

FEN BİLİMLERİ VE MATEMATİK ALANINDA AKADEMİK ÇALIŞMALAR - II

Editör :
PROF. DR. HASAN AKGÜL

İmtiyaz Sahibi / Publisher • Yaşar Hız
Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • Eda Altunel
Editör / Editor • Prof. Dr. Hasan Akgül
Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Karaf Ajans

Birinci Basım / First Edition • © Haziran 2020

ISBN • 978-625-7884-66-2

© copyright

Bu kitabın yayın hakkı Gece Kitaplığı'na aittir.

Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin
almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.

The right to publish this book belongs to Gece Kitaplığı.
Citation can not be shown without the source, reproduced in any way
without permission.

Gece Kitaplığı / Gece Publishing

Türkiye Adres / Turkey Address: Kızılay Mah. Fevzi Çakmak 1. Sokak

Ümit Apt. No: 22/A Çankaya / Ankara / TR

Telefon / Phone: +90 312 384 80 40

web: www.gecekitapligi.com

e-mail: gecekitapligi@gmail.com



Baskı & Cilt / Printing & Volume

Sertifika / Certificate No: 47083

Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Akademik Çalışmalar - II

Editör

Prof. Dr. Hasan Akgül

İÇİNDEKİLER

Bölüm 1

NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ VE ANTİ-MİKROBİYAL UYGULAMALARI

Ayşe BARAN , Cumali KESKİN 1

Bölüm 2

HYPERİCUM L. TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL, FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE ÖNEMLİ TIBBİ KULLANIMLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

AYŞE BARAN, Mehmet Fırat BARAN..... 19

Bölüm 3

KARMAŞIK SAYILAR NEDEN KARMAŞIK?

Güzide ŞENEL.....39

Bölüm 4

PRİONLARIN TESPİTİ ve AMPLİFİKASYONU

Nazlı Irmak GİRİTLİOĞLU.....47

Bölüm 5

CİLT YAŞLANMASININ MOLEKÜLER MEKANİZMASI VE YAŞLANMA KARŞITI ÜRÜNLERİN GELİŞTİRİLMESİNDE DOĞAL BİLEŞENLERİN POTANSİYEL ROLÜ

Sevilay CENGİZ ŞAHİN, Nurettin İlter SEVER.....61

Bölüm 6

ANTİNEOPLASTİK TEDAVİDE YAYGIN OLARAK KULLANILAN SİKLOFOSFAMİD NEDENLİ ÇOKLU ORGAN TOKSİSİTESİ

Songül ÇETİK YILDIZ81



NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ VE ANTİ-MİKROBİYAL UYGULAMALARI

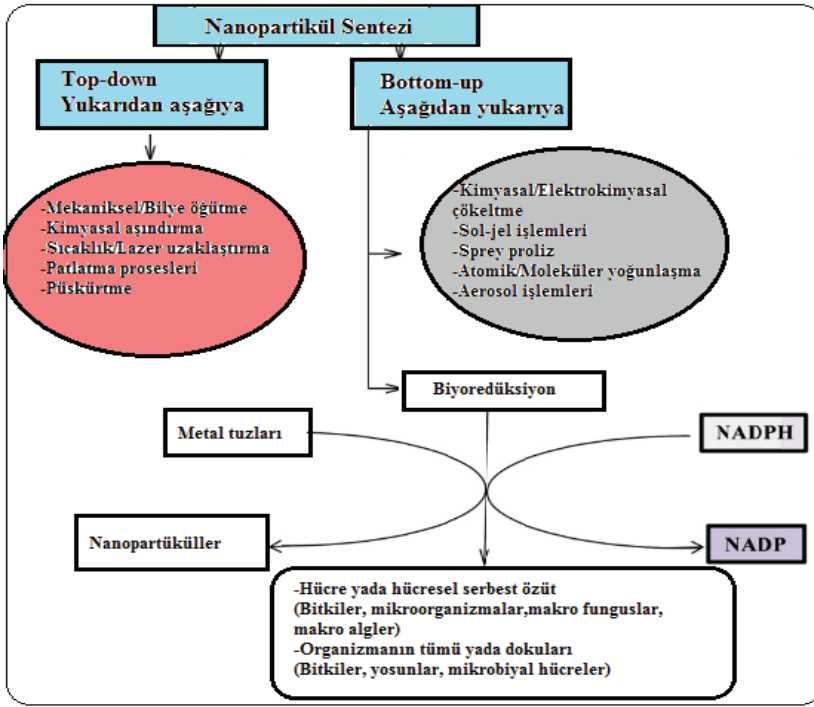
Ayşe BARAN¹ , Cumali KESKİN²

¹ Biyolog, Mardin Büyükşehir Belediyesi MARSU, ayse.gorgec43@gmail.com

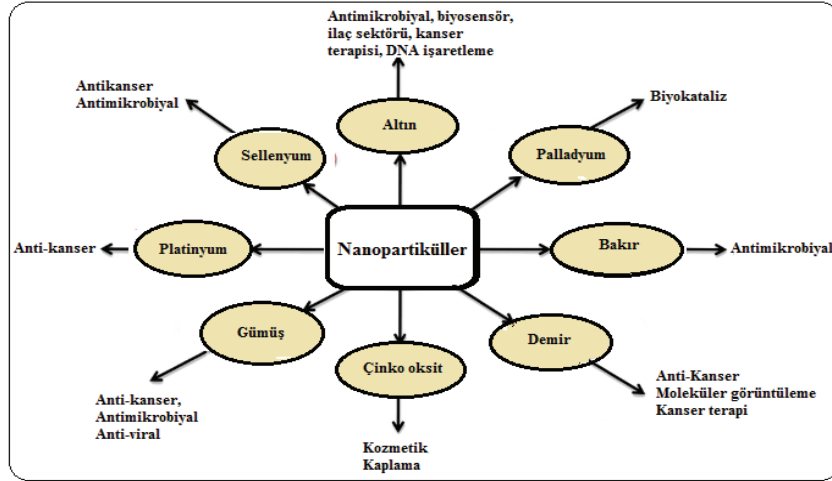
² Doç.dr., Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

GİRİŞ

Nanoteknoloji bilim ve mühendislik çalışmalarında önemli bir yere sahiptir (Beyene, Werkneh, Bezabh, & Ambaye, 2017). ‘‘Nano’’ yunanca-
dan gelir ve cüce anlamındadır. Bir nanometre metrenin milyarda biri-
dir (10^{-9}). DNA molekülü 2.5 nm, protein yaklaşık 50 nm ve bir virüs de
yaklaşık 100 nm’dir (Thakkar, Mhatre, & Parikh, 2010). Nanopartiküller
(NP’ler) birçok alanda önemli bir yere sahiptirler (Pantidos & Horsfall,
2014). Geniş yüzey alanı, kimyasal katalitik, ve biyolojik aktivite aktivite
gibi üstün özelliklere sahiptirler (Beyene vd., 2017). Bu özellikleri ile me-
dikal uygulamalarda, antimikrobiyal ve antikanser ajan, gıda ve kozmetik
sektörü, elektronik, magnetik, optik, uzay endüstrisi ve biyoremidasyon
(biyolojik iyileştirme) gibi bir çok alanda kullanılırlar (Baran., 2018), (Pat-
ra, Das, & Baek, 2016), (Baran, 2019a). Nano partiküller(NP’ler) aşağıdan
yukarı (bottom-up) yada yukarıdan aşağı (top-down) olmak üzere iki yolla
elde edilirler (şekil 1.) (Ganguly vd., 2017). NP’leri sentezlemek için fi-
ziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler uygulanmaktadır. Bu yöntemlerde
içinde biyolojik kaynakların kullanıldığı yöntemler daha avantajıdır (Ba-
ran, M. F., Saydut, A., Umaz, A., 2019), (S. Ahmed, Annu, Chaudhry, &
Ikram, 2017). Sentez aşamasında toksik kimyasallar içermez ve yüksek
enerji gibi gereksinimlere ihtiyaç duymaz (Rajan, Chandran, Harper, Yun,
& Kalaichelvan, 2015). Biyolojik yöntemler çevre dostu, kolay ve basittir
(Schröfel vd., 2014). Altın (Au), gümüş (Ag), Titanyum (Ti), çinko (Zn)
metal nanopartiküllerin bazılarıdır (Ullah, Odda, Li, Wang, & Wei, 2019).
Her biri farklı birçok alanda tercih edilirler (şekil 2).



Şekil 1. Nanopartiküllerin elde edilme yolları (Kumar, Chisti, & Chand, 2013)

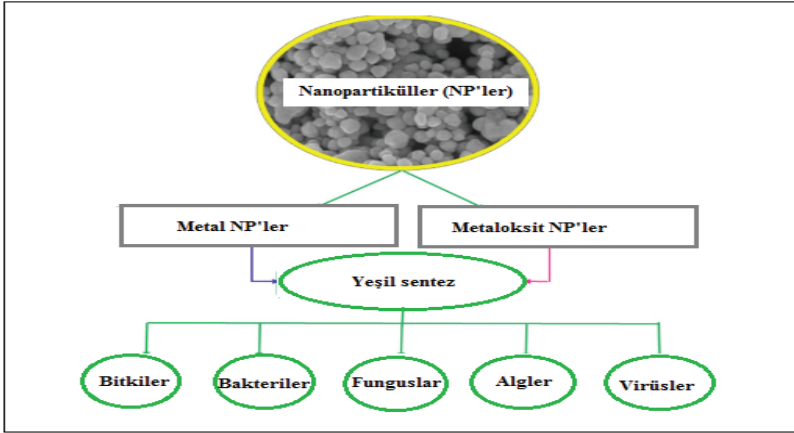


Şekil 2. Nanopartiküller ve kullanım alanları şekil1. (Mittal, Chisti, & Banerjee, 2013)

1.1.Nanopartiküllerin Sentezinde Kullanılan Biyolojik Kaynaklar

Çevre dostu sentez yöntemleri biyolojik kaynakların kullanıldığı sentez biçimidir. Bitkiler, algler, bakteriler, virüsler, mantarlar gibi kaynaklar

NP'lerin sentezinde kullanılırlar (şekil 3.)(Thakkar vd., 2010), (Agarwal, Venkat Kumar, & Rajeshkumar, 2017), (Baran, 2019d).

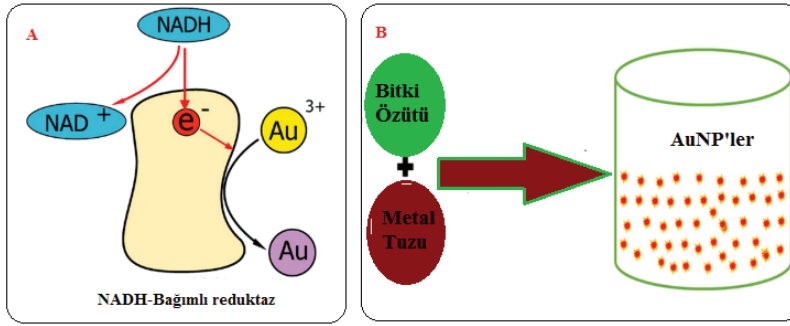


Şekil 3. Nano partiküllerin yeşil sentezi için kullanılan biyolojik kaynaklar (P. D. Shankar vd., 2016).

Bunların içinde bitkisel kaynaklar ile yapılan sentez çalışmaları daha çabul, basit ve ucuzdur. Doğal bir süreç olduğu için buradan elde edilen NP'ler biyoyoumludurlar. Enfeksiyon riski bulunmaz laboratuvar şartları gerektirmez (Sunderam, Thiyagarajan, Lawrence, Mohammed, & Selvaraj, 2019) (Rajan vd., 2015), Sentezde yapraklar, meyve, kök veya bitkinin kendisi rol alabilir (Agarwal vd., 2017), (Baran, M.F., Koç, A., ve Uzan, 2018). Bitkisel kaynaklarla olan sentezde fitokimyasallar (flavonoidler, alkoller, fenoller, şekerler vs.) rol alırlar ve hem indirgeyici hem de stabilize edici etki gösterir (Ghosh vd., 2012), (Chahardoli, Karimi, & Fattahi, 2018).

1.2. Nanopartiküllerin Biyolojik Kaynaklarla Sentezi

Biyolojik kaynaklar kendileri için toksik olan metalleri indirgeyerek nanopartiküllere dönüştürüler. Böylece kendileri için toksik olmayan bir yapıya dönüştürmüş olurlar (S. S. Shankar, Rai, Ahmad, & Sastry, 2004), (Pantidos & Horsfall, 2014). Biyoreduksiyon sentez çalışmaları metal tuzlarını indirgeme (şekil 1.) esasına dayanır (Begum, Mondal, Basu, Laskar, & Mandal, 2009). NP'lerin sentezinde enzimler ya da fitokimyasallar (fenoller, flavonoidler, şekerler, alkoller vs.) indirgemedede aktif rol alır. AuNP'lerin sentezi için enzim ve fitokimyasallar metal tuzu indirgeyerek NP'leri oluştururlar (şekil 4.). NP'lerin sentezi için yapılan bazı çalışmalar tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 4. AuNP'lerin biyosentezi A. NADH-bağımlı redüktaz enzimi varlığı B. Bitki özütü ile indirgeme sonucu AuNP'lerin oluşumu (S. Ahmed, Ikram, & S, 2016)

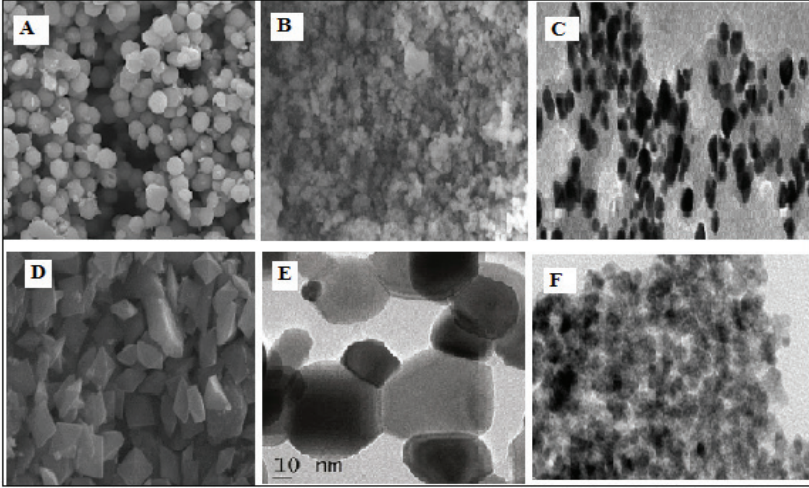
Tablo 1. NP'lerin biyolojik kaynaklar ile sentezi

Biyolojik Kaynak	Adı	NP	Referans
Bitki	<i>Pistacia terebinthus</i>	Ag	(Baran, 2019b)
Alg	<i>Dunaliella salina</i>	Au	(A. K. Singh vd., 2019)
Bitki	<i>Capsicum annuum L.</i>	Au	(Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C., 2020)
Fungus	<i>Pleurotus eryngii</i>	Ag	(Acay, H., Baran, 2019)
Bakteri	<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	Au	(He vd., 2007)
Fungus	<i>Penicillium decumbens</i>	Ag	(S, Majeed, Mohd Syafiq bin Abdullah 1, Gouri Kumar Dash 1, Mohammed Tahir Ansari 1, 2016)
Bitki	<i>Prunus Avium</i>	Au	(Baran, M. F., Acay, H., 2019b)
Bitki	<i>Hypericum Triquetrifolium</i>	Ag	(Umaz, A., Koç, A., Baran, M.F. Keskin, C., Atalar, M.N., 2019)
Bitki	<i>Pistacia terebinthus</i>	Au	(Baran, M. F., Saydut, A., 2019)

1.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

NP'ler değişik fiziksel ve kimyasal özellikte olabilirler. Çeşitli morfolojik özellik sergileyebilirler (şekil 5.). NP'lerin karakterizasyonu UV-vis. (Ultra Viyole görünür alan spektro fotometresi) (Eren, A., Baran, 2019b),

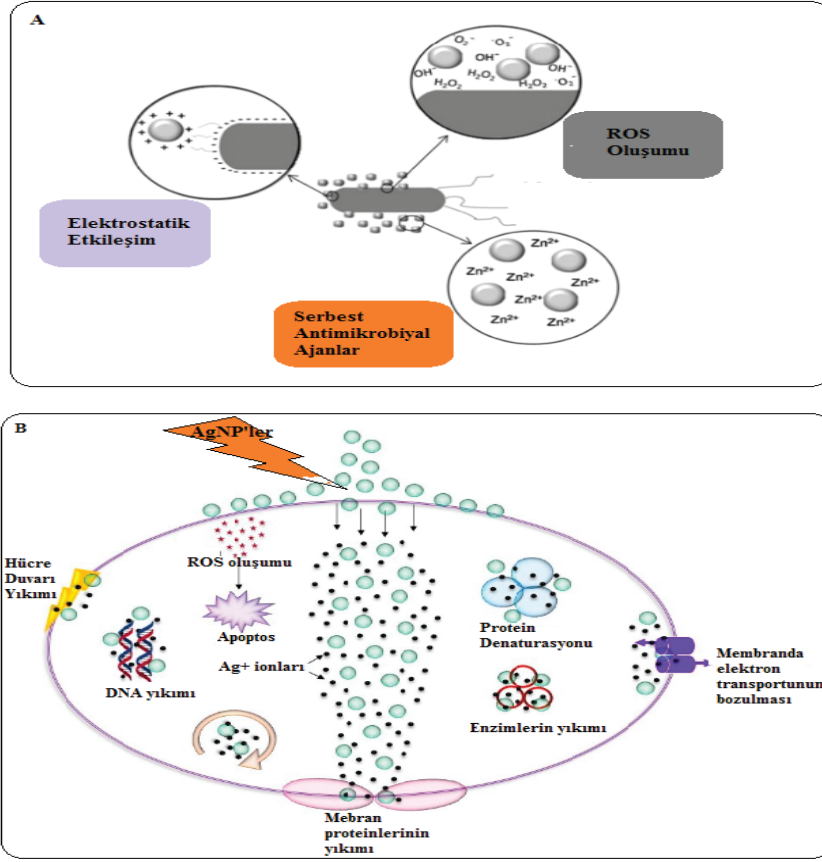
AFM (Atomik Güç Mikroskopisi) (Saravanan & Nanda, 2010), XRD (X-Ray difraktrometresi) (Acay, H., Baran, M.F., Eren, 2019), SEM-EDX (Baran, M.F., Koç, A., ve Uzan, S., 2018), Zeta Potansiyeli (Ferreyra Maillard, Dalmasso, López de Mishima, & Hollmann, 2018), TGA (Termo Gravimetrik Analiz) (Baran., 2018), FTIR (İnfrared Spektroskopisi) (Eren, A., Baran, 2019a) gibi analiz verileri ile yapılır. Bazı metalik NP'lerin morfolojik görünüşleri şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. Nano partiküllerin SEM-TEM görüntüleri; A. Altın SEM (Ganesan vd., 2019) , B. Gümüş SEM (Baran, 2019b), C. Palladyum SEM (Ismail, Khenfouch, Dhlamini, Dube, & Maaza, 2017), D Altın SEM (Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C., 2020), E. Gümüş TEM (Dinesh, Roopan, Selvaraj, & Arunachalam, 2017), F. Palladyum (TEM) (Ismail vd., 2017).

1.4. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal uygulamaları

Günümüz dünyasında antibiyotik dirençliliği ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Bu sebeple antimikrobiyal ajan arayışına metal NP'ler önemli katkı sağlayacaktır. Yapılan birçok araştırmada Metal NP'lerin bu etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir (Elena vd., 2020), (Asghar vd., 2018), (Veerasingam vd., 2011). NP'ler mikroorganizmalarda Reaktif Oksijen Türleri (ROS) oluşmasına neden olurlar. Bazı yapıların bu türlere karşı affinitesi bulunmaktadır (DNA, protein vs.) (B. Ahmed, Hashmi, Khan, & Musarrat, 2018), (Sarkar, Vadivel, Charan Raja, & Mahapatra, 2018). ROS hücre membranı, DNA, protein sentezi gibi yaşamsal yapıların işlevlerini bozarlar ve hücre yıkımına neden olurlar (Palanisamy vd., 2017), (Baran, M. F., Acay, H., 2019a). Metal NP'leri etki mekanizmaları Şekil 6'da şematize edilmiştir.



Şekil 6. Metal NP'lerin etki mekanizması A. ZnNP'lerin Antimikrobiyal (Vishnu-kumar, Vivekanandhan, Misra, & Mohanty, 2018), B. AgNP'lerin etki mekanizması (P. Singh, Garg, Pandit, & Mokkaapati, 2018).

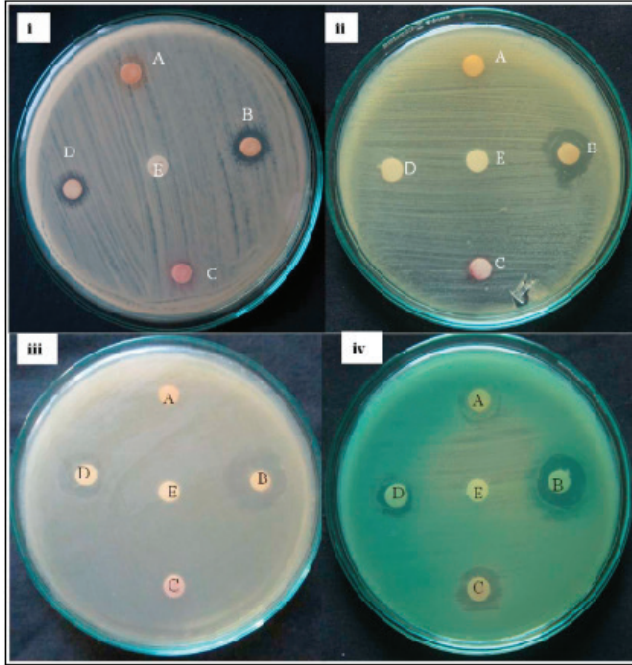
Metal NP'lerin etkisi çeşitli yöntemler ile çalışılmıştır. Disk difüzyon tekniği (Yasin, Liu, & Yao, 2013), (Zhang vd., 2018), Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) (Baran, 2019c), (Baran, M.F., Eren, A., Umaz, A., 2019) gibi metodlar kullanılarak tespit edilmektedir.

1.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Gram (+) ve Gram (-) bakteriler uygun besi yerinde çoğaltıldıktan sonra plaklara ekim işlemi yapılır ayarlanmış konsantrasyonlarda metal NP emdirilmiş diskler plaklara yerleştirilir. Bir gece mikroorganizmalar için istenilen sıcaklıkta etüvde üremeye bırakılırlar. Sonra ki gün disklerin etrafında oluşan zonlar ölçülür (Gopinath vd., 2014), (Geethalakshmi & Sarada, 2018) (Şekil 7). Tablo 2'de disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite çalışmalarının bir kısmı yer almaktadır.

Tablo 2. *Biyolojik indirgeyicilerle elde edilen NP'lerin disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite çalışmaları*

Biyolojik İndirgeyici	Adı	NP	Boyut Şekil	Mikro organizma	Etkili Konsant-rasyon	Referans
Bitki	Bambu	Ag	≤100 nm Küresel, üçgensel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20-80 µl	(Yasin vd., 2013)
Bitki	<i>Psidium guajava</i>	Ti	32 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20 µg/mL	(Santhosh-kumar vd., 2014)
Bitki	<i>Gloriosa superba</i>	Ru	25-90 nm Altigen	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	100 µl	(Gopinath vd., 2014)
Fungus	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Ag	≤40 nm Küresel	<i>P.aerugi-nosa</i> <i>B. subtilis</i>	13–27 µg/ mL	(Al-Bahra-ni, Raman, Lakshmanan, Hassan, & Sabaratnam, 2017)
Fungus	<i>Asper-gillus clavatus</i>	Ag	550-650 nm	<i>S.epider-midis</i> <i>S. aureus</i>	10-15 µg/ mL	(Saravanan & Nanda, 2010)

**Şekil 7.** *Metal NP'lerin patojen insan bakterileri üzerinde antimikrobiyal etkileri Staphylococcus sp., ii) Bacillus sp., iii) Klebsiella sp., iv) Pseudomonas sp.*

A: Garcinia mangostana özütü; B: AgNP, C: AuNP, D: PtNP, E: kontrol (Nis-hanthi, Malathi, S., & Palani, 2019).

1.4.2. Minimum İnhibisyon Konsanrasyon (MİK) Mikrodilasyon Metodu

MİK mikro dilasyon yönteminde mikro plakalarda uygun besi yeri ve ayarlanan NP konur, bir seri dilasyon yapılır. Üzerine mikroorganizma karışımı eklenip ve istenilen sıcaklıkta etüvde bırakılırlar. Ertesi gün üreme kontrolü yapılır (Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C., Aygun, H., Yıldırım, 2019). Bitkiler ile yapılan bazı çalışmalar tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. *Biyolojik indirgeyicilerle elde edilen NP’lerin mikrodilasyon MİK yöntemi ile antimikrobiyal aktivite çalışmaları*

Biyolojik İndirgeyici	Adı	NP	Boyut Şekil	Uygulanan Mikroorga-nizma	Etkili Kon-santarsyon	Referans
Bitki	Zeytin ağacı yaprak-ları	Ag	23 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>C.albicans</i>	0.11 µg/mL 0.03 µg/mL 0.03 µg/mL	(Baran, M. F., Saydut, A., Umaz, A., 2019)
Bitki	Tarım-sal atık (Hindis-tan cevizi kabuğu)	Ag	14-22 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	26 µg/mL 53 µg/mL	(Sin-sinwar, Sarkar, Suriya, Nithya-nand, & Vadivel, 2018)
Bitki	<i>Cicho-rium intybus</i>	Ag	19-64 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>P.aerugi-nosa</i>	4.8 µl 8.4 µl	(Gallucci vd., 2017)
Bitki	<i>Cap-sicum annum L.</i>	Au	13 nm Piramit, karesel	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i>	0.05µl 0.22µl	(Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C., 2020)

SONUÇ

NP’lerin çevre dostu sentez yöntemleri çevre dostu ve ekonomiktir. Bu partiküllerin kullanım alanlarının oldukça fazla oluşu ile sentez yöntemleri ilgi görmeye devam edecektir. Bitkisel kaynakların kolay elde ediliyor oluşu, basit ve herhangi risk (kontaminasyon, laboratuvar koşulları, patojenite vs.) oluşturmadağı için biyolojik yöntemler içinde daha avantajlı olduğu görülmektedir. Metal NP’lerin antimikrobiyal ajan arayışındaki sorunlara, yeşil sentez yöntemleri geliştirilerek büyük bir çözüm olabilir. Giderim çalışmalarında katalitik aktivitelerinin olduğu da gösterilmiştir. Bu özelliği ile biyoremidasyon çalışmalarına önemli ölçüde katkı sağlayacaktır

KAYNAKÇA

1. Acay, H., Baran, M.F., Eren, A. (2019). Investigating Antimicrobial Activity Of Silver Nanoparticles Produced Through Green Synthesis Using Leaf Extract Of Common Grape (*Vitis Vinifera*), *17*(2), 4539–4546.
2. Acay, H., Baran, M. F. (2019). Biosynthesis And Characterization Of Silver Nanoparticles Using King Oyster (*Pleurotus Eryngii*) Extract : Effect On Some Microorganisms, *17*(4), 9205–9214.
3. Agarwal, H., Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.002>
4. Ahmed, B., Hashmi, A., Khan, M. S., & Musarrat, J. (2018). ROS mediated destruction of cell membrane, growth and biofilms of human bacterial pathogens by stable metallic AgNPs functionalized from bell pepper extract and quercetin. *Advanced Powder Technology*, *29*(7), 1601–1616. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2018.03.025>
5. Ahmed, S., Annu, Chaudhry, S. A., & Ikram, S. (2017). A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: A prospect towards green chemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *166*, 272–284. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.12.011>
6. Ahmed, S., Ikram, S., & S, S. Y. (2016). Journal of Photochemistry & Photobiology , B : Biology Biosynthesis of gold nanoparticles : A green approach. *JPB*, *161*, 141–153. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.034>
7. Al-Bahrani, R., Raman, J., Lakshmanan, H., Hassan, A. A., & Sabaratnam, V. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using tree oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* and its inhibitory activity against pathogenic bacteria. *Materials Letters*, *186*(March 2016), 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.09.069>
8. Asghar, M. A., Zahir, E., Shahid, S. M., Khan, M. N., Asghar, M. A., Iqbal, J., & Walker, G. (2018). Iron, copper and silver nanoparticles: Green synthesis using green and black tea leaves extracts and evaluation of antibacterial, antifungal and aflatoxin B1adsorption activity. *LWT- Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.009>
9. Baran, M. F., Acay, H. (2019a). Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized with Extract of Tomato plant Against Bacterial and Fungal Pathogens, *5*(August), 67–73. <https://doi.org/10.19127/mbsjohs.551132>
10. Baran, M. F., Acay, H. (2019b). Kiraz Yaprak Özütü(*Prunus Avium*)

- Kullanılarak Altın Nanopartikül Sentezi Ve Karakterizasyonu. *EJONS Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 9, 1–7.
11. Baran, M. F., Saydut, A., Umaz, A. (2019). Gümüş nanomalzeme sentezi ve antimikrobiyal uygulamaları, 2, 689–695. <https://doi.org/10.24012/dumf.504331>
 12. Baran, M. F., Saydut, A. (2019). Altın nanomalzeme sentezi ve karakterizasyonu. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 3, 1033–1040. <https://doi.org/10.24012/dumf.551865>
 13. Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C., Aygun, H., Yıldırım, A. (2019). Çörek Otu Bitkisi (Nigella Sativa L.) Özütü Kullanılarak TiO₂NP'lerin Sentezi ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Euroasia Journal Of Mathematics-Engineering Natural & Medical Sciences Internetal*, 7(2667–6702).
 14. Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C. (2020). Determination of Antimicrobial and Toxic Metal Removal Activities of Plant-Based Synthesized (Capsicum annuum. <https://doi.org/10.1002/gch2.201900104>
 15. Baran, M.F., Eren, A., Umaz, A. (2019). Bazı Mikroorganizmalara Karşı Bitkisel Kaynaklı Olarak Sentezlenmiş Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Uygulamaları. *Gece Kitaplığı*, (2), 93–100.
 16. Baran, M.F., Koç, A., ve Uzan, S. (2018). Kenger (Gundelia Tournefortii) Yaprağı ile Gümüş Nanopartikül (AgNP) Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Uygulamaları. *EJONS International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 2, 44–52.
 17. Baran., M. F. (2018). Green Synthesis Of Silver Nanoparticles (Agnps) Using Pistacia terebinthus Leaf: Antimicrobial Effect And Characterization, 2(2018), 2017–2018.
 18. Baran, M. F. (2019a). Alıç Bitkisinin Yaprak Özütü Kullanılarak AgNP'lerin Yeşil Sentezi ve Anti Mikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. *Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Araştırma ve Değerlendirmeler*, (march 2019), 110–120.
 19. Baran, M. F. (2019b). Prunus avium kiraz yaprağı özütü ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi ve antimikrobiyal etkisinin incelenmesi, 1, 221–227.
 20. Baran, M. F. (2019c). Synthesis and Antimicrobial Applications of Silver Nanoparticles From artemisia absinthium plant, 6, 96–103.
 21. Baran, M. F. (2019d). Synthesis , Characterization And Investigation Of Antimicrobial Activity Of Silver Nanoparticles From Cydonia oblonga Leaf, 17(2), 2583–2592.
 22. Begum, N. A., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R. A., & Mandal, D. (2009). Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71(1), 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.01.012>

23. Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13(January), 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2017.08.001>
24. Chahardoli, A., Karimi, N., & Fattahi, A. (2018). Nigella arvensis leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: Their characteristic properties and biological efficacy. *Advanced Powder Technology*, 29(1), 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2017.11.003>
25. Dinesh, M., Roopan, S. M., Selvaraj, C. I., & Arunachalam, P. (2017). Phyllanthus emblica seed extract mediated synthesis of PdNPs against antibacterial, hemolytic and cytotoxic studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.12.012>
26. Elena, S., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-machado, A. L., Galindo, R., ... Souto, E. B. (2020). Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents : An Overview, 1–39.
27. Eren, A., Baran, M. F. (2019a). Fıstık (Pistacia vera L .) Yaprağından Gümüş Nanopartikül (AgNP)' lerin Sentezi , Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi Synthesis , Characterization and Investigation of Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles (AgNP) fr, 6(2), 165–173. <https://doi.org/10.19159/tutad.493006>
28. Eren, A., Baran, M. F. (2019b). Green Synthesis , Characterization And Antimicrobial Activity Of Silver Nanoparticles (Agnps) From Maize (Zea mays L .), 17(2), 4097–4105.
29. Ferreyra Maillard, A. P. V., Dalmasso, P. R., López de Mishima, B. A., & Hollmann, A. (2018). Interaction of green silver nanoparticles with model membranes: possible role in the antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171(July), 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.044>
30. Gallucci, M. N., Fraire, J. C., Ferreyra Maillard, A. P. V, P??ez, P. L., Aiassa Mart??nez, I. M., Pannunzio Miner, E. V., ... Dalmasso, P. R. (2017). Silver nanoparticles from leafy green extract of Belgian endive (Cichorium intybus L. var. sativus): Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity. *Materials Letters*, 197, 98–101. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.03.141>
31. Ganesan, R. M., Jeyakanthan, J., Gurumalles Prabu, H., Ravikumar, S., Poorani, G., & Boomi, P. (2019). Biological synergy of greener gold nanoparticles by using Coleus aromaticus leaf extract. *Materials Science and Engineering: C*, 99(May 2018), 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.105>
32. Ganguly, S., Das, P., Bose, M., Das, T. K., Mondal, S., Das, A. K., & Das, N. C. (2017). Sonochemical green reduction to prepare Ag nanoparticles decorated graphene sheets for catalytic performance

- and antibacterial application. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39(March), 577–588. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.05.005>
33. Geethalakshmi, R., & Sarada, V. L. D. (2018). In vitro and in silico antimicrobial activity of sterol and flavonoid isolated from *Trianthema decandra* L. *Microbial Pathogenesis*, 121(March), 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.018>
 34. Ghosh, S., Patil, S., Ahire, M., Kitture, R., Kale, S., Pardesi, K., ... Chopade, B. A. (2012). Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 483–496. <https://doi.org/10.2147/IJN.S24793>
 35. Gopinath, K., Karthika, V., Gowri, S., Senthilkumar, V., Kumaresan, S., & Arumugam, A. (2014). Antibacterial activity of ruthenium nanoparticles synthesized using *Gloriosa superba* L. leaf extract. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 4(1), 83. <https://doi.org/10.1007/s40097-014-0083-4>
 36. He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J., & Gu, N. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*. *Materials Letters*, 61(18), 3984–3987. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2007.01.018>
 37. Ismail, E., Khenfouch, M., Dhlamini, M., Dube, S., & Maaza, M. (2017). Green palladium and palladium oxide nanoparticles synthesized via *Aspalathus linearis* natural extract. *Journal of Alloys and Compounds*, 695, 3632–3638. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.11.390>
 38. Kumar, A., Chisti, Y., & Chand, U. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
 39. Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
 40. Nishanthi, R., Malathi, S., S., J. P., & Palani, P. (2019). Green synthesis and characterization of bioinspired silver, gold and platinum nanoparticles and evaluation of their synergistic antibacterial activity after combining with different classes of antibiotics. *Materials Science and Engineering C*, 96(December 2017), 693–707. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.050>
 41. Palanisamy, S., Rajasekar, P., Vijayaprasath, G., Ravi, G., Manikandan, R., & Marimuthu Prabhu, N. (2017). A green route to synthesis silver nanoparticles using *Sargassum polycystum* and its antioxidant and cytotoxic effects: An in vitro analysis. *Materials Letters*, 189, 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.12.005>
 42. Pantidos, N., & Horsfall, L. E. (2014). Biological Synthesis of Metallic

- Nanoparticles by Bacteria , Fungi and Plants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5(5), 10. <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000233>
43. Patra, J. K., Das, G., & Baek, K. H. (2016). Phyto-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using the rind extract of watermelon (*Citrullus lanatus*) under photo-catalyzed condition and investigation of its antibacterial, anticandidal and antioxidant efficacy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.05.021>
 44. Rajan, R., Chandran, K., Harper, S. L., Yun, S. Il, & Kalaichelvan, P. T. (2015). Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*, 70, 356–373. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.015>
 45. S, Majeed, Mohd Syafiq bin Abdullah 1, Gouri Kumar Dash 1, Mohammed Tahir Ansari 1, A. N. 2. (2016). Biochemical synthesis of silver nanoprticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* (MTCC-2494) and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 14(8), 615–620. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)30072-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30072-3)
 46. Santhoshkumar, T., Rahuman, A. A., Jayaseelan, C., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Kirthi, A. V., ... Kim, S. K. (2014). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Psidium guajava* extract and its antibacterial and antioxidant properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(12), 968–976. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60171-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60171-1)
 47. Saravanan, M., & Nanda, A. (2010). Extracellular synthesis of silver bionanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77(2), 214–218. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.01.026>
 48. Sarkar, M. K., Vadivel, V., Charan Raja, M. R., & Mahapatra, S. K. (2018). Potential anti-proliferative activity of AgNPs synthesized using *M. longifolia* in 4T1 cell line through ROS generation and cell membrane damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.07.014>
 49. Schröfel, A., Kratošová, G., Šafařík, I., Šafaříková, M., Raška, I., & Šor, L. M. (2014). Applications of biosynthesized metallic nanoparticles - A review. *Acta Biomaterialia*, 10(10), 4023–4042. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.022>
 50. Shankar, P. D., Shobana, S., Karuppusamy, I., Pugazhendhi, A., Ramkumar, V. S., Arvindnarayan, S., & Kumar, G. (2016). A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: Formation mechanism and applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 28–44. <https://doi.org/10.1016/j.enzyme.2016.05.001>

- doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.10.015
51. Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(2), 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.003>
 52. Singh, A. K., Tiwari, R., Singh, V. K., Singh, P., Khadim, S. R., Singh, U., ... Asthana, R. K. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles from *Dunaliella salina*, its characterization and in vitro anticancer activity on breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.02.023>
 53. Singh, P., Garg, A., Pandit, S., & Mokkaapati, V. R. S. S. (2018). Antimicrobial Effects of Biogenic Nanoparticles, 1–19. <https://doi.org/10.3390/nano8121009>
 54. Sinsinwar, S., Sarkar, M. K., Suriya, K. R., Nithyanand, P., & Vadivel, V. (2018). Use of agricultural waste (coconut shell) for the synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity against selected human pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124(July), 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.025>
 55. Sunderam, V., Thiagarajan, D., Lawrence, A. V., Mohammed, S. S. S., & Selvaraj, A. (2019). In-vitro antimicrobial and anticancer properties of green synthesized gold nanoparticles using *Anacardium occidentale* leaves extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(3), 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.12.001>
 56. Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(2), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.07.002>
 57. Ullah, N., Odda, A. H., Li, D., Wang, Q., & Wei, Q. (2019). One-pot green synthesis of gold nanoparticles and its supportive role in surface activation of non-woven fibers as heterogeneous catalyst. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 571(January), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.03.076>
 58. Umaz, A., Koç, A., Baran, M.F. Keskin, C., Atalar, M.N. (2019). *Hypericum Triquetrifolium* Turra Bitkisinden Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobial Etkinliğinin İncelenmesi, 9(3), 1467–1475. <https://doi.org/10.21597/jist.533115>
 59. Veerasamy, R., Xin, T. Z., Gunasagaran, S., Xiang, T. F. W., Yang, E. F. C., Jeyakumar, N., & Dhanaraj, S. A. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.004>
 60. Vishnukumar, P., Vivekanandhan, S., Misra, M., & Mohanty, A. K.

- (2018). Recent advances and emerging opportunities in phytochemical synthesis of ZnO nanostructures. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 80(March), 143–161. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2018.01.026>
61. Yasin, S., Liu, L., & Yao, J. (2013). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Bamboo Leaves Extract and Their Antimicrobial Activity. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 1(March), 77–84. <https://doi.org/10.3993/jfbi03201307>
62. Zhang, Y., Zhang, C., Liu, K., Zhu, X., Liu, F., & Ge, X. (2018). Biologically synthesized titanium oxide nanostructures combined with morphogenetic protein as wound healing agent in the femoral fracture after surgery. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 182(27), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.03.005>



**HYPERICUM L. TÜRLERİNİN
FİTOKİMYASAL, FARMAKOLOJİK
ÖZELLİKLERİ VE ÖNEMLİ TIBBİ
KULLANIMLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

AYŞE BARAN¹, Mehmet Fırat BARAN²

¹ Biyolog, Mardin Büyükşehir Belediyesi MARSU, ayse.gorgec43@gmail.com

² Doç. Dr , Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, mfiatbaran@gmail.com

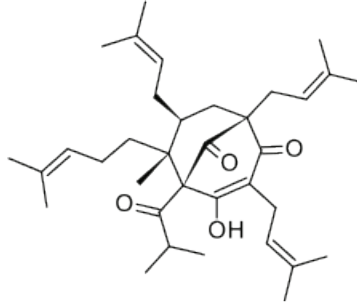
Giriş

Yaklaşık 500 türü kapsayan *Hypericum* cinsi, angiospermiler içerisinde en çeşitli bitki türlerinden biridir. (Nürk ve Blattner, 2010). Cinsin temsilcileri kutuplar, çöller ve bazı tropikal bölgeler hariç neredeyse tüm kıtalarda yayılış gösterirler (Robson, 1996). Bunlar arasında *H. perforatum* L., (Saint John wort) Avrupa'ya özgü çok yıllık bir bitkidir. Naftodiantronları (örn., Hiperisin ve psödohiperisin), floroglucinoller (örn., Hiperforin ve adperforin), flavonol türevlerini (örn., İzokersitrin ve hiperosit), biflavonları, ksantonları, proantosiyanidinleri, amino asitleri ve temel asitleri içeren pekçok biyoaktif doğal ürün gruplarını içerir (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). *H. perforatum*'dan elde edilen ticari preparatlar geleneksel olarak depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Bu preparatlar hem daha az maliyetlidir hem de sentetik antidepresan ilaçlarla kıyaslandığında uykusuzluk, seksüel bozukluklar, kilo kaybı gibi olumsuz yan etkiler göstermezler (Ernstetal ve ark., 1998). Geleneksel olarak kullanılan *H. perforatum* preparatları ile ilgili son farmakolojik araştırmalar anti-depresif aktiviteyi doğrulamıştır. Amerika ve Almanya'da depresyon tedavisinde *Hypericum* özütlerinden hazırlanan drogların satışından elde edilen rakamlar Amerika'da 270, Dünyada ise 570 milyon doları aşmıştır (Grünwald 1999). *Hypericum* türlerinden elde edilen özütlerin, antimikrobiyal (Saddiqe ve ark., 2010) ve antienflamatuar (Wölfler ve ark., 2014) etkiler göstermesi sebebiyle dermatolojik hastalıklarda kullanıldığı bilinmektedir. Son zamanlarda, *Hypericum* türlerinden izole edilen naftodiantronlar (hiperisin ve psödohiperisin) antitümör (Penjweini ve ark., 2013) ve antiviral (Arumugametal., 2013) özellikleri sebebiyle dikkat çekmektedir. Bu bileşikler pek çok *Hypericum* türünde yapraklarda, gövdede, taç yapraklarda, çanak yapraklarda, erkek ve dişi organlarda koyu renkli nodüllerin içerisinde depolanır (Crockett ve Robson, 2011). Bitkilerde hiperisin ve türevi psödohiperisin genellikle öncül moleküller şeklinde bulunur ve görünür ışığın etkisi ile naphthodianthrone analoglarına dönüşür (Rückert ve ark., 2006). *Hypericum* türlerinin biyosentetik olarak dış ortamlarda yetiştirilebilmeleri sıcaklık ve su stresi gibi çevresel faktörlere bağlıdır. Bu sebeple in vitro kültür ortamları bu şartlara göre düzenlenmelidir (Gray ve ark., 2003; Zobayed ve ark., 2005). *Hypericum* türleri, bitkisel-tıp pazarının büyük bir bölümünü işgal etme potansiyeline sahip çoklu biyoaktif bileşenler içerir. Günümüzde, yeni aktif moleküllerin araştırılması ve bitkisel ilaç endüstrileri için bitki ve molekül üretiminin iyileştirilmesi nedeniyle tıbbi bitkiler üzerindeki çalışmalar hızla artmaktadır. Post genomik dönemde, moleküler biyoloji ve genomik araçların uygulanması, *Hypericum* türlerinin ve bireysel bileşiklerin başlıca biyosentetik yolları, fitokimyası ve farmakolojisini anlamamızı sağlamıştır. Bu özel konu temel olarak biyosentetik yolların, biyoteknolojinin uygulanması, moleküler

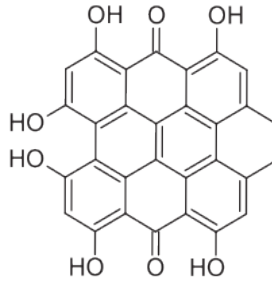
biyoloji, genomik, farmakoloji ve ilgili alanların anlaşılmasında kaydedilen son gelişmelere odaklanmaktadır.

Fitokimyasal Yapısı:

Başlıca aktif bileşenlerin hiperforin (prenillenmiş bir floroglucinol; Şekil 1) ve hiperisin (bir naftodiantron; Şekil 2), biyolojik olarak aktif diğer bileşenler, örneğin favonoidler, tanenler de mevcuttur (Nahrstedt ve Butterweck 1997). Aşağıda sunulan *Hypericum* türlerinden izole edilen bileşenler çeşitli kaynaklardan derlenmiştir (Bisset 1994; Bombardelli ve Morazzoni 1995; Newall ve ark., 1996; American Herbal Pharmacopeia 1997; Barnes ve ark.,).



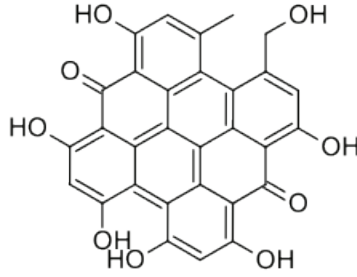
Şekil 1. Hiperforinin Kimyasal Yapısı



Şekil 2. Hiperisin'in Kimyasal Yapısı

Antrakininon türevleri (naftodiantronlar)

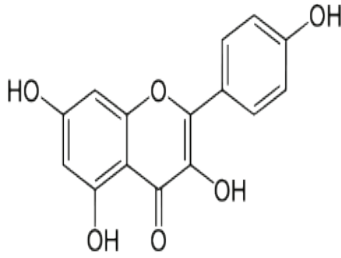
Hiperisin, psödohiperisin ve izoperisin; protohipperisin, siklopseudo-hypericin ve protopseudohypericin (sırasıyla hiperisin ve psödohiperisin biyosentetik öncülleri) taze bitkisel materyalde bulunur. Hiperisin içeriği (yaklaşık %0,1 ila 0.15) hem hiperisin hem de psödohiperisin (Vanhaelen ve Vanhaelen-Fastre 1983) içerecek şekilde alınır ve bazen toplam hiperisin ‘’ olarak adlandırılır.



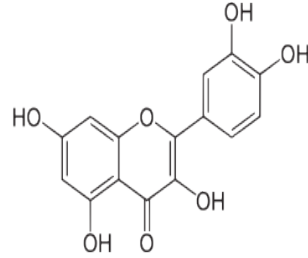
Şekil 3. Psödohiperisin'in Kimyasal Yapısı

Flavonoidler

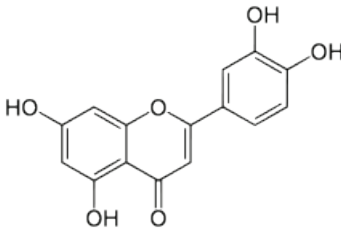
Flavonoller (örn. kaempferol, quercetin), flavonlar (örn. luteolin) ve glikozitler (örn. hiperosid, izokitritin, quercitrin, rutin), biapigenin (bir flavon) içeren biflavonoidler ve amentoflavon (bir biapigenin türevi) (literatür), sıklıkla kateşinler (flavonoidler ile birlikte yoğunlaştırılmış tanenler). Rutin, hiperosid ve izokuersitrin konsantrasyonları sırasıyla %1,6, % 0.9 ve % 0.3 olarak bildirilmiştir (Dorossiev 1985; Camas ve ark., 2014).



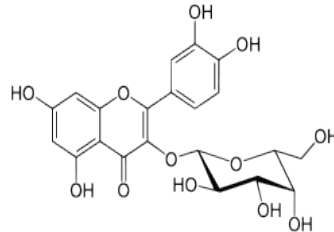
Şekil 4. Kaempferol'un Kimyasal yapısı



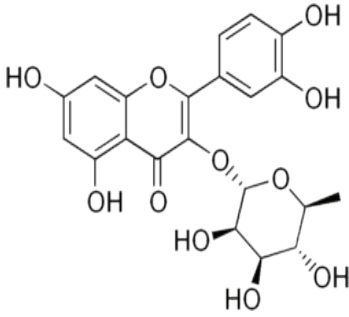
Şekil 5. Quercetin'in Kimyasal Yapısı



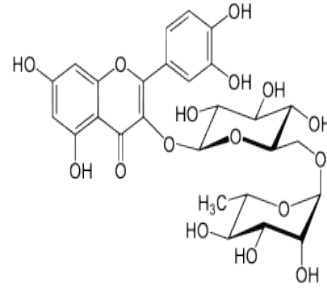
Şekil 6. Luteolin'un Kimyasal Yapısı



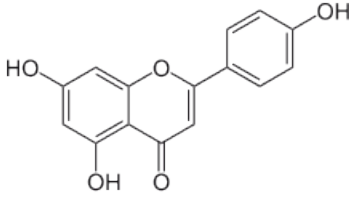
Şekil 7. Hiperosid'in Kimyasal Yapısı



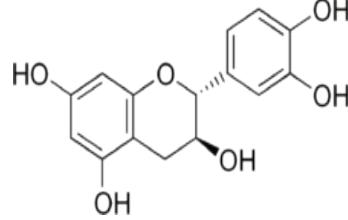
Şekil 8. Quercitrin'in Kimyasal Yapısı



Şekil 9. Rutin Kimyasal Yapısı



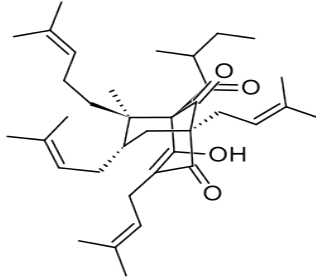
Şekil 10. Apigenin'in Kimyasal Yapısı



Şekil 11. Kateşin'in Kimyasal Yapısı

Prenillenmiş floroglucinoller

Hiperforin (%2,0 ila 4.5), adhyperforin (%0,2 ila 1.9) (Brondz ve ark., 1982; Ollivier ve ark., 1985; Ayuga ve Rebuelta 1986; American Herbal Pharmacopeia 1997), hiperforinin oksijenli analogları (Trifunovic ve ark., 1999; Verotta ve ark., 1999, 2000).



Şekil 12. Adhyperforin'in Kimyasal Yapısı

Tanenler (%8-9)

Proantosiyanidinler (yoğunlaşmış tip) bildirilmiştir (Bisset 1994).

Diğer fenoller

Kafeik, klorojenik, p-kumarik, ferulik, p-hidroksibenzoik ve vanilik asitler.

Uçucu yağlar (%0.05-0.9)

Ana bileşen (%30'dan az olmamak üzere) metil-2-oktan (doymuş hid-

rokarbon); diğerleri arasında *n*-nonan ve eser miktarda metil-2-dekan ve *n*-undekan (doymuş hidrokarbonlar; Brondz ve ark. 1983), α - ve β -pinen, α -terpineol, geraniol ve eser miktarda mirisen ve limonen (monoterpenler), karyofillen ve humulen (seskiterpenler) rapor edilmiştir (Moleriu ve ark., 2017).

Diğer bileşenler

Asitler (izovalerian, nikotinic, miristik, palmitik, stearik), karotenoidler, kolin, nikotinamid, pektin, β -sitosterol, düz zincirli doymuş hidrokarbonlar (C16, C30) ve alkoller (C24, C26, C28). Özen ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada *H. lysimachoides* var. *lysimachoides*'in çiçeklerinin normal yağ asitleri ile birlikte olağandışı 3-hidroksi yağ asitleri [3-hidroksi-tetradekanoik asit (3-OH-C14: 0) ve 3-hidroksi-oktadekanoik asit (3-OH-C18: 0)] ürettiğini bildirmişlerdir (Özen ve ark., 2004a). Bir başka çalışmada *H. perforatum* ve *H. retusum*'un çiçekli kısımlarının yaygın bitki yağ asitlerinin yanı sıra 3-hidroksi yağ asitleri, yani 3-hidroksitetradekanoik asit (3-OH-C14: 0) ve 3-hidroksioktadekanoik asit (3-OH-C18: 0) içerdiğini bildirmişlerdir (Özen ve ark., 2004b).

Farmakolojik Özellikler

Antidepresan, antiviral ve antibakteriyel etkiler dahil olmak üzere birçok farmakolojik aktivite, St John's wort ve/veya izole edilen bileşenleri için bildirmiştir.

Antidepresan aktivitesi

Hypericum türlerinin özellikle *H. perforatum*'un antidepresan etkisi için kesin etki mekanizması tam olarak kanıtlanamamıştır. Başlangıçta, bitkinin antidepresan etkilerinden sorumlu bileşenin hiperisin olduğu öne sürülsede deneysel (Chatterjee ve ark., 1998a, b) ve klinik çalışmalar (Lakmann ve ark., 1998) hiperforinin antidepresan aktivite için gerekli ana bileşenlerden biri olduğunu göstermiştir. Genellikle *H. perforatum*'un antidepresan ilaç olarak kullanılmasının (Bombardelli ve Morazzoni 1995), yanı sıra birçok çalışmada karaciğer hipertrofinin, akciğer enfeksiyonunun, jeneralize anksiyete bozukluklarının, somatoform rahatsızlıkların, uyku bozukluklarının, şizofreninin, obsesif kompulsif rahatsızlığın ve mevsimsel duygulanım bozukluğunun tedavisinde de etkili olduğu kanıtlanmıştır (Newell ve ark., 1996). Antidepresan olarak kullanımı, klinik veriler tarafından bugüne kadar desteklenen tek bitkisel preparat olan *H. perforatum*'un Avrupa İlaç Ajansı tarafından kabul edilmiş yerleşik bir tıbbi kullanımı mevcuttur (EMA 2009).

İn vitro ve in vivo (hayvan) çalışmaları.

Hiperisinin sıçan beyin mitokondrilerinde tip A ve B monoamin oksidaz (MAO) enzimlerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Suzuki ve ark. 1984). *Hypericum* özütü kullanılarak yapılan *in vitro* reseptör bağlanması ve enzim inhibisyon deneyleri adenosin, GABAA, GABAB, benzodiazepin ve MAO tip A ve B için anlamlı reseptör afinitesi gösterdi bununla birlikte, GABAA ve GABAB haricinde, insanlarda oral uygulamadan sonra gereken *hypericum* konsantrasyonlarına ulaşılmasının pek olası olmadığı rapor edildi (Cott 1997). Diğer biyokimyasal çalışmalar, *hypericum* özütü LI 160'ın MAO-A ve MAO-B aktivitesinin sadece zayıf bir inhibitörü olduğunu, ancak serotonin (5-hidroksitriptamin; 5-HT), dopamin ve norepinefrin (noradrenalin) sinaptosomal alımını inhibe ettiğini, yaklaşık olarak eşit afinite ve aynı zamanda betareseptörlerin aşağı regülasyonuna ve sıçan frontal korteksinde 5-HT₂ reseptörlerinin yukarı regülasyonuna yol açtığını bildirmişlerdir (Muler ve ark., 1997). Bununla birlikte, *H. perforatum* özütü (LI 160S) ile normal insan donörlerinden mononükleer hücrelerin *in vitro* inkübasyonu, doğal öldürücü hücre aktivitesini (NKCA) geliştiremediğini aksine, NKCA'nın belirlenmiş uyarıcıları, örneğin seçici serotonin geri alım inhibitörü paroksetin, NKCA'yı kontrol ile kıyaslandığında görülenin üzerinde arttırmıştır (Helgason ve ark., 2000). Serotonerjik aktivite NKCA'daki artışlarla ilişkili olduğundan, *H. perforatum*'un sadece zayıf serotonerjik aktiviteye sahip olabileceği bildirildi (Helgason ve ark., 2000). Deneysel depresyon modeli oluşturularak sıçan zorla yüzme testini kullanan çalışmalarda, *Hypericum* özlerin hareketsizlikte önemli bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (De Vry ve ark., 1999; Panocka ve ark., 2000). %0,3 hiperisin ve %3,8 hiperforin içeren kuru bir *Hypericum* özü içeren bir çalışmada, antidepresan aktiviteye sigma reseptörleri ile etkileşim ve artan serotonerjik iletim yoluyla oluşabileceğini bildirmiştir (Panocka ve ark., 2000). Saf hiperforin ve *Hypericum* özütlerinin ratlarda antidepresan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Chatterjee ve ark., 1998b). Stresörler tarafından tetiklenen akut ve kronik kaçış açığı formları da dahil olmak üzere diğer deneysel depresyon modellerinde, *Hypericum* özütünün sıçanları kaçınılmaz stresin sonuçlarından koruduğu gösterilmiştir (Gambarana ve ark., 1999). Flavonoid fraksiyonlarının ve bu fraksiyonlardan izole edilen flavonoidlerin, sıçanlarda deneysel çalışmalarda (zorla yüzme testi) antidepresan aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir (Butterweck ve ark., 2000). *Hypericum triquetrifolium* tohum metanol özütünün denendiği bir çalışmada, yüksek dozda siklofosfamide maruz bırakılan ratlarda yüksek organ hasarı olduğu ancak bitki özütleri ile birlikte siklofosfamid uygulamasının organları (akut hepatotoksisite, miyelotoksisite ve hematotoksisiteye karşı) yüksek doz hasarından koruduğu rapor edilmiştir (Yıldız ve ark., 2019). Bir başka çalışmalarında ise *Hypericum triquetrifolium* tohum

metanol özütünün ratlarda siklofosfamidin neden olduğu kardiyotoksiste hasarına karşı koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Çetik ve ark., 2018).

Klinik çalışmalar

Franklin ve ark., 12 sağlıklı erkek gönüllü üzerinde yapılan çift kör, plasebo kontrollü, çapraz çalışma, tek doz St John's wort ekstresinin (LI 160) 2700 mg (%0,3 hiperisine standart 9x300 mg tablet) büyüme, prolaktin ve kortizol hormonlarının plazma konsantrasyonları üzerindeki etkilerini araştırdı. (Franklin ve ark., 1999). Plasebo uygulaması ile kıyaslandığında *Hypericum* özütü verildiğinde plazma büyüme hormonu konsantrasyonunda önemli bir artış ve plazma prolaktin konsantrasyonunda belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Plazma kortizol seviyesinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu bulgular, St John's wort özütünün belli dozlarının insanlarda beyin dopamin fonksiyonlarını artırabileceğini, ancak bunu doğrulamak ve doz yanıt ilişkilerini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Franklin ve ark., 1999). Randomize, 3 yollu, çaprazlama tasarım kullanan bir başka çalışmada, tek bir doz St John's wort ekstresinin (LI 160S) 600 mg, 300 mg veya plasebo dozunun 12 sağlıklı erkek gönüllüde hormon konsantrasyonları üzerindeki etkileri araştırıldı. (Laakman ve ark., 2000). Plasebo ile karşılaştırıldığında, St John's wort özü (600 mg) dozlama sonrasında 30 ila 90 dakika arasında kortizol sekresyonunu arttırdığı, bununla St John's wort'un bazı CNS nörotransmitterleri üzerindeki etkisinden dolayı olduğu rapor edildi. Üç grup arasında adrenokortikotropik hormon, büyüme hormonu ve prolaktin sekresyonu açısından fark tespit edilmedi.

Antimikrobiyal etkinlik

Hiperforinin *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Brondz ve ark., 1982). Pek çok antibiyotiğe dirençli *S. aureus* ve *Streptococcus pyogenes* ve *Corynebacterium diphtheriae* de dahil olmak üzere Gram-pozitif bakterilere karşı hiperforinin antibakteriyel aktivitesi bildirilmiştir (Schempp ve ark., 1999b). Bununla birlikte, hiperforinin antibakteriyel etkilerinin sadece yüksek konsantrasyonlarda gözlemlendiği vurgulanmıştır (Fiebich ve ark., 1999; Voss ve Verweij 1999). Hiperforin, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram-negatif bakterilere veya *Candida albicans*'a karşı herhangi bir büyüme engelleyici etki sergilememiştir (Schempp ve ark., 1999b). Biyolojik yöntemler kullanılarak *Hypericum triquetrifolium*'dan elde edilen gümüş nanopartiküllerinin *S. aureus* ve *E. Coli* bakteri suşları ve *C. albicans* mayası üzerinde düşük konsantrasyonda inhibisyon etkisi gösterdiği bildirilmiştir (Umaz ve ark., 2019).

Antiviral aktivite

St John's wort'un flavonoid ve kateşin içeren kısımları influenza virüsüne karşı aktivite göstermiştir (Mishenkova ve ark., 1975). Hiperisin ve psödohiperisinin, herpes simpleks virüsü tip 1 ve 2 (Wood ve ark., 1990; Weber ve ark., 1994) ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) dahil olmak üzere birçok kapsüllenmiş virüsü in vitro inhibe ettiği bildirilmiştir (Meruelo ve ark., 1988; Lavie ve ark., 1989; Hudson ve ark., 1991; Lopez-Baz-zocchi ve ark., 1991). Hiperisinin ayrıca murin sitomegalovirüsü (MCMV) ve Sindbis virüsünü inaktive ettiği bildirilmiştir (Hudson ve ark., 1991). Hiperisin antiviral aktivitesinin bir fotoaktivasyon işlemi içerdiği görülmektedir (Hudson ve ark., 1991; American Herbal Pharmacopeia 1997). İn vivo çalışmaları destekleyen bazı klinik çalışmalarda HIV ve hepatit C'ye karşı hiperisin için antiviral aktivite bildirilmiştir (Anon, 1995a,b). St John's wort özütü alan HIV pozitif hastalarda yapılan bazı kontrolsüz çalışmalar, bazı hastalarda CD4 hücre sayısındaki artışlar da dahil olmak üzere immünolojik ve klinik yararlar bildirmiştir (Cooper ve James 1990; Steinbeck-Klose ve Wernet 1993).

Diğer aktiviteler

Bazı çalışmalarda Hypericum için, antidepresan etkisi ile ilişkili olabilen birkaç başka farmakolojik etki bildirmiştir. Hamster vas deferens düz kas hücre hatlarının kullanıldığı in vitro bir çalışmada, hiperforinin mitokondriyal veya diğer kaynaklardan kalsiyum iyonlarının salınmasını ve ardından hücresel metabolizmanın aktivasyonunu indüklediğini göstermiştir (Koch ve Chatterjee 2000). Bu aktivitenin hiperforinin antidepresan etkilerine katkıda bulunup bulunmadığı bilinmemektedir. Depresyon ve alkolizmin düşük beyin serotonin konsantrasyonları gibi bazı nörokimyasal benzerliklere sahip olduğu düşünülmektedir (Ballenger ve ark., 1979). Tek bir St John's wort dozunun (100, 200, 400, 600 veya 800 mg kg⁻¹) alkol yüklemesi yapılan sıçanlara oral yoldan uygulanması, her iki suşta da alkol alımını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Rezvani ve ark., 1999). Deneysel alkolizmde yapılan bir başka çalışmada, St John's wort'un akut intraperitoneal uygulaması 10 ila 40 mg kg⁻¹, fluoksetin 1-10 mg kg⁻¹ ve imipramin 3-30 mg kg⁻¹ 12-saatlik sınırlı erişimli iki şişe seçimi (etanol/su) prosedürü uygulanmış ve doza bağımlı bir şekilde alkol alımını azalttığı bildirilmiştir (De Vry ve ark., 1999). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada, H. perforatum total ekstraktının, hiperisin ve psödohiperisin içeren bir fraksiyonun ve saf proto hiperisin potansiyel anksiyolitik (antidepresan) aktivitesini araştırmıştır (Vandenbogaerde ve ark., 2000). H. perforatum total ekstraktının bir açık alan testinde lokomotor aktivitesini arttırdığı ve açık-karanlık testinde anksiyolitik benzeri bir etkiye sahip olduğu, ancak tek bileşenlerin böyle bir etki göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca, anksi-

yolitik aktivite, benzodiazepin reseptör antagonisti flumazenil ile ön-muamele ile bloke edilmiştir (Vandenbogaerde ve ark., 2000). Sıçan öğrenme ve hafıza modellerinde üç gün boyunca günde bir kez standartlaştırılmış %50 etanolik Hint *H. perforatum* 100 ve 200 mg kg⁻¹'in oral yoldan uygulanması, scopolamin ve sodyum nitritin neden olduğu aktif kaçınmanın bozulmasının önemli ölçüde azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu, intraperitoneal pirasetam 500 mg kg⁻¹ (nootropik bir ajan) ile kıyaslanabilir ölçüdedir (Kumar ve ark., 2000). St.John's wort'un bir ekstrelerinin farelerde, İrlanda yosunu (*carrageenan*) ve PGE₁ tarafından indüklenen inflamasyonu ve lökosit infiltrasyonunu baskıladığı rapor edilmiştir (Shipochliev ve ark., 1981). İn vitro olarak hiperisin, spesifik büyüme faktörü ayarlı protein kinazları inhibe etmek için transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin tümör nekroz faktörü kaynaklı aktivasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (Takahashi ve ark., 1989; De Witte ve ark., 1993; Agostinis ve ark., 1995). Hiperisin ve psödohiperisinin 12-lipoksijenaz aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir; lökotrienler gibi lipooksijenaz katalizli reaksiyonların ürünleri, enflamatuar reaksiyonlarda rol oynayabilir (Bezakova ve ark., 1999). Diğer bileşikler, St John's wort'un anti-enflamatuar özelliklerine katkıda bulunabilir (Fiebich ve ark. 1999). Anti-inflamatuar ve anti-ülserojenik özellikler, biapigenin türevidir olan amentoflavon için belgelenmiştir (Berghofer ve Hölzl 1987). İnsan epidermal hücrelerinin hiperforin ile inkübasyonunun, kontrole kıyasla alloreatif T hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı ve ayrıca doza bağlı bir şekilde periferik kan mononükleer hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Schempp ve ark., 2000'a). Hiperisin molekülünün fotoaktifleştirici etkisi, çeşitli kanser hücre hatlarında in vitro ve hayvan kanser modellerinde in vivo olarak araştırılmıştır. Prostat adenokarsinom hücrelerinin ve insan prostat kanserinin metastatik hücre hatlarının hiperisin 0.001 ile 0.3 μ g mL⁻¹ ile inkübasyonu, ardından lazer ışıması her iki hücre hattı üzerinde fototoksik etkilere yol açarken, ışınlamanın yokluğunda herhangi bir etki görülmemiştir (Colasanti ve ark., 2000). İn vitro benzer çalışmalar, insan idrar kesesi karsinom hücrelerinde (Kamuhabwa ve ark., 2000b) ve hiperisin ile inkübe edilen ve daha sonra yeşil lazer ışığına maruz kalan pankreas kanseri hücre hatlarında fotositotoksisite oluştuğunu göstermiştir (Liu ve ark., 2000). Ayrıca, insan skuamöz karsinom hücrelerinin naklinden sonra farelerde büyütülen tümörlere hiperisin ile lazer intratümöral fotodinamik tedavi, tek başına lazer tedavisine kıyasla tümör nekrozunda önemli bir gerilemeye sebep olmuştur (Chung ve ark., 2000). *H. amblysepalum*'un farklı kısımlarından elde edilen metanol özütlerinin denendiği bir çalışmada; denen özütlerin kuvvetli antioksidan, antikanser ve antikolinesteraz aktiviteye sahip olduğu bildirmiştir (Keskin, 2015). *H. retusum*'un mevsimsel varyasyona bağlı olarak farklı dönemlerde toplanan kısımlarından elde edilen özütlerin antioksidan, antikanser (HeLa, NRK-52E), antikolinesteraz, anti-genotoksik

(commet assay yöntemi denenmiş) aktivitelerinin araştırılmış ve özütlerin güçlü bir antioksidan ve anti-genotoksik ve antikanser etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Keskin ve ark., 2017). Yapılan bir çalışmada HT-29 (kolon kanseri) ve H-460 (akciğer kanseri) hücre hatları üzerinde *H. caprifoliatum*, *H. myrianthum* ve *H. ternum*'ün hekzan özütlerinin antikanser aktivite sergilediği rapor edilmiştir (Ferraz ve ark., 2005). *H. reflexum*'un metanol ve sulu özütlerinin ratlarda ağrılı ve iltihabi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Sanchez-Mateo ve ark., 2006). Başka bir çalışmada *H. perfoliatum* özütlerinin çocuklarda kulak ağrısı tedavisinde kullanıldığını rapor etmişlerdir (Sarrell ve ark., 2003).

Klinik farmakokinetik

Hiperisin ile standardize edilmiş St John's wort özü LI 160 ile detaylı farmakokinetik çalışmalar yapılmıştır. Sağlıklı erkek gönüllülere tek oral LI 160 300, 900 veya 1800 mg dozlarının uygulanması sonucunda, üç doz için sırasıyla 1.5, 7.5 ve 14.2 ng mL mL⁻¹ pik plazma hiperisin konsantrasyonları ölçülmüştür. 2.0 ila 2.6 saat sonra hiperisin ve 0.4 ila 0.6 saat sonra psödohiperisin ile pik plazma konsantrasyonları görüldü. Hiperisin eliminasyon yarılanma ömrü 24.8 ila 26.5 saat arasında olduğu bildirilmiştir. Günde üç kez 300 mg'lık tekrarlanan LI 160 dozları, dört gün sonra kararlı durum konsantrasyonları ile sonuçlanmıştır (Biber ve ark., 1998). St John's wort özütünün oral yoldan uygulanması WS 5572 300 mg (14,8 mg hiperforine eşdeğer), 150 ng mL⁻¹'lik pik hiperforin plazma konsantrasyonlarının uygulamadan 3.5 saat sonra ulaşmasına neden olmuştur ve yarılanma ömrünün 9 saat olduğu ölçülmüştür (Staffeldt ve ark., 1994). Günde üç kez 300 mg tekrarlanan dozları takiben, tahmini kararlı durum plazma hiperforin konsantrasyonları 100 ng mL⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Hypericum ve hiperisin farmakokinetiğini araştıran benzer çalışmalar mevcuttur (Bombardelli ve Morazzoni 1995; American Herbal Pharmacopeia 1997).

Sonuç ve Tartışma

St John's wort (*H. perforatum*) preparatları eczanelerden, gıda takviyeleri satışı yapan mağazalarda ve aktarlarda çeşitli formülasyonlarda (örn. Tabletler, tentürler, topikal preparatlar) yaygın olarak bulunur ve Batı ülkelerinde en çok satan bitkisel ürünler arasındadır. ABD'de yapılan küçük bir çalışmada, reçeteli antidepresanlardan ziyade tüketicilerin St John's wort kullanımının ana nedenlerinden bazılarının St John's wort'un doğal ve daha güvenli olduğu ve geleneksel antidepresanlardan daha az olumsuz etkiye sahip olduğu inancı ve diğer antidepresanlara erişimde yaşadıkları güçlükler olduğu bildirilmiştir (Beckman ve ark. 2000). St John's wort ürünleri genellikle hiperisin (Şekil 2) içeriği üzerinde standartlaştırılmıştır, çünkü bu bileşenin orijinal olarak St John's wort antidepresan etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmüştür. Hiperforinin (Şekil 1) antidepresan aktivi-

teden sorumlu ana bileşenlerden biri olduğu ortaya çıkmıştır, ancak hangi diğer bileşenlerin antidepresan etkiye katkıda bulunduğunu belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Hiperforin ışıktan kolay etkilen kararsız bir bileşik olduğu için, hiperforin içeriği üzerindeki ürünlerin standartlaştırılması ciddi bir problemdir (Verotta ve ark., 2000). Randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen veriler, St John's wort ekstraktlarının hafif ila orta şiddette depresyon tedavisinde etkinliğini olduğunu ortaya koymuştur (Linde ve Mulrow 2001). Diğer randomize kontrollü çalışmalar, St John's wort ekstraktlarının hafif ila orta dereceli depresyondaki bazı standart antidepresanlar kadar etkili olduğuna dair bazı veriler bildirmiştir. Bununla birlikte, standart antidepresanların, özellikle seçici serotonin geri alım inhibitörleri gibi daha yeni antidepresan ajanlarınkine (fluoksetin ve sertralin) kıyasla St John's wort özütlerinin etkinliğini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Ayrıca, genel olarak, iyi tanımlanmış hasta gruplarında, farklı depresyon türlerinde ve uzun süreli güvenliği belirlemek için daha uzun sürelerde yürütülen daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. St John's wort, standart antidepresanlardan daha uygun bir kısa vadeli güvenlik profiline sahip gibi görünmektedir, bu da ilaç almaya devam eden hastalarda önemli olması muhtemel bir faktördür. St John's wort'a duyarlılığı olan bireyler alerjik reaksiyonlar yaşayabilir. Bilinen ışığa duyarlılık vakalarında St John's wort kullanımı tavsiye edilmez ve bir ışık duyarlılığına sebep olan ajan olarak hiperisin potansiyeli göz önüne alındığında, St John's wort kullanırken terapötik UV tedavisinden mutlaka kaçınılmalıdır (American Herbal Pharmacopeia 1997). Topikal Hypericum preparatlarının ciddi bir fototoksik potansiyeli olduğu görülmüşse, açık tenli bireylerde ve hastalıklı cildi olanlarda artan ışığa duyarlılığı artıracığından önemli problemlere sebep olabilir (Schempp et al 2000b). St John's wort ve bazı reçeteli ilaçlar (varfarin, siklosporin, teofilin, digoksin, HIV proteaz inhibitörleri, antikonvülsanlar, seçici serotonin geri alım inhibitörleri, triptanlar, oral kontraseptifler) arasındaki etkileşimler olabileceği bildirilmiştir. Bu sebeple, bu ilaçları alan hastaların, doz ayarlanmasında problemler oluşabileceğinden profesyonel tavsiye aradıktan sonra St John's wort preparatı kullanmayı bırakmaları gerektiği tavsiye edilir. Oral kontraseptifler hariç, bu reçeteli ilaçları alan hastalar, önce profesyonel tavsiye almadan, bitkisel ilaçlar da dahil olmak üzere reçetesiz satılan ilaçlarla kendi kendine tedavi etmemelidir.

Kaynaklar

- Agostinis, P., Vandenbogaerde, A., Donella-Deana, A., Pinna, L. A., Lee, K. T., Goris, J., Merlevede, W., Vandenheede, J. R., De Witte, P. (1995). Photosensitized inhibition of growth factor regulated protein kinases by hypericin. *Biochemical Pharmacology*, 49: 1615-22.
- American Herbal Pharmacopoeia (1997) St John's wort. *Hypericum perforatum*. Quality control, analytical and therapeutic monograph. American Botanical Council, Texas.
- Anon. (1995a). Hypericin improves blood safety Script, 2005: 27.
- Anon. (1995b). Hypericin HIV trial in Thailand. Script, 2019: 25.
- Arumugam, M., Lulu, S., Kumari, S., Kumari, N.V.D. (2013). Computational screening and evaluation of bioactive compounds against NS3 helicase of HCV. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5: 370-76.
- Ayuga, C., Rebuelta, M. (1986.) A comparative study of phenolic acids of *Hypericum caprifolium* Boiss and *Hypericum perforatum* L. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 52: 723-8.
- Ballenger, J.C., Godwin, F.K., Major, L.F., Brown, G.L. (1979). Alcohol and central serotonin metabolism in man. *Archives of General Psychiatry*, 57:224-7. Cited by Rezvani, A.H., Overstreet, D.H., Yang, Y., Clarke, E. (1999). Attenuation of alcohol intake by extract of *Hypericum perforatum* (St John's wort) in two different strains of alcohol-preferring rats. *Alcohol Alcohol*, 34: 699-705.
- Barnes, J., Linda A. Phillipson, A., Phillipson, J.D. (2000). St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53: 583-00.
- Beckman, S.E., Roger, W.S., Switzer, J. (2000). Consumer use of St John's wort: a survey on effectiveness, safety and tolerability. *Pharmacotherapy*, 20: 568-74.
- Berghofer, R., Holzl, J. (1987). Biflavonoids in *Hypericum perforatum*; Part 1. Isolation of 13,II8-biapigenin. *Planta Medica* 53: 216-17.
- Bezakova, L., Psenak, M., Kartnig, T. (1999). Effect of dianthrone and their precursors from *Hypericum perforatum* L. on lipoxygenase activity. *Pharmazie*, 54: 711.
- Biber, A., Fischer, H., Romer, A., Chatterjee, S.S. (1998). Oral bioavailability of hyperforin from hypericum extracts in rats and human volunteers. *Pharmacopsychiatry*, 31(Suppl 1): 36-43.
- Bisset, N.G. (editor). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals* (Wichtl, M. editor, German edition). Stuttgart: Medpharm, 1994.
- Bombardelli, E., Morazzoni, P. (1995). *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 66: 43-68.

- Bombardelli, E., Morazzoni, P. (1995). *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 66: 43-68.
- Brondz, I., Greibrokk, T., Groth, P.A., Aasen, A.J. (1982). The relative stereochemistry of hyperforin-An antibiotic from *Hypericum perforatum* L. *Tetrahedron Letters*, 23(12): 1299-00.
- Brondz, I., Greybrok, T., Aasen, A.J. (1983). n-Alkanes of *Hypericum perforatum*: A revision. *Phytochemistry*, 22: 295-6.
- Butterweck, V., Jurgenliemk, G., Nahrstedt, A., Winterhoff, H. (2000). Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Medica*, 66: 3-6.
- Camas, N., Radusiene, J., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Kayikci, S. ve Cirak, C. (2014). Chemical composition of *Hypericum* species from the *Taeniocarpium* and *Drosanthe* sections. *Plant Systematics and Evolution*, 300, 953-60.
- Chatterjee, S.S., Bhattacharya, S.K., Wonnemann, M., Singer, A., Muller, W.E. (1998a). Hyperforin as a possible antidepressant component of *hypericum* extracts. *Life Science*, 63: 499-510.
- Chatterjee, S.S., Noldner, M., Koch, E., Erdelmeier, C. (1998b). Antidepressant activity of *Hypericum perforatum* and hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiatry*, 31(Suppl): 7-15.
- Cooper, W. C., James, J. (1990). An observational study of the safety and efficacy of hypericin in HIV-positive subjects [abstract]. *International Conference on AIDS* 6: 369.
- Cott, J.M. (1997). In vitro receptor binding and enzyme inhibition by *Hypericum perforatum* extract. *Pharmacopsychiatry*, 30(Suppl): 108-12.
- Crockett, S.L., Robson, N.K.B. (2011). Taxonomy and chemotaxonomy of the genus *Hypericum*. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5: 1-13.
- Çetik, S., Keskin, C., Şahintürk, V., Ayhancı, A. (2018). Cardioprotective effects of *Hypericum triquetrifolium* Turra. against cyclophosphamide related cardiotoxicity in rats. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 22(3): 374-85.
- De Vry, J., Maurel, S., Schreiber, R., de Beun, R., Jentsch, K. R. (1999). Comparison of *hypericum* extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. *European Neuropsychopharmacology*, 9: 461-8.
- De Witte, P., Agostinis, P., Van Lint J., Merlevede, W., Vandenheede, J. R. (1993). Inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase activity by hypericin. *Biochemical Pharmacology*, 46: 1929-36.
- Dorossiev, I. (1985). Determination of flavonoids in *Hypericum perforatum*. *Pharmazie*, 40: 585-86.
- E., Simon, J.C. (2000). Topical application of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and of its metabolite hyperforin inhibits the

- allostimulatory capacity of epidermal cells. *British Journal of Dermatology*, 142: 979-84.
- EMA (European Medicines Agency), 2009. Community Herbal Monograph on *Hypericum perforatum* L. Herba (Well-established Medicinal Use). EMA/HMPC/101304/2008. European Medicines Agency, London.
- Ernst, E., Rand, J.I., Barnes, J., Stevinson, C. (1998). Adverse effects profile of the herbal antidepressant St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *European Journal of Clinical Pharmacology*, 54(8): 589-94.
- Eshraghi, A.A., Castro, D.J., Saxton, R.E. (2000). Intratumoral hypericin and KTP laser therapy for transplanted squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*, 110: 1312-16.
- Ferraz A., Faria D.H., Benneti M.N., Da Rocha A.B., Schwartzmann G., Henriques A., Von Poser G.L. (2005). Screening For Antiproliferative Activity of Six Southern Brazilian Species of *Hypericum*. *Phytomedicine*, 12: 112-15.
- Fiebich, B., Heinrich, M., Langosch, J. M., Kammerer, N., Lieb, K. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort. *Lancet*, 354: 777.
- Fiebich, B., Heinrich, M., Langosch, J.M., Kammerer, N., Lieb, K. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort. *Lancet*, 354: 777.
- Franklin, M., Chi, J., McGavin, C., Hockney, R., Reed, A., Campling, G., Whale, R.W., Cowan, P.J. (1999). Neuroendocrine evidence for dopaminergic actions of hypericum extract (LI 160) in healthy volunteers. *Biological Psychiatry*, 46: 581-4.
- Gambarana, C., Ghiglieri, O., Tolu, P., De Mantis, M. G., Giachetti, D., Bombardelli, E., Tagliamonte, A. (1999). Efficacy of an *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract in preventing and reverting a condition of escape deficit in rats. *Neuropsychopharmacology*, 21: 247-57.
- Gray, D.E., Pallardy, S.G., Garrett, H.E., Rottinghaus G.E. (2003). Effect of acute drought stress and time of harvest on phytochemistry and dry weight of St. John's wort leaves and flowers. *Planta Medica*. 69: 1024-30.
- Grünwald, J. (1999). The World Market for *Hypericum* Products. *Nutraceuticals World*, May/June, 22-25.
- Helgason, C.M., Frank, J.L., Johnson, D.R., Frank, M.G., Hendricks, S.E. (2000). The effects of St John's wort (*Hypericum perforatum*) on NK cell activity in vitro. *Immunopharmacology*, 46: 247-51.
- Hudson, J.B., Lopez-Bazzocchi, I., Towers, G.H. (1991). Antiviral activities of hypericin. *Antiviral Research*, 15: 101-12.
- Kamuhabwa, A.R., Agostinis, P., D'Hallewin, M.A., Kasran, A., de Witte, P.A. (2000b). Photodynamic activity of hypericin in human urinary bladder carcinoma cells. *Anticancer Research*, 20: 2579-84.
- Keskin, C. (2015). Antioxidant, anticancer, anticholinesterase activities of

- flower, fruit and seed extracts of *Hypericum amblysepalum* HOCHST. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 16(7): 2763-69.
- Keskin, C., Aktepe, N., Yukselten, Y., Sunguroglu, A., Boga, M. (2017). In vitro Antioxidant, Cytotoxic, Cholinesterase Inhibitory Activities and Anti-Genotoxic Effects of *Hypericum retusum* Aucher Flowers, Fruits and Seeds Methanol Extracts in Human Mononuclear Leukocytes. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 16(1): 210-20.
- Koch, E., Chatterjee, S.S. (2000). Hyperforin stimulates intracellular calcium mobilisation and enhances extracellular acidification in DDT1-MF2 smooth muscle cells [abstract]. Biocenter Symposium on Drug Therapy. Pharmacology of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and its constituents. Frankfurt, Germany.
- Kumar, V., Singh, P.N., Muruganandam, A.V., Bhattacharya, S.K. (2000). Effect of Indian *Hypericum perforatum* Linn on animal models of cognitive dysfunction. Journal of Ethnopharmacology, 72: 119-28.
- Laakman, G., Schule, C., Dienel, A. (2000). Effects of hypericum extract on adenohipophysial hormone secretion and catecholamine metabolism [abstract]. Biocenter Symposium on Drug Therapy. Pharmacology of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and its constituents. Frankfurt, Germany.
- Laakmann, G., Schule, C., Baghai, T., Kieser, M. (1998). St John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. Pharmacopsychiatry, 31(Suppl): 54-9.
- Lavie, G., Valentine, F., Levin, B., Mazur, Y., Gallo, G., Lavie, D., Weiner D., Meruelo, D. (1989). Studies of the mechanisms of the antiretroviral agents hypericin and pseudohypericin. Proceedings of the National Academy of Sciences, 86: 5963-67.
- Linde, K., Mulrow, C.D. (2001). St John's wort for depression (Cochrane Review). In: The Cochrane Library. Issue 1, Oxford: Update Software.
- Liu, C.D., Kwan, D., Saxton, R.E., McFadden, D.W. (2000). Hypericin and photodynamic therapy decreases human pancreatic cancer in vitro and in vivo. Journal of Surgical Research, 93: 137-43.
- Lopez-Bazzocchi, I., Hudson, J. B., Towers, G. H. (1991). Antiviral activity of the photoactive plant pigment hypericin. Photochemistry and Photobiology, 54: 95-8.
- Meruelo, D., Lavie, G., Lavie, D. (1988) Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. Proceedings of the National Academy of Sciences, 85: 5230-34.
- Mishenkova, E.L., Derbentseva, N.A., Garagulya, A.D., Litvin, L.N. (1975). Antiviral properties of St John's wort and preparations produced from it. Tr S'ezda Mikrobiol Ukr 222-322.
- Moleriu, L., Jianu, C., Bujanca, J., Doros, G., Misca, C., Ilie, C.O., Moleriu,

- D.R., Ilie, C.A. (2017). Essential Oil of *Hypericum perforatum*: The chemical composition and antimicrobial activity. *Revista de Chimie*, 64(4): 687-92.
- Muller, W. E., Rolli, M., Schafer, C., Hafner, U. (1997). Effects of hypericum extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry*, 30(Suppl): 102-7.
- Nahrstedt, A., Butterweck, V. (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 30:129–34.
- Nahrstedt, A., Butterweck, V. 1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 30(2): 129–134.
- Newall, C.A., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (1996). *Herbal Medicines. A Guide for Health-care Professionals*. 1st edn. London: Pharmaceutical Press.
- Newall, C.A., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (1996). *Herbal Medicines. A Guide for Health-care Professionals*. 1st edn. London: Pharmaceutical Press.
- Nürk, N.M., Blattner F.R. (2010). Cladistic analysis of morphological characters in *Hypericum* (Hypericaceae). *Taxon*, 59(5): 1495-1507.
- Ollivier, B., Balansard, G., Maillard, C., Vical, E. (1985). Separation et identification des acides phenols par chromatographie liquide haute performance et spectroscopie ultra-violette. Application a' la parietaire (*Parietaria officinalis* L.) et au millepertuis (*Hypericum perforatum* L.). *Journal de pharmacie de Belgique*, 40: 173-7.
- Özen, H.Ç., Başhan, M., Keskin, C., Toker, Z. (2004b). Fatty acid and 3- hydroxy fatty acid composition of two *Hypericum* species from Turkey, *European Journal of Lipid Science and Technology* 106(1), 68-70.
- Özen, H.Ç., Başhan, M., Toker, Z., Keskin, C. (2004a). 3-hydroxy fatty acids from the flowers of *Hypericum lysimachioides* var. *lysimachioides*, *Turkish Journal of Chemistry* 28(2): 223-6.
- Panocka, I., Perfumi, M., Angeletti, S., Ciccocioppo, R., Massi, M. (2000). Effects of *Hypericum perforatum* on ethanol intake, and on behavioural despair: a search for the neurochemical systems involved. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66: 105-11.
- Penjweini, R., Loew, H.G., Breit, P., Kratky, K.W. (2013). Optimizing the anti tumor selectivity of PVP-Hypericin re A549 cancer cells and HLF normal cells through pulsed blue light. *Photodiagn. Photodyn.* 10: 591–99.
- Rezvani, A.H., Overstreet, D.H., Yang, Y., Clarke, E. (1999). Attenuation of alcohol intake by extract of *Hypericum perforatum* (St John's wort) in two different strains of alcohol-preferring rats. *Alcohol Alcohol*, 34:

699-705.

- Robson, N.K.B. (1996). Studies The Genus *Hypericum* L (Guttiferae).6.Sections 20. Myriandrato 28. Elodes. Bull. Br. Museum Nat.Hist. 26:75.
- Rückert, U., Eggenreich, K., Likussar, W., Wintersteiger, R., Michelitsch, A. (2006). A high performance liquid chromatography with electrochemical detection for the determination of total hypericin in extracts of St. John's Wort. *Phytochemical analysis*, 17:162–7.
- Saddiqe, Z., Naeem, I., Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131: 511–21.
- Sánchez-Mateo, C.C., Bonkanka, C.X., Hernández-Pérez, M., Rabanal, R.M. (2006). Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1): 1-6.
- Sarrell, E.M., Cohen, H.A., Kahan, E. (2003). Naturopathic treatment for ear pain in children. *Pediatrics*, 111: 574-79.
- Schempp, C., Pelz, K., Wittmer, A., Schopf, E., Simon, J. C. (1999b). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *Lancet*, 353: 2129.
- Shipochliev, T., Dimitrov, A., Aleksandrava, E. (1981). Antiinflammatory action of a group of plant extracts. *Veterinarno Medicinski Nauki*, 18: 87-94.
- Staffeldt, B., Kerb, R., Brockmoller, J., Ploch, M., Roots, I. (1994). Pharmacokinetics of hypericin and pseudohypericin after oral intake of the *Hypericum perforatum* extract LI 160 in healthy volunteers. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7: 47-53.
- Steinbeck-Klose, A., Wernet, P. (1993). Successful long-term treatment over 40 months of HIV-patients with intravenous hypericin [abstract]. *International Conference on AIDS*, 9: 470.
- Suzuki, O., Katsumata, Y., Oya, M., Bladt, S., Wagner, H. (1984). Inhibition of monoamine oxidase by hypericin. *Planta Medica*, 50: 272-74.
- Takahashi, I., Nakanishi, S., Kobayashi, E., Nakano, H., Suzuki, K., Tamaoki, T. (1989). Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein kinase C: possible relation to their antiretroviral activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 165: 1207-12.
- Tramontano, D., Villani F. (2000). Hypericin photosensitization of tumor and metastatic cell lines of human prostate. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 54: 103-7.
- Trifunovic, S., Vajs, V., Macura, S., Juranic, N., Djarmati, Z., Jankov, R., Milosavljevic, S. (1998). Oxidation products of hyperforin from

- Hypericum perforatum*. *Phytochemistry*, 49: 1305-10.
- Umaz, A., Koç, A., Baran, M.F., Keskin, C., Atalar, M.N. (2019). Investigation of Antimicrobial Activity and Characterization, Synthesis of Silver Nanoparticles from *Hypericum triquetrifolium* Turra Plant. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(3): 1467-75.
- Vandenbogaerde, A., Zandi, P., Puia, G., Truzzi, C., Kamuhabwa, A., de Witte, P., Merlevede, W., Baraldi, M. (2000). Evidence that total extract of *Hypericum perforatum* affects exploratory behaviour and exerts anxiolytic effects in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65: 627-33.
- Vanhaelen, M., Vanhaelen-Fastre, R. (1983). Quantitative determination of biologically active constituents in medicinal plant crude extracts by thin-layer chromatography-densitometry. *Journal of Chromatography*, 281: 263-71.
- Verotta, L., Appendino, G., Belloro, E., Jakupovic, J., Bombardelli, E. (1999). Furohyperforin, a prenylated phloroglucinol from St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Journal of Natural Products*, 62: 770-2.
- Verotta, L., Appendino, G., Jakupovic, J., Bombardelli, E. (2000). Hyperforin analogues from St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Journal of Natural Products*, 63: 412-15.
- Voss, A., Verweij, P.E. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort. *Lancet*, 354: 777.
- Weber, N. D., Murray, B. K., North, J. A., Wood, S. G. (1994). The antiviral agent hypericin has in vitro activity against HSV-1 through non-specific association with viral and cellular membranes. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 5: 83-0.
- Wood, S., Huffman, J., Weber, N., Andersen, D., North, J., Murray, B., Sidwell, R., Hughes, B. (1990). Antiviral activity of naturally occurring anthraquinones and anthraquinone derivatives. *Planta Medica*, 56: 651-2.
- Wölfl, U., Seelinger, G., and Schempp C.M. (2014). Topical Application of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica*, 80: 109-20.
- Yıldız, S.Ç., Keskin, C., Şahintürk, V., Ayhancı, A. (2019). A Histopathological, Immunohistochemical and Biochemical Investigation on the In vitro Antioxidant, Myeloprotective, Hematoprotective and Hepatoprotective Effects of *Hypericum triquetrifolium* Seed Extract Against Cyclophosphamide-Induced Toxicity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62: e19180345.
- Zobayed, S.M.A., Afreen, F., Kozai, T. (2005). Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John' wort. *Plant Physiology and Biochemistry*. 43:977-84.



KARMAŞIK SAYILAR NEDEN KARMAŞIK?

Güzide ŞENEL¹

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Amasya Üniversitesi, g.senel@amasya.edu.tr

1. Giriş

Geçmişimizi ve geleceğimizi oluşturan sayıların gerçeklik ile bağlantılı olması bu sayıları anlamamızı sağlar. Örneğin kesir elde etmek istiyorsak bir elmayı dörde bölebiliriz ya da pi sayısını görmek için bir daireyi inceleyebiliriz. Fakat gerçeklik ile ilişkisini kurmanın daha zor olduğu, adına “ karmaşık sayılar” dediğimiz sayılar da vardır.

Bir gerçel bir de sanal kısımdan oluşan bir nesne, matematikte karmaşık sayı olarak tanımlanır. a ve b sayıları gerçel sayılar olmak üzere, karmaşık sayılar şu biçimde gösterilirler:

$$z = a + ib$$

Genel olarak karmaşık sayılar için “ z ” harfi kullanılır. $i^2 = -1$ özelliğini sağlayan sanal birime i (imajiner) denir. Matematikte bu sayıların uzayı $\mathbb{C}$ olarak gösterilir. Bu harfin seçilmesinin nedeni İngilizcede *karmaşık* sözcüğünün karşılığı olarak *complex* sözcüğünün kullanılmasıdır, nitekim bazı Türkçe kaynaklarda *complex* sözcüğünden devşirilen *kompleks* sözcüğüne de rastlanabilir. Karmaşık sayılara kompleks isminin verilmesinin nedeni gösteriminden de anlaşılacağı gibi gerçel ve sanal kısımların bir arada bulunarak, karmaşık sayıyı oluşturmasıdır. Sanal sayılar tek başlarına bir anlama sahip olsa da asıl güçlerini bir reel sayı ile birleştikleri zaman ortaya koyarlar. Çünkü karşımıza yeni bir sayı sistemi çıkar. Bu sistemin adı da karmaşık sayı sistemidir.

Bütün gerçel sayılar sanal kısımları sıfıra eşit olan birer karmaşık sayı olarak düşünülebilir. Gerçel sayılar, karmaşık sayı düzleminde, gerçel sayılar ekseninde bulunurlar.

Bir z karmaşık sayısının gerçel ve sanal parçaları sırasıyla $\text{Re}(z)$ ve $\text{Im}(z)$ fonksiyonlarıyla gösterilir. Bu tanımların ve özelliklerin anlaşılır olması için bir örnek ile gösterelim: $6+4i$ sayısı gerçel kısmı $\text{Re}(6+4i) = 6$, sanal kısmı $\text{Im}(6+4i) = 4$ olan $\mathbb{C}$ uzayında bir karmaşık sayıdır. Bunun dışında karmaşık sayıların başka özellikleri de vardır. Örneğin bir karmaşık sayı düzlemde bir vektör olarak temsil edilebilir. Karmaşık sayı, iki boyutlu Kartezyen koordinat sisteminde, nokta veya konum vektörü olarak gösterilebilir.

2. Karmaşık Sayıların Tarihçesi

Karmaşık sayılar kuramının temelinde -1 sayısının karekökünün araştırılması yatmaktadır. Karekök fonksiyonunun işlevi, elimizdeki sayıya ulaşmak için hangi sayıyı kendisiyle çarpmamız gerektiği sorusunun cevabıdır. Başka bir deyişle, karekök bize alanını bildiğimiz bir karenin bir kenar uzunluğunun ne olması gerektiğini söylemektedir. Bu bağlamda akıllara şöyle bir soru gelir: “Hangi sayıyı kendisiyle çarpınca -1 elde ederiz?”

veya “-1 ‘in karekökü hangi sayıdır?” Cevap -1 olamaz, çünkü $-1 \times -1 = 1$ olmaktadır. Benzer şekilde 1 de olamaz, çünkü $1 \times 1 = 1$ olmaktadır. Kenarları -1 metre olan bir kare çizip köşegenini de ölçmek mümkün değildir.

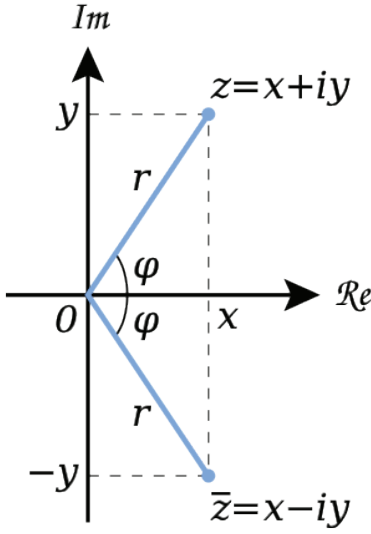
Elimizdeki literatür kaynaklarında “-1’in karekökü hangi sayıdır” bil-mecesine ilk olarak MS 50 yılında Yunan matematikçi Heron’un, piramidin bir bölümünün hacmini hesaplamaya çalışırken karşılaştığı bilgisi vardır. Matematik yazılarında ise negatif bir sayının karekökünü kullanan ilk kişi İtalyan Fontana olarak not düşülmüştür. Fontana’dan sonra karmaşık sayılar sık sık matematikte yer almaya başlamıştır. 1637 yılında Fransız filozof Rene Decartes (1596 – 1650) ilk kez bu sayılar için ‘imaginery’ terimini kullanmış ve negatif bir sayının karekökünü ‘sanal’ olarak nitendirmiştir. Ona göre herhangi bir hesaplamada sanal sayıların bulunması, gerçekte, çözümün olmadığı anlamına gelmiştir. Bu konuda Isaac Newton da Decartes’la aynı kanıda olmuştur. 18. ve 19. yüzyıllarda kompleks sayılar adeta altın çağını yaşamış ve çok sayıda matematikçi bu sayılarla ilgilenmiştir. Bu matematikçilerin bazılarını şu şekilde sıralayabiliriz: Leonhard Euler, Abraham de Moivre, Cari Friedrich Gauss, VWilliam Rowan Hamilton, Augustin Louis Cauchy, Bernhard Rieman, Kari VVeierstrass, vb.

Leonard Euler (1707 – 1783) kompleks sayılar için $i = \sqrt{-1}$ kavramlaştırmasını kullanan ilk matematikçidir. Euler, bütün reel θ (theta)’lar için $e^{i\theta} = \cos\theta + i \sin\theta$ olduğunu ispatlayarak, soldaki kompleks değerli üs fonksiyonu ile trigonometrinin normal reel değerli sinüs ve kosinüs fonksiyonları arasındaki bağlantıyı ifade etmiştir. Euler’in 1748 yılında bulduğu bu eşitlik birbirleri ile ilgisi olmayan farklı nicelikler arasında bağıntı bulmayı son derece kolaylaştırması açısından önem arz etmiştir..

Abraham de Moivre (1667 – 1754) kendi adıyla bilinen, $(\cos(0) + i \sin(0))^n = \cos(n\theta) + i \sin(n\theta)$, n bir tamsayı, formülünü bulmuştur. Bu formül, trigonometrik fonksiyonlarla işlem yapmayı çok kolaylaştırmıştır.

Karmaşık sayıların tarihinde bir dönüm noktası da 1799 yılında, Norveçli yer ölçümcü ve harita tasarımcısı Caspar Wessel’in sanal sayıları geometrik olarak çizen ilk kişi olmasıydı. Fakat Wessel’in çalışması ses getirmemiş, fark edilmemiştir. Aynı çalışma, yani karmaşık sayıların geometrik diyagramlarını çizme çalışması, Jean-Robert Argand (1768-1822) adında Fransız matematikçinin adı ile anılmaya başlanmıştır. Bunun sebebi Argand’ın, Wessel’in grafiğini 1814 yılında bir kanıt ile sunup, ünlü Cebirin temel teoremini çıkarması olarak kabul edilmiştir. Bu teorem tam olarak ifade edilmiş ve tam ispatı da teoremi güçlendirmiştir.

Jean Robert Argand tarafından tasarlanan bu diyagram, düşey olanı sanal sayıları, yatay olanı da gerçel sayıları simgeleyen, birbirine dik iki eksenle oluşur. Bu yapı, karmaşık sayıların iki eksenle tanımlanmış bir alanda noktalarla gösterilebilmesini olanaklı kılmaktadır.



Karmaşık düzlem kavramı karmaşık sayıların geometrik bir yorumuna da izin verir. “Karmaşık düzlem”in bu tür kullanımı uzun ve matematiksel olarak zengin bir tarihe sahipse de, “karmaşık düzlem”in matematiksel kavram olarak kullanıldığı tek alan bu değildir. En az üç farklı anlamı daha vardır:

1. Ayrılmış-karmaşık düzlem olarak da bilinen 1+1 boyutlu Minkowski uzayı da, kartezyen düzlemdeki (x, y) noktasıyla kolaylıkla bağdaştırılabilen iki gerçel bileşene sahip cebirsel ayrılmış-karmaşık sayılar bağlamında bir “karmaşık düzlem”dir.
2. Gerçeller üzerindeki dual sayılar kümesi de kartezyen düzlemin (x, y) noktaları ile birebir ve örten olarak değiştirilebilir ve “karmaşık düzlem”in bir diğer örneğini temsil eder.
3. Karmaşık sayıların kendileriyle kartezyen çarpımı olan $C \times C$ vektör uzayı da koordinatları *karmaşık sayılar* olan iki boyutlu vektör uzayı bağlamında bir “karmaşık düzlem”dir.

3. Karmaşık Sayıları Kavramak

Sayıların gerçeklik ile bağlantısını kurmak bu sayıları daha kolay anlamamızı sağlar. Karmaşık sayıların uzun bir süre muamma olarak kalması sebebiyle, gerçekten ne anlama geldiklerinin kavranması zaman almıştır. Araştırmacılar “Pi’nin çemberlerle ilişkili olması gibi, i sayısı doğada daha önceden bilinmeyen, gizemli bir şeyle mi ilişkiliydi?” veya “Eğer i salsaydı, ona karşılık gelen gerçeklik neydi?” gibi sorulara cevap aramaya başlamışlardır.

“Matematikçilerin prensi” ve “antik çağlardan beri yaşamış en büyük matematikçi” olarak da anılan Johann Carl Friedrich Gauss (30 Nisan 1777, Şubat 1855) karmaşık sayıların ne olduğunu kavramamızı sağlayan Alman matematikçi, astronom, fizikçi ve coğrafyacı bilimcidir. Yirmi iki yaşına geldiğinde, Gauss cebirin temel teoremi üzerine doktorasını vermiş, “karmaşık sayılar” terimini ilk kez kullanmış ve yine karmaşık sayılar için “ $a + bi$ ” gösterimini doktora tezinde ilk kez kullanmıştır. İlk dikkat çeken sonuç; gerçel sayıların, karmaşık sayıların b 'yi sıfır aldığımızda ortaya çıkan özel bir türü olması olarak göstermiştir.

Matematiksel bir bakış açısıyla, karmaşık sayılar, herhangi bir polinom denklemi çözmemizi sağlayan sayı sistemi olarak kabul edilebilir.

Fakat, karmaşık sayılardan bilimin birçok alanında faydalandığı unutulmamalıdır. Karmaşık sayılar konusu sadece cebirsel bir ifade olarak kalmış olsaydı, soyut matematikçiler dışında fazla kişinin ilgisini çekmeyecekti. Ama bilim ilerledikçe matematiğin ve fiziğin birçok alanında karmaşık sayılar karşılığını bulmaya başlamış ve hız kazanmıştır.

Karmaşık sayılar ve karmaşık sayı içeren fonksiyon hesaplamaları günümüzde bilimin, mühendisliğin ve matematiğin bütün dallarında vazgeçilmez bir teknik olarak aktif biçimde kullanılmaktadır. Örneğin, Michael Faraday 1830’larda alternatif akımı keşfederek, karmaşık sayıların fiziksel bir gerçekliğe bürünmesini sağlamıştır. Diğer yandan, karmaşık sayıların çok önemli olduğu bir alanın da kuantum mekaniği olduğu söylenebilir.

Kuantum mekaniği bize enerjinin her zaman belli bazı büyüklüklerde olabileceğini söyler. Enerjiyi, paketlere bölünmüş, olarak tasvir eder. Her bir paketin bir parçacık gibi davrandığı iddia edilir.

Örneğin bir ışık ışınının sahip olduğu enerji, foton parçacıklarından meydana gelmektedir. Fakat aynı zamanda ışığın dalga gibi hareket ettiğini de biliyoruz. Peki ama ışık nasıl hem parçacık, hem de dalga olabilir?

Bu açmazı, her parçacığın bir dalga fonksiyonuna sahip olduğunu söyleyen kuantum mekaniğiyle çözeriz. Karmaşık dalga fonksiyonu, parçacığın belli bir yerde olmasının ya da başka bir özelliğinin olasılığını verir. Karmaşık sayılar bu hesaplamalarda gerekli olan sayı sistemidir.

Tüm bu uygulama alanlarını şu şekilde özetleyebiliriz: Ölçülebilir büyüklüğe karşılık gelen gerçel kısmın ve ölçülemeyen, genişletilmiş gerçekliğe karşılık gelen sanal kısmın birlikteliği, evrenin küçük boyutlardaki davranışını çok daha zengin ve eksiksiz olarak anlamamızı sağlamaktadır.

4. Sonuç

Önce varlığı kabul edilmeyen, sonra üçüncü dereceden denklemlerin

çözümünde büyük kolaylıklar sağladığı için kabul edilmek zorunda kalınan ve daha sonra çok sayıda matematikçinin üzerinde çalıştığı ve adeta kimliğini aydınlattığı karmaşık sayılar, günümüzde, adeta kurtarıcı rolünde, çok sayıda zor problemin kolay çözümünde anahtar rol üstlenmektedir. Bu çalışmada, karmaşık sayıların bulunması ve buna dayalı karmaşık analiz temaları işlenmiştir. Ayrıca, karmaşık sayıların, matematikte görünürde birbirleri ile ilgisi olmayan farklı konu veya nicelikler arasında bağıntı bulmayı son derece kolaylaştırdığına dair araştırmalara yer verilmiştir.

Referanslar

- Francis J. Flanigan, Complex Variables: Harmonic and Analytic Functions, Dover, 1983 ISBN 0-486-61388-7.
- Gino Moretti, Functions of a Complex Variable, Prentice-Hall, Inc., 1964.
- H. S. Wall, Analytic Theory of Continued Fractions, D. Van Nostrand Company, Inc., 1948; reprinted (1973) by Chelsea Publishing Company ISBN 0-8284-0207-8.
- E. T. Whittaker and G. N. Watson, A Course in Modern Analysis, fourth edition, Cambridge University Press, 1927.
- <https://www.matematiksel.org/hayal-edilemeyen-sayilar-karmasik-sayilar/>
- <https://www.matematiksel.org/iki-dakikada-matematik-sanal-sayilar/>
- <http://blog.milliyet.com.tr/karmasik-sayi-nedir-ne-ise-yarar-/Blog/?BlogNo=211946>
- https://tr.wikipedia.org/wiki/Karma%C5%9F%C4%B1k_d%C3%BCzlem
- <https://haber.kursistem.com/argand-diyagrami.html>
- <https://www.matematiksel.org/hayal-edilemeyen-sayilar-karmasik-sayilar/>
- <https://www.matematiksel.org/matematik-duellosundan-cikan-bir-formulun-hikayesi/>
- <https://enqenisbilgi.wordpress.com/2010/09/07/kompleks-sayilar-hakkinda/>



PRİONLARIN TESPİTİ VE AMPLİFİKASYONU

Nazlı Irmak GİRİTLİOĞLU¹

¹ Biyomühendislik uzmanı, ngiritlioglu@outlook.com

GİRİŞ

Prion hastalıkları; hem insanlar hem de diğer birçok memeli için ölümcül, doğal olarak gelişen bir protein katlanma bozukluğudur ve prionların kimyasal doğası yarım yüzyıldan daha uzun bir süredir tartışılmaktadır (Ma & Wang, 2014). İnsan prion hastalıkları; Kuru, Creutzfeldt-Jakob hastalığı, Gerstmann-Sträussler-Scheinker sendromu ve ölümcül ailesel insomniayı içerir. Bu hastalıklar sporadik, kalıtsal veya edinilmiş formlarda olmakta ve dünyada her yıl milyonda yaklaşık 1-2 kişiyi etkilemektedir. Bu hastalıklar nöronal kayıpla birlikte beyinde gri maddedeki süngerimsi değişiklikler, reaktif gliozis ve 20. kromozomdaki *PRPN* tarafından kodlanan, C-terminal glikozilfosfatidilinositol çapalı glikoprotein olan prion proteininin (PrP^c) anormal formu olan prion (scrapie prion, PrP^{Sc}) birikimi ile karakterize edilir (Chen & Dong, 2016; Ironside, Ritchie, & Head, 2017; Priola & McNally, 2009). Etiyolojileri tam olarak bilinmese de prionların sebep olduğu nörolojik hastalıklar, 20. yüzyıldan beri tanımlanmasına rağmen (Zabel & Reid, 2015); günümüzde hala etkin bir tedavi yöntemi yoktur. Mayaların bu nörodejeneratif hastalıkların patolojisini anlamamızda ve hastalıkların erken dönemlerde teşhis edilerek ilerlemesini durdurmak için etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde büyük önem arz edeceği uzun zamandır düşünülmekte ve tartışılmakta olan bir konudur. Maya genlerinin %31'inin memelilerde homologları bulunmaktadır ve diğer maya genlerinin %30'luk bir kısmı da domen benzerliği göstermektedir (Fruhmman ve diğ., 2017). Hücrel proseler mayadan insana yüksek oranda korunmuştur. Görece ucuz, etik problemler teşkil etmeyen, kısa yaşam ömrüne sahip, diğer hayvan modelleriyle karşılaştırıldığında hızlı büyüyen tek hücreli bir ökaryotik organizma olması sebebiyle ve hücre döngüsü, protein katlanması, hücre içi trafik ve diğer birçok temel hücrel proselerin moleküler genetiğini araştırmada kritik bir rol oynamaktadır (Mohammadi, Saberidokht, Subramaniam, & Grama, 2015; Taormina ve diğ., 2019). Mayada genetik ve biyokimyasal manipülasyon çok kolay, hızlı ve ucuzdur. Zengin bir besiyerinde, ikilenme zamanı yaklaşık olarak 90 dakikadır ve donmuş gliserol stoklarında süresiz olarak hayatta kalabilir (Leonor Miller-Fleming, Flaviano Giorgini, & Tiago F. Outeiro, 2008). Özellikle *Saccharomyces cerevisiae*, literatürde fazlaca çalışılmış olan ve genomu tamamen dizilenen ilk ökaryotik organizmadır (Mohammadi ve diğ., 2015) ve prion çalışmalarında da kullanılan iyi bir model organizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Maya prionları, değişen çevreye karşı oluşan fenotipik cevaplarla ilişkili hücrel düzenleyici mekanizmalar üzerinde etkili proteinlerdir (Tyedmers, 2012) ve sitoplazmik, Mendel kalıtımına uymayan determinantlar olarak 40 yıldan uzun bir süre önce tanımlanmıştır (Nevzglyadova ve diğ., 2009). Prion çalışmaları, te-

mel olarak üç kriteri sağlayan, enfeksiyöz prionlar üzerinden yapılmaktadır. Bunlardan ilki; prionun herhangi bir tedaviye rağmen geri dönüşümlü olarak tekrardan ortaya çıkabilme olasılığının bulunması; ikincisi prionun oluştuktan sonra diğer proteinleri de prion formuna çevirmek için ilerleme özelliği olması nedeniyle prion proteinlerinin konsantrasyonunun artmasının, prionun ortaya çıkma sıklığını arttırma açısından teşvik edici olmasıdır. Üçüncü ve son kriter; prion fenotipinin, prion proteinindeki mutasyonu taklit edebilmesidir (Reed B. Wickner, Edskes, Maddelein, Taylor, & Moriyama, 1999; R. B. Wickner ve diğ., 2015). Ayrıca prion, mayada diğer prionlarla da etkileşime girmektedir; bu da prion formasyonunda ve ilerlemesinde çeşitli etkilere neden olmaktadır (MacLea, 2017). Bu özellikler, prionların diğer enfeksiyöz proteinlerden farklarını ortaya koymakta ve prion hastalıklarının ciddiyetini kanıtlamaktadır.

1. MAYALARDA VE İNSANLARDA PRİON SİSTEMLERİ

Maya prion suşları, iyi karakterize edilmiş ve prion çalışmalarına katkı sağlayan platformlardır. *Saccharomyces cerevisiae*'da birçok prion elementi ([PSI+], [PIN+], [URE3], [NU+], [SWI+], -Büyük harfler genetik geçişlerdeki dominansı, köşeli parantezler mendel olmayan kalıtımı ifade etmektedir-) keşfedilmiştir (Chakravarty & Jarosz, 2018; Du & Li, 2014). Bu elementler, prion olmayan formlarıyla SDS-PAGE jellerde aynı rölatif mobiliteye sahip olabilmektedir (Örneğin [ure-o] ve prion form [URE3] gibi) (Edskes, 2001). Ayrıca, bir proteinin prion ve prion olmayan izoformları aynı aminoasit dizisine sahip olabilir fakat birbirlerinden konformasyonel ve agregat oluşturma yeteneği açısından ayrılmaktadır (Allen ve diğ., 2005). Mayada prion elementlerinin belirlenmesi için farklı suşlara ait farklı tespit yöntemleri mevcuttur. Örneğin, [URE3] tespitinde katabolit baskı mekanizmasından faydalanılabilir. Mayalar, ortamda amonyak veya glutamin gibi iyi bir azot kaynağı bulunduğunda, prolin ve allantat gibi zayıf azot kaynaklarını asimile etmek için gereken enzim ve taşıyıcıların sentezini kapatır. [URE3]'ün prion olmayan formu Ure2p, sitoplazmada Gln3p ve Gat1p/Nil1p transkripsiyon faktörlerini bağlayarak *DAL5* de dahil olmak üzere birçok genin transkripsiyonlarını engellemek amacıyla çekirdeğe girmelerini engellemektedir. Dal5p proteinini bir allantat taşıyıcıdır, aynı zamanda urasil biyosentezinde bir ara madde olan ureidosüksinat (USA)'ı da taşımaktadır. Bir Ure2 mutanı, amonyakın varlığına rağmen USA'yı kullanabilmektedir (Brachmann, Tombs, & Ross, 2006; Shewmaker, Mull, Nakayashiki, Masison, & Wickner, 2007). [PSI+], Sup35p proteininin prion formudur. Sup35p proteinini insan Erf3 translasyon terminasyon faktörünün *Saccharomyces cerevisi-*

ae'daki homoloğudur. Hücrenin adenin yapma kabiliyeti engellendiğinde (Anlamsız mutasyonların *ADE1* ya da *ADE2* genlerinin ortasında olduğu izogenik suşlarda) [PSI+] ve prion olmayan form [psi-] suşları arasındaki fark gözle görülebilmektedir. [PSI+] suşu, *ADE1* genini kesintiye uğratan bir stop kodonuna sahiptir. [psi-] olan hücreler bu prematür stop kodonunda translasyonu sonlandırır ve bu yüzden adenin üretemezler. Bu nedenle bu yolda p-ribozilaminoimidazol (AIR) ya da p-ribozilaminoimidazol karboksilat (CAIR) birikimi gerçekleşir. Bir sonraki öncül olmadığından ötürü CAIR tekrardan AIR'ye dönüşmektedir. AIR birikimi, çıplak gözle görülebilen kırmızı bir pigmenti indükler. Bu yüzden [psi-] hücreler kırmızı renkte koloniler oluşturacaktır. Tam tersi olarak [PSI+] bazen *ADE1*'deki prematür stop kodonunu okuyabilmekte ve adenin yokluğunda da üreyebilmektedirler. Dolayısıyla beyaz renkli koloniler gözlenecektir. Daha az sup35 agregatı bulunduğu pembe renkli koloniler de oluşabilmektedir (Edskes, 2001).

İnsan ve maya prion sistemleri arasındaki paralellik, Sup35NM amiloidinin doku kültürünü veya çözünebilir Sup35NM eksprese eden primer nöron izolatlarını enfekte edebilmesi ve bu hücrelerdeki kendinden ilerleyen agregatların tespit edilmesiyle önem kazanmıştır. Sup35NM'in agregat formu döllere sadece vertikal olarak değil, horizontal olarak hücre-hücre kontağıyla komşu hücrelere de geçebilmektedir. Sup35NM agregatları mayalardakiyle benzer olarak memeli hücrelerinde de benzer özellikler göstermektedir. Birçok nörodejeneratif hastalıkta, toksik protein agregatlarının birikimi sonucu mitokondriyal hasar ve sonunda programlı hücre ölümü gerçekleşmektedir. Serum protein A amilodozu, Alzheimer, Parkinson, Huntington ve amiloid olmayan agregat birikimi hastalığı olan amyotrofik lateral skleroz gibi birçok insan amilodozları prion-benzeri özelliklere sahiptir (Wickner ve diğ., 2015). Hücreler, yanlış katlanmış proteini düzelten ya da ortadan kaldıran protein degradasyon sistemleri ve şaperonların olduğu protein kalite kontrol mekanizmalarına sahiptir. Bu durumda şaperonların aktivitelerinin hayati önemi mevcuttur (Verbandt, Cammue, & Thevissen, 2017). Isı Şoku Proteini 70 (Hsp70), evrimsel olarak korunmuş ve hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda; sitoplazmaya, mitokondriye, nukleusa, endoplazmik retiküluma ve diğer hücresel komponentlere dağılmış olan, temel hücresel ve hayatta kalmayı sağlayan fonksiyonlara sahip bir şaperon proteindir. Bunun yanı sıra; Hsp70, Hsp90 ile birlikte insanlarda yanlış protein katlanmasını regüle etmesi sonucu çeşitli nörodejeneratif hastalıklara da neden olabilmektedir (Lackie ve diğ., 2017; Xu, Gong, Zhang, Perrett, & Jones, 2018). Hsp70, insanlarda olduğu gibi mayalarda da ısı şoku yanıtında ve prion ilerleme modülasyonunda anahtar bir komponent olarak bilinmektedir. Bu şaperon protein, bir nükleotit bağlanma bölgesi ve substrat bağlanma bölgesine sahiptir ve bu prote-

inin temel fonksiyonları ATPaz aktivitesini substrat-bağlama aktivitesi ile koordine eden allosterik bir iletişim vasıtasıyla sıkı bir şekilde düzenlenir (L. Xu ve diğ., 2018).

Mayalarda, Hsp70 gen ailesi, protein ürünleri yaklaşık %50-96 oranında dizi benzerliğini paylaşan on dört genden oluşur. Bunlardan dokuzu sitozoliktir ve majör sitozolik Hsp70 ailesi dört Ssa (Stress Seventy sub-family A) üyesinden oluşur. Bu üyelerden sadece birinin bile ifadesi ile büyüme gerçekleşebilir. Diğer sitozolik Hsp70 alt-aileleri, Ssa alt-ailelerinin hayatta kalma işlevinin yerine geçemezken, dört Ssa proteini birbirini telafi edebilmektedir. Yapısal olarak Ssa1 ve Ssa2, birbirleriyle %97 oranında aynıdır ve optimum koşullar altında Ssa2, Ssa1'den yaklaşık dört kat daha fazla bulunmaktadır. Ssa2'nin tükenmesi, Ssa1'in anlatımını indüklemekte ve böylece toplam Hsp70 miktarının devamlılığı sağlanmaktadır. Özellikle Ssa proteini üzerinde yapılan genetik ve biyokimyasal çalışmalar, sitozolik Hsp70'in maya prion yayılımında nasıl işlediğine dair fikirler vermiştir. Ssa1 ve Ssa2 arasındaki temel fark; maya prion ilerlemesi üzerindeki etkileridir (Hasin, Cusack, Ali, Fitzpatrick, & Jones, 2014; Loovers, Guinan, & Jones, 2007). Ssa1'in aşırı anlatımı, prion ilerlemesine negatif etki edebilmektedir. Sitozolde tek Hsp70, Ssa1 olduğunda, [URE3] prionu ilerletmemektedir. Bununla birlikte, Ssa2 sitozoldeki tek Hsp70 olduğunda; Ssa1 ve Ssa2 arasında sadece 14 aminoasitlik bir fark olmasına rağmen sonuç aynı olmamaktadır (Linan Xu ve diğ., 2018). Prion ilerlemesi sadece Hsp70 proteinlerine bağlı değildir. Ayrıca; Bag protein ailesi mayadan insana ve bitkilere kadar korunmuştur (Kumar, Gaur, Masison, & Sharma, 2014). Hsp40 varlığında Bag domen proteinleri Hsp70 ATPaz aktivitesini ve ayrıca substrat salımını uyarmaktadır (Kumar ve diğ., 2014). Bag domen proteinleri; proliferasyon, protein degradasyonu, nükleostoplazmik taşıyım ve stres yanıtı gibi birçok hücresel prosesi regüle etmektedir. Hsp40'ın varlığında; mayalarda Hsp70 şaperonu, insanlardakiyle homolog olan üç tip nükleotid değişim faktörüyle etkileşime girmektedir: Sse1/Sse2 (Hsp110), Fes1 (HspBP1), and Snl1 (Bag-1). Hsp70 ailesine benzer şekilde, Sse1/Sse2, bir nükleotit bağlanma domeninden ve bir substrat bağlanma domeninden oluşur. Sse1 sürekli ifade edilirken; Sse2 ise stresle indüklenen bir Hsp70 nükleotit değişim faktörüdür. Mayadaki HspBP1 veya Fes1, Hsp70 nükleotit bağlanma domeni ile armadillo tekrar domeni veya nükleotid değişim faktörü domeni ile etkileşime girerek, Hsp70 nükleotit bağlanma domeninin iki lobunu nükleotid salınımına neden olacak şekilde etkiler. Bag domeni, insanlarda altı homologtan ve mayada tek bir proteinden, N-terminal transmembran domeni boyunca endoplazmik retikulum membranına bağlanan Snl1'den oluşmaktadır (Abrams, 2014). Snl1, bir transmembran domenden (1-39 rezidüleri arası) ve bir sitozolik domenden (40-159 rezidüleri arası) oluşan memeli Bag-1 proteininin mayadaki ho-

moloğudur. Snl1'in tüm sitozolik domeni, bir Bag-1 homolog domeninden (49-159 rezidüleri arası) ve bir dokuz amino asitlik N-terminal uçtan oluşur. Snl1, endoplazmik ve nükleer membran üzerinde lokalize durumdadır. Memeli Bag domenlerine benzer şekilde, Snl1'in Bag domeni, sitozolik Hsp70 ile etkileşime girer ve onun nükleotit değişim faktörü olarak işlev görür. Snl1'in ayrıca ribozomal proteinlerle etkileşime girdiği bilinmektedir ve bu nedenle translasyonda önemli bir rol oynamaktadır (Kumar, Gaur, Masison, & Sharma, 2014). Diğer nükleotid değişim faktörlerinden farklı olarak, Snl1; [URE3] ve [PSI+] prion ilerlemesini etkilememektedir. *SLN1* delesyonu yapılp prion ilerlemesi önceden bahsedilen koloni rengi fenotipi ve adenince fakir besiyerinde büyüme metotlarıyla izlendiğinde bu sonuç elde edilmiştir. Tam tersi olarak; *SSE1* ve *FES1* gen delesyon çalışmalarından çıkan sonuçlar, Sse1 ve Fes1 yokluğunun [PSI+] ve [URE3] prion ilerlemesini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu veriler Sse1 ve Fes1'in mayadaki prionların ilerlemesi için önemli aktivitelere sahip olduğunu ve Snl1'in ise bu aktiviteden yoksun olduğunu göstermektedir. Snl1'in BAG domeni, Hsp70 proteinlerinin varlığında Hsp70'lerin ATPaz aktivitesini uyarır. Snl1, Ssa Hsp70 ile etkileşime girdiğinden, Snl1'in, aggregasyon oluşturma eğilimli sitosolik Hsp70 substratlarının yeniden katlanmasını etkileyebileceği düşünülmektedir (Kumar ve diğ., 2014).

2. PRİONLARIN TESPİTİ ve AMPLİFİKASYON TEKNİKLERİ

Günümüzde biyolojik materyallerde (kan bileşenleri, nakil dokusu, nakil organı vb.) ve biyoterapötiklerde (hormonlar, aşılar, sitokinler, monoklonal antikorlar vb.) prion kontaminasyonunun tespitine ilişkin, duyarlılık ve özgüllük yönünden farklı olan yöntemler geliştirilmiştir. PrP^{Sc}'nin tespiti, *in vivo* biyolojik tahliller veya *in vitro* biyokimyasal/immünolojik tahliller ile gerçekleştirilebilir. Biyolojik tahliller, genellikle numunelerin intrakraniyal olarak kemirgenlere enjekte edilmesini ve ardından nörolojik hastalığın gelişiminin izlenmesini içerir; ancak, bu yöntem çok zaman alıcı ve maliyetlidir. Biyokimyasal ve immolojik tahliller; hücre blotlama, Western blot ve ELISA testleriyle yapılmaktadır. En yaygın ve en eski teknik, proteinaz K ile muamele edilmiş hücresel lizatların SDS-PAGE ile analizi, ardından karboksi-terminal anti-PrP antikorları kullanılarak Western blot analizidir. Sığır süngerimsi ensefalopati tanısı için ELISA tekniği uygulanması, PrP^{Sc} tespitinin duyarlılığını arttırmaktadır. Daha hızlı ve daha hassas olan bir başka yöntem hücre blotlama tekniğidir. Hücre blotlama, enfekte olmuş hücrelerde PrP^{Sc}'nin saptanması için hassas bir yöntemdir ve standart Western blot protokollerine tabi tutmadan önce hücrelerin doğrudan bir nitroselüloz veya poliviniliden diflorür membranına aktarılmasını gerektirir. Enfekte olmuş hücrelerin hücre blotlama ile kantitatif analizi, oto-

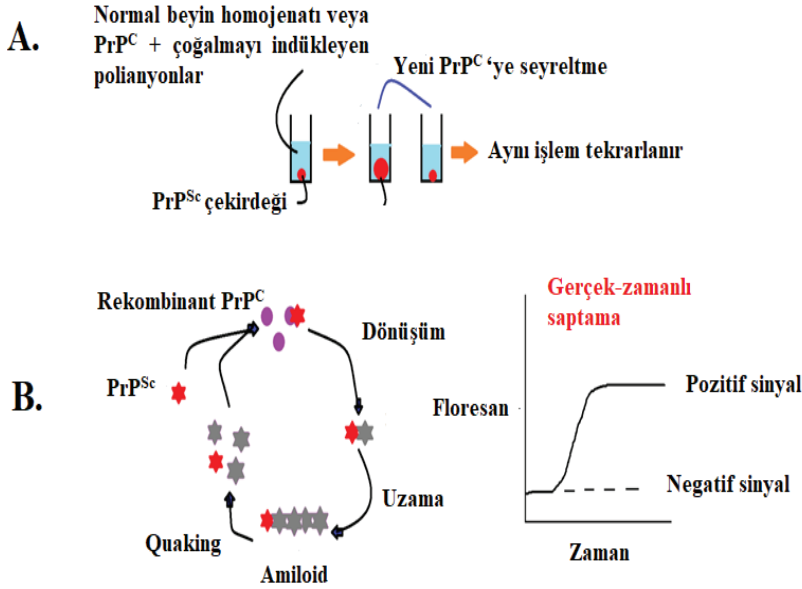
matik sayma ekipmanı kullanılarak da sağlanabilir. Bu yöntem, hayvan deneyi kadar hassas, ancak çok daha hızlı ve daha ucuzdur. Bu sistem, fareye uyarlanmış scrapie suşları ile sınırlıdır; ancak diğer prion proteinleri için de uyarlanabileceği rapor edilmiştir. Konformasyona bağlı immünolojik tahlil, hücre blotlama kadar hassastır. Western blot, daha az hassas olmakla birlikte, PrP^{Sc}'yi tespit etmek ve diğer testlerden elde edilen sonuçları onaylamak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İnsanlarda aşılardan vasiyesiyle PrP^{Sc} bulaşma vakası bu zamana dek rapor edilmemesine rağmen; kan bileşenleri, dokular ve büyüme hormonu yoluyla iyatrojenik olarak yayılımları bildirilmiştir. PrP^{Sc}'nin kuluçka süresi on yıl olabildiğinden ötürü, insanlarda asemptomatik seviyede güvenilir bir teşhis yöntemi ise bulunmamaktadır. Bir diğer problem de PrP^{Sc}'nin alışılmadık şekilde stabil konfigürasyona sahip olması dolayısıyla, geleneksel fiziksel ve kimyasal dekontaminasyon ve otoklavlama, radyasyon ve kimyasal denatüre edici işlemler gibi inaktivasyon işlemlerine karşı dirençli olmasıdır (Solassol ve diğ., 2003) .

Prionlar nükleik asit içermediğinden dolayı bakteri ve virüsleri çoğaltmak için kullanılan basit teknikler uygulanabilir değildir. Yukarıda bahsedildiği gibi; her ne kadar biyolojik tahlil yöntemleri geliştirilmiş olsa da; hayvan tahlilleri kadar geçerli değildir ve bu nedenlerden ötürü; bahsedilen tahlil yöntemlerinden daha da duyarlı, kısa süreli, kantitatif ve hayvan modellerinden görece çok daha ucuz tespit metotlarının geliştirilmesi gereklidir. Uygun ilaçların taranmasında güçlü prelinik yöntemlerin bulunabilirliği, bu alandaki en büyük zorluklardan biridir. Hızlı ve tekrarlanabilir olan iki *in vitro* tarama yöntemi daha bulunmaktadır: Real Time Quaking Induced Conversion (RT-QuIC) ve Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA). PrP^{Sc}'nin PrP^C'nin konformasyonunu bozarak vücutta çoğalma kabiliyeti, PMCA'yı geliştirmek için kullanılmıştır. Bu tahlil, PrP^C-PrP^{Sc} patolojik dönüşümünü taklit etmektedir. Bu nedenle, PMCA, hücresiz bir sistemde PrP^{Sc} oluşumunu ve prion enfektivitesini güvenilir bir şekilde tekrarlayan son derece güçlü bir tekniktir. *In vivoda*, PrP^C-PrP^{Sc} dönüşümü, semptomlar ortaya çıkmadan çok daha önce gerçekleşmektedir. *In vitroda* ise bu dönüşümün erken aşamaları tespit edilebilmekte; bu nedenle bu dönüşümün erken aşamalarında, henüz beyin hasarları tersine çevrilemez bir durumda değil iken müdahale edilebilecek ilaçların taranması çok önemli olmaktadır. PMCA tekniği, büyük miktarda PrP^{Sc} üretmek için sağlıklı hayvanlardan toplanan PrP^C beyin homojenatı kullanılmaktadır. Tek bir PMCA tahlili, *in vivo* olarak yıllar sürebilen büyük miktarlarda prionun çoğaltılmasını sağlamaktadır. PMCA, hayvan veya insan prion suşlarını saptayabilir. Özellikle hayvan prionları arasında fare (RML, ME7, 22L), hamster (263K, Hyper ve drowsy), sığır (Sığır Süngerimsi Ensefalopati), koyun (Scrapie) ve geyik (Chronic Wasting Disease) soylarını tespit

edebilir. PMCA substratları PrP^{Sc}'ye eklendikten sonra, numuneler inkübasyon ve sonikasyon döngülerine tabi tutulmaktadır. Kuluçka fazında, PrP^{Sc}-PrP^C dönüşümü olmaktadır. Sonikasyon fazında, PrP^C'nin daha fazla dönüşümünü indükleyebilen daha küçük PrP^{Sc} çekirdekleri oluşturmak için bu polimerler parçalara ayrılmaktadır. Teflon boncuklarının eklenmesi PMCA verimliliğini önemli ölçüde arttırmaktadır. Bu teknik son derece hassastır ve proteinaz K ile muameleden sonra Western blot yoluyla saptanamayan PrP^{Sc} miktarını arttırabilir ve DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonuna benzer şekilde PrP^{Sc}'nin üssel amplifikasyonunu sağlar, böylece milyarlarca PrP^{Sc} molekülüne yol açmaktadır. RT-QuIC, konsept olarak PMCA'ya benzer bir başka amplifikasyon tekniğidir. Bu teknikte; çözünebilir rekombinant prion proteini substrat olarak, inkübasyon aşamaları arasında kuvvetli bir çalkalama uygulanarak kullanılmaktadır. PrP^{Sc}'nin RT-QuIC reaksiyonlarına eklenmesi, daha sonra geniş amiloid fibrillerine dönüşen rekombinant PrP alımı ve agregasyonu ile sonuçlanmaktadır. Fibrillerin oluşumu, amiloid yapılarına interkalasyon yapan Thioflavin-T adlı bir floresan boya kullanılarak izlenir. Bu nedenle, floresan değerlerindeki artış, doğrudan amiloidlerin oluşumu ile orantılıdır. Bu teknik olağanüstü etkilidir ve bir dakikalık PrP^{Sc} eklenmesinden sonra bile rekombinant PrP agregasyonu oluşur (Şekil 1). Her ne kadar iki teknik de iyi sonuçlar verse de bu yöntemlerin validasyonu ve bu yöntemlerle tespit edilen anti-prion ajanların farmakokinetik ve farmakodinamik profillerinin tespiti için mevcut hücre kültürü ve hayvan deneylerinden de faydalanmak gereklidir (Moda, Bolognesi, & Legname, 2019).

2.1. Hümanize Maya Modelleri

Hümanize maya modelleri, insan nörodejeneratif hastalıklarında proteinlerin yanlış katlanması, agregasyonu ve ardından toksisitesine bağlı olarak protein fonksiyonlarını veya hücreyel yolları araştırmak ve ilaç olabilecek maddelerin tanımlanması, validasyonu ve hastalığı nasıl etkileyebileceğini belirlemek için önemli araçlardır. İlaç keşfinde, kimyasal kütüphanelerinin yüksek-verimli (high-throughput) ve maliyeti uygun olarak taranması için tercih edilmektedirler. Ayrıca bu hücre bazlı analizler, membran çift katmanını geçemeyen veya çoklu ilaç dirençli pompaları için substrat olan bileşiklerin yanı sıra toksik ve dengesiz bileşiklerin seçilmesi konusunda yardımcıdır. Mayaların genetik olarak izlenebilirliği ve hızlı büyümeleri, daha yüksek ökaryotik sistemlerde bazen mümkün olmayan stratejiler kullanarak bir hastalığın mekanizmalarının benzersiz bir şekilde ele alınmasını sağlar (Winderickx ve diğ., 2008).



Şekil 1. PMCA ve RT-QuIC Teknikleri

A. PMCA yöntemi ile Bulaşıcı süngerimsi ensefalopati prion amplifikasyonu modeli (Caughey ve diğ., 2009). B. RT-QuIC Metodu. Üretilen β iplikçikçe zengin PrP polimerlerinin gelişimi, gerçek zamanlı olarak bir floresan boya ile tespit edilebilir. Sinyal ölçümü, gecikme fazı (10.000 göreceli floresans ünitesi (RFU)'ne ulaşma süresi), eğri altındaki alan ve maksimum sinyal yoğunluğu gibi parametrelere göre gerçekleşir (Schmitz ve diğ., 2016) (Şeklin çiziminde Caughey ve diğ., 2009'dan ve Schmitz ve diğ., 2016'dan esinlenilmiştir).

Oldukça pahalı ve zaman alıcı prion tedavi çalışmalarının yanı sıra, doğal ekstraktların ve diğer terapötiklerin tedavi etkinliklerinin yüksek-verimli metotlarla daha ucuz, daha kolay ve daha hızlı taranması için maya prionları oldukça kullanışlıdır. Bu yaklaşım sayesinde, nörodejeneratif hastalıklar için yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde faydalı olabilecek doğal maya prion inhibitörlerinin belirlenmesi mümkündür ve literatürde bununla ilgili çalışmalar da mevcuttur. Büyük kimyasal kütüphanelerin taranması, anti-prion terapötiklerin keşfedilmesi için önemli bir stratejidir. Bununla birlikte, organizmalar tarafından sekonder metabolik süreçlerle üretilen bileşikler de hücresel süreçleri anlamak için zengin bir ilaç kaynağı, ilaç öncülleri ve problemleri olarak oldukça değerlidir. Anti-prion bileşiklerini keşfetmek için mevcut olan tarama deneylerinin çoğu, hayvan modellerine ve memeli hücre hatlarına dayanır. Bu analizler sadece pahalı ekipman ve süreçler gerektirmemekte, aynı zamanda da oldukça zaman alıcıdır. Maya

bazlı anti-prion analizlerinin uygulanması, memeli canlı hayvan ve hayvan hücre hattı bazlı anti-prion analizlerine kıyasla kimyasal kütüphanelerin taranmasında maliyet ve zamanı önemli ölçüde azaltabilir. Önceden de bahsedildiği üzere; maya prionlarının tespiti için yapılan prion suşu çalışmaları, maya prionlarının memeli prionları için de iyi bir model olduklarını göstermiştir. Anti-prion tahlilinde disk difüzyon metodu oldukça bilinen bir yöntemdir. Bu yöntemde; steril diskler [PSI+] ya da [URE3] prion suşları içeren agar plaklarına yerleştirilmektedir. Anti-prion ajan olup olmadığı tespit edilmesi istenen terapötik steril disklerin içine pipetlenmekte ve katı agar içerisinde dağılması sağlanmaktadır. Diskleri çevreleyen mayalar ile renk değişimi izlenerek tespit yapılmaktadır. Tespit açısından kullanışlı olmasına rağmen düşük verim, bileşiklerin sınırlı kantitatif analizi, sınırlı agar geçirgenliğine sahip bileşiklerin tespit edilememe olasılığı ve hatta yanlış pozitif sonuçların ortaya çıkabilmesi dolayısıyla bazı sınırlamalar mevcuttur. Katı-fazlı disk difüzyon yönteminin sınırlamalarına alternatif olarak sıvı-faz mikrokültür yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntem diğer yöntemden farklı olarak nicel biyoaktivite verilerini sağlayan bir analizdir ve yapılan bir çalışmada 500 deniz omurgasızına ait ekstraktın taranmasında ve anti-prion etkinliğe sahip üç ajanın tanımlanmasında elverişli olmuştur. Yöntem AIR birikiminin spektrofotometrik analizinde floresan (eksitasyon 544 nm/emisyon 620 nm) ve absorbans (540 nm) ölçümlerine dayanmaktadır. Bu yöntemde spektrofotometrik ölçüme dayanan renk yoğunluğu ile [psi-] hücre yüzdesi arasında doğrusal bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Görüntülemenin validasyonu için anti-prion etkinliği bulunduğu kanıtlanmış olan bileşikler kullanılmıştır. Guanidin hidroklorür, (GuHCl), çoğu maya prionunun çoğaltılması için gerekli olan bir ısı şoku proteini olan prion şaperon Hsp104p'yi inaktive etmektedir. Ayrıca, ortama GuHCl ilavesi, diğer bileşiklerin anti-prion aktivitesinin saptanmasını büyük ölçüde arttırmıştır. Sıvı kültür koşulları altında bu gözlemi doğrulamak için, daha önce [PSI+] maya prionunu tedavi ettiği gösterilen bir bileşik olan guanabenz ile artan GuHCl konsantrasyonlarının büyüme ortamına eklenmesinin testin hassasiyetini arttırdığını göstermiştir (Jennings, Ahmed, Munn, & Carroll, 2018).

SONUÇ

Günümüzde prion hastalıklarına karşı etkin bir tedavi yöntemi bulunmaması, bu hastalıkların ciddiyetini kanıtlamaktadır. Moleküler yapı ve fonksiyon açısından insanlarla olan benzerlikleri dolayısıyla maya ve benzeri model organizmalar; anti-prion ilaç keşfinde kullanılmaktadır ve bu alandaki uygulamaların geliştirilmesi hususunda çalışmalar sürmektedir. Hastalığın erken dönemde teşhisi, yapısal bozuklukların ciddi kalıcı hasarlara sebebiyet vermeden önlenmesinde önem arz etmekte ise de uzun

yıllar asemptomatik olarak ilerleyen prion hastalıkları erken teşhis imkânını kısıtlamaktadır. Lakin gıda, biyolojik materyaller ve biyoterapötiklerde prion saptaması için hızlı, kost-efektif ve güvenilir testlere olan gereksinim her daim bulunmaktadır. Ayrıca, anti-prion etken madde adaylarının hızlı taranmasında *in silico* metotlar da büyük önem teşkil etmektedir.

KAYNAKÇA

- Abrams, J. (2014). Functional Analysis of Cytosolic Hsp70 Nucleotide Exchange Factor Networks in Yeast.
- Brachmann, A., Toombs, J. A., & Ross, E. D. (2006). Reporter assay systems for [URE3] detection and analysis. *Methods*, 39(1), 35-42. doi:10.1016/j.ymeth.2006.04.008
- Caughey, B., Baron, G. S., Chesebro, B., & Jeffrey, M. (2009). Getting a grip on prions: oligomers, amyloids, and pathological membrane interactions. *Annual review of biochemistry*, 78, 177-204. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145410>
- Chakravarty, A. K., & Jarosz, D. F. (2018). More than Just a Phase: Prions at the Crossroads of Epigenetic Inheritance and Evolutionary Change. *J Mol Biol*, 430(23), 4607-4618. doi:10.1016/j.jmb.2018.07.017
- Chen, C., & Dong, X. P. (2016). Epidemiological characteristics of human prion diseases. *Infect Dis Poverty*, 5(1), 47. doi:10.1186/s40249-016-0143-8
- Edskes, H. K. (2001). Protein-based inheritance in *Saccharomyces cerevisiae*: [URE3] as a prion form of the nitrogen regulatory protein Ure2. *Res Microbiol*, 152(7), 605-612. doi:10.1016/s0923-2508(01)01239-6
- Fruhmman, G., Seynnaeve, D., Zheng, J., Ven, K., Molenberghs, S., Wilms, T., . . . Franssens, V. (2017). Yeast buddies helping to unravel the complexity of neurodegenerative disorders. *Mech Ageing Dev*, 161(Pt B), 288-305. doi:10.1016/j.mad.2016.05.002
- Hasin, N., Cusack, S. A., Ali, S. S., Fitzpatrick, D. A., & Jones, G. W. (2014). Global transcript and phenotypic analysis of yeast cells expressing Ssa1, Ssa2, Ssa3 or Ssa4 as sole source of cytosolic Hsp70-Ssa chaperone activity. *BMC Genomics*, 15, 194. doi:10.1186/1471-2164-15-194
- Ironside, J. W., Ritchie, D. L., & Head, M. W. (2017). Prion diseases. *Handb Clin Neurol*, 145, 393-403. doi:10.1016/b978-0-12-802395-2.00028-6
- Jennings, L. K., Ahmed, I., Munn, A. L., & Carroll, A. R. (2018). Yeast-based screening of natural product extracts results in the identification of prion inhibitors from a marine sponge. *Prion*, 12(3-4), 234-244. do

i:10.1080/19336896.2018.1513315

- Kumar, N., Gaur, D., Masison, D. C., & Sharma, D. (2014). The BAG homology domain of Snl1 cures yeast prion [URE3] through regulation of Hsp70 chaperones. *G3 (Bethesda)*, 4(3), 461-470. doi:10.1534/g3.113.009993
- Lackie, R. E., Maciejewski, A., Ostapchenko, V. G., Marques-Lopes, J., Choy, W. Y., Duennwald, M. L., . . . Prado, M. A. M. (2017). The Hsp70/Hsp90 Chaperone Machinery in Neurodegenerative Diseases. *Front Neurosci*, 11, 254. doi:10.3389/fnins.2017.00254
- Loovers, H. M., Guinan, E., & Jones, G. W. (2007). Importance of the Hsp70 ATPase domain in yeast prion propagation. *Genetics*, 175(2), 621-630. doi:10.1534/genetics.106.066019
- Ma, J., & Wang, F. (2014). Prion disease and the 'protein-only hypothesis'. *Essays Biochem*, 56, 181-191. doi:10.1042/bse0560181
- MacLea, K. S. (2017). What Makes a Prion: Infectious Proteins From Animals to Yeast. *Int Rev Cell Mol Biol*, 329, 227-276. doi:10.1016/bs.ircmb.2016.08.012
- Miller-Fleming, L., Giorgini, F., & Outeiro, T. F. (2008). Yeast as a model for studying human neurodegenerative disorders. *Biotechnology Journal*, 3(3), 325-338. Retrieved from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/biot.200700217>. doi:10.1002/biot.200700217
- Moda, F., Bolognesi, M. L., & Legname, G. (2019). Novel screening approaches for human prion diseases drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*, 14(10), 983-993. doi:10.1080/17460441.2019.1637851
- Mohammadi, S., Saberidokht, B., Subramaniam, S., & Grama, A. (2015). Scope and limitations of yeast as a model organism for studying human tissue-specific pathways. *BMC systems biology*, 9, 96. doi:10.1186/s12918-015-0253-0
- Nevzglyadova, O. V., Artemov, A. V., Mittenberg, A. G., Solovyov, K. V., Kostyleva, E. I., Mikhailova, E. V., . . . Soidla, T. R. (2009). Prion-associated proteins in yeast: comparative analysis of isogenic [PSI(+)] and [psi(-)] strains. *Yeast*, 26(11), 611-631. doi:10.1002/yea.1710
- Priola, S. A., & McNally, K. L. (2009). The role of the prion protein membrane anchor in prion infection. *Prion*, 3(3), 134-138. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786843>
- Schmitz, M., Cramm, M., Llorens, F. et al. (2016). The real-time quaking-induced conversion assay for detection of human prion disease and study of other protein misfolding diseases. *Nat Protoc* 11, 2233–2242. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.120>
- Shewmaker, F., Mull, L., Nakayashiki, T., Masison, D. C., & Wickner, R. B. (2007). Ure2p function is enhanced by its prion domain in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 176(3), 1557-1565. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17507672>

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1931552/>. doi:10.1534/genetics.107.074153
- Solassol, J., Crozet, C., & Lehmann, S. (2003). Prion propagation in cultured cells. *Br Med Bull*, 66, 87-97. doi:10.1093/bmb/66.1.87
- Tyedmers, J. (2012). Patterns of [PSI (+)] aggregation allow insights into cellular organization of yeast prion aggregates. *Prion*, 6(3), 191-200. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22449721>
- Wickner, R. B., Edskes, H. K., Maddelein, M.-L., Taylor, K. L., & Moriyama, H. (1999). Prions of Yeast and Fungi: PROTEINS AS GENETIC MATERIAL. *Journal of Biological Chemistry*, 274(2), 555-558. Retrieved from <http://www.jbc.org/content/274/2/555.short>. doi:10.1074/jbc.274.2.555
- Wickner, R. B., Shewmaker, F. P., Bateman, D. A., Edskes, H. K., Gorkovskiy, A., Dayani, Y., & Bezsonov, E. E. (2015). Yeast prions: structure, biology, and prion-handling systems. *Microbiol Mol Biol Rev*, 79(1), 1-17. doi:10.1128/mmbr.00041-14
- Winderickx, J., Delay, C., De Vos, A., Klinger, H., Pellens, K., Vanhelmont, T., . . . Zabrocki, P. (2008). Protein folding diseases and neurodegeneration: lessons learned from yeast. *Biochim Biophys Acta*, 1783(7), 1381-1395. doi:10.1016/j.bbamcr.2008.01.020
- Xu, L., Gong, W., Cusack, S. A., Wu, H., Loovers, H. M., Zhang, H., . . . Jones, G. W. (2018). The beta6/beta7 region of the Hsp70 substrate-binding domain mediates heat-shock response and prion propagation. *Cell Mol Life Sci*, 75(8), 1445-1459. doi:10.1007/s00018-017-2698-3
- Xu, L., Gong, W., Zhang, H., Perrett, S., & Jones, G. W. (2018). The same but different: the role of Hsp70 in heat shock response and prion propagation. *Prion*, 12(3-4), 170-174. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/19336896.2018.1507579>. doi:10.1080/19336896.2018.1507579
- Zabel, M. D., & Reid, C. (2015). A brief history of prions. *Pathogens and disease*, 73(9), ftv087-ftv087. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26449713>



**CİLT YAŞLANMASININ MOLEKÜLER
MEKANİZMASI VE YAŞLANMA KARŞITI
ÜRÜNLERİN GELİŞTİRİLMESİNDE DOĞAL
BİLEŞENLERİN POTANSİYEL ROLÜ**

Sevilay CENGİZ ŞAHİN¹, Nurettin İlter SEVER²

1 Dr. Öğretim Üyesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, scengiz@pau.edu.tr

2 Dr. Öğretim Üyesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

1. Giriş

Yaşlanma, tüm canlı türlerinde görülen kaçınılmaz bir biyolojik süreçtir. Özellikle sağlık alanındaki bilimsel gelişmeler, beslenme kalitesinin artması ve teknolojik gelişmelerin de etkisiyle günümüzde ortalama yaşam süresi oldukça artmıştır (Pan, Lai, Tsai, Wu & Ho, 2012; Burke, 2018). 1946 yılında ortalama yaşam süresi beklentisi 65 yıl iken, hâlihazırda bu süre 80 yıla ulaşmıştır (Burke, 2018). Hatta TÜİK verilerine göre, 2019 yılı itibarıyla Türkiye’de 65 yaş ve üzerindeki kişi sayısı 7 milyon 550 bin 727 olup, bu da toplam nüfusun yüzde 9,1’ine karşılık gelmektedir. Ne yazık ki yaşlanma süresince hasar alan pek çok hücresel bileşen vücutta birikmekte, ayrıca yine pek çok organda anatomik yapı ve önemli fizyolojik fonksiyonlarda istenmeyen bazı kayıplar oluşmaktadır (Pan, Lai, Tsai, Wu & Ho, 2012; Lephart, 2016). Yaşlanma ile ilgili değişikliklerin en görünür olduğu yer ise cildimizdir. Dolayısıyla, genç ve güzel görünme arzusunda olan bireyler için cilt sağlığı çok önemlidir. Cilt; vücudu su kaybı, patojenler, çeşitli kimyasal/fiziksel ajanlar, alerjenler, reaktif oksijen türleri (ROS), ultraviyole radyasyon (UVR), vb.lerine karşı koruyan, dışa açılan en büyük ve karmaşık organımızdır (Madison, 2003; Lephart, 2016).

2005 yılında ABD’de yapılan piyasa eğilim değerlendirmelerinde kozmetik pazarının hızla büyümeye devam edeceği, bu pazarda cilt bakım ürünlerinin önemli bir pay sahibi olacağı, hatta sektör temsilcilerinin özellikle yaşlanma karşıtı ürünler üzerine odaklanacağı öngörülmüştür (Schroeder, 2009). Bu süreçten günümüze dek geçen zaman raporun haklılığını ortaya koymuş, yıllık yaklaşık %6 büyüme gösteren kozmetik sektöründe %40’lık bir paya sahip olan cilt bakım ürünlerinin yıllık büyümeye katkısı ise ortalama %60 olmuştur (Taofiq, González-Paramás, Martins, Barreiro & Ferreira, 2016; L’oréal, 2018; Aguilar-Toalá, Hernández-Mendoza, González-Córdova, Vallejo-Cordoba & Liceaga, 2019). Yine 2005 yılındaki raporla uyumlu olarak, küresel pazarda yaşlanma karşıtı ürünlerin içinde en büyük pay kırıksıklık giderici ürünlere ait olup, bu pazarın 2023 yılına kadar 66 milyar dolara ulaşan güçlü bir büyüme elde etmesi beklenmektedir (Zhao, Feng, Lee, Lu & Pierce, 2020).

İnsanlarda cildin yaşlanma süreci oldukça karmaşıktır ve halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Farelerde yaşlanmanın genetik temellerinin büyük oranda aydınlatılmış olması, insana genetik benzerliklerinin yüksek ve ulaşılabilirliklerinin kolay olması nedeniyle cildin yaşlanma mekanizmasının anlaşılmasına odaklanan çalışmalarda yaygın olarak fare modeli kullanılır (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a; Kim & Park, 2016). Cildin yaşlanmasının ardındaki moleküler mekanizmaların anlaşılması, yaşlanma karşıtı ürünlerin geliştirilmesi ve etkin kullanılması için çok önemlidir. Bu noktadan hareketle bu derlemede öncelikle yaşlanma olgusu ve cildin yaşlanmasının moleküler temelleri tartışılacak, akabinde yaşlanmayı ön-

lemeye yönelik ürün gruplarından bahsedilecek ve son olarak da kozmetik sektöründe yaşlanma karşıtı ürünlerin eldesinde güvenilir ve alternatif hammadde kaynağı olarak doğal preparatların potansiyeli değerlendirilecektir.

2. Cildin Yapısal Özellikleri

İnsan cildi 3 ayrı katmandan oluşur: epidermis, dermis ve hipodermis. Burada yaşlanma ile ilgili yapısal ve fonksiyonel bileşenlerin varlığı nedeniyle daha çok epidermis ve dermise odaklanılacaktır (Lephart, 2016; Wang & Wu, 2019).

Epidermis en dışta yer alan koruyucu tabaka olup, ölü hücrelerin yer aldığı stratum corneum (SC) ve altındaki canlı epidermis tabakalarından oluşur. Epidermiste yer alan hücrelerin yaklaşık %90-95'i keratinosit hücreleridir, ayrıca melanositler, Langerhans hücreleri ve T hücreleri bulunur (Tobin, 2006; Lephart, 2016; Tobin, 2017; Wang & Wu, 2019). Epidermal tabaka cildin antioksidan savunmasında temel tabaka olup; süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin miktarı dermal tabakadan fazladır. Hatta mevsimsel olarak UV maruziyeti arttıkça, katalaz enzimi miktarının da arttığı gösterilmiştir (Shindo, Witt, Han, Epstein & Packer, 1994; Hellemans, Cortstjens, Neven, Declercq & Maes, 2003; Lephart, 2016).

Dermis, esas olarak fibroblastlardan salgılanan ve dermal güç ile esneklik sağlanmasından sorumlu olan kolajen ve elastin gibi ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerini içerir. Bol miktardaki fibroblastlara ilaveten mast hücreleri, nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller ile T ve B hücrelerini bulunduran dermis; saç kökleri, ter-yağ bezleri, lenf-kan damarları ve sinirler için de ev sahipliği yapar (Tobin, 2017; Wang & Wu, 2019). Dermal-epidermal bağlantı yoluyla epidermise bağlı olan dermis, bir taraftan epidermisi yapısal olarak desteklerken diğer taraftan da beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Kolajen insanlarda en bol bulunan proteindir ve cilde destek sağlar. Çok farklı kolajen türleri olsa da vücuttaki kolajenin %90'ı tip I, tip II ve tip III'ten oluşur (Tobin, 2017; Bhagwat & Dandge, 2018; Aguilar-Toalá vd., 2019). İnsan derisindeki kolajen türlerinin oranı yaşla birlikte değişir, örneğin yaşlandıkça kolajen tip I azalırken tip III/tip I oranı artar. Bu üç türe ilaveten dermal-epidermal bağlantıda yer alan, dolaşısıyla mekanik stabilitenin korunmasında etkili olan kolajen tip IV de oldukça önemlidir (Baumann, 2007). Elastin, bağ dokuya esneklik sağlayan bir ECM proteindir. Bu protein, vasküler düz kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından sentezlenir (Aguilar-Toalá vd., 2019). Elastin liflerindeki değişim özellikle foto yaşlanma ile ilişkili olup, lifler kalınlaşır ve elastikiyet azalır. Glukozaminoglukanlar, bir çekirdek proteine bağlanmış tekrarlı disakkarit birimlerinden oluşan polisakkarit zincirleridir. Bunlar, kendi hacimlerinin

1000 katı kadar su tutabilme kapasitesine sahip olduklarından cildin nemli yapısını sağlarlar. En bilinenleri arasında hyalüronik asit, dermatan sülfat ve kondroitin sülfat bulunur (Baumann, 2007).

3. Cildin Yaşlanması

Cilt yaşlanması hem endojen (genetik) hem de eksojen (çevresel) faktörlerden etkilenen oldukça kompleks bir süreçtir ve vücudun diğer tüm organlarında olduğu gibi, işlevsellik ve rejenerasyon potansiyelindeki azalma ile karakterize edilir. (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a; Kim & Park, 2016; Lephart, 2016; Zhang & Duan, 2018). Ciltteki kırışıklık ve düzensiz pigmentasyon oluşumu gibi değişiklikler, yaşlanma sürecinin ilk belirgin kanıtları olarak kabul edilebilir (Kim & Park, 2016). Bu sürece kutanöz hücrelerdeki fenotipik değişikliklerin yanı sıra kolajen ve elastin gibi ECM bileşenlerindeki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler de eşlik eder (Zhang & Duan, 2018).

3.1 Endojen Yaşlanma: Bu tür yaşlanma için yaygın olarak kullanılan bir diğer isim de kronolojik yaşlanmadır. Genetik, metabolik ve hormonal değişimler gibi çeşitli faktörlerin rol aldığı önlenemez bir süreçtir (Elewa & Zouboulis, 2014; Kim & Park, 2016; Lephart, 2016; Zhang & Duan, 2018). Yaş artışı ile birlikte yaşlanan hücrelerin yerine yenilerinin üretimini sağlayan bazal hücrelerin çoğalması azalır ve epidermis incelir. Bu durumda epidermis-dermis arasındaki temas yüzeyi azalacağından, beslenme yeterince sağlanamaz ve bazal hücre proliferasyonu iyice azalır (Makrantonaki & Zouboulis, 2007b; Zhang & Duan, 2018). Hücre proliferasyonundaki bu azalma süreci hücresel yaşlanma olarak adlandırılır. Fibroblast ve keratinosit hücrelerindeki β -galaktosidaz ekspresyonunun artışı hücresel yaşlanma süreci için bir biyo-belirteç olarak kullanılabilir. Dimri vd. (1995) farklı yaşlardaki insan donörlerinden alınan cilt örneklerinde, dermal fibroblast ve epidermal keratinositlerdeki β -galaktosidaz ekspresyonunun yaşa bağlı olarak arttığını raporlamıştır (Dimri vd., 1995; Zhang & Duan, 2018). Kronolojik yaşlanmanın klinik belirtileri cilt incilmesi, ince kırışıklıklar, kuru, pürüzsüz ve solgun cilt oluşumu ile elastikiyetin azalmasıdır (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a; Kim & Park, 2016; Lephart, 2016).

3.2 Eksojen Yaşlanma: Cildin yaşlanmasında çeşitli kimyasallar, toksinler, sigara dumanı, çevresel kirleticiler (özellikle polisiklik aromatik hidrokarbonlar), ısı, infrared (IR) radyasyon vb pek çok çevresel stres faktörü rol alsada UV maruziyeti bu konuda birincil faktördür. Dolayısıyla bu tür yaşlanma için literatürde foto yaşlanma terimi yaygın olarak kullanılmaktadır (Dimri vd., 1995; Baumann, 2007; Tobin, 2017; Burke, 2018; L'oréal, 2018). Bilimsel çalışmaların sonucunda elde edilen veriler, yaşlanma ile ilişkili değişimlerin çoğunun çevresel faktörlerden kaynaklandığını,

hatta yüzdeki yaşlanma belirtilerinin %80'inin güneşin zararlı etkileri nedeniyle oluştuğunu göstermektedir (Uitto, 1997; Baumann, 2007; Lephart, 2016; Tobin, 2017; Zhang & Duan, 2018). Güneşten yayılan ve atmosfere ulaşan toplam ışınların %3-10'u UV ışını, %40-44'ü görünür bölge (GB) ışını ve %50-55'i de IR ışınıdır. GB ve IR radyasyon türleri de zararlı kutanöz etkileri nedeniyle foto yaşlanmada etkili olsa da, UV radyasyonun foto yaşlanmaya katkısı çok daha büyüktür (Mesa-Arango, Flórez-Muñoz & Sanclemente, 2017; Tobin, 2017). UV radyasyonun 3 farklı türü mevcuttur. UV-C (100-290 nm), atmosferdeki ozon tabakası tarafından büyük ölçüde emilir ve Dünya yüzeyine ulaşamaz. Bu nedenle cilt üzerindeki etkisi çok azdır. UV-B (290-320 nm), cilde ulaşan UV radyasyonun yaklaşık %2-5'i kadardır. Epidermal hücrelere nüfuz eder. Güneş yanığı, bronzlaşma ve fotokarsinogeneze neden olabilir. Primidin dimerlerinin oluşumu yoluyla DNA'da doğrudan hasar oluşturabilir. UV-A (320-400 nm), dermise nüfuz eden ve kronik cilt hasarına neden olan UV radyasyondur. Cilde ulaşan UV radyasyonun yaklaşık %95-98'i UV-A'dır. Fibroblastlarda matris metalloproteinazları (MMP) upregüle eder. UV-B'den daha sitotoksiktir. UV-A, dolaylı olarak DNA mutagenезini indükleyen ROS seviyelerini artırabilir. (Gonzaga, 2009; Amaro-Ortiz, Yan & D'Orazio, 2014; Lephart, 2016; Mesa-Arango, Flórez-Muñoz & Sanclemente, 2017; Burke, 2018).

Kronolojik yaşlanmada gözlenen incelmanın aksine, UV'ye maruz kalan epidermis kalınlaşır. UV ışınlarından en fazla etkilenen kısım, doğal olarak epidermisin en üst tabakası olan SC'dir. Bu tabakadaki geri dönüşümsüz olarak farklılaşan keratinositler, involucrin adı verilen bir farklılaşma biyo-belirtecini eksprese ederler (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a; Zhang & Duan, 2018). Bu tür yaşlanmada klinik belirtiler temelde derminin bağ dokusundaki değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkan derin kırışıklıklar, gevşeklik, pürüzlülük, solgunluk ve pigmentasyon sorunlarının oluşumudur (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a; Kim & Park, 2016). Foto yaşlanmada ciltte elastik fibrillerin sentezi artar ve bu yaşlanma türü için karakteristik olan amorf ve işlevsiz kütlelerin oluşumu gerçekleşir. Kolajen miktarı ise özellikle MMP'lerin indüksiyonu nedeniyle azalır ve ciltte kısmen bozunmuş, düzensiz kolajen birikimi gözlenir (Jenkins, 2002).

4. Cilt Yaşlanması Üzerine Temel Teoriler

Yaşlanma ile ortaya çıkan değişikliklerin mekanizmalarını açıklamaya çalışan pek çok teori vardır. Ancak bu sürecin çok yönlü olması nedeniyle ilgili teorilerin hiç biri yaşlanma sürecini ve bu süreçte gelişen olayların mekanizmalarını tek başına açıklamakta yeterli değildir. Modern yaşlanma teorileri temelde 2 kategoriye ayrılmaktadır: bunlardan biri yaşlanmanın nedenini biyolojik süreçlerdeki değişimlere atfedip, işleyişi kontrol eden bir programın varlığına dayanırken, diğeri ise canlı organizmalarda zamanla oluşan hasarın hücrelerin yapı ve işlevini bozan çeşitli düzeylerde-

ki mutasyonlardan kaynaklandığı savunur (Mercado-Sáenz, Ruiz-Gómez, Morales-Moreno & Martínez-Morillo, 2010). Daha önce de ifade edildiği gibi konu ile ilgili bir hayli teori olsa da bunların bazıları daha yaygın kabul görmüştür.

4.1 Hayflick Limit Teorisi (Hücresel Yaşlanma Teorisi): Hücresel yaşlanma mekanizmasını açıklayan bir kavramdır. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda, kültürlenmiş normal insan fibroblast hücrelerinin artık bölünemedikleri bir sınır noktaya kadar bölünüp, sonrasında ise programlanmış hücre ölümü ile parçalandığı tespit edilmiştir. Böylece insan hücrelerinin sınırlı bir yaşam süresine sahip olduğu, sonsuza dek çoğaltılamayacağı anlaşılmış ve bu hücre kayıplarının yaşlanmadan sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Hayflick, 1980; Mercado-Sáenz vd., 2010).

4.2 Telomer Kısalması Teorisi: Telomerler, kromozomların uçlarını kapatan ve böylece replikasyon süresince DNA hasarını önleyen ve genom stabilitesini koruyan tekrarlı nükleotid dizileridir (Pan vd., 2012; Kim & Park, 2016; Zhang & Duan, 2018). Telomerler, her hücre bölünmesi sırasında kısalarak toplamda sınırlı sayıda bölünmeye ve dolayısıyla da yaşlanmaya neden olurlar. Telomer kısalması, hücresel yaşlanmanın anlaşılmasında oldukça sık kullanılan bir biyo-belirteçtir. Telomer kısalmasıyla gelişen yaşlılıkla mücadelede kromozomların sonuna telomer eklenmesini sağlayan telomeraz (telomer terminal transferaz) enzim aktivitesinin düzenlenmesinden yararlanılabilir (Kim & Park, 2016; Zhang & Duan, 2018).

4.3 Oksidatif Stres Teorisi: ROS'lar vücutta normal aerobik metabolizma ile üretilebileceği gibi, eksojen kaynaklardan da vücuda alınabilir. Normal koşullarda vücuttaki ROS'lar çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları ile sürekli sönmülerek, dinamik bir denge oluşturulur. Bu dengenin herhangi bir sebeple bozulması ve vücudun giderek daha fazla ROS'a maruz kalması durumunda oksidatif stres oluşur. Yaşlanmanın oksidatif stres teorisi bu sürecin, vücuttaki yaşamsal önemli hücresel lipidler, proteinler ve DNA gibi makromoleküllerde yaşla birlikte artan oksidatif hasar birikiminden kaynaklandığını ifade eder (Lin & Beal, 2003; Kim & Park, 2016, Liguori vd., 2018).

ROS'lar çeşitli metabolik yolları aktive ederek de yaşlanmaya neden olabilir. ROS'ların varlığında öncelikle hücre yüzeyindeki reseptör tirozin kinazlar aktifleşir ve bunu takiben mitojen aktive protein kinaz (MAPK), nükleer faktör- κ B (NF- κ B) ve aktivatör protein-1 (AP-1) yolları indüklenir. Aktive olan bu yollar bir yandan kolajen üretimini bas-kılarken bir yandan da MMP gen ekspresyonunu artırırlar (Kim & Park, 2016; Zhang & Duan, 2018). MMP'ler, çinko içeren proteinazların önemli bir ailesidir. MMP'lerin dermal bağ dokunun yapısını oluşturan ECM proteinlerinin birçoğunu parçalayabilme özelliğine sahip olmalarından dola-

yı, aktivasyonları sonucunda ciltte yapısal proteinlerin degradasyonundan kaynaklanan yaşlanma gözlenir (Kim & Park, 2016).

4.4 DNA Hasarı Teorisi (Somatik Mutasyon Teorisi): DNA sürekli olarak endojen veya eksojen kaynaklı çeşitli faktörlere maruz kalarak hasara uğrar ve canlı türüne özgü çeşitli tamir mekanizmaları ile bu hasarlar giderilir. Basit canlılarda bu hasar, fotoliyaz enzimi kullanılarak görece basit bir şekilde giderilirken, insan gibi gelişmiş organizmalarda tamir süreci biraz daha kompleksdir ve nükleotid eksizyon onarım yolunun kullanımını gerektirir. Cildin yapısında hasar oluşturan çeşitli kimyasallar, toksinler, sigara dumanı, çevresel kirleticiler ve UV radyasyon gibi faktörlere uzun süreli maruziyeti halinde, vücuttaki hasar onarım mekanizmaları yetersiz kalır ve DNA hasarı sonucunda erken yaşlanma oluşur (Kamenisch & Bernburg, 2009; Panich, Sittithumcharee, Rathviboon & Jirawatnotai, 2016; Zhang & Duan, 2018). Kısaca, onarılmayan DNA hasarlarının birikimi yaşlanmanın temel sebebidir. Bununla birlikte, onkogen ve tümör baskılayıcı gen regülasyonlarında da değişimler gözlenir. DNA'nın yapısında yaş artışı ile birlikte ortaya çıkan tüm bu gelişmelerin bir kısmı normal hücre farklılaşmasına neden olurken, bir kısmı da kromozom mutasyonlarına neden olur (Xiang, 2015).

Bazı kaynaklar nükleer DNA hasarı yanında mitokondriyal DNA hasarının da hücre yaşlanmasında kritik bir rolü olduğunu belirtmektedir. Biliindiği gibi yaşamsal enerjinin sağlanmasında mitokondrinin çok önemli bir yeri vardır ve eğer mitokondriyal DNA hasar görürse enerji üretimi azalır. Bu durum hücre, doku ve organlarda enerji eksikliğine dayalı fonksiyon kayıplarına, bir diğer ifade ile yaşlanmaya sebebiyet verir (Xiang, 2015).

4.5 Genetik Mutasyon Teorisi: Yaşlanma olgusunu kromozom ve gen seviyesinde analiz eder. Genetik mutasyonların yaşlanma ile ilişkisine örnek olarak progeria sendromu taşıyan bireyler gösterilebilir (Zhang & Duan, 2018). Bilinen başlıca progeria sendromları; Hutchinson-Gilford sendromu (*LMNA* geni), Werner sendromu (*WRN* geni), Rothmund-Thomson sendromu (*RECQL4* geni) ve Cockayne sendromu (*ERCC6* ve *ERCC8* genleri)dir. Araştırmacılar, etkilenen bireylerin olduklarından çok daha yaşlı görünmesine neden olan bu sendromlara eşlik eden gen mutasyonlarını aydınlatmaya çalışmaktadırlar. Erken yaşlanan fenotip ile karakterize edilen bu sendromlarda yaygın olarak ince ve gri saç oluşumu, saçkıran, cilt atrofisi vb cilt bozuklukları gözlenir (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a).

4.6 miRNA Düzenlemesi Teorisi: miRNA'lar, mRNA'ların hedef uçlarına bağlanarak onların bozunmalarını teşvik eden ya da transkripsiyonlarını inhibe eden, böylece mRNA hedeflerinin ekspresyonunu düzenleyen kısa ve kodlayıcı olmayan RNA'lardır. miRNA'ların yaşlanma ile ilişkisi

oldukça yeni bir araştırma alanı olmasına karşın, yaşlanma sürecinde etkin rol aldıkları bilimsel olarak gösterilmiştir (Zhang & Duan, 2018). Bu konuda yapılan bir çalışmada, ECM'in temel bileşenlerinden olan hyalüronik asitin üretimini sağlayan hyalüronik asit sentaz 2'yi hedefleyen miR-23a-3p'nin hücresel yaşlanmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Yaşlı fibroblastlarda miR-23a-3p ekspresyonu artmış, dolayısıyla da hyalüronik asit miktarı azalmıştır (Röck vd., 2015).

4.7 Nöroendokrin Teorisi: Yaştaki artışla birlikte ortaya çıkan hormon seviyelerinde dikkate değer düzeydeki azalmalar, vücuttaki pek çok süreci olduğu gibi yaşlanma sürecini de önemli ölçüde etkilemektedir. Buna örnek olarak, kadınların cildinde menopoz sonrasında gözlenen ciddi düzeydeki bozulmalar gösterilebilir. (Mercado-Sáenz vd., 2010).

Özetle, cilt yaşlanmasının mekanizması halen tam olarak aydınlatılamamış olsa da bu süreçte genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldığı açıktır.

5. Yaşlanma Karşıtı Ürün Grupları

Yaşlanmaya neden olan çok fazla bileşen olduğu için, bu bileşenlerin tetiklediği mekanizmaları hedefleyen yaşlanma karşıtı ürünlerin yelpazesi de oldukça geniştir (Elewa & Zouboulis, 2014). Örneğin epidermal devir hızı ve hücre döngüsünün yavaşlamasının yaşlanma belirtilerini arttırdığı tespit edildiğinden, ilgili parametrelerin ya da yaşlanma ile miktarı azalan dermisin üç ana yapısal bileşeninin miktarının artırılmasını sağlayacak ürünlerin geliştirilmesi yaşlanma karşıtı ürünlerle ilgilenen kozmetik firmalarının hedefi haline gelmiştir (Baumann, 2007; Zouboulis, Ganceviciene, Liakou, Theodoridis, Elewa & Makrantonaki, 2019). Özetle ifade edilirse, ciltte oluşan hasarın mekanizması anlaşıldıkça, bu hasarı önlemeye yönelik stratejiler de artmış ve böylece daha etkili ürünlerin eldesi sağlanmıştır.

5.1 Antioksidanlar: ROS'ları sönmüleyerek ve cilt yüzeyindeki lipit peroksidasyonların oluşumunu azaltarak etki gösterirler. ROS daha önce de ifade edildiği gibi MAPK, NF-κB ve AP-1 yollarının aktivasyonunu sağlayarak, kolajen başta olmak üzere ECM proteinlerinin yıkımında rol alan MMP'lerin üretimini artırır ve böylece yaşlanmaya sebep olur (Kim & Park, 2016; Zhang & Duan, 2018). Günümüzde ROS kaynaklı bu tür hasarların önlenmesinde süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, E vitamini, C vitamini, Koenzim Q₁₀ gibi enzimatik ya da non-enzimatik antioksidanlar kullanılabilir. Belirtilen antioksidanlara ilaveten bazı bitkilerden elde edilen özütler de doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir (Zhang & Duan, 2018). Topikal antioksidanların kullanımında etkin sonuçların elde edilebilmesi için uygun doz ve formda uygulama yapılması önemlidir. Örneğin C ve E vitaminleri çabuk bozundukları için birçok

ürüne ester türevleri olarak eklenirler. Ancak ester türevleri de ciltte aktif formlarına metabolize edilemedikleri için istenen düzeyde etkinlik gösteremezler (Burke vd., 2000; Pinnell vd., 2001; Burke, 2018).

5.2 Retinoidler: Topikal retinoidler, yaşlanma ile mücadelede yaygın olarak kullanılırlar. Tretinoin ve tazaroten, günümüzde kullanılan FDA onaylı 2 topikal retinoiddir. Bunlar, retinoik asit reseptörleri aracılığıyla aktivite gösterir ve AP-1'i inhibe ederek, MMP'lerin ekspresyonunu baskırlar. Böylece ECM proteinlerinin bozunmasını önleyerek, yaşlanma karşıtı etkinlik gösterirler (Kim & Park, 2016; Zhang & Duan, 2018).

5.3 Hormonlar: Yaşlanma ile birlikte hormon seviyelerinde çok ciddi düzeyde azalmalar meydana gelir ve cildi olumsuz etkiler. Bu sebeple cilt yaşlanmasına karşı kullanılan terapötiklerin bazılarında hormon ilavesi yapılmaktadır (Makrantonaki & Zouboulis, 2007a; Elewa & Zouboulis, 2014; Lephart, 2016). Yaygın kullanılan hormonlardan biri östrojen olup, özellikle postmenopozal kadınlarda keratinosit proliferasyonunu destekler. Ayrıca kolajen, elastin ve hyalüronik asit üretimini artırır, böylece cildin nem içeriğini de artırarak daha iyi bir görünüme kavuşmasını sağlar (Elewa & Zouboulis, 2014; Lephart, 2016). Yapılan bir çalışmada, menopoz başlangıcını takip eden ilk 4 yılda kolajen sentezinin % 30, sonrasında da her yıl % 2 azaldığı bulunmuştur (Kim & Park, 2016). Tüm bu etkilerine ilaveten, östrojen ROS üretimini baskılar ve antioksidan enzim ekspresyonunu artırır (Borrás vd., 2005; Ramara, Duckles, Krause & Proaccio, 2007). Progesteron MMP-1'in aktivitesini azaltarak cildin elastikiyet ve sıkılığını destekler (Elewa & Zouboulis, 2014). Yine çok kullanılan bir diğer hormon olan melatonin, epifiz bezinde üretilen ve bağışıklık mekanizmasını düzenleyen lipofilik bir hormondur. Antioksidan etki göstererek, epidermal keratinositleri oksidatif stres ve UV kaynaklı apoptoza karşı korur (Elewa & Zouboulis, 2014; Mesa-Arango vd., 2017).

5.4 Mineraller: Yaşlanmanın önlenmesinde bazı mineraller de etkilidir. Çinko, bakır ve selenyum ECM proteinlerinin sentezinde yer alan enzimlerin kofaktörleridir. Ayrıca bakır bir antioksidan olup kolajen ve melanin sentezini uyarırken, selenyum da cildi oksidatif streten korur (Mesa-Arango vd., 2017; Burke, 2018; Zouboulis vd., 2019).

5.5 UV filtreleri: Güneşin zararlı ışınlarından korunmak yoluyla özellikle foto yaşlanmanın önlenmesinde çok önemlidirler. Organik UV-filtreler yapılarında genellikle aromatik halka bulundurulur ve kısa dalga boyulu UV ışınlarını absorblarlar (Elewa & Zouboulis, 2014; Zouboulis vd., 2019). Yaygın kullanılan kimyasal bileşenler butil metoksidibenzoilmetan, etilheksilmetoksisinamat, ve benzofenon-4'tür (Morone, Alfeus, Vasconcelos & Martins, 2019). Buna karşın inorganik UV-filtreler ise genellikle çinko oksit ve titanyum dioksit mikro partiküllerinden oluşurlar. İnorganik

UV filtreler de UV-A ve UV-B radyasyonuna karşı önemli ölçüde koruma sağlarlar, ancak yüksek oranda oksitleyici radikaller üretirler. Bu tür ürünlerin düzenli kullanımı, cildi UV kaynaklı ROS hasarından koruyarak yaşlanma belirtilerini azaltır (Elewa & Zouboulis, 2014; Morone vd., 2019; Zouboulis vd., 2019).

5.6 Lipidler: Yağ asitleri ve steroller, cilt yaşlanmasının önlenmesinde önemli roller üstlenirler. Örneğin doymuş bir yağ asidi olan palmitik asit, cilt nemlendirici olarak yaygın kullanılır. α -Lipoik asit, antioksidan etkisine ilaveten kolajen sentezini destekleyen aktivitesi ile cilt yaşlanmasına karşı etkilidir. Çeşitli doymamış yağ asitleri de özellikle MMP'lerin ekspresyonunu azaltarak, cilt hasarının önlenmesinde aktif rol alırlar (Wang & Wu, 2019).

5.7 Nemlendiriciler: Nemi azalan ve kuruyan cilt hızla yaşlanır, bu nedenle cildin nemlendirilmesi önemlidir. Bu amaçla kullanılan temel bileşen hyalüronik asit olup, sorbitol, gliserol, polietilen glükol vb de kullanılabilir (Xiang, 2015). Nemlendirme fonksiyonuna ilaveten, bu tür bileşenlerin kullanılmasının epidermis yüzeyinde ince bir film tabakası oluşturarak cilt bariyerini güçlendirme ve kirleticilerin direk cilde temasını engelleme gibi ilave faydaları da vardır (Juliano & Magrini, 2018; Richard, Creusot, Catoire, Egles & Ficheux, 2019).

5.8 Doğal Bileşenler: Doğa, kozmetik uygulamalar için yeni bileşenlerin geliştirilmesinde şüphesiz ki çok önemli bir ilham kaynağıdır ve iyi bir gözlem yeni bileşenlerin keşfi için pek çok ipucu sağlayabilir. Örneğin aşırı tuzluluk ya da UV maruziyeti gibi ekstrem koşullarda yaşam süren bazı mikrobik floraların, kendilerini bu koşullara karşı koruyabilmek için ekzopolisakkarit tabanlı bir film salgıladığı gözlenmiştir. İnsan cildinde de yaşlılığa neden olan bu faktörlerin olumsuz etkisinin azaltılabilmesi amacıyla, mikrobik floralar tarafından salgılanan ekzopolisakkarit bileşenine benzer içerikle oluşturulan bir bileşenin amaca hizmet ettiği, yani ciltte oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu düşürerek koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir (Borel, Lamarque & Loing, 2017; Richard vd., 2019).

Benzer şekilde doğada keşfedilmiş ya da keşfedilmeyi bekleyen pek çok bileşen olup, bu bileşenlerin çoğu cildin nemlendirilmesi, çeşitli etkilerle cilt homeostazının korunması ve ciltteki erken yaşlanma belirtilerinin giderilmesinde önemli roller oynarlar (Kim & Park, 2016). Bazı doğal ürünler antioksidan, nemlendirici vb etkileri ile cildin yapısının korunmasına katkıda bulunduklarından hâlihazırdaki ticari ürünlerde kullanılmaktadır. Örneğin son 10 yılda, daha güvenilir oldukları düşüncesiyle bazı bitkisel içerikli güneş kremleri, kimyasal UV-filtreleri içeren güneş kremlerinin yerini almıştır (Mesa-Arango vd., 2017).

6. Yaşlanma Karşıtı Ürünlerin Geliştirilmesinde Doğal Bileşenlerin Rolü

Yaşam kalitesinin artmasına bağlı olarak ortalama yaşam süresinin artması bireylerin yaşlılık belirtileri ile ilgili endişelerini de arttırmıştır. Bu nedenle özellikle yaşlanmanın ilk görünür etkilerinin ortaya çıktığı cildin bakımına verilen önem artmış ve cilt sağlığına yönelik kozmetik ürünler bireylerin günlük yaşamlarının bir parçası haline gelmiştir. Zamanla gelişen teknolojinin bir sonucu olarak kitlesel iletişim araçlarını daha etkin kullanan bireyler, daha güzel görünmek amacıyla yaşamlarına dahil ettikleri kozmetiklerin hem kendileri hem de çevre için güvenilir olmaları gerektiği konusunda artan farkındalıklarından dolayı doğal ve çevreye duyarlı ürünlerin kullanımına yönelmişlerdir (Hughes vd., 2019; Morone vd., 2019). Bu nedenle kozmetik alanında çalışan pek çok araştırmacı, kozmetik formülasyonlarda sentetik bileşiklerin yerine kullanılabilecek güvenilir kaynaklar olarak doğal alternatiflerinin tespitine odaklanmıştır. Guezennec vd. (2005) kozmetik konusunda zengin kültürel bilgi birikimine, biyokütle bolluğuna ve floristik özgünlüğe sahip olan ülkeler için bu tür araştırmaların, ülke ekonomisine ciddi katkı sağlayacak önemli bir fırsat olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir (Guezennec, Moretti & Simon, 2006).

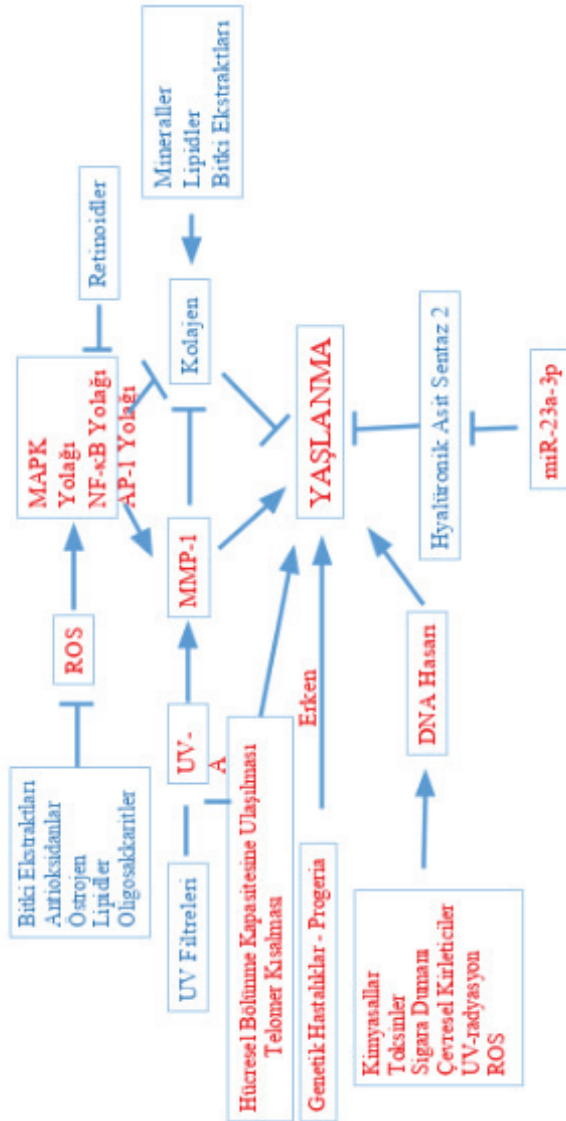
Bilimsel literatürde bu konuda bir hayli çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle doğal kaynaklardan elde edilen preparatların antioksidan potansiyelleri, anti-inflamatuar etkileri ile kolajenaz, elastaz ve hyalüronidaz gibi enzimler üzerindeki inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Cinnamon ekstraktının yaşlanma karşıtı etkisinin belirlendiği bir çalışmada, ekstrakt uygulanan normal insan fibroblastlarında kolajen tip-1 ekspresyonunun arttığı ve bu artışta etkili olan temel bileşenin sinnamaldehit olduğu belirlenmiştir (Takasao, Tsuji-Naito, Ishikura, Tamura & Akagawa, 2012). Boswellik asit aktif bileşeni ile gerçekleştirilen bazı çalışmalarda bu bileşenin, bir taraftan çeşitli pro-inflamatuar moleküler yollar üzerinde inhibisyon etkisine, diğer taraftan da kollajen ve elastin metabolizması üzerinde uyarıcı etkiye sahip olduğunu belirlenmiştir (Safayhi & Sailer, 1997; Poeckel & Wetz, 2006; Roy vd., 2006; Moussaieff vd., 2007). Boswellik asitin yukarıda belirtilen yaşlanma karşıtı etkilerinden yola çıkan bir grup araştırmacı bu bileşeni içeren bir kremin foto yaşlanmış bir ciltteki klinik etkinliğini değerlendirmiş ve ciltteki ince çizgiler ile pürüzlülüğün azaldığını, esnekliğin ise arttığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular, foto yaşlanmış cildin tedavisinde boswellik asitin topikal uygulamasının uygun bir tedavi olabileceğini ortaya koymuştur (Calzavara-Pinton, Zane, Facchinetti, Capezzeri & Pedretti, 2010). *Lagerstroemia speciosa* ve *Lagerstroemia floribunda* çiçeklerinin etanol ekstraktlarının antioksidan potansiyelleri ile hyalüronidaz, elastaz ve tirozinaz enzim aktiviteleri üzerindeki inhibitör etkileri değerlendirilmiş ve her iki ekstraktın da hyalü-

ronidaz enzim inhibisyonunda standart oleanolik asitten daha etkili olduğu belirlenmiştir (Kolakul & Sripanidkulchai, 2017). *Ocimum sanctum* etanol ekstraktı ile yürütülen diğer bir araştırmada da ilgili ekstraktın interlökin-6 (IL-6) salgılanmasını ve NF- κ B ekspresyonunu inhibe etmek suretiyle anti-inflamatuar aktivite gösterdiği, MMP-1 ve hyalüronidaz enzim aktivitelerini önemli ölçüde inhibe ettiği ve böylece yaşlanma karşıtı etki gösterdiği raporlanmıştır (Chaiyana vd., 2019). *Woodfordia fruticosa*'nın üçüncü ay kallus ekstraktı, insan dermal fibroblastlarında kolajen tip-1 ve elastin gen ekspresyonunu arttırmıştır (Chalageri vd., 2019). Aktif bileşen kaynağı olarak alglerden yararlanılan bir çalışmada *Ulva lactuca* ve *Enteromorpha prolifera*'dan elde edilen oligosakkaritler SAMP8 ticari adıyla bilinen ve erken yaşlanma fenotipine sahip olan farelere uygulanmıştır. Oligosakkarit uygulaması glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz ve telomeraz düzeyini arttırırken, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve IL-6 içeren inflammatuar faktörlerin düzeyini düşürmüş, böylece yaşlanma karşıtı etki göstermiştir (Liu vd., 2019). Bir siyanobakteri olan *Arthrospira maxima*'dan pepsin, subtilisin A ve her iki enzim birlikte kullanılarak peptid türevleri hidrolizlenmiş ve her iki enzimin birlikte kullanımı ile elde edilen peptid türevinin kolajenaz inhibisyon aktivitesinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir ($IC_{50} = 32,5 \mu g mL^{-1}$). Yine aynı peptid türevinin hyalüronidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkisi daha düşüktür ($IC_{50} = 0,92 mg mL^{-1}$). (Montalvo vd., 2019). Buna karşın, *Nannochloropsis* türü mikro alglerden elde edilen peptid türevlerinin hyalüronidaz inhibisyon etkisinin ise oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir ($IC_{50} = 0,2604 \mu g mL^{-1}$) (Norzagaray-Valenzuela vd., 2017). Seo vd. (2020) UV-B'ye maruz bırakılan normal insan dermal fibroblastlarına güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olan *Carica papaya* etanol ekstraktı uygulamıştır. Uygulanan ekstrakt ile UV kaynaklı oluşan ROS'un sönümlenmesi sonucunda MAPK ve AP-1 sinyal yolları baskılanmış, böylece MMP ekspresyonu azalırken kolajen tip-1 düzeyi artmıştır (Seo, Ngo, Hwang, Park & Yi, 2020).

Daha önce de ifade ettiğimiz gibi kozmetik ürünlerde kimyasal eşleniklerinin yerine doğal bileşenlerin kullanılmasının güvenilirliğinin ve çevreye duyarlılığının daha yüksek ve yan etkisinin daha az olması gibi avantajları olsa da, ilgili ürünlerin kullanımının bazı dezavantajları da vardır. Öncelikle doğal bileşenlerin ulaşılabilirliği genellikle düşüktür. Bu noktada ilgili bileşenlerin düşük verimle elde ediliyor olmalarının yanı sıra stabilitelerinin uzun süre korunamıyor olmasının payı da büyüktür. Bu problemle baş edebilmek için öncelikle ilgili aktif bileşenlerin kaynağından eldesine yönelik koşul ve teknikler özenle geliştirilmelidir. Ayrıca gerek bileşenin eldesi sırasında, gerekse son ürünün üretimi ve raf ömrü sırasında ilgili bileşenin yapısal stabilite ve biyoaktivitesini koruyabilmesi için uygun koşulların oluşturulması sağlanmalıdır (Aguilar-Toalá vd., 2019). Do-

ğal bileşenlerin kozmetik sektöründe potansiyel kullanımına ilişkin veriler genellikle *in vitro* çalışmaların sonuçlarına dayanmakta olup, etkin dozaj ve güvenlik değerlerine ulaşılabilmesi için faz-1 ve faz-2 klinik çalışmaları yapılmalı ve sonuçları değerlendirilmelidir (Mesa-Arango vd., 2017).

Bu derleme kapsamında tartışılan yaşlanmaya neden olan moleküler mekanizmalar ve yaşlanmayı önleyen faktörlerin etki mekanizmaları Şekil 1’de özetlenmiştir.



Şekil 1 Yaşlanmaya neden olan moleküler mekanizmalar ve yaşlanmayı önleyen faktörlerin etki mekanizmaları

7. Sonuç

Genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkan yaşlanma problemi, eski çağlardan günümüze dek insanoğlunun dikkatini çekmiş ve bu sürecin önlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Cildin yaşlanmasına neden olan moleküler mekanizmaların doğru şekilde anlaşılması, uygun terapötik müdahaleler için doğru hedeflerin belirlenmesi ve o hedefe yönelik stratejilerin oluşturulması için önemlidir.

Cildin genç görüntüsünün korunmasında lazer, mezoterapi, botoks enjeksiyonu vb de olmak üzere çok farklı müdahalelerden yararlanılması mümkün olsa da, genellikle daha ucuz ve kolay uygulanabilir olan ve ciltte yaralanma gibi hasarların oluşumuna neden olmayan topikal ürünlerin kullanımı tercih edilir. Yaşlanma karşıtı potansiyel ürünlerin eldesinde doğal kaynakları tercih etmek, hem tüketicilerin hem de çevrenin sağlığı açısından çok önemlidir. Tüketicilerin de daha güvenilir olduğuna inandıkları doğal ürünlere daha fazla talep göstermesi kozmetik sektörü temsilcilerini, ürünlerini bu istek doğrultusunda revize etmeye mecbur kılmıştır. Bu noktada dikkat edilmesi gereken en önemli nokta doğal bileşenlerin stabilite, uyumluluk ve toksikolojik analizlerinin, kozmetik üretim öncesinde tamamlanarak uygunluğunun belirlenmesidir.

Kaynakça

1. Pan, M.-H., Lai, C.-S., Tsai, M.-L., Wu, J.-C. & Ho, C.-T. (2012). Molecular mechanisms for anti-aging by natural dietary compounds. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56, 88-115. doi:10.1002/mnfr.201100509
2. Burke, K. E. (2018). Mechanisms of aging and development—A new understanding of environmental damage to the skin and prevention with topical antioxidants. *Mechanisms of Ageing and Development*, 172, 123-130. doi:10.1016/j.mad.2017.12.003
3. Lephart, E. D. (2016). Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. *Ageing Research Reviews*, 31, 36-54. doi:10.1016/j.arr.2016.08.001
4. Madison, K. C. (2003). Barrier function of the skin: 'la raison d'être' of the epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, 121, 231-241. doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12359.x
5. Schroeder, W. (2009). Cosmeceutical (Antiaging) Products: Advertising Rules and Claims Substantiation. K. Lintner (Eds.). Global Regulatory Issues for the Cosmetics Industry. (pp. 121-153). Amerika Birleşik Devletleri:William Andrew Inc. doi:10.1016/B978-0-8155-1569-2.50013-0
6. Aguilar-Toalá, J. E., Hernández-Mendoza, A., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B. & Liceaga, A. M. (2019). Potential role

- of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products. *Peptides*, 122, 170170. doi:10.1016/j.peptides.2019.170170
7. L'ORÉAL, Cosmetics Market: L'ORÉAL 2018 Annual Report, (2018). Erişim adresi: <https://www.loreal-finance.com/en/annual-report-2018/cosmetics-market-2-1/>.
 8. Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F. & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics—a review. *Industrial Crops and Products*, 90, 38-48. doi:10.1016/j.indcrop.2016.06.012
 9. Zhao, Y., Feng, B., Lee, J., Lu, N. & Pierce, D. M. (2020). A multi-layered computational model for wrinkling of human skin predicts aging effects. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 103, 103552. doi:10.1016/j.jmbbm.2019.103552
 10. Kim, M. & Park, H. J. (2016). Molecular Mechanisms of Skin Aging and Rejuvenation. N. Shiomi (Eds). *Molecular Mechanisms of the Aging Process and Rejuvenation*. (pp. 57-76). Londra:InTechOpen. doi: 10.5772/62983
 11. Makrantonaki, E. & Zouboulis, C. C. (2007a). Molecular Mechanisms of Skin Aging State of the Art. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 1119, 40-50. doi:10.1196/annals.1404.027
 12. Wang, X. & Wu, J. (2019). Modulating effect of fatty acids and sterols on skin aging. *Journal of Functional Foods*, 57, 135-140. doi:10.1016/j.jff.2019.04.011
 13. Tobin, D. J. (2017). Introduction to skin aging. *Journal of Tissue Viability*, 26, 37-46. doi:10.1016/j.jtv.2016.03.002
 14. Tobin, D. J. (2006). Biochemistry of human skin-our brain on the outside. *Chemical Society Reviews*, 35(1), 52-67. doi:10.1039/B505793K
 15. Shindo, Y., Witt, E., Han, D., Epstein, W. & Packer, L. (1994). Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis in human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 102, 122-124. doi:10.1111/1523-1747.ep12371744
 16. Hellemans, L., Cortstjens, H., Neven, A., Declercq, L. & Maes, D. (2003). Antioxidant enzyme activity in human stratum corneum shows seasonal variations with an age-dependent recovery. *Journal of Investigative Dermatology*, 120, 434-439. doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12056.x
 17. Bhagwat, P. K. & Dandge, P. B. (2018). Collagen and collagenolytic proteases: a review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 43-55. doi:10.1016/j.bcab.2018.05.005
 18. Baumann, L. (2007). Skin ageing and its treatment. *Journal of Pathology*, 211, 241-251. doi:10.1002/path.2098
 19. Zhang, S. & Duan, E. (2018). Fighting against Skin Aging: The

- Way from Bench to Bedside. *Cell Transplantation*, 27(5), 729-738. doi:10.1177/0963689717725755
20. Elewa, R. & Zouboulis, C. C. (2014). Molecular mechanisms of action of topical antiaging compounds. *Journal of the Egyptian Women's Dermatologic Society*, 11, 73-78. doi:10.1097/01.EWX.0000446076.96563.ab
 21. Makrantonaki, E. & Zouboulis, C. C. (2007b). William J. Cunliffe Scientific Awards. Characteristics and pathomechanisms of endogenously aged skin. *Dermatology*, 214(4), 352-360. doi:10.1159/000100890
 22. Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., ... & Campisi, J. (1995). A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(20), 9363-9367. doi:10.1073/pnas.92.20.9363
 23. Uitto, J. (1997). Understanding premature skin aging. *New England Journal of Medicine*, 337(20), 1463-1465. doi:10.1056/NEJM199711133372011
 24. Mesa-Arango, A. C., Flórez-Muñoz, S. V. & Sanclemente, G. (2017). Mechanisms of skin aging. *Iatreia*, 30(2), 160-170. doi:10.17533/udea.iatreia.v30n2a05
 25. Gonzaga, E. R. (2009). Role of UV light in photodamage, skin aging, and skin cancer: importance of photoprotection. *American Journal of Clinical Dermatology*, 10 (Suppl.1), 19-24. doi:10.2165/0128071-200910001-00004
 26. Amaro-Ortiz, A., Yan, B. & D'Orazio, J. A. (2014). Ultraviolet Radiation, Aging and the Skin: Prevention of Damage by Topical cAMP Manipulation. *Molecules*, 19, 6202-6219. doi:10.3390/molecules19056202
 27. Jenkins, G. (2002). Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of Ageing and Development* 123, 801-810. doi:10.1016/S0047-6374(01)00425-0
 28. Mercado-Sáenz, S., Ruiz-Gómez, M. J., Morales-Moreno, F. & Martínez-Morillo, M. (2010). Cellular Aging: Theories and Technological Influence. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53, 1319-1332. doi:10.1590/S1516-89132010000600008
 29. Hayflick, L. (1980). The cell biology of human aging. *Scientific American*, 242, 58-65. Erişim adresi: www.jstor.org/stable/24966232
 30. Lin, M. T. & Beal, M. F. (2003). The oxidative damage theory of aging. *Clinical Neuroscience Research*, 2, 305-315. doi:10.1016/S1566-2772(03)00007-0
 31. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical*

- Interventions in Aging*, 13, 757-772. doi:10.2147/CIA.S158513
32. Panich, U., Sittithumcharee, G., Rathviboon, N. & Jirawatnotai, S. (2016). Ultraviolet radiation-induced skin aging: The role of DNA damage and oxidative stress in epidermal stem cell damage mediated skin aging. *Stem Cells International*, 2016, 7370642. doi:10.1155/2016/7370642
 33. Kamenisch, Y. & Berneburg, M. (2009). Progeroid syndromes and UV induced oxidative DNA damage. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 14(1), 8-14. doi:10.1038/jidsymp.2009.6
 34. Xiang, Li. (2015). Anti-aging cosmetics and its efficacy assessment methods. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, 87, 012043. doi:10.1088/1757-899X/87/1/012043
 35. Röck, K., Tigges, J., Sass, S., Schütze, A., Florea, A. M., Fender, A. C., ...& Fischer, J. W. (2015). miR-23a-3p causes cellular senescence by targeting hyaluronan synthase 2: possible implication for skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(2), 369-377. doi:10.1038/jid.2014.422
 36. Zouboulis, C. C., Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Elewa, R. & Makrantonaki, E. (2019). Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. *Clinics in Dermatology*, 37, 365-372. doi:10.1016/j.clindermatol.2019.04.002
 37. Pinnell, S. R., Yang, H. S., Omar, M., Monteiro Riviere, N., DeBuys, H. V., Walker, L. C., ...& Levine, M. (2001). Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies. *Dermatologic Surgery*, 27, 137-142. doi:10.1046/j.1524-4725.2001.00264.x
 38. Burke, K. E., Clive, J., Combs Jr., G. F., Commisso, J., Keen, C. L. & Nakamura, R. M. (2000). The effects of topical and oral vitamin E on pigmentation and skin cancer induced by ultraviolet irradiation in Skh:2 hairless mice. *Nutrition and Cancer*, 38 (1), 87-97. doi:10.1207/S15327914NC381_13
 39. Ramara, A., Duckles, S. P., Krause, D. N. & Proaccio, V. (2007). Estrogen suppresses brain mitochondrial oxidative stress in female and male rats. *Brain Research*, 1176, 71-81. doi:10.1016/j.brainres.2007.08.036
 40. Borrás, C., Gambini, J., Gómez-Cabrera, M. C., Sastre, J., Pallardó, F. V., Mann, G. E. & Viña, J. (2005). 17beta-oestradiol up-regulates longevity-related, antioxidant enzyme expression via the ERK1 and ERK2[MAPK]/NFkappaB cascade. *Aging Cell*, 4, 113-118. doi:10.1111/j.1474-9726.2005.00151.x
 41. Morone, J., Alfeus, A., Vasconcelos, V. & Martins, R. (2019). Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals — A new bioactive approach. *Algal Research*, 41, 101541. doi:10.1016/j.algal.2019.101541

42. Richard, F., Creusot, T., Catoire, S., Egles, C. & Ficheux, H. (2019). Mechanisms of pollutant-induced toxicity in skin and detoxification: Anti-pollution strategies and perspectives for cosmetic products. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 77, 446-459. doi:10.1016/j.pharma.2019.07.001
43. Juliano, C. & Magrini, G. A. (2018). Cosmetic Functional Ingredients from Botanical Sources for Anti-Pollution Skincare Products. *Cosmetics*, 5, 19. doi:10.3390/cosmetics5010019
44. Borel, M., Lamarque, E. & Loing, E. (2017). Unique natural exopolysaccharides for biomimetic protective effect against urban pollution. *Journal of Cosmetic Science*, 68, 126-132.
45. Hughes, K., Ho, R., Butaud, J. F., Filaire, E., Ranouille, E., Berthon, J. Y. & Raharivelomanana, P. (2019). A selection of eleven plants used as traditional Polynesian cosmetics and their development potential as anti-aging ingredients, hair growth promoters and whitening products. *Journal of Ethnopharmacology*, 245, 112159. doi:10.1016/j.jep.2019.112159
46. Guezennec, J., Moretti, C. & Simon, J.-C., 2006. Substances naturelles en Polynésie française. Stratégies de valorisation. Paris: IRD Éditions. doi:10.4000/books.irdeditions.733
47. Takasao, N., Tsuji-Naito, K., Ishikura, S., Tamura, A. & Akagawa, M. (2012). Cinnamon Extract Promotes Type I Collagen Biosynthesis via Activation of IGF-I Signaling in Human Dermal Fibroblasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1193-1200. doi:10.1021/jf2043357
48. Poeckel, D. & Wetz, O. (2006). Boswellic acid: biological action and molecular targets. *Current Medicinal Chemistry*, 13, 3359-3369. doi:10.2174/092986706779010333
49. Moussaieff, A., Shohami, E., Kashman, Y., Fride, E., Schmitz, M. L., Renner, F. & Mechoulam, R. (2007). Incensole acetate, a novel anti-inflammatory compound isolated from *Boswellia* resin, inhibits nuclear factor-kappa B activation. *Molecular Pharmacology*, 72, 1657-1664. doi:10.1124/mol.107.038810
50. Safayhi, H. & Sailer, E. R. (1997). Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta Medica*, 63, 487-493. doi:10.1055/s-2006-957748
51. Roy, S., Khanna, S., Krishnaraju, A. V., Subbaraju, G. V., Yasmin, T., Bagchi, D. & Sen, C. K. (2006). Regulation of vascular responses to inflammation: inducible matrix metalloproteinase-3 expression in human microvascular endothelial cells is sensitive to anti-inflammatory *Boswellia*. *Antioxidants and Redox Signaling*, 8, 653-660. doi:10.1089/ars.2006.8.653
52. Calzavara-Pinton, P., Zane, C., Facchinetti, E., Capezzer, R. &

- Pedretti, A. (2010). Topical Boswellic acids for treatment of photoaged skin. *Dermatologic Therapy*, 23, 28-32. doi: 10.1111/j.1529-8019.2009.01284.x
53. Kolakul, P. & Sripanidkulchai, B. (2017). Phytochemicals and anti-aging potentials of the extracts from *Lagerstroemia speciosa* and *Lagerstroemia floribunda*. *Industrial Crops and Products*, 109, 707-716. doi:10.1016/j.indcrop.2017.09.026
 54. Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Punyoyai, C., Neimkhum, W., Lee, K. H., Lin, W. C.,... & Mueller, M. (2019). *Ocimum sanctum* Linn. as a natural source of skin anti-ageing compounds. *Industrial Crops and Products*, 127, 217-224. doi:10.1016/j.indcrop.2018.10.081
 55. Chalageri, G., Dhananjaya, S. P., Raghavendra, P., Sharath Kumar, L. M., Babu, U. V. & Varma, S. R. (2019). Substituting plant vegetative parts with callus cell extracts: Case study with *Woodfordia fruticosa* Kurz. – A potent ingredient in skin care formulations. *South African Journal of Botany*, 123, 351-360. doi:10.1016/j.sajb.2019.03.002
 56. Liu, X., Liu, D., Lin, G., Wu, Y., Gao, L., Ai, C., ... & Zhao, C. (2019). Anti-ageing and antioxidant effects of sulfate oligosaccharides from green algae *Ulva lactuca* and *Enteromorpha prolifera* in SAMP8 mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 342-351. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.07.195
 57. Montalvo, G. E. B., Thomaz-Soccol, V., Vandenberghe, L. P. S., Carvalho, J. C., Faulds, C. B., Bertrand, E., ... & Soccol, C. R. (2019). *Arthrospira maxima* OF15 biomass cultivation at laboratory and pilot scale from sugarcane vinasse for potential biological new peptides production. *Bioresource Technology*, 273, 103-113. doi:10.1016/j.biortech.2018.10.081
 58. Norzagaray-Valenzuela, C. D., Valdez-Ortiz, A., Shelton, L. M., Jiménez-Edeza, M., Rivera-López, J., Valdez-Flores, M. A. & Germán-Báez, L. J. (2017). Residual biomasses and protein hydrolysates of three green microalgae species exhibit antioxidant and anti-aging activity. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 189-198. doi:10.1007/s10811-016-0938-9
 59. Seo, S. A., Ngo, H. T. T., Hwang, E., Park, B. & Yi, T.-H. (2020). Protective effects of *Carica papaya* leaf against skin photodamage by blocking production of matrix metalloproteinases and collagen degradation in UVB-irradiated normal human dermal fibroblasts. *South African Journal of Botany*, 131, 398-405. doi:10.1016/j.sajb.2020.03.019



**ANTİNEOPLASTİK TEDAVİDE YAYGIN
OLARAK KULLANILAN SİKLOFOSFAMİD
NEDENLİ ÇOKLU ORGAN TOKSİSİTESİ**

Songül ÇETİK YILDIZ¹

¹ Dr.Öğr.Üyesi, Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Teknikler ve Hizmetler Bölümü,

Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Teknikler ve Hizmetler Bölümü, 47200, Mardin, Türkiye

1. Introduction

Kemoterapi, malign hücreleri tedavi etmek için en sık kullanılan yöntemdir ve kanser hastalarının %80-96'sının kemoterapi aldığı bilinen bir gerçektir [1]. Kemoterapötik ajanlar genellikle sağlıklı ve aktif hücreler için de toksiktir ve miyelosupresyon ve çoklu organ yetmezliği gibi kritik yan etkilere neden olabilmektedir [2]. Bu nedenle, kemoterapötik etkinliği kaybetmeden kemoterapötik ajanların yan etkilerini en aza indirmek için yeni ve daha etkili yollar geliştirilmelidir. Çeşitli klinik ve klinik öncesi çalışmalar kemoterapötik ve kemopreventif ilaçların bir kombinasyonunun kemoterapötik ilaçların sistemik toksisitesini azaltmada yardımcı olabileceğini düşündürmektedir [3,4].

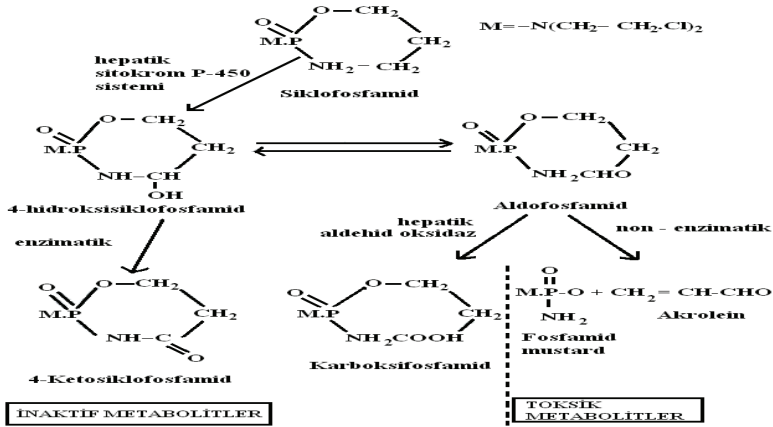
Serbest radikallerin oluşma ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir ancak savunma azalırsa ya da bu zararlı bileşiklerin oluşma hızı sistemin savunma gücünü aşar ise, bu denge bozulur ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler oluşabilmektedir [5,6]. Reaktif oksijen bileşiklerinin zararlarına karşı vücutta varolan farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıklarından birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir [7].

1.1. Siklofosfamid

Tümörlerinin antikanser ilaçlara karşı gösterdikleri direncin üstesinden gelebilmek için tümörlü hastalara yoğun bir kemoterapi uygulanması gerekmektedir. Bu nedenle özellikle Siklofosfamid (CP) gibi yüksek doz alkilleyici ajanların kullanılması gerekmektedir

[8]. Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanımı ve kanser hastalarının sağ kalım sürelerinin uzaması ilaçların yan etkilerini de artırmaktadır [9]. 1958'den bu yana kanser ve malignant olmayan hastalıkların tedavisinde etkinliği kanıtlanmış, pek çok neoplastik hastalıkta tek başına veya diğer kemoterapötiklerle birlikte geniş bir kullanım alanına sahip olan CP'nin de yan etkileri bulunmaktadır [10]. CP'nin çoklu organ hasarına neden olması etkili olan yüksek doz kullanımı sınırlandırmaktadır [2,11].

Alkileyici tip bir kemoterapötik ön ilaç olan CP, karaciğer sitokrom P450 enzimleri, yani aktif terapötik ve sitotoksik metabolitleri gösteren ve hepatositlerden plazmaya yayılan CYP3A4 ve CYP2B6 tarafından metabolize edilmektedir [12]. CP vücuda yayılır ve iki aktif metabolit üretir: fosforamid mustard (PAM) ve akrolein (ACR). CP'nin immünosüpresif ve antineoplastik etkileri PAM ile ilişkili olsa da, ACR istenmeyen toksisitesinden sorumludur [13]. ACR, yüksek oranda reaktif oksijen türleri ve hepatositlerde oksidatif stres üretir [14,15]. Böylece proteinlerle etkileşerek enzimlerin yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olduğundan doku antioksidan savunma mekanizmasına zarar verir [16]. CP ile indüklenen toksisite, mitokondriyal disfonksiyonun bir sonucudur ve nitrozatif ve oksidatif stres nedeniyle ATP'nin azalması ile sonuçlanmaktadır [4]. CP'nin klinik faydası, hastalarda ve hayvan modellerinde üreme toksisitesi, hepatotoksisite, nefrotoksisite ve kardiyotoksisite ile ilişkili çeşitli olumsuz etkiler nedeniyle kısıtlanmaktadır [17,18].



Şekil 1. Siklofosfamid metabolizması

1.2. Kemoterapi ve Antioksidanlar

Antioksidanlar, direkt yada dolaylı olarak ilaçların, karsinojenlerin, toksik radikal reaksiyonların ve ksenobiyotiklerin istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyabilmektedirler [19]. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre içi serbest oksijen radikali toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon redüktaz, katalaz (CAT) ve sitokrom oksidazdır [20].

Antineoplastik ilaçların doz-kısıtlayıcı toksik etkilerini önleyerek, daha etkin yüksek doz kemoterapisi vermeye olanak sağlayan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Yüksek doz kemoterapisine olanak veren çeşitli yöntemlerden en önemlisi ilaçla birlikte, antineoplastik etkinliğini azaltmadan toksisitesini düşüren antidotunun verilmesidir.

Bazı doğal fenolik bileşiklerin bedende oynadıkları rolün önemi açısından yapılan bir deneysel çalışmada fenolik bileşik olan karvakrolün antioksidan ve sitoprotektif etkilerinin olduğu ortaya çıkarılmıştır [4]. Kemoterapi ile beraber antioksidan takviyesinin yapılması konusunda en çok tartışma, sitotoksik etkilerini serbest radikaller oluşturarak gösteren ajanlar (alkilleyici ajanlar, radyasyon gibi) konusundadır. Birçok çalışmada antioksidanların serbest radikalleri süpürerek bu ajanların etkisini azaltabileceği düşünülmektedir. Ayrıca antioksidanların, kemoterapinin etkinliğini azaltmadığını bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur [21,22,23,24]. Bazı çalışmalarda, antioksidanların *in vivo* ve *in vitro* olarak kemoterapinin antitümör etkilerini artırdıkları belirtilmiştir [21,25]. Yapılan başka bir araştırmada, kemoterapi ve radyoterapiye bağlı oksidatif strese karşı; A, C ve E vitaminleri kullanılmış, *in vivo* ve *in vitro* olarak vitaminlerin terapötik etkiyi artırdığı gibi normal hücreleri de apoptozdan koruduğu belirlenmiştir [24].

1.3. Myelotoksisite ve Hemotoksisite

Miyelosupresyon, CP kemoterapisinin istenmeyen bir yan etkisidir. Yapılan çalışmalarda hasar gören veya ölen kemik iliği kök hücrelerinin yeni kan hücreleri üretmediği ve bunun da trombositopeni ile lökopeniye neden olduğu bildirilmiştir [26,27,11]. CP, olumsuz toksik etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak amacıyla farklı detoksifiye edici ve koruyucu ajanlarla birlikte kullanılabilir [28]. Nitekim yaptığımız bir çalışmada *Hypericum triquetrifolium* Turra. (HT) tohum metanol ekstraktları, kemoterapötik etkinliğini sınırlamadan yüksek dozda (150 mg/kg) CP'ye rağmen yüksek antioksidan aktivite göstererek kan, kemik iliği çekirdekli hücreler ve karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkiler göstermiştir. Bu çalışmanın bulgularına dayanarak, özellikle 50 mg / kg HT olmak üzere tüm HT dozlarının, CP ile indüklenen miyelotoksisite, hemotoksisite ve hepatotoksisiteyi önlemede güçlü

aday olduğu belirtilmiştir [11].

1.4. Kardiyotoksisite

CP ile ilişkili antikanser tedavilerinin ortak bir yan etkisinin kardiyovasküler toksisite ve yüksek dozda CP (200 mg/kg) ile gözlenen akut ölümcül kardiyomiyopati olduğu bildirilmiştir [29]. Sıçanlara verilen 100 mg/kg CP'nin oksidatif strese, artmış MDA ve NO seviyesine ve düşük TAS düzeyine neden olduğu bildirilmiştir [30]. Başka bir çalışmada Motawi ve ark., (2010) yüksek doz CP'nin (200 mg/kg), oksidatif stres, NO, MDA seviyesinde artışa ve GSH ve TAS seviyelerinde azalmaya sebep olarak kalp hasarı oluşturduğunu belirtmişlerdir. Bazı klinik ve deneysel çalışmalarda [16,31], yüksek dozda CP'nin kardiyotoksisite belirleyicilerinden olan CK-MB, LDH, ALT ve AST serum düzeylerini arttırdığı göstermişlerdir. Zarei ve Shivanandappa [32], sıçanlarda CP tedavisi ile serum ALT, AST, LDH, SOR ve lipit peroksidasyon seviyelerinin arttığını ve GSH, antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığını bildirmiştir. Yousif [33], CP verilen grupların kalp dokusunda oksidatif stresle birlikte miyokardiyal disfonksiyon görüldüğünü rapor etmişlerdir. Sayed-Ahmed ve ark., [29] CP tedavisinin artmış serum LDH, CKMB düzeylerine ve akut kalp yetmezliğine yol açtığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışma, CP uygulanan hayvanların histolojik bulgularında miyokardda hemorajik lezyonlar ve miyokardiyal liflerin sirkülasyonu olduğunu göstermiştir [34]. Yaptığımız bir çalışmada CP'nin kalp dokusu hücrelerindeki apoptoz yoğunluğunu artırdığı, CYP ile birlikte HT verilen gruplarda ise doz artıkça (25, 50, 100) arttıkça, kalp dokusu hücrelerinde apoptoz yoğunluğu azaldığı görülmüştür [35]. Yine yaptığımız başka bir çalışmada 150 mg/kg CP'nin neden olduğu kardiyotoksisitenin karvakrol ile bu azaldığı ve karvakrolün sitoprotektif etki gösterdiği gösterilmiştir [4].

1.5. Nefrotoksisite ve hemorajik Sistit

CP'nin klinik kullanımı genellikle nefrotoksisite [36,37] ve mesane disfonksiyonu [38] gibi ciddi toksisiteleriyle sınırlanmaktadır. CP ayrıca hemorajik sistite [38,39] olmaktadır. Çeşitli çalışmalar hastaların % 40'ında uzun süreli veya yüksek doz CP tedavisinden sonra hemorajik sistit geliştiğini göstermiştir [40,41]. CP ile tedavi edilen sıçanların mesanelerinde şiddetli epitelyal ülserasyon, hemoraji, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal ödem ve deskuamasyonlu granüler üroepitel hücreler görüldüğü belirtilmiştir [42]. CP nedenli ürotoksisite üzerine yapılan deneysel bir çalışmada CP verilen grupların serum BUN ve kreatinin düzeylerinde belirgin bir düşüş olduğu bildirilmiştir [43]. Başka çalışmalarda, akroleinin idrar epiteline zarar verdiği ve kreatinin seviyesini artırdığı bildirilmiştir [44,45]. Yine başka bir çalışmanın sonuçları CP tedavisinden sonra serum kreatinin ve üre düzeylerinde kayda değer bir artış olduğunu göstermiştir [46].

1.6. Hepatoksisite

CP'nin aktif bir metaboliti olan ACR, hepatositlerde reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres oluşmasına sebep olmaktadır [14,15]. Bu da enzimlerin yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olur ve doku antioksidan savunma mekanizmasına zarar vermektedir [16]. Yaptığımız bir deneysel çalışmada 150mg/kg CP verilen sıçanların karaciğer dokularının bazı kısımlarında küçük kanama ve ödem bölgeleri, balonlanma, vakuolizasyon ve hepatosellüler nekroz olduğunu göstermiştir [11]. Daha önceki çalışmalarda da benzer sonuçlar gösterilmiştir [47,48]. Ayrıca CP'nin kaspaz-3 ve bax ekspresyonunu arttığı ve bcl-2'yi azalttığı, histolojik hasarı gösterirken CP ile beraber HT verilen gruplarda kaspaz-3 ve bax ekspresyonunu azaltır ve bcl-2'yi artırır, bu da korumayı gösterir [11]. Yapılan araştırmalarda, karaciğer dokusunda CP ile indüklenen apoptoz olduğu gösterilmiştir [48,49].

Alqahtani ve Mahmoud CP nedenli hepatosit apoptozunu araştırdıkları çalışmalarında CP'nin hem kaspaz-3 ekspresyonunda

hem de protein seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğunu ortaya koydu [50]. Çağlayan ve ark., CP'nin (200 mg/kg) kaspaz-3 ekspresyonunu ve hafif zincir 3B (LC3B) seviyesini artırarak apoptotik ve otofajik yolu aktive ettiğini ve ayrıca oksidatif DNA hasarının belirteci olan 8-hydroxy2'deoxyguanosine (8-OHdG) ekspresyonunu arttırdığını bildirmiştir [51]. CP'nin hepatoksisite üzerindeki etkilerin araştırıldığı başka bir çalışmada borik asitin, karaciğeri CP nedenli apoptoz, histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklere karşı savunmada başarılı olduğu ifade edilmiştir [52].

1.7. Testiküler Toksisite

Testiküler toksisite de dahil olmak üzere temel olarak oksidatif stresin altını çizen çoklu yan etkiler, hastalar için kullanımını sınırlayan önemli bir sorundur [53,54]. Testis membranında omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin bulunması bu organı oksidatif strese karşı daha duyarlı hale getirir [55]. CP toksik etki gösterek GSH, hücre zarlarını, SOD, CAT ve GPx'i serbest oksijen radikalleri saldırısına maruz bırakır ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyesini artırır [18,56,57]. Yapılan bir çalışmada antioksidan ajanların kemoterapi toksisitesini değiştirebileceğini ve ayrıca olumsuz yan etkileri en aza indirebileceğini göstermektedir [53]. Antioksidan özelliklere sahip doğal tıbbi yağ olan sarımsak yağının CP nedenli testisküler toksiste üzerine koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada CP verilen gruplarda sarımsak yağı ilavesinin antioksidan enzim düzeylerinin normal seviyeye getirdiği, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA seviyesini azalttığı rapor edilmiştir [54].

2. Sonuç

Antikanser ajanların terapötik etkileri, neden oldukları toksisite nedeniyle olumsuz yan etkilerle ilişkilidir. CP kemoterapötik bir ajan olarak çok tercih edilmesine rağmen, toksik yan etkileri yüksek

doz kullanımını sınırlar. Bu nedenle, normal dokuyu kemoterapi ile ilişkili toksisiteden korumak için tümör ve tümör büyüme stimülasyon özelliklerini korumaksızın etkili yeni ajanlar gereklidir. Bu nedenle, tedavi rejimlerinin antioksidan ve sitoprotektif özelliklerle kombinasyonu, sağlıklı hücrelerin ve dokunun CP ile indüklenen oksidatif hasara karşı korunmasında faydalı olabilir. Bu çalışmanın sonuçlarından, doğal antioksidanların kemoterapötik etkinliği sınırlamadan yüksek dozlarda CP'ye rağmen, doku ve hücreler üzerinde sitoprotektif etkiler gösterdiği sonucuna varılabilir.

Kaynaklar

1. Manzullo, EF., Escalante, CP., (2002), Research into fatigue. *Hematol Oncol Clin North Am*, 16, 619-628.
2. Takano, F., Tanaka, T., Aoi, J., Yahagi, N., Fushiya, S., (2004), Protective effect of p-catechin against 5-fluorouracil induced myelosuppression in mice. *Toxicol*, 201, 133-142.
3. Bhattacharjee, A., Basu, A., Ghosh, P., Biswas, J., Bhattacharya, S., (2014), Protective effect of Selenium nanoparticle against cyclophosphamide induced hepatotoxicity and genotoxicity in Swiss albino mice. *J Biomater Appl*, 29: 303–317.
4. Cetik, S., Ayhanci, A., Sahinturk, V., (2015), Protective effect of carvacrol against oxidative stress and heart injury in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rat. *Braz Arch Biol Technol*, 58(4), 569-576.
5. Halliwell B., (1996), Oxidative stres, nutrition and health: Experimental strategies for optimisation of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Res*, 25:57-74.
6. Nakazawa, H., Genka, J., Fujishima, M., (1996), Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J Physiol*, 46:15-32.
7. Diplock, A., (1998), Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise*

monograph series, 59.

8. Cavalletti, E., Tofanetti, O., Zunino, F., (1986), Comparison of Reduced Glutathione with 2-Mercaptoethane Sulfonate to Prevent Cyclophosphamide Induced Urotoxicity. *Cancer letters*, 32: 1-6.
9. Kumar, KBH., Kuttan, R., (2004), Chemoprotective Activity of an Extract of *Phyllanthus Amarus* Against Cyclophosphamide Induced Toxicity in Mice. *Phytomedicine*, 12: 494-500.
10. Abraham, P., Isaac, B., (2011), Ultrastructural Changes in the Rat Kidney After Single Dose of Cyclophosphamide- Possible Roles for Peroxisome Proliferation and Lysosomal Dysfunction in Cyclophosphamide-Induced Renal Damage. *Hum Exp Toxicol*. 30: 1924.
11. Yildiz, SC., Keskin, C., Sahinturk, V., Ayhanci, A., (2019), A Histopathological, Immunohistochemical and Biochemical Investigation on the *in vitro* Antioxidant, Myeloprotective, Hematoprotective and Hepatoprotective Effects of *Hypericum triquetrifolium* Seed Extract Against Cyclophosphamide-Induced Toxicity. *Braz Arch Biol Technol* Vol.62: e19180345.
12. Roy, P., Waxman, DJ., (2006), Activation of oxazaphosphorines by cytochrome P450: application to gene-directed enzyme prodrug therapy for cancer. *Toxicol In Vitro*, 20, 176-186.
13. Kern, JC., Kehrer, JP., (2002), Acrolein-induced cell death: a caspase influenced decision between apoptosis and oncosis/necrosis. *Chem Biol Interact*, 139(1), 79-95.
14. Mohammad, MK., Avila, D., Zhang, J., Barve, S., Arteel, G., McClain, C., Joshi-Barve, S., (2012), Acrolein cytotoxicity in hepatocytes involves endoplasmic reticulum stress, mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol*, 265(1), 73-82.
15. MacAllister, SL., Martin-Brisac, N., Lau, V., Yang, K., O'Brien, PJ., (2013), Acrolein and chloroacetaldehyde: an examination of the cell and cell-free biomarkers of toxicity. *Chem Biol Interact*, 202(1), 259-266.
16. Mythili, Y., Sudharsan, PT., Selvakumar, E., Varalakshmi, P., (2004), Protective effect of DL-alpha-lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. *Chem Biol Interact*, 151(1), 13-19.
17. Arena, AC., Jorge, BC., Silva, MC., de Barros, AL., Fernandes,

- AA., Nóbrega, RH., et al., (2018), Acrocomia aculeata oil: beneficial effects on cyclophosphamide-induced reproductive toxicity in male rats. *Andrologia*, 50 -13028.
18. Ilbey, YO., Ozbek, E., Simsek, A., Otunctemur, A., Cekmen, M., Somay, A., (2009), Potential chemoprotective effect of melatonin in cyclophosphamide- and cisplatin-induced testicular damage in rats. *Fertil Steril.* 92:1124–1132.
19. Akkus, İ., (1995), Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Konya:Mimoza Yayınları, 1-110.
20. Halliwell, B., (1991), Reactive oxygen species in living systems source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med*, 91: 14-22.
21. Block, KI., Koch, AC., Mead, MN., Tothy, PK., Newman, RA., Gyllenhaal, C., (2007), Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5), 407-418.
22. Simone, CB., Simone, NL., Simone, V., (2007), Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Altern Ther Health M*, 13(1):22-28.
23. Ladas, EJ., Jacobson, JS., Kennedy, DD., Teel, K., Fleischauer, A., Kelly, KM., (2004), Antioxidants and cancer therapy: a systematic review. *Journal of Clinical Oncology*, 22(3), 517-528.
24. Blumenthal, RD., Lew, W., Reising, A., Soyne, D., Osorio, L., Ying, Z., Goldenberg, DM., (2000), Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radio immunotherapy. *International Jurnal of Cancer*, 86(2), 276-280.
25. Seifried, HE., McDonald, SS., Anderson, DE., Greenwald, P., Milner, JA., (2003), The antioxidant conundrum in cancer. *Cancer Research*, 63(15), 4295-4298.
26. Nafees, S., Rashid, S., Ali, N., Hasan, SK., Sultana, S., (2015), Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NFkB/MAPK pathway. *Chem Biol Interact*, 231, 98-107.
27. Mansour, HH., El Kiki, SM., Hasan, HF., (2015), Protective effect of N-acetylcysteine on CP-induced cardiotoxicity in

- rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 40, 417-422.
28. Biswajit, D., Suvakanta, D., Chandra, C., Jashobir, C., (2014), Synergistic immunostimulatory activity of terminaliabellica gum polysaccharide with levamisole. *World J Pharm Pharm Sci*, 3(8), 1367-1384.
 29. Sayed-Ahmed, MM., Aldelemy, ML., Al-Shabanah, OA., Hafez, MM., Al-Hosaini, KA., Al-Harbi, NO., et al., (2014), Inhibition of gene expression of carnitine palmitoyltransferase I and heart fatty acid binding protein in cyclophosphamide and ifosfamide-induced acute cardiomyopathic rat models. *J Clin Exp Cardiol*, 5(3):2155-9880.
 30. Wei, X., Su, F., Su, X., Hu, T., Hu, S., (2012), Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg3 on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice. *Fitoterapia* 83: 636–642.
 31. Fatani, AG., Darweesh, AQ., Rizwan, L., Aleisa, AM., Al-Shabanah, OA., Sayed-Ahmed, MM., (2010), Carnitine deficiency aggravates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Chemotherapy*, 56(1):71-81.
 32. Zarei, M., Shivanandappa, T., (2013), Amelioration of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by the root extract of *Decalepis hamiltonii* in mice. *Food and Chemical Toxicology* 57: 179–184.
 33. Yousif, A., (2010), Probucol Attenuates Cyclophosphamide-induced Oxidative Apoptosis, p53 and Bax Signal Expression in Rat Cardiac Tissues. *Oxid Med Cell Longev*, Sep-Oct; 3(5): 308–316.
 34. Motawi, TM., Sadik, NA., Refaat, A., (2010), Cytoprotective effects of DL-alpha-lipoic acid or squalene on cyclophosphamide induced oxidative injury: An experimental study on rat myocardium, testicles and urinary bladder. *Food Chem Toxicol*, 48(8-9):2326-2336.
 35. Yıldız, SC., Keskin, C., Sahinturk, V., Ayhancı, A., (2018), Cardioprotective effects of *Hypericum triquetrifolium* Turra. against cyclophosphamide related cardiotoxicity in rats. *J Res Pharm*, 22 (3): (2018),374-385.
 36. Caglar, K., Kinalp, C., Arpacı, F., Turan, M., Sağlam, K., Öztürk, B., Komurcu, S., Yavuz, I., Yenicesu, M., Özet, A., Vural, A., (2002), Cumulative prior dose of cisplatin as a cause

- of the nephrotoxicity of high-dose chemotherapy followed by autologous stem-cell transplantation. *Nephrol Dial Transplant*, 17(11):1931–35.
37. Abraham, P., Rabi, S., (2009), Nitrosative stress, protein tyrosine nitration, PARP activation and NAD depletion in the kidneys of rats after single dose of cyclophosphamide. *Clin Exp Nephrol* 13(4):281-87.
 38. Chuang, YC., Yoshimura, N., Huang, CC., Wu, M., Tyagi, P., Chancellor, MB., (2010), Expression of E-series prostaglandin (EP) receptors and urodynamic effects of an EP4 receptor antagonist on cyclophosphamide-induced overactive bladder in rats. *BJU Int*, 106(11):1782–87.
 39. Korkmaz, A., Topal, T., Oter, S., (2007), Pathophysiological aspects of cyclophosphamide and ifosfamide induced hemorrhagic cystitis. *Cell Biol Toxicol*, 23(5):303-12.
 40. McEvoy, GK., (2004), editor, Bethesda, Maryland: AHFS, Drug Information. American Society of Health-System. *Pharmacists*, 929-52.
 41. Repchinsky, C., (2004), Compendium of Pharmaceuticals and Specialties, 1610-13.
 42. Kim, SH., Lee, IC., Baek, HS., Shin, IS., Moon, C., Bae, CS., Kim, SH., Kim, JC., Kim, HC., (2014), Mechanism for the protective effect of diallyl disulfide against cyclophosphamide acute urotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, 64:110–18.
 43. Liu, Q., Lin, X., Li, H., Yuan, J., Peng, Y., Dong, L., Dai, S., (2016), Paeoniflorin ameliorates renal function in cyclophosphamide-induced mice via AMPK suppressed inflammation and apoptosis. *Biomed Pharmacother*, 84:1899-905.
 44. Shapiro, CL., Recht, A., (2001), Side effects of adjuvant treatment of breast cancer. *N Engl J Med*, 344(26):1997-2008.
 45. Dobrek, L., Baranowska, A., Skowron, B., Thor, P., (2017), Biochemical and histological evaluation of kidney function in rats after a single administration of cyclophosphamide and ifosfamide. *J Nephrol Kidney Dis*, 1(1):1002.
 46. Kurniawan, LB., Bahrún, U., Mangarengi, F., Darmawaty, ER., Mansyur, A., (2013), Blood urea nitrogen as a predictor of mortality in myocardial infarction. *Univ Med*, 32(3):172–

78.

47. Zhu, H., Long, MH., Wu, J., Wang, MM., Li, XY., Shen, H., et al., (2015), Ginseng alleviates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity via reversing disordered homeostasis of glutathione and bile acid. *Sci Rep*, 5: 17536.
48. Fouad, AA., Qutub, HO., Al-Melhim, WN., (2016), Punicalagin alleviates hepatotoxicity in rats challenged with cyclophosphamide. *Environ Toxicol Pharmacol*, 45, 158-162.
49. Cuce, G., Cetinkaya, S., Koc, T., Esen, HH., Limandal, C., Balcı, T., et al., (2015), Chemoprotective effect of vitamin E in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. *Chem Biol Interact*, 232, 7-11.
50. Alqahtani, S., Mahmoud, A., (2016), Gamma-glutamylcysteine ethyl ester protects against cyclophosphamide-induced liver injury and hematologic alterations via upregulation of PPAR and attenuation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis, *Oxid Med Cell Longev*, 14 (4016209).
51. Caglayan C., Temel, Y., Kandemir, FM., Yildirim, S., Kucukler, S., (2018), Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage. *Environ Sci Pollut Res Int*, 25:20968–20984.
52. Cengiz, M., Yildiz, SC., Demir, C., Sahin, İK., Teksoy, O., Ayhancı, A., (2019), Hepato-preventive and anti-apoptotic role of boric acid against liver injury induced by cyclophosphamide. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 53: 1-7.
53. Mehta, J., Rayalam, S., Wang, X., (2018), Cytoprotective effects of natural compounds against oxidative stress. *Antioxidants*, 7:147-166.
54. Ekeleme-Egedigwea, CA., Famurewa, AC., Davida, EE., Eleazua, CO., Egedigwe, UO., (2019), Antioxidant potential of garlic oil supplementation prevents cyclophosphamide-induced oxidative testicular damage and endocrine depletion in rats. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, 18: 100109
55. Belhan, S., Özkaraca, M., Kandemir, FM., Gülyüz, F., Yıldırım,

- S., Ömür, AD., et al., (2017), Effectiveness of hesperidin on methotrexate-induced testicular toxicity in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23: 789-796.
56. Mohammadi, F., Nikzad, H., Taghizadeh, M., Taherian, A., Azami-Tameh, A., Hosseini, SM., et al., (2014), Protective effect of Zingiber officinale extract on rat testis after cyclophosphamide treatment. *Andrologia*, 46: 680-686.
57. Oyagbemi, AA., Omobowale, TO., Saba, AB., Adedara, IA., Olowu, ER., Akinrinde, AS., et al., (2016), Gallic acid protects against cyclophosphamide-induced toxicity in testis and epididymis of rats. *Andrologia*, 48:393-401.