekil 3.2. Lowry protein ölçüm metoduna göre BSA ile hazırlanan protein standart grafiği (ADA için)

Total Protein Standart Grafiği (GPX ve CAT için)



Şekil 3.3. Lowry protein ölçüm metoduna göre BSA ile hazırlanan protein standart grafiği (GPx ve CAT için)

Total Protein Standart Grafiği (SOD)



Şekil 3.4. Lowry protein ölçüm metoduna göre BSA ile hazırlanan protein standart grafiği (SOD için)

3.2.7. Verilerin Analizinde Uygulanan İstatistik Yöntemler

Yapılan Yüksek Lisans Tez çalışmasında elde edilen veriler SPSS22.0 paket programı kullanılarak analiz edildi. Normal dağılan değişkenler arası farklılığın istatistiksel açıdan kontrolü tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Gruplar arası farklılığın anlamlı olduğu değişkenler için ileri aşama (post-hoc) testi olarak Duncan testi'nden yararlanıldı. Her değişken için tanımlayıcı istatistikler hesaplandı ve “Ortalama $\pm$ Standart Ortalama Hatası” ($Ort \pm SH$) olarak sunuldu. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. $P < 0.05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi.



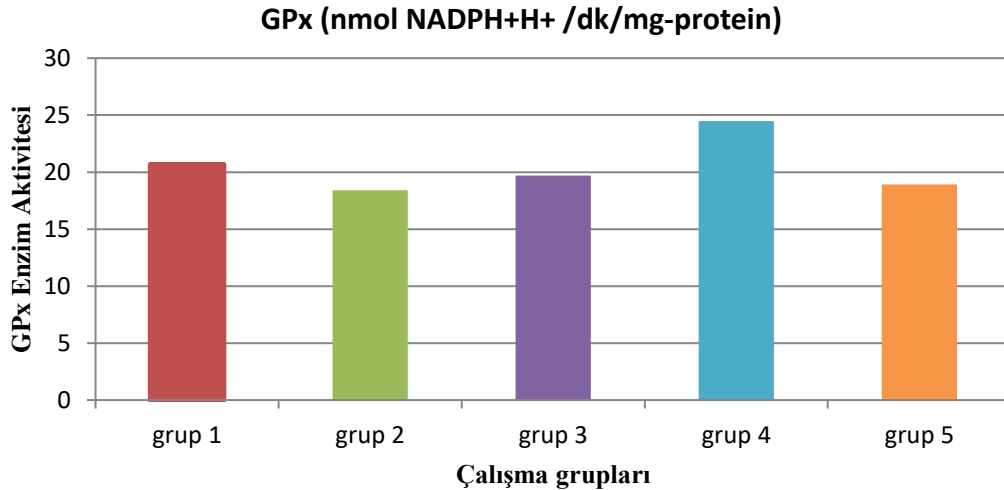
4. BULGULAR

4.1. Farklı dozlarda *Hypericum perforatum* uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularında GPx, CAT, SOD ve ADA enzim aktiviteleri

4.1.1. GPx enzim aktivitesi

Karaciğer dokularındaki GPx aktivitesi, yüksek doz (900 mg/kg) *Hypericum perforatum* uygulanan grupta (grup 4) en yüksek bulunmuştur. Yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan grup (grup 4) ile kanserli kontrol grubu (Grup 2) düşük doz (100 mg/kg) *Hypericum perforatum* uygulanan (grup 3) ve Doksorubisin uygulanan (Grup 5) gruplar arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

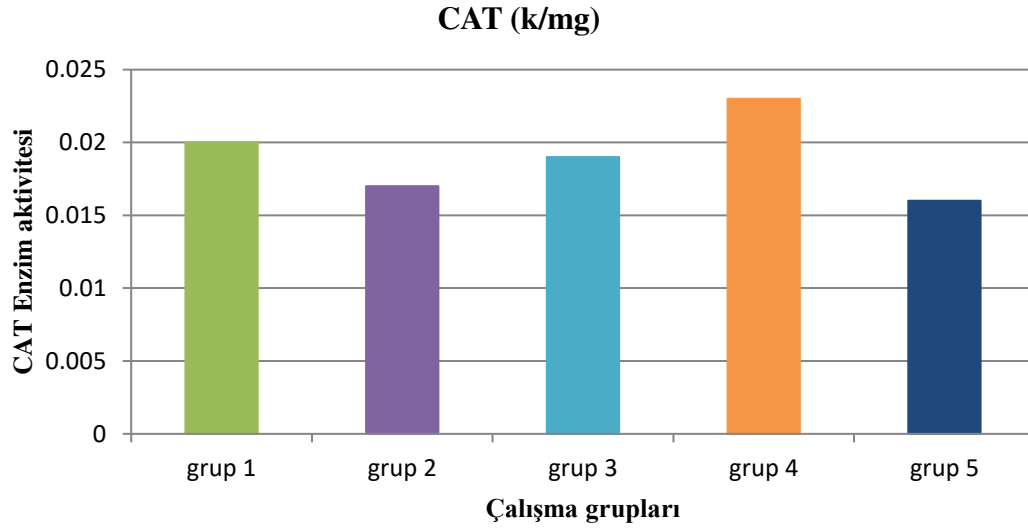
GPx aktiviteleri sağlıklı kontrol grubu (grup 1)'na göre kıyaslandığında, düşük doz (100 mg/kg) *Hypericum perforatum* uygulanan (grup 3), kanserli kontrol (Grup 2) ve doksorubisin uygulanan (Grup 5) gruplarda azalmış, yüksek doz *Hypericum perforatum* (grup 4) uygulanan grupta ise artış olmakla birlikte, bu değişimler istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.1. Farklı dozlarda *Hypericum perforatum* uygulanan EAC oluşturulan farelerin karaciğer dokularındaki GPx enzim aktivitesi

4.1.2. CAT enzim aktivitesi

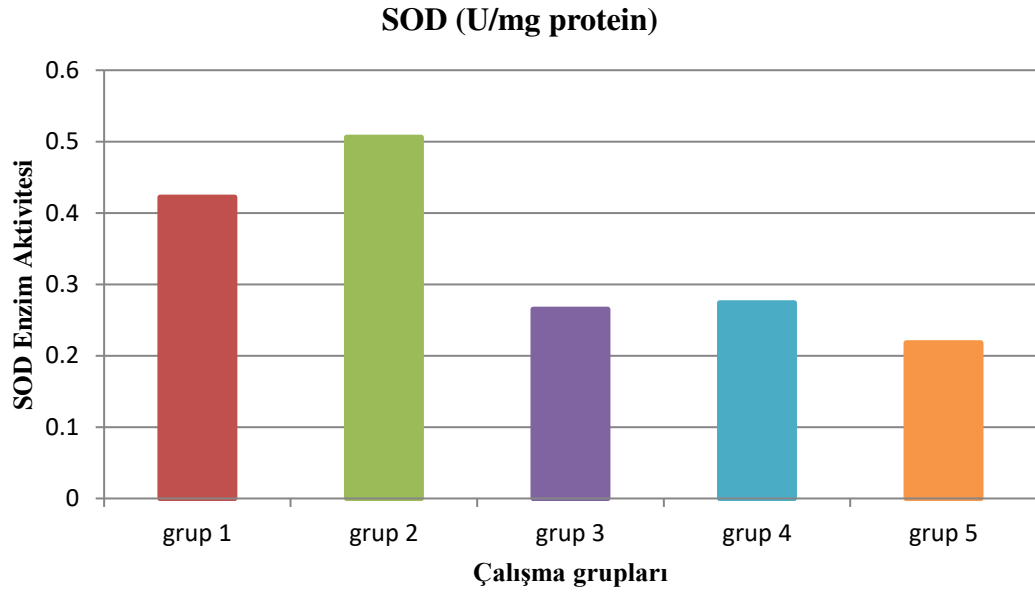
Karaciğer dokularındaki CAT aktivitesi, yüksek doz *Hypericum perforatum* (grup 4) uygulanan grupta en yüksek, Doksorubisin (Grup 5) uygulanan grupta ise en düşük ölçülmüştür. Yüksek doz *Hypericum perforatum* (grup 4) ve Doksorubisin (Grup 5) uygulanan grup arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Sağlıklı kontrol grubu (grup 1) ile kıyaslandığında, CAT aktivitesi kanserli kontrol grubunda (Grup 2), düşük doz *Hypericum perforatum* (grup 3) ve doksirubisin (grup 5) uygulanan gruplarda daha düşük, yüksek doz *Hypericum perforatum* (grup 4) uygulamam grupta ise daha yüksek bulunmamıştır.



Şekil 4.2. Farklı dozlarda *Hypericum perforatum* uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularındaki CAT enzim aktivitesi

4.1.3. SOD enzim aktivitesi

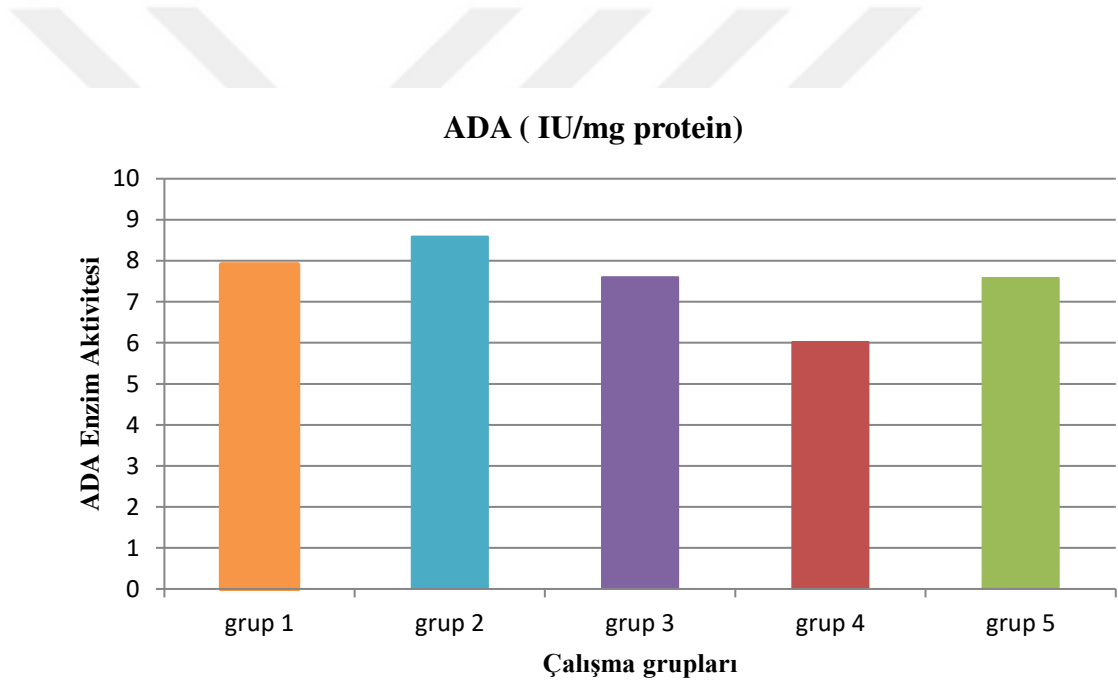
Sağlıklı kontrol grubu (grup 1) ve kanserli kontrol grubunda (Grup 2) karaciğer dokularındaki SOD aktivitesi, düşük doz *Hypericum perforatum* (grup 3), yüksek doz *Hypericum perforatum* (grup 4), ve Doksorubisin (Grup 5) uygulanan gruplara göre yüksek bulunmuştur. Sağlıklı kontrol grubu (grup 1) ve kanserli kontrol grupları (Grup 2) ile diğer gruplar arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).



Şekil 4.3. Farklı dokularda *Hypericum perforatum* uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularında SOD enzim aktivitesi

4.1.4. ADA enzim aktivitesi

Karaciğer dokularındaki ADA aktivitesi, en yüksek, kanserli kontrol grubunda (Grup 2), en düşük ise yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan farelerde (Grup 4) bulunmuştur. Düşük doz *Hypericum perforatum* uygulanan grupta ADA aktivitesi, yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan gruba göre daha yüksek, herhangi bir uygulama yapılmayan gruba göre ise daha az bulunmuştur. Düşük doz *Hypericum perforatum* uygulanan grup (grup 2), sağlıklı grup (Grup 1) ve doksorubisin uygulanan gruplarda (Grup 5) ise benzer düzeyler ölçülmüştür. Bu değişimlerden Grup 2 ve grup-4 arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunurken ($P<0.05$), diğer gruplar arasındaki fark anlamlı değildir.



Şekil 4.4. Farklı dokularda *Hypericum perforatum* uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularında ADA enzim aktivitesi

Tablo 4.1. Farklı dozlarda *Hypericum perforatum* uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularındaki GPx, CAT, SOD ve ADA enzim aktiviteleri ve istatistik değerlendirilmesi

Gruplar	GPX	CAT	SOD	ADA
Grup 1	20.66 ±1.60 ^{ab}	0.020 ±0.001 ^{ab}	0.422 ±0.069 ^b	7.90 ±0.77 ^{ab}
Grup 2	18.32 ±1.01 ^a	0.017 ±0.000 ^{ab}	0.506 ±0.063 ^b	8.59 ±0.54 ^a
Grup 3	19.61 ±1.21 ^a	0.019 ±0.003 ^{ab}	0.265 ±0.048 ^a	7.60 ±0.82 ^{ab}
Grup 4	24.39 ±1.70 ^b	0.023 ±0.001 ^b	0.274 ±0.024 ^a	6.02 ±0.91 ^b
Grup 5	18.83 ±1.48 ^a	0.016 ±0.002 ^a	0.218 ±0.047 ^a	7.58 ±0.62 ^{ab}

*P<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

^{a,b} Her grupta farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistik olarak anlamlıdır.

5. TARTIŞMA

Serbest radikallerin biyolojik materyallerde bulunduğunun gösterilmesinin (Commoner ve ark., 1954) ardından, oksijen radikallerinin in vivo enzimatik reaksiyonlar sonucunda oluşabileceği bildirilmiştir (Harman, 1956). Aynı bildiride serbest radikallerin hücrelerde oluşan hasar, mutagenez, kanser ve biyolojik yaşlanma gibi olayların oluşumunda etkili olabileceği tezini ortaya koymuşlardır (Harman, 1956). Süperoksitin keşfinden sonra (McCord ve Fridovich, 1969) ise serbest radikaller ve hastalıklarla ilişkisi birçok araştırmacı tarafından çalışılır hale gelmiştir.

ROS, mitokondrideki oksidatif metabolizma dahil birçok hücrel olay sonunda oluşan oldukça reaktif moleküllerdir. Düşük seviyelerde hücrelerin proliferasyon ya da yaşam yollarındaki sinyallerini aktive ederek, hücreler için olumlu etkiler yapabilirler. Yüksek seviyelerde ise ROS, proteinleri, lipitleri ve nükleik asitleri oksitleyerek hücrelere zarar verebilir ya da hücreleri öldürebilir. Antioksidanların yüksek risk altındaki hastalarda ROS ile indüklenen mutasyonları ve kanser başlangıcını geciktirerek fayda sağlayabileceği hipotezi öne sürülmektedir. Bununla birlikte, diyetle alınan antioksidan kullanımının ise genel olarak etkisiz ve hatta zararlı olabileceği klinik çalışmalarda gösterilmiştir. Yüksek ROS, kanserin başlangıç ve ilerleme aşamalarında, kanser hücrelerinin sağ kalımını sınırlandırabilir. Hatta kanserin başlangıç ve ilerleme dönemlerinde diyetle alınan antioksidanlar, kanser hücresinin hayatta kalmasını ve kanserin ilerlemesini teşvik edebilir. Bu sebeple, kanser hastalarında tedavide antioksidanlardan ziyade prooksidanların kullanılarak oksidatif stresin artırılması veya oksidatif stres direnci oluşturan metabolik süreçleri engellemesi istenir (Gill ve ark., 2016). Ancak, antioksidanlar bazı durumlarda prooksidan olarak davranabilirler (Lagunes ve Trigos, 2015).

Yapılan tez çalışmasında Ehrlich asit tümör oluşturulan, *Hypericum perforatum* farelerde, karaciğer dokusunda, adenoazin deaminaz ve GPx, SOD, CAT gibi antioksidan enzimlerin ölçülmesi amaçlandı.

Meme kanserinde çeşitli enzimlerin rollerin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmış ve karsinojenik süreç ve bazı enzimlerin aktivasyonu arasında önemli bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (Aghaeia ve ark., 2005). Adenozin deaminaz, adenozinin deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Adenozin tarafından katalizlenen bu basamağın geri dönüşümsüz olması, adenozinin yıkımlanmasındaki hız sınırlayıcı basamağı oluşturur (Lizuka ve ark., 1981). Total ADA aktivitesi, çeşitli tümör gruplarında çalışılmıştır. Kanser doku ve hücrelerinde ADA aktivitesinin artabileceği ya da azalabileceği birçok çalışmada gösterilmiştir (Camici ve ark., 1990; Canbolat ve ark., 1996; Durak ve ark., 1994; Eroglu ve ark., 2000; Namiot ve ark., 1996; Sanphilipo ve ark., 1994; Sufrin ve ark., 1977; Sufrin ve ark., 1978; Ten Kate ve ark., 1984; Vannoni ve ark., 2004;). Bazı araştırmacılar, ADA aktivitesinin kanserli doku ve hücrelerin sağ kalım yollarında önemli etkiye sahip olabileceğini (Camici ve ark., 1990; Dornard ve ark., 1982), bazıları ise artmış ADA aktivitesinin kanserli doku ve hücrelerde hızlanmış pürin ve pirimidin metabolizması sonucu oluşan toksik substratlarının etkisine karşı kompanze edici mekanizma olabileceğini öne sürmektedir (Donofrio ve ark., 1978; Hersfield ve Kredich, 1980).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, bitki ekstraktlarından elde edilen etken maddelerden bazıları, meme kanseri tedavisinde klinik kullanım alanı bulmuştur. Örneğin; *Catharanthus roseus*'dan elde edilen vinkristin ve vinblastin bileşikleri ve diğer anti-kanser ilaçlarla birlikte lösemi, lenfoma, meme ve akciğer kanserinde, ileri derece testis kanserinde kullanılmaktadır (El-Sayed ve Cordell, 1981; El-Sayed ve ark., 1983; Leveque ve Jehl, 1996; Wall ve Wani, 1995). Bunun yanında *T.Bredifolia*, *T. baccata* ve *T.canandensis* türlerinden elde edilen paklitaksel'den hazırlanan ilaçlar ileri derece meme kanseri, over kanseri ve farklı tipteki akciğer kanserlerinde kullanılmaktadır (Tagne ve ark., 2015).

Dongrel ve ark.'nın *H.hoogerian*'un metanol ekstraktının Ehrlich asit karsinomalı Swiss albinolu farelerde anti-tümör etkililerini araştırmışlardır. Bu çalışmada ekstraktın güçlü bir anti-tümör etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ekstraktın, direk olarak tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olabileceğini yada indirekt olarak makrofaj aktivasyonunu ve vasküler permabilite

inhibisyonunu içeren lokal etki yapabileceğini belirtmişlerdir. Bunun sonucu olarak da EAC oluşturulan farelerin yaşam sürelerinin arttığını göstermişlerdir. Yaşam süresini uzatan doz 200 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemişlerdir.

Doğal antioksidanların oksidatif hasara karşı potansiyel koruyucu etkinliği nedeniyle bitkisel antioksidanların, antioksidan etkinliğinin incelendiği çalışma sayısı artmaktadır (Behl ve Mosmann, 2002).

Artmış serbest radikal oluşumu endojen antioksidanlar tarafından dengelenmeye çalışılır. Bu etki antioksidan içerikli besinlerle artırılabilir. Son yıllarda *Hypericum perforatum* içeren ürünlerin sayısı belirgin şekilde artmış ve dünya çapında en çok kullanılan medikal bitki konumuna gelmiştir (Wills ve ark., 2000). Ticari olarak birçok farklı ürün çeşidi bulunmaktadır (Gaedcke, 2003). Mirmalek ve ark.'nın MCF-7 hücre hatlarına 24-48 saat süreyle hiperisin ve cisplatin uyguladığı çalışmada, hiperisinin LD50 dozunu cisplatinden daha düşük bulmuşlardır. Kim ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise, insan myeloid lösemi U-937 hücrelerinde 0,2 µM hiperisinin %50 büyüme inhibisyonu yaptığını göstermiştir.

Sanchez-Reus ve ark. (2007) *Hypericum perforatum* ekstraktının bozulan redoks dengesini düzenleyerek antioksidan etkinliğini göstermişlerdir. *Hypericum* ekstraktının lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi, NADPH ve Fe²⁺/askorbat tarafından oluşturulan serbest radikalleri süpürücü etkisinden kaynaklanmaktadır (Benedi ve ark., 2004). *Hypericum perforatum* nitrik oksit miktarını düşürerek (Oliveira ve ark., 2016) ya da ksantin oksidaz aktivitesini doz bağımlı olarak inhibe ederek (Maldonado- Bouchard ve ark., 2016) antioksidan aktive gösterdiği bildirilmiştir. *Hypericum perforatum*'un gösterdiği antioksidan etki, bileşiğinde bulunan quersetin ile ilişkili olabilir. Quersetin, flavonoid ailesi içinde en güçlü ROS, RNS ve peroksi nitrit süpürücüsü olarak belirlenmiştir (Oliveira ve ark., 2016).

Quersetin meyve ve sebzelerde özellikle glikozid formu şeklinde, örneğin rutin, olarak bulunur (Alia ve ark., 2005). Yüksek serbest radikal süpürücü aktivitesine ek olarak, quersetin ve rutin, metal iyonlarını şelate edebilir (Ramos ve ark., 2008). Quersetin aynı zamanda, glutatyon gibi intraselüler antioksidan düzeyini

arttırır ve Faz-2 enzim aktivitesini artırırken sitokrom p450'lileri inhibe eder (Alia ve ark., 2005). Birçok çalışmada, quersetinin HepG2 hücrelerini oksidatif DNA hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir (Lima ve ark., 2006; Ramos ve ark., 2008; Ramos ve ark., 2013). *Hypericum perforatum*'un sahip olduğu biyolojik aktivite sadece yapısındaki ana bileşenlere değil, yapısında daha küçük miktarlarda bulunan diğer biyoaktif bileşenlerle ilişkili olabilir. Ekstraktın bileşenleri arasındaki etkileşim (sinerjik etki) ve fitokimyasalların metabolizması sırasında meydana gelen metabolitler etken maddenin tek başına yaptığından daha yüksek olabilir (Ramos ve ark., 2013).

Ramos ve ark. (2013)'nın yaptığı çalışmada, hiperikumun sulu ekstraktları (5 µg/ml) kolon hücrelerini oksidatif DNA hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir. Bulunan bu sonucun hiperikumun yapısındaki fenolik bileşenlerden kaynaklanabileceği bildirilerek *Hypericum perforatum*'un sulu ekstraktlarının kolon kanserini önlemede etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Antioksidan etkinliği bildirilen hiperikum ekstraktları (Breyer ve ark., 2007; Gioti ve ark., 2007), aynı zamanda güçlü süperoksit radikali inhibitörü olabileceği Hund ve ark. (2001) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca standardize hiperisin ve hiperforin içeren hiperikum ekstraktlarının da belirgin serbest radikal süpürücü özelliklerinin olduğu gösterilmiştir.

Canlılarda doku ve hücrelerin normal yapılarının ve fonksiyonlarının devamı, hücrelerde oluşan oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin sağlanması ile mümkündür. Bu denge sağlanamadığında yani oksidan maddelerin artışı söz konusu olduğunda, hücrelerin temel yapı taşı olan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA'da önemli bozukluklar oluşturan oksidatif stres meydana gelir (Caporaso, 2003; Gackowski ve ark. 2003; Paz-Elizur ve ark., 2003). Normal koşullarda artmış oksidatif stres, vücudun koruma sistemi olan antioksidanlar tarafından dengelenmeye çalışılır. Ancak, bazı durumlarda bu denge sağlanamaz ve sonuç olarak birçok hastalık oluşumu için zemin hazırlar (Vliet ve Cross, 2000).

Serbest radikallerin artışıyla karakterize oksidatif stres durumunda, dengenin sağlanmasında başlıca GPx, SOD, CAT gibi enzimatik antioksidanlar rol oynar (Feeney ve Berman, 1976; Sun, 1990). SOD, oksijen radikalini moleküler oksijen ve hidrojen perokside parçalar. CAT ve GPx ise oluşan bu hidrojen peroksidi su ve moleküler oksijene dönüştürürler (Gill ve ark., 2016). Bu mekanizma, hidrojen peroksitten ROS'un oluşumunun engellenmesinde önemli rol oynar. SOD aktivitesinin beyin tümörlü hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir (Cameron ve ark., 2000). SOD'un aynı zamanda, apoptozu artırarak hidrojen peroksit oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir (Cat ve ark., 2006). Bunun yanında, artmış SOD aktivitesi ve hidrojen peroksit düzeyi ilişkilidir. Akciğerde meydana gelen yangının Mn-SOD düzeyini arttırdığı, sonuç olarak hücre içi hidrojen peroksit düzeyini arttırdığı sanılmaktadır. Hücre içi bu artış ise DNA hasarı ve dolayısıyla kanser oluşumunu yatkın hale getirmektedir. Ancak, oral olarak aktive edilen SOD, yangı ile indüklenen tümör gelişimini önlemektedir. Bunun sebebinin yangısal hücrede oluşan süperoksit anyonunun süpürücü etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir (Chen ve ark., 2007).

Er ve ark. (2004) meme kanserli hastalarda farklı düzeylerde SOD ekspresyonu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, tümörlü ve tümör bulunmayan meme dokusunda Cu/Zn-SOD ekspresyonlarında anlamlı bir farklılık bulunamazken, Mn-SOD düzeyleri artmış olduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise larenks karsinomada, tümör dokusunda SOD düzeyleri yüksek bulunurken, CAT ve GPx düşük bulunmuştur (Chio ve ark., 2017).

Hücreler ROS üretimini sınırlayarak ve antioksidan mekanizmaları devreye sokarak homeostazisi sağlamak durumundadırlar. Normal hücreler, hücrel metabolizma sırasında yüksek düzeyde ROS ürettiklerinde, antioksidan enzimler devreye girer. Kanser hücrelerinde ROS üretilse de antioksidan enzim düzeylerinin birçok hayvan ve insanlarda görülen kanser türlerinde düşük olduğu gösterilmiştir. Ancak, çok az kanser türünde, özellikle antioksidan enzim olan Mn-SOD düzeyinde artış bildirilmiştir. Hayvan ve insanlarda görülen kanserlerde yapılan çalışmalarda, özellikle adenokarsinomalarda artmış SOD ve CAT düzeyleri görülebilir (Oberley ve Oberley, 1997).

Kanserle ilgili veriler, antioksidan enzim düzeylerinde hücrenin kökenine bağlı olarak bir bozukluğun olduğunu belirtmektedir. İmmünohistokimyasal tekniklerle yapılan çalışmalar, hayvan ve insanlarda görülen kanserlerde antioksidan enzim düşüklüğünü göstermiş, bu durum ise antioksidan enzimlerin kanser oluşumunda ve malignant fenotipte rolü olduğunu düşündürmektedir. Genel olarak, insan kanser hücrelerinde düşük CAT ve GPx düzeylerinin belirlenmesi, birçok kanser hücresinin hidrojen peroksidi detoksifiye edemediğini göstermektedir (Oberley ve Oberley, 1997).

Lankin ve ark. EAC'da yaptıkları çalışmada SOD aktivitesinde oldukça anlamlı bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, kanser vakalarında total SOD'un düzeyinin sitozolik SOD düzeyine düştüğü bildirilmiştir. Bu düşüşün sebebi ise, mitokondriyal SOD'daki azalmadan kaynaklı olduğu bildirilmiştir.

Rajendran ve ark.'nın (2019) yaptıkları çalışmada DMBA ile muamele edilmiş sıçanlara farklı dozlarda sitronellolün (25, 50 ve 100 mg / kg vücut ağırlığı) 16 hafta süreyle oral olarak uygulanmasının, tümör insidansını inhibe ettiği görülmüştür. 50 ve 100 mg dozlarında normal seviyeye yakın biyokimyasal parametreleri geri getirirken, histopatolojik olarak çalışmalar ayrıca biyokimyasal bulguları desteklediği bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, 50 mg / kg vücut ağırlığındaki sitronellolün, önemli kemopreventif etkiler gösterdiği ve meme kanserogenezinin önlenmesinde minimum optimum doz olarak kabul edilebileceğini gösterilmiştir.

Zeweil ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, DMBA tedavisinin ($p < 0.05$) meme dokularının MDA içeriğini, kontrollere kıyasla 3.5 kat arttırdığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, DMBA ile tedavi edilen gruba karşılaştırıldığında graviola ile yapılan ön işlem veya birlikte işlemde sonra 0.5 kat azaldığını bildirmişlerdir ($p < 0.05$). Ayrıca, DMBA, TAC, GSH ve antioksidan enzimlerin (GPx, CAT, SOD ve GST) aktivitelerini kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 0.5-7.7 kat ($p < 0.05$) azalttığını göstermişlerdir ($p < 0.05$). Graviola ile tedavi edilen sıçanların, DMBA ile tedavi edilen gruba kıyasla, GBA için GSH, TAC ve antioksidan enzimlerinde ($p < 0.05$) 1.4 ve 3.5 kat, G57 için 1. ve 3.5 kat artış

gösterdiği bildirilmiştir.

Gama-Glutamil-sisteinil-glisin yapısında bir tripeptit olan Glutasyon (GSH veya indirhenmiş glutasyon), insanlar dahil birçok organizmada baskın hücre içi antioksidandır. Hücresel ortamda GSH, hücreleri reaktif oksijen türleri, lipit hidroperoksitleri, ksenobiyotik toksik maddeler ve ağır metaller dahil olmak üzere çok çeşitli serbest radikallere karşı korur. İki forma sahiptir, indirgenmiş form veya indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside form (GSSG). Okside formda iki GSH molekülü sülfhidril bağları ile birleşmiştir. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon- transferaz (GST), GSH kullanarak detoksifikasyon reaksiyonlarını esasen GSSG'ye dönüştürür. GR, NADPH kullanarak GSSG'yi GSH'ye indirgeyerek, hücresel GSH havuzuna geri kazandırır. Bu nedenle, GSH ve GSH bağımlı enzimler, vücuttaki normal redoks dengesini korumak ve stres koşulları altında hücrenin hayatta kalmasına yardımcı olmak için gereklidir. Ek olarak, GST, kemopreventif bir özellik sunan çeşitli kanserojen bileşikleri uzaklaştırırken, GSH sistemi, prostat, akciğer, meme ve kolon kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde redoks stabilitesi sunarak hücresel hayatta kalmanın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Çalışmalar ayrıca, butiyonin sülfoksimin gibi GSH inhibitörlerinin kanser hücrelerinde kemo duyarlılığını arttırdığını göstermiştir. Ek olarak, GSH ve bağımlı enzimler, kanser hücreleri için kemoterapötik ilaçlara ve radyoterapiye karşı hayatta kalma avantajı sağlar (Narayanankutty ve ark., 2019).

Yapılan tez çalışmasında sağlıklı kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; GPx aktivitesi, sadece yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan farelerin karaciğer dokusunda artmıştır ($p<0,05$), kanserli kontrol grubunda, düşük doz H. Perforatum uygulanan grupta ve doksorubisin uygulanan grupta ise sağlıklı gruba göre azalma bildirilmiştir. GPx düzeyinde benzer bir azalma Chio ve ark. (2017) tarafından da bildirilmiştir.

Kontrol grubuna göre CAT aktivitesi değerlendirildiğinde kanserli kontrol grubu ve düşük doz *Hypericum perforatum* uygulanan gruplarda azalma olmakla birlikte bu azalma anlamlı değilken, yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan grupta artmıştır ($p<0,05$). Doksorubisin uygulanan grupta ise azalmıştır ($p<0,05$).

SOD aktivitesi ise sağlıklı ve kanserli kontrol gruplarında benzer düzeyde bulunurken, düşük doz ve yüksek doz *Hypericum perforatum* ile doksorubisin uygulanan gruplarla kıyaslandığında kanserli kontrol grubunda ve sağlıklı kontrol gruplarına göre anlamlı bir düzeyde azalma belirlenmiştir. SOD aktivitesinin beyin tümörlü hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre azaldığının bildirildiği (Cameron ve ark., 2000) çalışma sonuçlarıyla uyuşmamaktadır. Ancak, Er ve ark., (2004) meme kanserli hastalarda farklı düzeylerde SOD ekspresyonu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, tümörlü ve tümör bulunmayan meme dokusunda Cu/Zn-SOD ekspresyonlarında anlamlı bir farklılık bulunamazken, Mn-SOD düzeyleri artmış olduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise larenks karsinomada, tümör dokusunda SOD düzeyleri çalışma sonuçlarımızla benzer olarak yüksek bulunmuştur (Chio ve ark., 2017).

Oberley ve Oberley (1997), hayvan ve insanlarda görülen kanserlerde yapılan çalışmalarda, özellikle adenokarsinomalarda artmış SOD ve CAT düzeyleri görülebileceğini bildirmişlerdir. Tez çalışmasından elde edilen bulgularda SOD düzeyleri bu sonuçlarla benzerlik gösterirken, CAT düzeyleri bundan farklı olarak azalmıştır.

Genel olarak, insan kanser hücrelerinde düşük CAT ve GPx düzeylerinin belirlenmesi, birçok kanser hücresinin hidrojen peroksidi detoksifiye edemediğini göstermektedir (Oberley ve Oberley, 1997). Bu sonuçlarla benzer olarak yapılan tez çalışmasında GPx ve CAT aktiviteleri kanserli dokularda sağlıklı kontrol gruplarına göre azalmıştır. Ancak GPx düzeyleri düşük doz *Hypericum perforatum* uygulanan grupta değişmezken, yüksek doz verilen grupta artmıştır. Bu farklılık yüksek doz *Hypericum perforatum*'un karaciğer dokusunda antioksidan etkinlik göstermesi sebebiyle olabilir.

7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) uygulanan grupta antioksidan enzimlerin (GPx, CAT, SOD ve GST) aktivitelerini kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 0.5-7.7 kat ($p < 0.05$) azalttığını göstermişlerdir ($p < 0.05$). Graviola ile tedavi edilen sıçanların, DMBA ile tedavi edilen gruba kıyasla, GBA için GSH, TAC ve antioksidan enzimlerinde ($p < 0.05$) 1.4 ve 3.5 kat, G57 için 1. ve 3.5 kat artış

gösterdiği bildirilmiştir (Zeweil ve ark., 2019).

Çalışmamızda ise antioksidan özellikleri bilinen *Hypericum perforatum*'un yüksek dozlarda (900 mg/kg) uygulanmasının meme tümörü oluşturulan farelerde sağlıklı farelere göre GPx ve CAT aktivitelerinde artış meydana getirirken, SOD aktivitesinde azalma görülmüştür. Düşük dozlarda ise (300 mg/kg), sağlıklı kontrol grubuna göre SOD ($p<0,05$) ve GPx aktivitelerinde azalma meydana gelmiştir.

Aghaei ve ark. (2005), meme kanserinde serum ve tümör dokularında ADA aktivitesinin artmış olduğunu bildirmişlerdir. Canbolat ve ark. (1996) ise meme kanserinde tümör dokusundaki ADA aktivitesini sağlıklı dokulardan yüksek bulmuşlardır. Bir başka çalışmada, meme kanserli hastalarda serum ADA aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Walia ve ark., 1995). Artmış ADA aktivitesinin, tümörün evrelendirilmesi, tümör büyüklüğü, lenf nod tutulumu ve yaş ile ilişkili olduğu; bu sebeple, artmış ADA aktivitesinin tümör dokusundan farklı kaynaklara bağlı olabileceği bildirilmiştir (Aghaeia ve ark., 2005).

Avcı ve ark. (2005), antioksidan (allium-sativum ve trifolium-pratense) ekstraktlarının takviyesinin kanserli ve kanserli olmayan karaciğer dokularında ADA aktivitesini incelemişlerdir. Kullanılan antioksidan ekstrakt her iki grupta da ADA aktivitesini belirgin olarak inhibe etmiştir.

ADA aktivitesinin araştırıldığı kanser doku ve hücrelerinde çok farklı sonuçlar vardır. Kiozomi ve ark. (1985) cilt kanserlerinde yüksek ADA aktivitesini rapor etmişlerdir. Yine Sufrin ve ark. (1978) safra kesesi kanseri olan hastaların kanser dokularında tespit ettikleri yüksek ADA aktivitelerini bildirmişlerdir. Ancak Durak ve ark. (1993) insan larenks kanserlerinde ADA aktivitesini komşu sağlam dokuya göre düşük tespit etmişlerdir. Daha önce de belirtildiği gibi malign hücredeki gen yapısının yeniden düzenlenmesi sonucu normal hücredeki enzim profili değişime uğramaktadır. Kanserli hücrelerdeki enzim aktivitelerinin ölçülmesi, değişime uğrayan malign hücredeki yeni düzenlemeler hakkında bizlere bilgi vermektedir. Bu enzim aktivitelerinin artışı veya azalışı, kanser hücresindeki yeniden programlanmış genetik bilginin bir göstergesi olması açısından önemlidir.

(Dolanmay, 1998).

Serum ADA aktivitesinin hücresel bağışıklık ile ilgili olduğu düşünülen fizyolojik işlevleri vardır. Hücresel bağışıklık üzerine etkisini hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak T hücrelerini harekete geçirerek gösterirler (Söğüt ve ark., 2002). Bağışıklık ve dolaylı olarak tümör büyümesi üzerine etkisini Dennis ve ark. (2013) adenomatöz polipli hastalarda T hücreleri ve T regülatör hücrelerin IL 10 salgısı için önemli bir kaynak olduğunu, salgılanan IL 10'un poliplerin hem sayısını hem de büyüklüğünü arttırdığını farelerde oluşturdukları bir deney modelinde göstermişlerdir. Ayrıca T regülatör hücrelerin adenomatöz polipoziste anti tümör immün cevabı suprese ettiği, artan IL 10 düzeyinin kanser gelişimi ve tümör büyümesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gounaris ve ark., 2009).

Benign ovarian tümörlere kıyasla, yumurtalık kanseri olan hastalarda serum ve peritoneal sıvı ADA düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır ($p = 0.001$). Buna ek olarak, yumurtalık kanserlerinin histopatolojik alt tipleri ve derecesine göre ADA düzeyleri önemli ölçüde farklı bulunurken, iyi huylu ve düşük dereceli habis tümörler arasındaki ADA düzeyleri bakımından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Aynı çalışmada peritoneal sıvı ile serum ADA düzeyleri arasında önemli bir ilişki olduğu, malign over tümörlerinde serum ve peritoneal sıvı ADA düzeyleri daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hatta bu bulgularla ADA'nın, yumurtalık tümörlerinin tanı ve tedavisinde yararlı bir biyobelirteç olabileceği öne sürülmüştür (Urnsak ve ark., 2012).

Meme kanserli hastalarda yapılan çalışmada ADA aktivitesi hasta grubunda Evre-1, Evre-2 ve Evre-3' de yüksek saptanmış ($p<0.001$) ve ADA aktiviteleri hasta grubu evrelerinde sırasıyla, Evre-1 ile Evre-2 ve Evre-1 ile Evre-3 arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık yokken, Evre-2 ile Evre-3 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$) (Demir, 2017).

Canbolat ve ark. (1996) meme kanseri tümörlerinde ADA aktivitesinin normal dokudan daha yüksek olduğunu gösterirken, Walia ve ark., (1995) da, meme kanserli hastaların serumunda artmış toplam ADA aktivitesi tespit etmişlerdir. Bu

Çalışmalardan elde edilen sonuçlar, postmenopozal yaşı ile ilgili olarak hem toplam ADA hem de ADA2 izoenzimi aktivitelerinin meme kanserli hastaların serumunda arttığını ortaya koymaktadır (Aghaeia ve ark., 2005).

Serum ADA seviyelerinin çeşitli kanser türlerinde yaklaşık bir ila üç kat arttığı gösterilmiştir. Mevcut çalışmadaki veriler, baş-boyun kanserli hastalarda serum ADA düzeylerinin kontrollere kıyasla yaklaşık %150 oranında arttığını göstermektedir. Malignitede serum ADA aktivitesinde artış, artmış adenozin metabolizmasını akla getirmektedir (Mishra ve ark., 2000).

Ishii ve Green (1973) adenozinin, kültürlenmiş memeli hücreleri için toksik olduğunu ve pirimidin biyosentezine müdahale ettiğini bildirmiştir. Mishra ve ark. (2000), ise yaptıkları çalışma sonucunda ADA aktivitesindeki artışın doğrudan kanser evresi ile ilişkili ve artışın primer tümör kitlesi ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Sufrin ve ark. (1978), mesane geçiş hücreli karsinomalı hastalarda lenfosit ADA aktivitesindeki artış ile tümör evresi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Bazı araştırmacılar, ameliyattan sonra akciğer karsinomalı hastalarda serum ADA düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir (Nishihara ve ark., 1970; Sufrin ve ark., 1978). Nishihara ve ark. (1970), radyoterapiye tabi tutulmuş hastaların serum ADA aktivitesinde düşüş gösterdiklerini bildirmiştir. Radyoterapi tamamlandıktan sonra, ADA aktivitesinde yaklaşık %85 azalma görüldüğünü bildirmişlerdir.

ADA, özellikle T hücreleri başta olmak üzere lenf hücrelerinin farklılaşması için gerekli ve monositlerin makrofajlara dönüşmesinde önemli rol oynamaktadır (Shore ve ark., 1981). ADA aynı zamanda, hücresel immunitenin bir belirteci olduğu varsayılır (Piras ve ark., 1978). İntraselüler enfeksiyon ve yangısal hastalıklarda oluşan monosit/makrofaj aktivasyonu, ADA'nın salınımının artmasına ve serum düzeyinin yükselmesine neden olur. Yangısal hastalıklarda, dokularda meydana gelen yangı ve aktive olan makrofajlardan salınan serbest radikallerin oksidatif strese neden olabileceği bildirilmiştir (Wiid ve ark., 2004).

Yapılan tez çalışmasında, karaciğer dokusu ADA enzim aktivitesi sağlıklı kontrol grubuna kıyaslandığında, meme tümörü oluşturulan kontrol grubunda artmış; yüksek doz (900 mg/kg) *Hypericum perforatum* uygulanan grupta azalmıştır. Düşük doz (300 mg/kg) *Hypericum perforatum* ve doksorubisin uygulanan gruplarda ise azalma olmakla birlikte, anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Tez çalışmasında kanserli kontrol grubunda elde edilen veriler Aghaei ve ark. (2005) ve Canbolat ve ark. (1996) ile benzer bulunmuştur.

Durak ve ark., 1994, ise meme kanserli ve mesane kanserli hastalarda kanser dokusunda ADA aktivitesinin artmış, larenks kanserli hastaların kanserli dokularında bu enzim aktivitesinin düştüğünü bildirmişlerdir (Durak ve ark., 1994).

Yine aynı şekilde Avcı ve ark. (2005)'nin antioksidan olan (allium-sativum ve trifolium-pratense) ekstraktlarının takviyesinin kanserli ve kanserli olmayan karaciğer dokularında ADA aktivitesini inceledikleri çalışmada, tez çalışmasıyla benzer olarak, kullanılan antioksidan ekstraktın her iki grupta da ADA aktivitesini belirgin olarak inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Primer göğüs kanserli hastalardan alınan serum ve malign dokulardaki ADA aktivitesinin ve bunun izoenzimlerinin ADA1 ve ADA2 durumunu araştırıldığı çalışmada tümör ve serumun toplam ADA aktivitelerinin belirgin olarak arttığını ve bunun esas olarak artmış ADA2 izoenziminden kaynaklandığı bildirilmiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hızlı büyümekte olan kanser hücrelerinde artmış ADA aktivitesi beklenen bir sonuçtur. ADA aktivitesinin bu hücrelerde düşürülmesi, kanser hücrelerinin hızlı büyümesinin baskılanmasıyla ilgili olabilir.

Kanserle ilgili veriler, antioksidan enzim düzeylerinde hücrenin kökenine bağlı olarak bir bozukluğun olduğunu belirtmektedir. İmmünohistokimyasal tekniklerle yapılan çalışmalar, hayvan ve insanlarda görülen kanserlerde antioksidan enzim düşüklüğünü göstermiş, bu durum ise antioksidan enzimlerin kanser oluşumunda ve malignant fenotipte rolü olduğunu düşündürmektedir. Genel olarak, insan kanser hücrelerinde düşük antioksidan enzim düzeylerinin belirlenmesi, birçok kanser hücrelerinin hidrojen peroksidi detoksifiye edemediğinden kaynaklanabilir.

Düşük doz H.perforatum uygulanan grupta ise yüksek doz uygulanan gruba göre antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen farklılık uygulanan dozun kanserli dokularda enzim aktivitelerini farklı derecelerde etkilemesinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

Genel olarak antioksidan etkileri ve kanserden koruyucu etkileri sebebiyle kullanılsa da bitki ekstraktlarının ve özellikle bu tez çalışmasında kullanılan H. Perforatum'un doza ve kanser türüne bağlı olarak prooksidan etki gösterebilecekleri çalışmalarda gösterilmiştir. Bunun yanında H. Perforatumu'nun kanser tedavisinde antikanser ilaçlarla birlikte kullanımının etkilerinin ve bu etki mekanizmalarının daha detaylı olarak araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Aghacia M, Karami-Tehrani F, Salamia S, Atrib M (2005).** Adenosine Deaminase Activity In The Serum And Malignant Tumors Of Breast Cancer: The Assessment Of Isoenzyme Ada1 And Ada2 Activities. *Clin Biochem*, **38**, 887-891.
- Agostinis P, Vantieghem A, Merlevede W, De Witte PAM (2002).** Hypericin in cancer treatment: More light on the way. *Int J Biochem Cell Biol*, **34**, 22-41.
- Alia M, Ramos S, Mateos R, Bravo L, Goya L (2005).** Response of the antioxidant defense system to tert-butyl hydroperoxide and hydrogen peroxide in a human hepatoma cell line (HepG2). *J. Biochem. Mol. Toxicol*, **19**, 119-128.
- Apel K, Hirt H (2004).** Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol*, **55**, 373-399
- Avcı A, Kaçmaz M, Kavutcu M, Göçmen E ve Durak I (2005).** Effects of on Antioxidant Extract on Adenosine Deaminase Activities in Cancerous Human Liver Tissues. *International Journal of Cancer Research*, **1 (1-2)**, 53-56.
- Aydemir B, Karadağ Sarı E (2009).** Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, **2(2)**, 56-60.
- Aydın A, Sayal A, Işimer A (2001).** *Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi*. Ankara: GATA Basımevi
- Bahadır G (2009).** *Sağlıklı gebelerde ADA ve izoenzimleri'nin değerlendirilmesi*. Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul.
- Bannai S, Tateishi N (1986).** Role of membrane transport in metabolism and function of glutathione in mammals. *J. Membr. Biol.*, **89**, 1-8.
- Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD (2001).** St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology, and clinical properties. *J Pharm Pharmacol*, **53**, 583-600.
- Baskin SI, Salem H (1997).** *Oxidants, antioxidants, and free radicals*. Washington DC: Taylor and Francis, p: 26-35.
- Baureithel KH, Buter KB, Engesser A, Burkard W, Schaffer W (1997).** Inhibition of benzodiazepine binding in vitro by amentoflavone, a constituent of various species of *Hypericum*. *Pharm Acta Helv*, **72**, 15-37.
- Behl C, Mosmann B (2002).** Antioxidant neuroprotection in Alzheimer's disease as preventive and therapeutic approach. *Free Radical Bio Med*, **33**, 182-191.

Bemi V, Tazzni N, Banditelli S, Giorgelli F, Pesi R, Turchi G, Mattana A, Sgarrella F, Tozzi MG, Camici M. (1998). Deoxyadenosine metabolism in a human colon-carcinoma cell line (LoVo) in relation to its cytotoxic effect in combination with deoxycoformycin. *Int. J. Cancer*, **75** (5), 713-20.

Benedi J, Arroyo R, Romero C, Martin-Aragon S, Villar AM (2004). Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells. *Life Sci*, **75**, 1263-1276.

Beyazıt Y, Koklu S, Tas-Purnak T, Kurt M, Turhan T, Çelik T, Suvak B, Torun S, Akbal E (2012). Serum Adenosine Deaminase Activity As A Predictor Of Disease Severity In Ulcerative Colitis. *J Crohns Colitis*, **6**(1), 102-7

Blackburn MR, Kellems RE (2005). Adenosine deaminase deficiency: metabolic basis of immune deficiency and pulmonary inflammation. *Adv. Immunol*, **86**, 1-41.

Bombardelli E, Morazzoni P (1995). *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, **66**(1), 43-68.

Bottari NB, Baldissera MD, Oliveira CB, Duarte T, Duarte MM, Leal ML, Thomé GR, Zanini D, Schetinger MR, Nunes MA, Dressler VL, Monterio SG, Tonin AA, Da Silva AS (2014). Effect of zinc supplementation on E-ADA activity, seric zinc, and cytokines levels of *Trypanosoma evansi* infected Wistar rats. *Microb. Pathog*, **74**, 15-19.

Bramanti E, Lenci F, Sgarbossa A (2010) Effects of hypericin on the structure and aggregation properties of β -amyloid peptides. *Eur. Biophys J*, **39**, 1493-1501

Breyer A, Elstner M, Gillessen T, Weiser D, Elstner E (2007). Glutamate-induced cell death in neuronal HT22 cells is attenuated by extracts from St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Phytomedicine*, **14**, 250-255.

Brezeninska-Slebodzinska E, Slebodzinski AB, Pietras B, Wieczorek G (1995). Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. *Biol. Trace Elem. Res.*, **47**, 69-74

Bruni R, Sacchetti G (2009). Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/ Guttiferae). *Molecules*, **14**, 682-725.

Buckley RH (2004). Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annu. Rev. Immunol*, **22**, 625-655.

Butterweck V (2003). Mechanism of action of St John's wort in depression: what is known? *CNS Drugs*, **17**(8), 539-62.

Büyükerberber M, Sevinç A, Çağlayan CE, Gulsen MT, Sarı I, Camcı C (2006). Non-Hodgkin lymphoma with high adenosine deaminase levels mimicking peritoneal tuberculosis: an unusual presentation. *Leuk Lymphoma*, **47**(3), 565-568.

Bystrov NS, Chernov BK, Dobrynin VN, Kolosov MN (1975). The structure of hyperforin. *Tetrahedron Lett*, **32**, 2791-4.

Cameron MD, Schmidt EE, Kerkvliet N, Nadkarni KV, Morris VL, Groom AC, Chambers AF, MacDonald IC (2000). Temporal progression of metastasis in lung: Cell survival, dormancy, and location dependence of metastatic inefficiency. *Cancer Res*, **60**, 2541-2546.

Camici M, Tozzi MG, Allegrini S (1990). Purine Salvage Enzyme Activities In Normal And Neoplastic Human Tissues. *Can Biochem Biophys*, **2**, 201-9

Canbolat O, Durak I, Cetin R, Kavutcu M, Demirci S, Ozturk S (1996).Activities of adenosine deaminase, 5V-nucleotidase, guanase and cytidin deaminase enzymes in cancerous and noncancerous human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, **37**, 189-93.

Caporaso N (2003). The molecular epidemiology of oxidative damage to DNA and cancer. *J Natl Cancer Inst.*, **95(17)**, 1263-5.

Carr AC, Frei B (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr.*, **69(6)**, 1086-1107.

Casanova V, Naval-Macabuhay I, Massanella M, Rodríguez-García M, Blanco J, Gatell JM, Garcia F, Gallart T, Lluís C, Mallol J, Franco R, Climent N, McCormick PJ (2012). Adenosine deaminase enhances the immunogenicity of human dendritic cells from healthy and HIVinfected individuals. *PLOS ONE*, **7(12)**, e51287.

Cat B, Stuhlmann D, Steinbrenner H, Alili L, Holtkotter O, Sies H, Brenneisen P (2006). Enhancement of tumor invasion depends on transdifferentiation of skin fibroblasts mediated by reactive oxygen species. *J Cell Sci*, **119**, 2727-2738.

Cerutti PA (1985). Pro-oxidant states and tumor promotion. *Science*, **227(4685)**, 375-81

Chatterjee S, Bhattacharya SK, Wonnemann M and Singer A, Muller WE (1998). Hyperforin as possible antidepressant component of Hypericum extracts. *Life Sci*, **63**, 499-510.

Chen EI, Hewel J, Krueger JS, Tiraby C, Weber MR, Kralli A, Becker K, Yates JR, Felding-Habermann B (2007). Adaptation of energy metabolism in breast cancer brain metastases. *Cancer Res*, **67**, 1472-1486.

Cheung C, Zheng GJ, Li AMY, Richardson BJ, Lam PKS (2001). Relationship Between Tissue Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Antioxidative Responses of Marine Mussels, *Perna viridis*. *Aquat Toxicol*, **52(3-4)**, 189-203.

Chio, IIC, Jafarnejad SM, PonzSarvise M, Park Y, Rivera K, Palm W, Wilson J, Sangar V, Hao Y, Ohlund D, Wright K, Filippini D, Lee EJ, DaSilva B, Schaeffer C, Wilkinson JE, Buscaglia JM, DeNicola GM, Tiriack H, Hammell M, Crawford HC, Schmidt EE, Thompson CB, Pappin DJ, Sonenberg N, Tuveson DA (2016). NRF2 promotes tumor maintenance by modulating mRNA translation in pancreatic cancer. *Cell*, **166**, 963-976.

Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van-Zanden J, Van Bladeren PJ (2001). The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. *Environ Toxicol Phar*, **10(4)**, 141-152.

Colasanti A, Kisslinger A, Liuzzi R, Quarto M, Riccio P, Roberti G, Tramantano D, Villani F (2000). Hypericin photosensitization of tumor and metastatic cell lines of human prostate. *J Photochem Photobiol*, **54**, 103-7.

Commoner B, Townsend J, Pake GE (1954). Free radicals in biological material. *Nature*, **174**, 689-691.

Cooper BF, Sideraki V, Wilson DK, Dominguez DY, Clark SW, Quijcho FA, Rudolph FB (1997). The role of divalent cations in structure and function of murine adenosine deaminase. *Protein Sci.*, **6**, 1031-1037

Da Silva AS, Schafer AS, Aires AR, Tonin AA, Oliveira CB, Zanini D, Schetinger MR, Morsch VM, Lopes ST, Monterio SG, Leal ML (2013). E-ADA activity in erythrocytes of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and its possible functional correlations with anemia. *Res. Vet. Sci.*, **95**, 1026-1030.

Dasmahapatra KS, Facs HZK, Dasmahapatra A, Suarez S (1986). Evaluation Of Adenosine Deaminase Activity In Patients With Head And Neck Cancer. *Jpn J Surg*, **40**, 363-73.

Deaton CM, Marlin DJ (2003). Exercise- Associated Oxidative Stress. *Clin Tech Equine P*, **2(3)**, 278-291

Decker LC, Deuel DM, Sedlock DM (1989). Role of lipids in augmenting the antibacterial activity of benzoyl peroxide against *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob Agents Ch*, **33(3)**, 326-30

Demir H, Keskin S, Demir C, Gökyer H (2017). Meme Kanseri Teşhisi Ve Evrelerini Belirlemede Bazı Enzimlerin Tanısal Performansını ROC (Receiver Operating Characteristics) Eğrisi ile Değerlendirilmesi, http://medikalfizik.org/uploads/files/15_mfd_kongre/17mayis_30_halitdemir.pdf Erişim Tarihi: 15.11.2017.

Dennis KL, Wang Y, Blatner NR, Wang S, Saadalla A, Trudeau E, Roers A, Weaver CT, Lee JJ, Gilbert JA, Chang EB, Khazaie K (2013). Adenomatous Polyps Are Driven By microbe-Instigated Focal Inflammation And Are Controlled By IL-10 Producing T-Cells. *Cancer Res*, **73(19)**, 5905-5913.

Der Marderosian A, Beutler J (2002). *The Natural Review of Products*. St. Louis, MO: Facts and Comparisons.

Desrosiers MD, Cembrola KM, Fakir MJ, Stephens LA, Jama FM, Shameli A, Mehal WZ, Santamaria P, Shi Y (2007). Adenosine deamination sustains dendritic cell activation in inflammation. *J. Immunol.* **179**, 1884-1892

Diplock A (1998). *Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients*. Belgium: ILSI Europe concise monograph series, p:59.

Dolanmaz D (1998). *Kanseröz Ve Non- Kanseröz Bas- Boyun Bölgesi Dokularında Adenozin Deaminaz Enzim Aktivitesinin İncelenmesi*. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara.

Dongre SH, Badami S, Natesan S, Chandrashekhar R (2007). Antitumor Activity of the Methanol Extract of *Hypericum hookerianum* Stem Against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice. *J Pharmacol Sci*, **103**, 354-359.

Donofrio J, Coleman MS, Huton JJ, Daoud A, Lampkin B, Dyminski J (1978). Overproduction of adenosine deoxynucleosides and deoxynucleosine in adenosine deaminase deficiency with severe combined immunodeficiency disease. *J Clin Invest*, **62**(4), 884-7.

Dornard J, Bonnafeous JC, Favero J, Mani JC (1982). Ecto 5-nucleotidase and adenosine deaminase activities of lymphoid cells. *Biochem Med*, **28**, 144-56.

Droge W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.*, **82**(1), 47-95

Dudek-Peric AM, Golazb J, Garg AD, Agostinis P (2015). Melanoma targeting with the loco-regional chemotherapeutic, Melphalan: From cell death to immunotherapeutic efficacy. *Oncoimmunology*, **4**, e1054600.

Durak I, Işık ACÜ, Canbolat O, Akyol Ö, Kavutçu M (1993). Adenosine Deaminase, 5' Nucleotidase, Xanthine Oxidase, Superoxide Dismutase And Catalase Activities İn Cancerous And Non- Cancerous Human Laryngeal Tissues. *Free Radical Bio Med*, **15**(6), 681-684.

Durak I, Işık AU, Canbolat O, Akyol O, Kavutçu M (1994). Adenosine deaminase, 5V-nucleotidase, xanthine oxidase, superoxid dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human bladder tissues. *Free Radical Biol Med*, **16**, 825-31.

Durak I, Çetin R, Canbolat O, Çetin D, Yurtaslan Z, Ünal A (1996). Adenosine Deaminase, 5' Nucleotidase, Guanase And Cytidine Deaminase İn Gastric Tissues From Patients With Gastric Cancer. *Cancer Lett*, **84**(2), 199- 202.

Dünder Y, Aslan R (1999). Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsiyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, **2(2)**, 134-142.

Dünder Y, Aslan R (1999). Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, **9(1-2)**, 32-39.

Ebadi M (2007). *Pharmacodynamic basis of herbal medicine*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group.

Ebaid H, Bashandy SAE, Alhazza IM, Rady A, El-Shehry S (2013). Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutr Metab.* **10(20)**.

El-Sayed A, Cordell GA (1981). Catharanthus alkaloids. Catharanthamine, a new antitumor bisindole alkaloid from Catharanthus roseus. *J Nat Prod*, **44**, 289-293.

El-Sayed A, Handy GA, Cordell GA (1983). Catharanthus alkaloids, XXXVIII. Confirming structural evidence and antineoplastic activity of the bisindole alkaloids leurosine-N^b-oxide (pleurosine), roseadine and vindolicine from Catharanthus roseus. *J Nat Prod*, **46**, 517-527.

Eltzschig HK, Faigle M, Knapp S, Karhausen J, Ibla J, Rosenberger P, Odegard KC, Laussen PC, Thompson LF, Colgan SP (2006). Endothelial catabolism of extracellular adenosine during hypoxia: the role of surface adenosine deaminase and CD26. *Blood*, **108**, 1602–1610.

Er TK, Hou MF, Tsa EM, Lee JN, Tsai LY (2004). Differential expression of manganese containing superoxide dismutase in patients with breast cancer in Taiwan. *Ann Clin Lab Sci.* **34(2)**, 159-64.

Erdelmeier CAJ (1998). Hyperforin, possibly the major non-nitrogenous sec-metabolite of Hypericum perforatum L. *Pharmacopsychiatry*, **31**, 2-6.

Eroglu A, Canbolat O, Demirci S, Kocaoglu H, Eryavuz E, Akgul H (2000). Activities of adenosine deaminase and 50 nucleotidase in cancerous and noncancerous human colorectal tissues. *Med Oncol*, **17**, 319-324.

Feeney L, Berman ER (1976). Oxygen toxicity: Membran damage by free radicals. *Invest Ophthal*, **15**, 789-792.

Sun Y (1990). Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med*, **8**, 583-599.

Fink RC, Scandalios JG (2002). Molecular evolution and structure-function relationships of the superoxide dismutase gene families in angiosperms and their relationship to other eukaryotic and prokaryotic superoxide dismutases. *Arch Biochem Biophys*, **399**, 19-36.

Finkel T, Holbrook NJ (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, **408**, 239-247.

Fox FE, Niu Z, Tobia A, Rook AH (1998). Photoactivated hypericin is an anti-proliferative agent that induces a high rate of apoptotic death of normal, transformed, and malignant T lymphocytes: Complications for the treatment of cutaneous lymphoproliferative and inflammatory disorders. *J Invest Dermatol*, **111**(2), 327-32

Freeman BA, Crapo JD, (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47**, 412-426

Gackowski D, Speina E, Zielinska M, Kowalewski J, Rozalski R, Siomek A, Paciorek T, Tudek B, Olinski R (2003). Products of oxidative DNA damage and repair as possible biomarkers, Molina R, Filella X, Auge JM, Fuentes R, Bover I et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol.* **24**(4), 209-18.

Gaedcke F (2003). *St John's wort herb extracts: Manufacturing, standardisation and characterization.* In E. Ernst (Ed.), *Hypericum, medicinal and aromatic plants – industrial profiles*. London: Taylor and Francis Group, s:(31), 49-64.

Gakis C (1996). Adenosine deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 and ADA2: diagnostic and biological role. *Eur Respir J*, **9**, 623-624.

Garewal HS (1997). *Antioxidants and disease prevention*. Florida: CRC Press LLC, p: 3-19.

Garg AD, Krysko DV, Vandenabeele P, Agostinis P (2012). Hypericin-based photodynamic therapy induces surface exposure of damage-associated molecular patterns like HSP70 and calreticulin. *Cancer Immunol. Immunother.* **61**, 215-221

Garg AD, Nowis D, Golab J, Agostinis P (2010). Photodynamic therapy: Illuminating the road from cell death towards anti-tumour immunity. *Apoptosis*, **15**, 1050-1071.

Gill JG, Piskounova E, Morrison SJ (2016). Cancer, Oxidative Stress, and Metastasis. *Cold Sh Q B*, **81**.

Ginés S, Mariño M, Mallol J, Canela EI, Morimoto C, Callebaut C, Hovanessian A, Casado V, Lluís C, Franco R (2002). Regulation of epithelial and lymphocyte cell adhesion by adenosine deaminase-CD26 interaction. *Biochem. J.* **361**, 203-209

Gioti EM, Fiamingos YC, Skalkos DC, Stalikas CD (2007). Improved method for the in vitro assessment of antioxidant activity of plant extracts by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-electron capture detection. *J Chromatogr A.*, **1152**, 150-155.

Gounaris E, Blatner NR, Dennis K, Magnusson F, Gurish MF, Strom TB, Beckhove P, Gounari F, Khazaie K (2009). T-Regulatory Cells Shift From A Protective Anti-Inflammatory To A Cancer-Promoting Proinflammatory Phenotype In Polyposis. *Cancer Res*, **69**(13), 5490-5497.

Grainger Bisset N, Wichtl M (2001). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. 2nd ed. Stuttgart, Germany: Medpharm GmbH Scientific Publishers.

Green RM, Graham M, O'Donovan MR, Chipman JK, Hodges NJ (2006). Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. *Mutagenesis*, **21**(6), 383-390

Greeson JM, Sanford B, Monti DA (2001). St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*, **153**, 402-14.

Griffith TN, Varela-Nallar L, Dinamarca MC, Inestrosa NC (2010). Neurobiological effects of Hyperforin and its potential in Alzheimer's disease therapy. *Curr Med Chem*, **17**, 391-406.

Grosskopf HM, Schwertz CI, Machado G, Bottari NB, Da Silva ES, Gabriel ME, Lucca NJ, Alves MS, Schetinger MR, Morsch VM, Mendes RE, Da Silva AS (2017). Cattle naturally infected by *Eurytrema coelomaticum*: relation between adenosine deaminase activity and zinc levels. *Res. Vet. Sci.* **110**, 79-84.

Guedes AP, Franklin G, Fernandes-Ferreira M (2012). *Hypericum* sp.: essential oil composition and biological activities. *Phytochem Rev*, **11**, 127-152.

Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G (1991). Biological Variability of Superoxide Dismutase, Glutathione peroxidase, and Catalase in Blood. *Clin Chem.* **37**(11), 1932-1937

Guo-Shiou Liao GS, Apaya MK, Shyur LF (2013). Review Article Herbal Medicine and Acupuncture for Breast Cancer Palliative Care and Adjuvant Therapy. *Evid.-Based Complementary Altern. Med. Volume 2013, Article ID 437948*, 17.

Gupta BK, Bharat V, Bandyopadhyay D (2010). Sensitivity, specificity, negative and positive predictive values of adenosine deaminase in patients of tubercular and non-tubercular serosal effusion. *India J Clin Med Res*, **2**(3), 121-126.

Gutteridge JMC (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* **41**, 1819-1828

Gürkan SA, Bozdağ-Dündar O (2005). *Coenzyme Q10*. Ankara: J. Fac. Pharm, s: **34**, 129-154.

Hahn G (1992). *Hypericum perforatum* (St. John's wort): A medicinal herb used in antiquity and still of interest today. *J Naturopathic Med*, **3**, 94-6

Halliwell B (1994). Antioxidants and Human Disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, **344**, 721-724.

Harman D (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, **11**, 298-300.

Hawryluk JM, Ferrari LL, Keating SA, Arrigoni E (2012). Adenosine inhibits glutamatergic input to basal forebrain cholinergic neurons. *J. Neurophysiol.* **107**, 2769-2781.

He T, Brocca-Cofano E, Gillespie DG, Xu C, Stock JL, Ma D, Policicchio BB, Raetz KD, Rinaldo CR, Apetrei C, Jackson EK, Macatangay BJ, Pondrea I (2015). Critical role for the adenosine pathway in controlling simian immunodeficiency virus-related immune activation and inflammation in gut mucosal tissues. *J. Virol.* **89**, 9616-9630.

Hersfield MS, Kredich NM (1980). Resistance of adenosine kinase deficient human lymphoblastoid cell line to effects of deoxynucleosine on growth. S-adenosylhomocystein hydrolase inactivation and dATP accumulation. *Proc Natl Sci U S A*, **77**, 4292-6.

Hevia D, Mayo JC, Tan DX, Rodriguez-Garcia A, Sainz RM (2014). Melatonin Enhances Photo-Oxidation of 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein by an Antioxidant Reaction That Renders N1- Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine (AFMK). *PLoS ONE*, **9(10)**, e109257.

Hitoglou S, Hatzistilianou M, Gougoustamou D, Athanassiadou F, Kotsis A, Catriu D (2001). Adenosine Deaminase Activity And Its Isoenzyme Pattern In Patients With Juvenile Rheumatoid Arthritis And Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Rheumatol*, **20(6)**, 411-6

Holden C (1991). Treating AIDS with worts. *Science*, **254**, 522.

Hostanska K, Reichling J, Bommer S, Weber M, Saller R (2003). Hyperforin a constituent of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extract induces apoptosis by triggering activation of caspases and with hypericin synergistically exerts cytotoxicity towards human malignant cell lines. *Eur J Pharm Biopharm*, **56(1)**, 121-32.

Ishii A. And Green H. (1973). Lethality Of Adenosine For Cultured Mammalian Cells By Interference With Pyrimidine Biosynthesis. *J. Cell Sci.*, **13**, 419-439.

Lagunes I ve Trigos A (2015). How antioxidants may have a pro-oxidant effect? *J Photochem Photobiol B*.<https://atlasofscience.org/how-antioxidant-may-have-a-pro-oxidant-effect/> Erişim Tarihi: 22.07.2019.

Hudson JB, Lopez-Bazzocchi I, Towers GH (1991). Antiviral activities of Hypericin. *Antivir Res*, **15**, 101-112.

Hunt EJ, Lester CE, Lester EA, Tackett RL (2001). Effect of St. John's wort on free radical production. *Life Sci.*, **69**, 181-190.

Hussein HK, Elnaggar MH, Al-Zahrani NK (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Glo Adv Res J Environ Sci Toxicol.* **1(4)**, 66-71.

Iliesiu A, Campeanu A, Dusceac D (2010). Serum uric acid and cardiovascular disease. *Maedica J Clin Med.* **5(3)**, 186-192.

Jacobson JM, Feinman L, Liebes L, Ostrow N, Koslowski V, Tobia A, Cabana BE, Lee D, Spritzler J, Prince AM (2001). Pharmacokinetics, safety, and antiviral effects of hypericin, a derivative of St. John's wort plant, in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Antimicrob Agents Ch.*, **45**, 517-24.

Jewell C, O'Brien NM (1999). Effect of dietary supplementation with carotenoids on xenobiotic metabolizing enzymes in the liver, lung, kidney and small intestine of the rat. *Br. J. Nutr.* **81**, 235-242.

Kalinina EV, Chernov NN, Novichkova MD (2014). Role of Glutathione, Glutathione Transferase, and Glutaredoxin in Regulation of Redox-Dependent Processes. *Published in Uspekhi Biologicheskoi Khimii.* **54**, 299-348.

Kamuhabwa AR, Agostinis P, D'Hallewin MA, Kasran A, De Witte PA (2000). Photodynamic activity of hypericin in human urinary bladder carcinoma cells. *Anticancer Res.* **20**, 2579-84.

Kaya S, Çetin ES, Arıdoğan BC, Arıkan S, Demirci M (2007). Adenosine Deaminase Activity in Serum of Patients with Hepatitis a Useful Tool In Monitoring Clinical Status. *J Microbiol Immunol Infect.* **40(4)**, 288-92.

Khare SD, Kipnis Y, Greisen PJr, Takeuchi R, Ashani Y, Goldsmith M, Song Y, Gallaher JL, Silman I, Leader H, Sussman JL, Stoddard BL, Tawfik DS, Baker D (2012). Computational redesign of a mononuclear zinc metalloenzyme for organophosphate hydrolysis. *Nat. Chem. Biol.* **8**, 294-300.

Kim JI, Park JH, Park HJ, Choi SK, Lee KT (1998). Induction of differentiation of the human histocytic lymphoma cell line U-937 by hypericin. *Arch Pharm Res.* **21**, 41-5.

Kim Y, Kim DC, Cho ES, Ko SO, Kwon WY, Suh GJ, Shin HK (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Inflamm.* **11(36)**.

Kinnula VL, Crapo JD (2004). Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic Biol Med.* **36**, 718-44.

Kinoshita T, Nakanishi I, Terasaka T, Kuno M, Seki N, Warizaya M, Matsumura H, Inoue T, Takano K, Adachi H, Mori Y, Fujii (2005). Structural basis of compound recognition by adenosine deaminase. *Biochemistry.*, **44**, 10562-10569.

Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF (1987). The function of catalase-bound NADPH. *J Biol Chem.* **262**(2), 660-666

Koizumi H, Lizuka H, Aoyagi T, Miura Y (1983). Adenosine Deaminase In Epidermis From Healty And Psoriatic Subjects. *Arch Dermatol Res*, **275**, 310-4

Kong L, Wang X, Zhang K, Yuan W, Yang Q, Fan J, Wang P, Liu Q (2015). Gypenosides synergistically enhances the anti-tumor effect of 5- fluorouracil on colorectal cancer in vitro and in vivo: a role for oxidative stress-mediated DNA damage and p53 activation. *PLoS One.* **10**(9), e0137888.

Koyima O, Majima T, Uehara Y (1985). Alterations Of Adenosine Deaminase Levels In Periferal Blood Lymphocytes Of Patients With Gastric Cancer. *Japanese Journal Of Surgery*, **15**, 130-3.

Krysko O, Løve Aaes T, Bachert C, Vandenabeele P, Krysko DV (2013). Many faces of DAMPs in cancer therapy. *Cell Death Dis.* **4**, e631

Kumar AN, Aruna P, Naidu JN, Kumar R, Srivastava AK (2015). Review of Concepts and Controversies of Uric Acid as Antioxidant and Pro-Oxidant. *Arch Med Rev J.* **24**(1), 19-40.

Waring WS (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *QJM.* **95**(10), 691-693.

Kutryb-Zajac B, Mateuszuk L, Zukowska P, Jasztal A, Zabielska MA, Toczek M (2016). Increased activity of vascular adenosine deaminase in atherosclerosis and therapeutic potential of its inhibition. *Cardiovasc. Res.* **112**, 590-605.

Lagman M, Ly J, Saing T, Kaur Singh M, Vera Tudela E, Morris D, Chi PT, Ochoa C, Sathananthan A, Venketaraman V (2015). Investigating the Causes for Decreased Levels of Glutathione in Individuals with Type II Diabetes. *PLoS ONE.* **10**(3), e0118436.

Lankin UZ, Gurevich SM (1976). Inhibition of peroxidation of lipids and detoxification of lipoperoxides by protective enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase) in experimental malignant growth. *Dokl Akad Nauk SSSR*, **226**, 705-708.

Larson RA (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.* **27**(4), 969-978.

Lasik M, Nowak J, Stachowiak B, Czarnecki Z (2007). Evaluation of the antagonistic properties of natural antibacterial substances extracted from herbs: poster presentation. *Eurobiotech.* **54**, 10.

Leveque D, Jehl F (1996). Clinical pharmacokinetics of vinorelbine. *Clin Pharmacokinet*, **31**, 184-197.

Li P, Yin YL, Li D, Kim SW, Wu G (2007). Amino acids and immune function. *Br. J. Nutr.* **98**, 237-252.

Li Y, Schellhorn HE (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr.* **37(10)**, 2171-2184.

Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2006). Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: relevance of glutathione levels. *Life Sci.* **79**, 2056-2068

Liou GY, Storz P (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic. Res.* **44 (5)**, 479-496.

Liu CD, Kwan D, Saxton RE, McFadden DW (2000). Hypericin and photodynamic therapy decreases human pancreatic cancer in vitro and vivo. *J Surg Res*, **93**, 137-43.

Lizuka H, Koizumi H, Kamikagi K, Aoyogi T, Miura Y (1981). Two form of adenosine deaminase in pig epidermis. *J Dermatol*, **18**, 91-5.

Loeffler DA, Connor JR, Juneau PL, Snyder BOS, Kanaley L, DeMaggio AJ, Nguyen H, Brickman CM, Lewitt PA (1995). Transferrin and iron in normal, Alzheimer's disease, and Parkinson' disease brain regions. *J Neurochem.*, **65**, 710-724.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biochem.*, **193**, 265-275.

Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V (2016). Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int. J. Cardiol.* **213**, 8-14.

Maldonado-Bouchard S, Peters K, Woller SA, Madahian B, Faghihi U, Patel S, Bake S, Hook MA (2016). Inflammation is increased with anxiety- and depression-like signs in a rat model of spinal cord injury. *Brain Behav Immun*, **51**, 176-195.

Maor I, Rainis T, Lanir A, Lavy A (2011). Adenosine Deaminase Activity In Patients With Crohn's Disease: Distinction Between Active And Nonactive Disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, **23(7)**, 598-602.

Marnett LJ (2002). Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*. **181-182**, 219-222.

Martín M, Huguet J, Centelles JJ, Franco R. (1995). Expression of ectoadenosine deaminase and CD26 in human T cells triggered by the TCR-CD3 complex. Possible role of adenosine deaminase as costimulatory molecule. *J. Immunol.* **155**, 4630-4643.

McCord JM, Fridovich I (1969). Superoxide dismutase; an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) *J Biol Chem.* **244**, 6049-6055.

McCord JM (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.* **108**, 652-659.

Medina J (2005). Moreno-Otero, R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. *Drugs*, **65**, 2445-2461.

Meister A (1994). The Glutathione-Ascorbic Acid Antioxidant Systems in Animal. *J. Biol. Chem.* **269**, 9397-9400.

Meruelo D (1993). The potential use of hypericin as inactivator of retroviruses and other viruses in blood products. *Blood.* **82**, 205A.

Milne L, Nicotera P, Orrenius S, Burkitt MJ (1993). Effects of glutathione and chelating agents on copper-mediated DNA oxidation: pro-oxidant and antioxidant archproperties of glutathione. *Arch. Biochem. Biophys.* **304**, 102-109.

Mirmalek SA, Azizi MA, Jangholi E, Yadollah-Damavandi S, Javidi MA, Parsa Y, Parsa T, Salimi-Tabatabaee SA, Kolagar HG and Alizadeh-Navaei R (2016). Cytotoxic and apoptogenic effect of hypericin, the bioactive component of *Hypericum perforatum* on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.*, **16**, 3.

Mishenkova EL, Derbentseva NA, Garagulya AD, Litvin LN (1975). *Antiviral properties of St. John's wort and preparations produced from it.* Transactions of the Congress of Microbiologists of the Ukraine. **4**, 222-322.

Mishra R, Agarwal MK, Chansuria JPN (2000). Serum Adenosine Deaminase Levels As An Index Of Tumor Growth In Head And Neck Malignancy. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, **52(4)**, 360-363.

Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* **7**, 405-410.

Mohanasundari M, Sabesan M (2007). Modulating effect of *Hypericum perforatum* extract on astrocytes in MPTP induced Parkinson's disease in mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* **11(1)**, 17-20.

Muller WE, Rolli M, Schafer C, Hafner U (1997). Effects of *Hypericum* extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry.* **2**, 102-7.

Nahrstedt A, Butterwick V (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry.* **30**, 129-34.

Namiot Z, Stasiewicz J, Namiot A, Kemana A, Kralisz M, Gorski J (1996). Adenosine deaminase activity in patients with the intestinal type of gastric carcinoma. *Cancer Lett.* **109**, 199-202.

Narayanankutty A, Jdevagiri JT, Narayanankutty V (2019). Glutathione, an antioxidant tripeptide: Dual roles in Carcinogenesis and Chemoprevention. *Curr Protein Pept Sci*. doi: 10.2174/1389203720666190206130003.

Natsumeda Y, Lui MS, Emrani J, Faderan MA, Reardon MA, Eble JN, Glover JL, Weber G (1985). Purine Enzymology Of Human Colon Carcinomas. *Can Res*, **45**, 2556-59.

Neary JT, Bu Y (1999). Hypericum LI 160 inhibits uptake of serotonin and norepinephrine in astrocytes. *Brain Res*. **816**, 358-63.

Nishihara H, Akedo H, Okada H (1970). Multienzyme Patterns Of Serum Adenosine Deaminase By Agar Gel Electrophoresis: An Evaluation Of The Diagnostic Value In Lung Cancer. *Clin Chim Acta*, **30**, 251-8.

Niu W, Shu Q, Chen Z, Mathews S, Di Cera E, Frieden C (2010). The role of Zn²⁺ on the structure and stability of murine adenosine deaminase. *J. Phys. Chem. B*, **114**, 16156-16165.

Nogueira T, Marcelo-Curto MJ, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Rubiolo P, Bicchi C (2008). Chemotaxonomy of Hypericum genus from Portugal: Geographical distribution and essential oils composition of Hypericum perforatum, Hypericum humifusum, Hypericum linariifolium and Hypericum pulchrum. *Biochem Syst Ecol*. **36**(1), 40-50.

O'Connell JF, Klein-Szanto AJ, DiGiovanni DM, Fries JW, Slaga TJ (1986). Enhanced malignant progression of mouse skin tumors by the free-radical generator benzoyl peroxide. *Cancer Res*. **46**(6), 2863-5.

Oberley TD, Oberley LW (1997). Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histol Histopathol*. **12**(2), 525-35.

Oliveira AI, Pinho C, Sarmiento B, Dias AC (2016). Neuroprotective activity of Hypericum perforatum and its major components. *Front Plant Sci*. **7**, 1004.

Özkan A, Fışkın K (2004). Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*. **14**, 52-60.

Pacheco R, Martinez-Navio JM, Lejeune M, Climent N, Oliva H, Gatell JM, Gallart T, Mallol J, Lluís C, Franco R (2005). CD26, adenosine deaminase, and adenosine receptors mediate costimulatory signals in the immunological synapse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 9583-9588.

Packer L, Kraemer K, Rimbach G (2001). Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications. *Nutrition*. **17**, 888-895.

Patnaik JL, Byers T, DiGuseppi C, Dabelea D, Denberg TD (2011). Cardiovascular disease competes with breast cancer as the leading cause of death for older females diagnosed with breast cancer: a retrospective cohort study. *BCR*, **13**, R64.

Paz-Elizur T, Krupsky M, Blumenstein S, Elinger D, Schechtman E, Livneh Z (2003). DNA repair activity for oxidative damage and risk of lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* **95**(17), 1312-9.

Pei S, Minhajuddin M, Callahan KP, Balys M, Ashton JM, Neering SJ, Lagadinou ED, Corbett C, Ye H, Liesveld JL, O'Dwyer KM, Li Z, Shi L, Greninger P, Settleman J, Benes C, Hagen FK, Munger J, Crooks PA, Becker MW, Jordan CT (2013). Targeting Aberrant Glutathione Metabolism to Eradicate Human Acute Myelogenous Leukemia Cells. *The J Biol Chem.* **288**(47), 33542-33558.

Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* **4**(2), 89-96.

Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G (1978). Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Br Med J.* **2**, 1751-1752.

Prince AM, Pascual D, Meruelo D, Liebes L, Mazur Y, Dubavi E, Mandel M, Lavies G (2000). Strategies for evaluation of enveloped virus inactivation in red cell concentrates using hypericin. *Photochem Photobiol.* **71**, 188-95.

Rajendran J, Pachaiappan P, Subramaniyan S (2019). Dose-dependent chemopreventive effects of citronellol in DMBA-induced breast cancer among rats. *Drug Dev Res.*

Ramos AA, Lima CF, Pereira ML, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2008). Antigenotoxic effects of quercetin, rutin and ursolic acid on HepG2 cells: evaluation by the comet assay. *Toxicol. Lett.* **177**, 66-73.

Ramos AA, Marques F, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2013). Water extracts of three *Hypericum* spp. protect DNA from oxidative and alkylating damage and enhance DNA repair in colon cells. *Food and Chemical Toxicology.* **51**, 80-86.

Ratech H, Martiniuk F, Borer WZ, Rapoport H (1988). Differential expression of adenosine deaminase isoenzymes in acute leukemia. *Blood.* **72**, 1627-32.

Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Dun- Xian T, Burkhardt S (2006). Free Radical-Mediated Molecular Damage. Mechanisms for the Protective Actions of Melatonin in the Central Nervous System. *Ann N Y Acad Sci.* **939**(1).

Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuna-Castroviejo DA (1995). Review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res.* **18**(1), 1-11.

Reuter H (1998). Chemistry and biology of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) *ACS Symp Ser.* **691**, 287-98

Robbers J, Tyler VE (1999). *Tyler's Herbs of Choice: The Therapeutic Use of Phytomedicinals.* New York: Haworth Press.

Robinson MM, Zhang X (2011). *The World Medicines Situation 2011. Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges*. Geneva: World Health Organization.

Robson NKB (2006). Studies in the genus *Hypericum* L. (Clusiaceae). Section 9, *Hypericum sensu lato* (part 3): subsection 1, *Hypericum* series 2, *Senanensia*: subsection 2, *Erecta* and section 9b, *Graveolentia*. *Syst Biodivers*. **4(1)**, 19-98.

Robson NKB (1977). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). *I. Infrageneric classification*. **5**, 293.

Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*. **582**, 1783-1787.

Rogers G (2005). Herb Consumers' Attitudes, Preferences Profiled in New Market Study. *HerbalGram American Botanical Council*, **65**, 60-61.

Roscetti G, Franzese O, Comandini A, Bonmassar E (2004). Cytotoxic activity of *Hypericum perforatum* L. on K562 erythroleukemic cells: Differential effects between methanolic extract and hypericin. *Phytother Res*. **18(1)**, 66-72.

Ruiz MA, Escriche M, Lluís C, Franco R, Martín M, Andrés A, Ros M (2000). Adenosine A1 receptor in cultured neurons from rat cerebral cortex: colocalization with adenosine deaminase. *J. Neurochem*. **75**, 656-664.

Saghiri R, Ghashghai N, Movaseghi S, Poursharifi P, Jalilfar S, Bidhendi MA, Ghazizadeh L, Ebrahimi-Rad M (2012). Serum Adenosine Deaminase Activity In Patients With Systemic Lupus Erythematosus: A Study Based On Ada1 And Ada2 Isoenzymes Pattern. *Rheumatol Int*, **32(6)**, 1633-8.

Sanchez-Reus MI, Gomez del Rio MA, Iglesias I, Elorza M, Slowing K, Benedi J (2007). Standardized *Hypericum perforatum* reduces oxidative stress and increases gene expression of antioxidant enzymes on rotenone-exposed rats. *Neuropharmacology*. **52**, 606-616.

Sanphilipo O, Camici M, Tozzi MG, Turriani M, Fanada A, Ipata PL (1994). Relationship between the level of purin salvage pathway enzyme and clinical biological aggressiveness of human colon carcinoma. *Cancer Biochem Biophys*. **14**, 57-66.

Sarı RA, Taysi S, Yılmaz O, Bakan N (2003). Correlation Of Serum Levels Of Adenosine Deaminase Activity And Its Isoenzymes With Disease Activity In Rheumatoid Arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, **21(1)**, 87-90.

Sass-Kortsak A (1965). Copper metabolism. *Adv Clin Chem*. **8**, 1-67.

Schairer C, Lubin J, Troisi R, Sturgeon S, Brinton L, Hoover R (2000). Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA*. **283**, 485.

Schempp CM, Kirkin V, Simon Haarhaus B (2002). Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene*, **21**, 1242-50.

Schmitt LA, Liu Y, Murphy PA, Petrich JW, Dixon PM, Birt DF (2006). Reduction in hypericininduced phototoxicity by Hypericum perforatum extracts and pure compounds. *J Photochem Photobiol B*. **85** (2), 118-30.

Schumacker PT (2015). Reactive Oxygen Species in Cancer: A Dance with the Devil. **27** (2), 156.

Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *Int. J. Pharm. Sci.* **3**(1), 91-100.

Sen S, Chakraborty R (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. *Chapter.1*, 1-37.

Sgarbossa A, Buselli D, Lenci F (2008). In vitro perturbation of aggregation processes in b-amyloid peptides: A spectroscopic study. *FEBS Lett.* **582**, 3288-3292.

Shamberger RJ (1972). Increase of peroxidation in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* **48**(5), 1491-7.

Shaw KL, Garabedian E, Mishra S, Barman P, Davila A, Carbonaro D (2017). Clinical efficacy of gene-modified stem cells in adenosine deaminasedeficient immunodeficiency. *J. Clin. Invest.* **127**, 1689-1699.

Shore A, Dosch HM, Gelfand EW (1981). Role of adenosine deaminase in the early stages of precursor T cell maturation. *Clin Exp Immunol.* **44**, 152-155.

Silva B, Oliveira PJ, Dias A, Malva JO (2008). Quercetin, kaempferol and biapigenin from Hypericum perforatum are neuroprotective against excitotoxic insults. *Neurotox Res.* **13**(34), 265-79.

Simmen U, Higelin J, Berger Buter K, Schaffner W, Lundstrom K (2001). Neurochemical studies with St. John's wort in vitro. *Pharmacopsychiatry.* **1**, 137-42.

Singal AK, Jampana SC, Weinman SA (2011). Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. *Liver Int.* **31**, 1432-1448.

Singh BK, Sharma SR, Singh B (2009). Combining ability for superoxide dismutase, peroxidase and catalase enzymes in cabbage head (*Brassica oleracea* var. capitata L.). *Scientia Horticulturae.* **122**, 195–199.

Sloga TJ, Klein-Szanto AJP, Triplett LL, Yotti LP, Trosko JE (1981). Skin tumor-promoting activity of benzoyl peroxide, a widely used free radical-generating compound. *Science*. **213**(4511), 1023-5.

Souza Vdo C, Schlemmer KB, Noal CB, Jaques JA, Bagatini MD, Pimentel VC, Carli LF, Leal CA, Fleck J, Moretto MB, Schetinger MR, Leal DB (2012). Purinergic system ecto-enzymes participate in the thromboregulation of patients with indeterminate form of Chagas disease. *Purinergic Signal*. **8**, 753-762.

Söğüt S, Aydın E, Elyas H, Aksoy N, Özyurt H, Totan Y, Akyol Ö (2002). The Activities Of Serum Adenosine Deaminase And Xanthine Oxidase Enzymes In Behcet's Disease. *Clin Chim Acta*, **325**, 133-138.

Stancikova M, Lukac J, Istok R, Cristaffi G, Rovensky J (1998). Serumadenosine deaminase activity and its isoensyme pattern in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. **16**, 583-6.

Sufrin G, Tristch GL, Mittelman A, Morphy GP (1977). Adenosine deaminase activity in patient with renal adenocarcinoma. *Cancer*. **40**, 796-802.

Sufrin G, Tritsch GL, Mittelman A, Murphr GP (1978). Adenosine Deaminase Activity In Patients With Carcinoma Of Bladder. *J Urol*, **119**, 343-6.

Tagne SR, Armel HNK, Farah M (2015). Medicinal Plants in Breast Cancer Therapy Journal of Diseases and Medicinal Plants, **1**(1), 19-23.

Tatsis EC, Boeren S, Exarchou V, Troganis AN, Vervoort J, Gerothanassis IP (2007). Identification of the major constituents of Hypericum perforatum by LC/SPE/NMR and/or LC/ MS. *Phytochemistry*. **68**, 383-393.

Taylor GA, Shalita AR (2004). Benzoyl peroxide-based combination therapies for acne vulgaris: a comparative review. *Am J Clin Dermatol*. **5**(4), 261-5.

Ten Kate J, Wijnen JT, van der Goes RG, Quadt R, Griffioen G, Bosman FT, Khan PM (1984). Quantitative changes in adenosine deaminase in human colorectal adenocarcinomas. *Cancer Res*. **44**, 4688-92.

Thiede HM, Walper A (1994). Inhibition of MAO and COMT by Hypericum extracts and hypericin. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. **1**, 546.

Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger, Govindarajan S, Purcell RH, Chisari FV (2002). Viral And Immunological Determinants Of Hepatitis C Virus Clearance, Persistence, And Disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **99**(24), 15661-8.

Title LM, Cummings PM, Giddens K, Genest JJ, Nassar BA (2000). Effect of Folic Acid and Antioxidant Vitamins on Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. **36**(3), 758-765.

Torğutalp M (2015). *Otoimmün hepatit hastalarında serum ADA (ADA) düzeyi ve karaciğer histolojisi ile ilişkisinin araştırılması.* İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi.

Torvinen M, Ginés S, Hillion J, Latini S, Canals M, Ciruela F, Bordoni F, Staines W, Pedata F, Agnati LF, Lluís C, Franco R, Ferré S, Fuxe K (2002). Interactions among adenosine deaminase, adenosine A1 receptors and dopamine D1 receptors in stably cotransfected fibroblast cells and neurons. *Neuroscience*. **113**, 709-719.

Townsend DM, Tew KD, Tapiero H (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*. **57(3-4)**, 145- 155.

Umaramani G, Sameera K, Suryanarayana D (2012). Evaluation Of Serum Adenosine Deaminase Activity In Viral Hepatitis. *Int J Biol Med Res*, **3(1)**, 2017-9.

Urunsak IF, Küçüköz-Güleç U, Paydaş S, Seydaoğlu G, Güzel A B, Vardar MA (2012). Adenosine Deaminase Activity In Patients With Ovarian Neoplasms. *Arch Gynecol Obstet*, **286**, 155-159.

Üstün Ç (1998). *Santral sinir sistemi üzerine etkili tıbbi bitkilerin tarihsel süreç içinde ve günümüzde tedavideki yeri.* Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst. Doktora Tezi, İzmir.

Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem*. **266**, 37-56.

Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. **39**, 44-84.

Vannoni D, Bernini A, Carlucci F, Civitelli S, Pietro MCD, Leoncini R, Rosi F, Tabucchi A, Tanzini G, Marinello E (2004). Enzyme activity controlling adenosine levels in normal and neoplastic tissues. *Med Oncol*. **21**, 187-95.

Vliet AV, Cross CE (2000). Oxidants, Nitrosants, and the Lung. *Am J Med*. **109**, 398-421.

Wagner H, Bladt S (1994). Pharmaceuticals quality of Hypericum extracts. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*. 65-68.

Wahlman J, Hirst M, Roberts JE, Prickett CD, trevithick JR (2003). Focal length variability and protein leakage as tools for measuring photooxidative damage to the lens. *Photochem Photobiol*. **78**, 88-92.

Walia M, Mahajan M, Singh K (1995). Serum adenosine deaminase, 5nucleotidase and alkaline phosphates in breast cancer patients. *Indian J Med Res*. **101**, 247-9.

Wall ME, Wani MC (1995). Camptothecin and taxol: discovery to clinic--thirteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Research*, **55**, 753-760.

Wang Z, Quijcho FA (1998). Complexes of adenosine deaminase with two potent inhibitors: X-ray structures in four independent molecules at pH of maximum activity. *Biochemistry*, **37**.

Weber G, Hager JC, Lui MS, Prajda N, Tzeng DY, Jackson RC, Takeda E, Eble JN (1981). Biochemical Programs Of Slowly And Rapidly Growing Human Colon Carcinoma Xenografts. *Can Res*, **41**, 854-9.

Wiid I, Seaman T, Hoal EG, Benade AJ, Van Helden PD(2004). Total antioxidant levels are low during active TB and rise with antituberculosis therapy. *IUBMB Life*. **56**, 101-106.

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. **44(4)**, 275-295.

Williams GM (1992). DNA reactive and epigenetic carcinogens. *Experimental and Toxicologic Pathology*. **44**, 457-64

Wills RBH, Bone K, Morgan M (2000). Herbal products: Active constituents, modes of action and quality control. *Nutritional Research Reviews*, **13**, 47-77.

Wilson DK, Rudolph FB, Quijcho FA (1991). Atomic structure of adenosine deaminase complexed with a transition-state analog: understanding catalysis and immunodeficiency mutations. *Science*. **252**, 1278-1284.

Xun C, Zhao Y, Hu ZJ (2012). Potential Role Of Adenosine Deaminase In The Diagnosis Of Adult-Onset Still's Disease. *Rheumatol Int*. **33**, 1255-8.

Yokus B, Akdag MZ, Dasdag S, Cakir DU, Kizil M (2008). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields Cause Oxidative DNA Damage in Rats. *INT J Radiat Biol*, **8 (10)**, 789-795.

Young IS, Woodside JV (2001). Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol*. **54(3)**, 176-186.

Zamocky M, Koller F (1999). Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol*. **72(1)**, 19-66.

Zdunek K, Alfermann W (1992). Initiation of shoot organ cultures of *Hypericum perforatum* and formation of hypericin derivatives. *Planta Medica*. **58**, 621-625.

Zewail MM, Sadek KM, Taha NM, El-Sayed Y, Menshaw S (2019). Graviola attenuates DMBA-induced breast cancer possibly through augmenting apoptosis and antioxidant pathway and downregulating estrogen receptors. *Environmental Science and Pollution Research*. **26**, 15209-15217.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Saadet Nur MUTLU

Doğum Yeri ve Yılı: Burdur-1993

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Uyruğu: T.C.

Telefon No: 0545 901 22 25

Elektronik Posta:saadeturergin@hotmail.com

İletişim Adresi: Mehmet Akif Mah. 2512. Sok.

No:21 Daire: 6 Burdur/Bucak

Eğitim Durumu:

Lise: Burdur Anadolu Lisesi 2007-2011

Lisans: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2011-2016

Yüksek Lisans: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı, 2016 – Devam Ediyor



