



**T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**METFORMİN, İBUPROFEN VE ASETİLSALİSİLİK  
ASİTİN TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİ  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**Aykut TOPAL**

**BURDUR, 2019**



**T.C.  
BURDUR MEHMET AKIF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**METFORMİN, İBUPROFEN VE ASETİLSALİSİLİK  
ASİTİN TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİ  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**Aykut TOPAL**

**Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ**

**BURDUR, 2019**

## YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

Aykut TOPAL tarafından Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ yönetiminde hazırlanan “Metformin, İbuprofen ve Asetilsalisilik Asitin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20 / 08 / 2019

**Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU** (Başkan)  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR** (Jüri Üyesi)  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ** (Jüri Üyesi)  
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

### ONAY

Bu Tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nun \_\_\_\_\_ Tarih ve \_\_\_\_\_ Sayılı Kararı ile Kabul Edilmiştir.

**Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ**

Müdür  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Metformin İbuprofen ve Asetilsalisilik Asitin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

20 / 08 / 2019

Aykut TOPAL

## **TEŞEKKÜR**

Bu tez çalışmasında, konunun belirlenmesinde ve her aşamasında yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, bana sabır gösteren kıymetli Danışman Hocam Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU'ya teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Lisans, yüksek lisans ve tez çalışma sürecimde birlikte çalıştığım değerli dostum Muazzez TIKIRDİK'a vermiş olduğu tüm destekler için teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Ali KIYAK, Hülya YILDIZ, İrem ALKAN ve Didem KORKMAZ'a teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, bu tez sürecinde de desteklerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, hep layık olmaya çalıştığım kıymetli aileme teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

0546-YL-18 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

**Ağustos, 2019**

**Aykut TOPAL**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGE DİZİNİ .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ÖZET .....	viii
SUMMARY .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Telomer Yapı ve Fonksiyonu .....	3
2.2. Telomeraz .....	5
2.2.1. Telomerazın Yapısı.....	6
2.2.2. Telomerazın Önemi .....	7
2.2.3. Telomeraz İnhibisyon Yöntemleri .....	11
2.2.3.1. Antisens Oligonükleotitler (AS-ODNs) .....	11
2.2.3.1.1. GRN163L .....	12
2.2.3.2. Hammerhead Ribozimler .....	12
2.2.3.3. Baskın Negatif hTERT .....	12
2.2.3.4. Ters Transkriptaz İnhibitörleri .....	12
2.2.3.5. RNA İnterferans (RNAi) .....	13
2.2.3.6. İmmünoterapi .....	13
2.2.3.6.1. GRNVAC1 .....	13
2.2.3.7. Gen Terapisi .....	14
2.2.3.7.1. İntihar Gen Terapisi.....	14
2.2.3.7.2. Onkolitik Viral Terapi .....	14
2.2.3.8. BIBR 1532.....	15
2.2.3.9. G - quadrupleks Stabilizatörleri .....	15
2.2.3.10. T - oligo .....	15
2.2.3.11. Tankiraz İnhibitörleri .....	16
2.3. Metformin.....	16
2.4. İbuprofen .....	18
2.5. Asetilsalisilik Asit .....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal .....	22
3.1.1. Model Organizma : <i>Mus musculus</i> .....	22
3.1.2. Deney Hayvanlarına Verilen Maddeler, Maddelerin Hazırlanması ve Verilişi .....	22
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler .....	24
3.2. Yöntem .....	24
3.2.1. Deney Hayvanlarının Diseksiyonu .....	24
3.2.2. Telomeraz Aktivitesi Ölçümü .....	24
3.2.2.1. Dokulardan Ekstrakt Eldesi .....	24
3.2.2.2. PCR .....	25
3.2.2.3. ELISA .....	25
3.2.3. Lowry Protein Tayini.....	26

3.2.4. Relatif Telomeraz Aktivitesinin Hesaplanması .....	27
3.2.5. İstatistiksel Analiz.....	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	28
5. SONUÇ.....	35
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	44





## ŞEKİL DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Telomerin FISH yöntemi ile görüntülenmesi .....	3
Şekil 2.2. Telomer yapısındaki proteinler .....	5
Şekil 2.3. Telomer yapısındaki proteinler ve telomeraz.....	6
Şekil 2.4. İnsan telomeraz dimerinin üç boyutlu yapısı .....	6
Şekil 2.5. Tetrahymena holoenzim kompleksi .....	7
Şekil 2.6. Metforminin kimyasal yapısı .....	16
Şekil 2.7. İbuprofenin kimyasal yapısı .....	19
Şekil 2.8. Asetilsalisilik asitin kimyasal yapısı .....	20
Şekil 3.1. Maddelerin farelere verilmesi .....	23
Şekil 3.2. PCR hazırlama aşaması.....	25
Şekil 3.3. BSA standart grafiği.....	27
Şekil 4.1. RTA değerlerinin grafik gösterimi.....	29

## ÇİZELGE DİZİNİ

### Sayfa

**Tablo 3.1.** Farelere uygulanan maddeler ve doz miktarları ..... 23

**Tablo 4.1.** Uygulama dozlarına göre RTA değerleri ile standart hata düzeyi ..... 28



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A</b>	: Adenin
<b>AAV</b>	: Adeno İlişkili Virüsler
<b>AD</b>	: Alzheimer Disease
<b>AIDS</b>	: Acquired Immun Deficiency Syndrome
<b>ALT</b>	: Alternatif Telomer Uzama Mekanizmaları
<b>AMP</b>	: Adenozin Monofosfat
<b>AMPK</b>	: Adenozin Monofosfat ile Aktive Edilen Protein Kinaz
<b>AS – ODN</b>	: Antisens Oligonükleotit
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>C</b>	: Sitozin
<b>Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	: Bakır Sülfat
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>CSC</b>	: Cancer Stem Cell
<b>DC</b>	: Dendritik Hücreler
<b>DMSO</b>	: Dimetil Sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>ds</b>	: Çift Zincirli
<b>ELISA</b>	: Enzyme – Linked Immuno Sorbent Assay
<b>FISH</b>	: Floresan In situ Hibridizasyon
<b>G</b>	: Guanin
<b>GI</b>	: Gastrointestinal
<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus
<b>HLA</b>	: İnsan Lökosit Antijeni
<b>hTER</b>	: İnsan Telomerik RNA Şablonu
<b>kb</b>	: Kilobaz
<b>LAMP – 1</b>	: Lizozoma Bağlı Membran Proteini
<b>MHC</b>	: Büyük Doku Uygunluk Kompleksi
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>NSAID</b>	: Sterodial Olmayan Anti-inflamatuar İlaç

<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	: Sodyum Karbonat
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PD</b>	: Parkinson Disease
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>RNAi</b>	: Ribonükleik Asit İnterferans
<b>RNP</b>	: Ribonükleoprotein
<b>RISC</b>	: RNA Kaynaklı Susturma Kompleksi
<b>rpm</b>	: Revolutions Per Minute
<b>RTA</b>	: Relatif Telomeraz Aktivitesi
<b>RTI</b>	: Ters Transkriptaz İnhibitörleri
<b>ss</b>	: Single Strand
<b>T2D</b>	: Tip II Diyabet
<b>TER</b>	: Telomerik Ribonükleik Asit Bileşeni
<b>TERT</b>	: Telomerik Ters Transkriptaz
<b>TRF – 1</b>	: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 1
<b>TRF – 2</b>	: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 2
<b>°C</b>	: Santigrat Derece
<b>µL</b>	: Mikrolitre

# ÖZET

## Yüksek Lisans Tezi

### Metformin, İbuprofen ve Asetilsalisilik Asitin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Aykut Topal

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ayşe Gül Mutlu Gülmemiş

Ağustos, 2019

Ökaryotik kromozomların stabilitesi ve replikasyonu için önemli olan DNA yapılarına “telomer” denir. Telomerler her hücre bölünmesinde kısalmakta ve telomer yapısını uzatan telomeraz enzimi yeterli aktiviteyi gösteremezse, hücre kritik bir uzunlukta bölünmeyi durdurmaktadır. Bu durum yaşlanmanın da sebeplerinden biri olarak görülmektedir. Bunun aksine telomerlerin kısalmadığı kanser hücrelerinde ise sınırsız bölünmeyi sağlayan, büyük ölçüde telomeraz enzimi aktivitesidir. Bu yüzden telomeraz enzimi hem yaşlanma hem de kanser için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada kullanılan metformin, ibuprofen ve asetilsalisilik asit, dünya çapında reçeteli veya reçetesiz bir şekilde milyonlarca insan tarafından kullanılabilen ilaçlardır. Bu tez çalışmasında bu ilaçların *Mus musculus swiss albino* farelerin karaciğer dokusunda telomeraz aktivitesi üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Telomeraz aktivitesi PCR-ELISA bazlı bir kit ile ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre metformin, uyguladığımız dozların düşük olanında, telomeraz enzim aktivitesi üzerinde hafif bir inhibitör etki göstermiştir. İbuprofen’de ise yüksek doz kullanıldığında anlamlı, düşük dozda ise az da olsa bir inhibitör etki söz konudur. Asetilsalisilik asitte ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hafif bir aktivatör etki tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** telomer, telomeraz, metformin, ibuprofen, asetilsalisilik asit

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0546-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

## **SUMMARY**

**M. Sc. Thesis**

**The Effects of Metformin, Ibuprofen and Acetylsalicylic Acid on Telomerase Enzyme Activity**

**Aykut Topal**

**Burdur Mehmet Akif Ersoy University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology**

**Prof. Dr. Ayşe Gül Mutlu Gülmemiş**

**August, 2019**

DNA structures that are important for the stability and replication of eukaryotic chromosomes are called “telomeres”. Telomeres shorten at each cell division and if the telomerase enzyme, which extends the telomere structure, does not show sufficient activity, the cell stops dividing at a critical length. This is seen as one of the reasons of aging. In contrast, in cancer cells where telomere is not shortened, it is largely the activity of telomerase enzyme, which allows for unlimited division. The telomerase enzyme is therefore critical for both aging and cancer. Metformin, ibuprofen, and acetylsalicylic acid used in this research are drugs that can be used by millions of people over the world, with or without a prescription. In this thesis, the effects of these drugs on telomerase activity in liver tissues of *Mus musculus* swiss albino mice were investigated. Telomerase activity was measured by PCR-ELISA based method. According to the data obtained, metformin showed a slight inhibitory effect on telomerase enzyme activity in the lower doses. In ibuprofen application, there is a significant inhibitory effect when high doses are used, and a low inhibitory effect at low doses. In acetylsalicylic acid application, a slight activator effect was detected, although not statistically significant.

**Keywords:** telomere, telomerase, metformin, ibuprofen, acetylsalicylic acid

The present M.Sc. / Ph. D. Thesis was supported by Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Unit Under the Project number of 0546-YL-18.

# 1. GİRİŞ

Ökaryotik kromozomların uçlarına “telomer” denir. 1930'ların sonlarında ilk önce Herman Muller tarafından sineklerde, sonra da mısırlarda Barbara McClintock tarafından keşfedilmiştir. Muller, bu yapının kromozom stabilitesi için gerekli olduğunu söylemiştir. McClintock, telomerlerin temel işlevlerinden birinin de kromozom uçlarının hem birbirleriyle hem de indüklenmiş çift sarmal kopuklarıyla kaynaşmasını önlemek olduğunu ortaya koymuştur (Zakian, 2012). Daha sonra birkaç bilim insanı siliyat protozoalarda kromozomal genomu sıralamaya başlamıştır ve organizmaya bağlı olarak G-C bakımından zengin sekansların tandem tekrarlarından oluştuğunu bulmuşlardır. Bu önemli çalışmalarda Szostak ve Blackburn, siliyat *Tetrahymena thermophila*'nın terminal tekrarlarının, tomurcuklanma mayası *Saccharomyces cerevisiae*'de telomer işlevi sağlayabildiğini gösterdiklerinde bu dizilerin işlevsel ilişkisini göstermişlerdir. Bu çalışmaların bir parçası olarak, *Saccharomyces*'in kromozom uçlarının siliyatlarda gözlenenden farklı olmayan sekans tekrarları içerdiğini de göstermişlerdir. Bunun sonucunda basit telomerik tekrarlar insanlar dahil birçok yüksek ökaryotta tanımlanmıştır. Omurgalılarda, telomerlerin uzunluğu tipik olarak 10 ila 50 kb'dir. 5'TTAGGG 3'ün ikili tekrarlarından oluşur. Telomerin uzunluğu, türlere göre değişebilmektedir. İnsanlarda yaklaşık 10 kb iken *Mus musculus* doğal suşlarında 50 kb'dir. Ayrıca, telomer uzunluğu ilgili dokunun hem tipine hem de replikasyon geçmişine bağlıdır (Johnson ve Broccoli, 2007).

1980'lerin ortasında Blackburn ve Greider'in, doğal kromozom uçlarına tandem heksanükleotitler ekleyen hücre özütleri içindeki enzimatik bir aktivitenin varlığını gösteren çalışması sonunda telomerazın keşfedilmesine neden olmuştur (Lu vd., 2013). Telomer DNA, telomerlere özel spesifik bir ters transkriptaz yani telomeraz ile normal DNA sentezinden bağımsız olarak eklenmektedir. Telomeraz, telomer DNA'nın sentezi için RNA şablonu içermektedir. Son çalışmalar telomer uzunluğunun hem insan tümör oluşumunda hem de yaşlanmasında rol oynadığını göstermektedir. Somatik hücrelerde telomeraz inaktif bir şekilde etkisizdir. Bu yüzden telomerlerin her bir replikasyon turunda gittikçe kısaldığı, kromozom instabilitesine ve yaşlanmaya yol açtığı görülmüştür (Rhodes ve Giraldo, 1995).

Telomeraz, telomer, yaşlanma ve tümörler arasındaki ilişkinin keşfedilmesi, tümör biyolojisi araştırmalarında önemli bir mesafe kat edilmesini sağlamıştır. İnsanlarda telomeraz, telomerleri kritik derecede kısa olduğunda bölünmeyi durduran somatik hücrelerin çoğunda

etkin değildir. Bu replikatif yaşlanma olarak da bilinmektedir. İnsan hücrelerinin çoğu, yaşlanmayı ve krizi yenemez. Bu da hücre büyümesini kısıtlar ve onkogeneze karşı korumaktadır. Birçok insan hücresi telomeraz düzenlemesi gibi bir mekanizma edinmediği sürece, hücre büyümesi ve ölüm arasındaki denge gibi kriz döneminde kalmaktadır. Kaçış krizini sürdüren hücreler sürekli büyüebilir ve genellikle telomer stabilitesi ve telomeraz aktivitesi ile karakterize edilir. Bunun kanserojenizde çok önemli bir adım olduğuna inanılmaktadır (Chen ve Zhang, 2016).

Gelişmiş kanserli hastalar için tedavi genellikle cerrahi tümör rezeksiyonu, yoğun multimodal kemoterapi, radyasyon terapisi veya bu rejimlerin bir kombinasyonunu içermektedir. İdeal kanser tedavisi özellikle kanserli hücreleri hedef alır ve normal hücreler üzerinde çok az etkisi olur veya etkisi olmaz. Neredeyse tüm kanser türlerinde telomeraz aktivitesi saptanırken, normal insan hücrelerinin çoğunun telomeraz sessizliği arasındaki zorlayıcı korelasyon nedeniyle telomeraz, kanser terapötikleri için neredeyse evrensel bir hedef olarak ortaya çıkmaktadır. Telomeraz aktivitesi çoğu insan somatik hücresinde bulunmadığından, telomeraz bazlı tedaviler geleneksel kemoterapötik yaklaşımlara kıyasla daha fazla spesifikliğe, daha düşük toksisiteye ve azaltılmış yan etkilere sahip olmaktadır (Shay ve Wright, 2011).

Bu tezin amacı, Tip 2 diyabet için güvenli ve uygun maliyeti sebebiyle sıkça önerilen bir ilaç olan metformin (Huffman vd., 2016), dünya çapında büyük miktarlarda üretilmiş ve Dünya Sağlık Örgütü'nün ilaç listesindeki başlıca ilaçlardan ibuprofen (Mathias vd., 2018) ve çoğu ağrı ve ateş yükselmesi durumunda sıkça reçetesiz olarak kullanılabilen ve bu sebeple dünya çapında en popüler ilaçlardan biri olan asetilsalisilik asitin (Modena vd., 2017), fare telomerazları üzerindeki potansiyel aktivatör veya inhibitör etkilerinin saptanmasıdır.

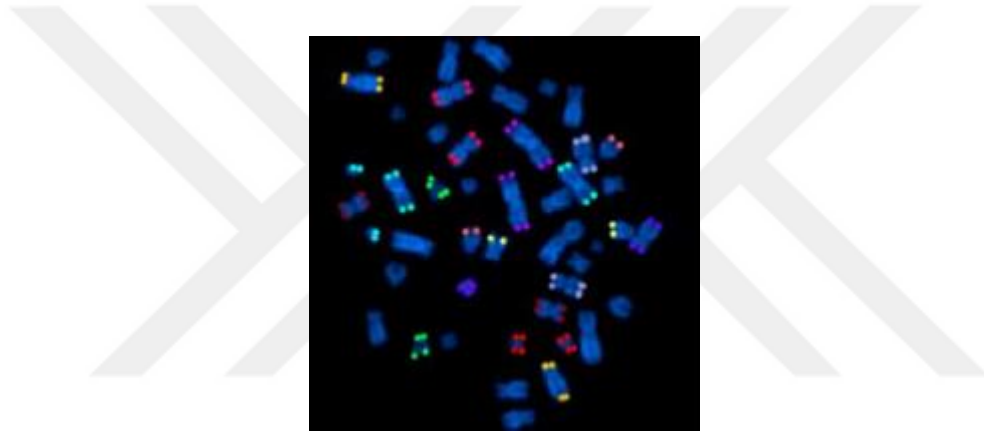
Bu ilaçların seçilme sebebi her üçünün de antikanser veya ömür uzatıcı etkilerinin olduğuna dair literatürdeki bazı bilgilerdir. Telomeraz enzimi hem kanser hem de ömür uzunluğu üzerinde etkili olan bir enzim olduğu için, bu ilaçların literatürde bahsedilen bazı etkilerinin telomeraz kaynaklı olup olmadığının araştırılmasının faydalı olacağı düşünülmüştür.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Telomer Yapı ve Fonksiyonu

70 seneden daha uzun bir süre önce Muller ve McClintock, ökaryotik kromozomların uç kısımlarının farklı bir yapıya sahip olduğunu saptamışlardır (Gomez vd., 2012). Önce Herman Muller tarafından sineklerde, sonra da Barbara McClintock tarafından mısırdaki keşfedilen, (Zakian, 2012) ökaryotik kromozomların uç kısımlarına konumlanmış özel DNA yapılarına “ telomer” denir (Iwano vd., 2003). Kromozomların uçları olan telomerler, ökaryotik kromozomların stabilitesi ve replikasyonu için önemlidir (Chang vd., 2004). Şekil 2.1’ de kromozom ucundaki telomerler gözükmektedir.



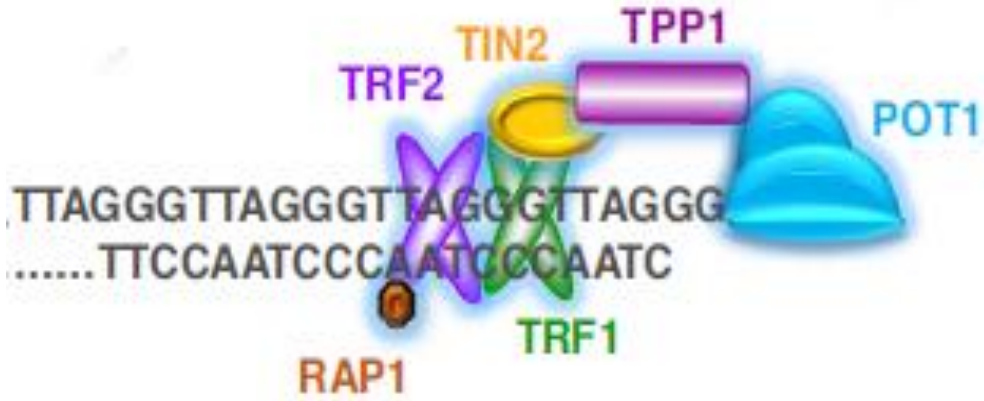
**Şekil 2.1.** Telomerin FISH yöntemi ile görüntülenmesi (Popp vd., 2002)

Telomerlerin moleküler analizi, 1970'lerin sonunda Tetrahymena kromozomlarının en uç kısmının 5'-TTGGGG-3 'dizisinin tekrarlarından oluştuğu keşfedilince başlamıştır. Daha sonra yapılan çalışmalar, telomer yapısının yüksek oranda korunduğunu ve hemen hemen tüm ökaryotik telomerlerin G bakımından zengin tekrarlardan oluştuğunu ortaya koymuştur (Shippen ve McKnight, 1998). Bu dizilerin ve bu tekrarların organizasyonu birçok türe göre değişebilir çünkü bu tekrarlar genellikle 3 veya daha fazla G grubunu içerir ve bunları içeren iplik her zaman kromozomların 3' ucunu oluşturur. Telomerdeki tekrar sayısı farklı organizmalar arasında ve bir organizmadaki farklı telomerler arasında bile farklılıklar gösterebilir. İnsanlar dahil tüm omurgalılar için, tekrarlayan dizi TTAGGG'dir (Gomez vd., 2012). İnsan kromozomlarında telomerlerin uzunluğu yaklaşık 15 kbp'dir (Chang vd., 2004).

Buna karşılık fareler 50 kb'yi aşabilen çok daha uzun telomerik DNA dizilerine sahiptir (Broccoli, 2004).

Bugüne kadar incelenen tüm normal somatik hücrelerde kromozomların telomerik dizilerinin hücre bölünmesi başına yaklaşık 50 ila 200 nükleotitini kaybettiğini, bu durumun DNA polimerazın lineer DNA'nın kopyalarını çoğaltmadaki yetersizliği ile tutarlı olduğu gösterilmiştir. Telomerlerin bu kısalmasının, hücrelerin bölünmelerini sayan mitotik bir saat olduğu öne sürülmüştür ve yeterince kısalan bir telomer yapısı normal hücrelerde replikatif yaşlanmanın bir işareti olarak kabul edilmiştir. Buna karşın bugüne kadar incelenen tüm ölümsüz hücreler hücre bölünmesinden sonra herhangi bir telomer kaybı yaşamadığından hücrelerin replikatif yaşlanmadan kaçması için telomerlerin korunmasının gerekli olduğunu düşünülmektedir (Kim vd., 1994). Bunun yanında özellikle hematopoetik sistem gibi kendi kendini yenileyen somatik dokularda telomer kaybı diğer somatik sistemlere göre çok daha azdır. (Broccoli, 2004).

İnsanlarda telomerler, ss ve ds telomer DNA ile etkileşime giren RAP1, TIN2, TPP1 ve POT1 ile etkileşen TRF1 ve TRF2'den oluşan altı proteinli bir kompleks tarafından bağlanmaktadır. İnsan hücrelerinde bilinen en iyi telomer bağlayıcı proteinler TRF1 ve TRF2'dir. TRF1'in C-terminali dizisi özel bir telomer DNA fragmanını tanımakla görevlidir. Ayrıca N-terminal ucunda DNA'ya sıkıca bağlanmak için bir dimerizasyon da gerektirmektedir. Aynı zamanda TRF1 telomer uzunluğunun negatif bir regülatörü olarak görev yapmaktadır. Tekrarlanan TTAGGG'ye bağlanan bir başka protein yapısı da yine TRF1 gibi telomer uzunluklarının negatif bir regülatörü olarak görev yapan TRF2'dir. TRF2, telomerdeki çıkıntılı G diziliminin sabitleyicisi olarak önemli bir işleve sahiptir. Ayrıca telomer füzyonlarını da önlemektedir. İnsan telomerlerinde TRF2'nin bağlanmasına yardımcı olan, aşırı ekspresyonu telomer uzamasına neden olan protein yapısı ise RAP1'dir. RAP1 memeli telomerlerinde shelterin kompleksinin bir bileşenidir. Fakat in vivo rolü henüz bilinmemektedir. RAP1 eksikliğinin telomer rekombinasyonunun ve kırılabilirliğinin artmasına yol açtığı gösterilmiştir. RAP1 sadece telomerlere değil aynı zamanda TTAGGG tekrarlı dizinin tanınması sırasında telomerik olmayan diğer bölgelere de bağlanabilmektedir. TIN2 proteininin işlevsel farkları henüz bilinmemektedir. İnsan TPP1 protein yapısının in vivo olarak telomeraz etkileşiminde gerekli olduğunu gösterilmiştir. POT1 protein yapısının ise konumuna bağlı olarak aktivatör veya inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda POT1 protein yapısı telomerlerin korunması için gerekli bir yapıdır (Gomez vd., 2012). Şekil 2.2'de telomer yapısındaki proteinler gösterilmiştir.

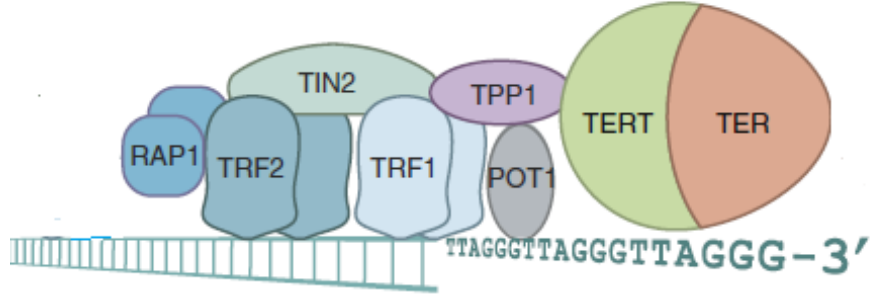


**Şekil 2.2.** Telomer yapısındaki proteinler (Shay, 2018)

Telomerik DNA'nın tamamen replikasyonu telomeraz enzimini gerektirmektedir. Telomeraz ilk olarak telomerik DNA yapısını taklit etmek için tasarlanan hücre özleri ve substratları kullanılarak in vitro şekilde yapılmış biyokimyasal deneylerle keşfedilmiştir. Bu polimerizasyon etkisinin daha sonra in vivo olarak telomerlerde gerçekleştiği gösterilmiştir. İlk olarak “telomer terminal transferaz olarak adlandırılan enzim, daha sonra bilinen adıyla “telomeraz” olarak adlandırılmıştır (Chan ve Blackburn, 2003).

## 2.2. Telomeraz

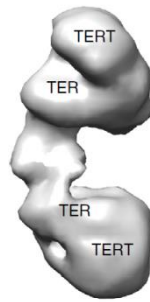
RNA'ya bağlı aktivite gösteren, telomerik DNA sekanslarının de novo sentezi için bir şablon olarak kendi RNA bileşeninin sekanslarını kullanan ve bir ribonükleoprotein kompleksi olduğu belirlenen yapıya terminal transferaz ya da telomeraz denilir (Dahse vd., 1997). Türler arasında telomeraz bileşenlerinin büyüklüğü ve dizisi bakımından önemli farklılıklar vardır, ancak bu farklılıklar enzimin RNA kısmında çok daha belirgin bir durumdadır (Mason vd., 2011). Çeşitli yardımcı proteinler, in vitro enzim aktivitesi için vazgeçilmez olmakla birlikte, düzenleme, biyogenez ve lokalizasyonda önemli roller oynamaktadır (Chen ve Zhang, 2016). Şekil 2.3'de ise telomer yapısındaki proteinlerle telomeraz yapısı gösterilmiştir.



**Şekil 2.3.** Telomer yapısındaki proteinler ve telomeraz (Sandin ve Rhodes, 2014)

### 2.2.1. Telomerazın Yapısı

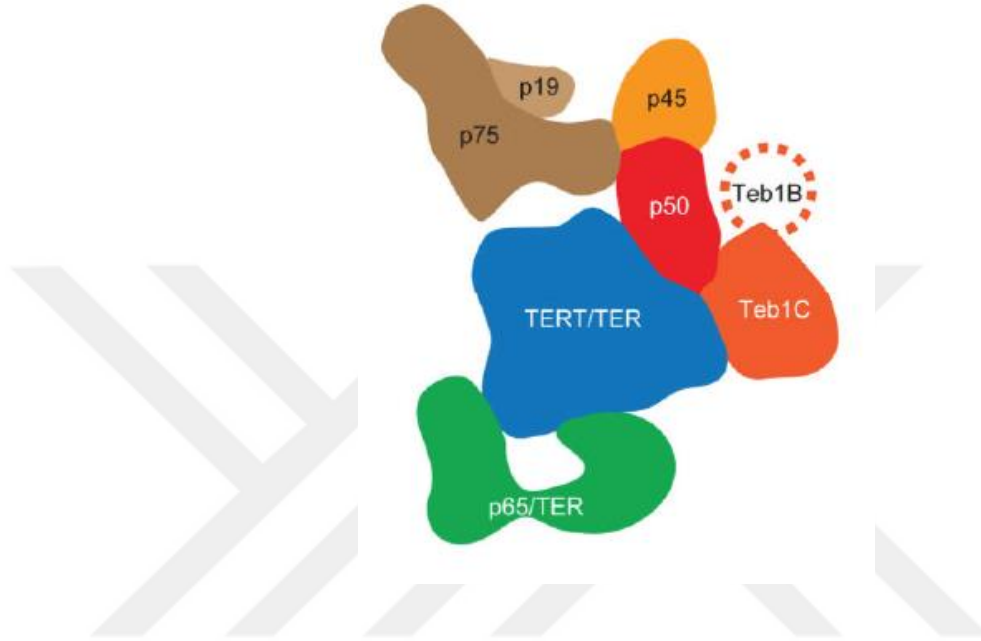
Telomeraz, bir protein katalitik alt birim TERT ve TER olarak adlandırılan bir RNA şablonundan oluşan bir ribonükleoprotein kompleksidir (Schumpert vd., 2015). DNA'ya bağlı DNA polimerazlarının eksik replikasyonları sonucu ortaya çıkan zararı telafi etmek için telomerler diğer DNA replikasyon faktörleri ile koordineli çalışan telomeraz ribonükleoprotein ters transkriptazını kullanır. Telomeraz, kromozom 3' uçlarını uzatmak için integral RNA alt birimi içindeki tanımlı bir diziyi kopyalamaktadır (Cunningham ve Collins, 2005). Telomerazın üç boyutlu yapısı Şekil 2.4'de görülmektedir.



**Şekil 2.4.** İnsan telomeraz dimerinin üç boyutlu yapısı (Sandin ve Rhodes, 2014)

TER, kromozomların 3' ucuna ardışık tekrarların eklenmesi için bir şablon olarak kullanılan telomer tekrarı için bir dizi tamamlama bölgesi içerir. İn vitro telomeraz aktivitesi için sadece TERT ve TER gerekli iken, fizyolojik olarak fonksiyonel bir holoenzim RNP

gereklidir. Bu alt birimlerden üçü TERT, TER ve La-aile proteini p65'in in vivo olarak birleştirilmesi aktif bir RNP için gereklidir. Ayrıca yapıda p75, p50, p45, p19 ve Teb1 gibi protein yapıları da bulunmakla birlikte sadece Teb1'in işlevi bilinmektedir. Teb1 proteini de ekleme işlemi yapılırken DNA ürününün etkileşim ve stabilitesi için gereklidir (Jiang vd., 2013). Telomeraz yapısındaki proteinler ve telomeraz yapısı Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Tetrahymena holoenzim kompleksi (Jiang vd., 2013)

### 2.2.2. Telomerazın Önemi

Doğrusal kromozomlu herhangi bir organizma, sıklıkla " uç replikasyon problemi " olarak adlandırılan DNA'sının terminal sekansının korunmasında önemli bir engelle karşı karşıya kalmaktadır (Rauda ve Skordalakes, 2007). Tek hücreli ökaryotlarda, germ hücrelerinde, kanser hücrelerinin çoğunda ve muhtemelen çok hücreli organizmaların kök hücrelerinde yaşlanmaya karşı koymak için telomerik tekrarların spesifik sentezi telomeraz ile sağlanmaktadır (Kachouri-Lafond vd., 2009). İnsan telomeraz-negatif somatik hücrelerinin her bir bireysel DNA replikasyon olayı, 100 bp telomerik sekans kaybına yol açmakta ve her hücre bölünme ile telomer uzunluğunda bir kısalmaya yol açmaktadır. Bu telomer kısalması nedeniyle, insan somatik hücreleri yaşlanmadan önce sadece yaklaşık 50 ila 80 hücre replikasyon olayına maruz kalabilmektedir. Bu nedenle, telomer uzunluğu normal hücre fonksiyon ve proliferasyonun yanı sıra kromozom stabilitesi için gerekmektedir

(Schumpert vd., 2015). Somatik hücrelerin çoğu düşük telomeraz aktivitesine sahiptir, bu da telomer uçlarının eksik replikasyonu nedeniyle telomer yıpranmasına neden olur ve bu da hücrel yaşlanmaya veya apoptoza yol açabilmektedir (Singh vd., 2012).

Yapılan çalışmalar, daha kısa telomerleri ve düşük telomeraz düzeylerini olumsuz sağlık davranışları, yaşlanma, yaşa bağlı hastalıklar ve mortalite ile ilişkilendirmiştir (Glaser ve Glaser, 2010).

Telomer uzunluğu ve aktivitesinin insan sağlığı üzerindeki etkileri yaşlı nüfus arttıkça daha da önemli hale gelmektedir. Bu, kardiyovasküler sistemin savunmasız organları için bir endişe kaynağıdır. Yaşlanmaya ek olarak, yüksek stres ve zayıf beslenme gibi yaşam tarzı, azalan telomer uzunluğu ve zararlı sağlık sonuçları ile de ilişkilidir. Telomerazın farmakolojik aktivasyonu bazı hastalıkların tedavisi ve yaşlanma sürecini geciktirmek için bir besin takviyesi olarak önerilmiştir (Wills ve Schnellmann, 2011).

Telomer uzunluğunu yaşlanma sürecine bağlayan ilk bağlantı, insan primer fibroblastlarının, donör yaşı arttıkça daha kısa telomerlere sahip olduğu ve telomerlerin kritik derecede kısa bir boyuta ulaştığı zaman, proliferatif yetenek kaybı olduğu bilinen hücreler için bir başlıca koşulu olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle yetişkin kök hücre bölünmeleri bağlamında telomer kısalmasının, kök hücre mobilizasyonunun ciddi şekilde bozulmasına ve dokuların yeniden üretilebilme kabiliyetinde bir bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni, kısa ve / veya korunmasız kromozom uçlarının, DNA tamir mekanizmasını ve p53 yolunun aracılık ettiği hücrel yaşlanmayı veya apoptozu tetikleyen, kalıcı ve / veya onarılamayan DNA kopmaları olarak tanınmasıdır (Jesus ve Blasco, 2013).

Kök hücreler ve lenfositler dışındaki çoğu insan somatik hücrelerinde, doğumdan sonra telomeraz aktivitesi azalır, böylece telomer uzunluğu her bir hücre bölünmesiyle kısalır. Doğru telomer işlevini sağlamak ve replikatif yaşlanma veya hücre ölümü ile sonuçlanan DNA hasar yollarının aktivasyonunu önlemek için kritik uzunlukta bir telomer tekrarı gerekmektedir. Kök hücreler çoğalma kapasitesine sahip olduklarından, birçok hücre bölünmesi yoluyla telomer uzunluğunu koruyan bir mekanizmaya sahip olmalıdırlar. Aslında, nöronal, cilt, intestinal kript, meme epitel, pankreas, adrenal korteks, böbrek ve mezenkimal kök hücreler gibi hematopoetik ve hematopoetik olmayan kök hücreler dahil olmak üzere insan yetişkin kök hücrelerinde düşük telomeraz aktivitesi seviyeleri bulunmuştur. Temel olarak, insan ve fare hücrelerinde telomer ve telomeraz aktivitesi farkı göz önüne alındığında, kök hücre popülasyonlarında telomer ve telomeraz durumu insanlar ve fareler arasında farklıdır. Telomeraz düzeyi, insan kök hücrelerinin çoğunda düşüktür, oysa, hematopoetik progenitör hücreler, aktive edilmiş lenfositler veya keratinositler gibi hızlı genişlemeye maruz

kalan hücrelerde ve hatta bazen beyin gibi telomeraz aktivitesi düşük hücreli dokularda bile artabilmektedir.

Telomeraz çekirdek bileşenlerinde, TERT ve TER mutasyonları, aplastik anemi ve diskeratoz konjenital muzdarip hastalarda bulunmuştur. Her iki hastalık da, hematopoetik kök hücre bölünmesinin korunmasındaki kusurlardan kaynaklanan kemik iliği yetmezliği ve / veya cilt anormallikleri ile karakterize edilir. Ayrıca, telomeraz rolünün önemli olduğu iki biyolojik süreç olan kanser ve yaşlanma, kök hücre hastalıkları olarak giderek daha fazla tanımlanmaktadır. Örneğin, bazı kanserler, normal kök hücrelerin veya progenitör hücrelerin, kanser kök hücreleri olarak adlandırılan transformantlarından kaynaklanabilir, oysa yaşlanma bazı kök hücrelerde progresif bir fonksiyonel azalmayla indüklenir (Hiyama ve Hiyama, 2007).

Telomeraz aktivitesindeki bir artış, genellikle kanserin bilinen bir işareti olan hücrelerin kontrolsüz büyümesiyle doğrudan ilişkilidir. Telomeraz ve özellikle de katalitik alt birimi TERT, kanserlerin % 85-90'ında aşırı etkilidir ve yaygın olarak kabul edilebilir bir tümör belirteci ve antikanser terapötikleri için popüler bir hedef haline gelmiştir. Kromozomal sapmalar ve gelişen kanser hücreleri, bir DNA hasar sinyaline maruz kalması sonucu telomerazın aktivasyonunu veya reaktivasyonunu gösterir. Böylece hücre döngüsü kontrol noktalarını atlar ve kontrolsüz büyümeye ve proliferasyona yol açar. Kanser tedavisinde telomeraz hedeflemenin iki genel stratejisi vardır. Bunlardan biri telomer kısalmasına yol açan telomeraz katalitik aktivitesinin doğrudan inhibe edilmesidir. Diğeri ise telomeraz alt birimlerinin ekspresyonunun azaltılması veya telomerazın substratlarına erişiminin bloke edilmesidir (Chen ve Zhang, 2016).

Kanser hücrelerinde telomerlerin uzunluğu, her hücre döngüsündeki telomer kısalması ile telomeraz aktivitesinden kaynaklanan telomer uzaması arasındaki dengeye bağlıdır. Orijinal dokuya göre daha kısa telomerlere sahip tümörler, birçok kanser türünde tespit edilmiştir. Nöroblastomda, endometrial kanser, meme kanseri, lösemiler ve akciğer kanseri, azalan telomer uzunlukları ile artan hastalığın şiddeti arasında bir ilişki tanımlanmıştır. Kısa telomerler malign hücrelerde karyotip instabilitesinin birincil nedeni gibi görünmektedir.

Nöroblastom gibi bazı tümör tipleri erken evre kanserlerinde daha düşük telomeraz aktivitesi gösterirken geç evre vakalarında ekspresyon daha yüksektir. Kısa telomere sahip olan veya hiç telomeraz aktivitesi olmayan veya zayıf telomeraz aktivitesi olan özel bir evrede nöroblastomların kendiliğinden gerileme eğiliminde olduğu gözlenmiştir.

Kanser tanısında ve klinik sonucun prognostik bir göstergesi olarak telomeraz aktivitesinin bir başka örneği mide kanserlerinde bulunan sonuçlardır. Hiyama ve diğ.,

çalışmalarında saptanabilir telomeraz aktivitesi olan tümörleri olan hastaların hayatta kalma oranlarının telomeraz aktivitesi olmayanlara göre daha kısa olduğunu göstermiştir.

Bu bulgular telomerazın yeniden aktive edilmesinin, hücre ölümsüzleşmesinde ve çoğu tümörjenez durumunda zorunlu bir olay olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, enzimin herhangi bir inhibisyonu, telomer kısalmasının yeniden başlamasına yol açabilir ve hücre yaşlanma yolunu aktive edebilir. Telomerazın birçok insan somatik dokusunda bulunmaması ve gerekli olmaması, ancak tümör büyümesi için gerekli olması, bu enzimi antikanser tedavisi için ideal bir hedef haline getirmektedir.

Kanser tedavisindeki en büyük zorluklardan biri, istenen reaksiyonları maksimize ederek ve istenmeyen yan etkileri en aza indirerek yüksek bir terapötik etki elde etmektir. İn vivo olarak yararlı bir antitümör etkisi elde etmek için; antitümör ajanın tümör hücrelerinin çoğuna ve belki de % 100'üne sokulması, hedefe ulaşan antitümör ajan, tümör hücre ölümü, normal hücrelere kabul edilebilir toksisite, zararlı bir konak immün tepkisinin olmaması gibi koşulların sağlanması gerekmektedir.

Bu hedeflere ulaşmak için en umut verici yaklaşımlardan biri oligonükleotit bazlı gen terapisi. Genetik bilginin ekspresyon, tamamlayıcı duyu ve antisens nükleik asit tellerinin eşleştirilmesiyle düzenlenmesi, "antisens" olarak adlandırılmıştır. Artık, bir sekansta genlerin ekspresyonuyla eşleşebilen ve fonksiyonel olarak inhibe edebilen antisens DNA oligonükleotitleri veya antisens RNA'ları tasarlamak mümkündür. Bu yüksek özgüllük derecesi, antisens yapıları terapötik ajanlar için çekici adaylar haline getirmiştir (Dahse vd., 1997).

Telomeraz inhibisyon özelliklerine sahip birkaç sentetik bileşik son yıllarda geliştirilmiş olmasına rağmen, bu bileşiklerin çoğu oldukça toksiktir. Ek olarak, bu inhibitörlerin telomeraz üzerinde doğrudan veya dolaylı bir etkiye sahip olup olmadıklarını belirlemek zor olabilir. Bileşikler, telomeraz inhibisyonuna doğrudan neden olabilirler veya apoptozis yoluyla hücre ölümüne neden olarak telomeraz aktivitesini yavaşlatıp veya durdurabilirler. Telomeraz inhibitörleri geliştirmek için RNA şablonu, TERT proteini ve ilgili proteinler gibi çeşitli hedeflerin araştırılması gerekmektedir. Klinik olarak ilgili bir bileşik olan imetelstat, telomeraz aktivitesinin spesifik bir oligonükleotid rekabetçi inhibitörü olarak bugüne kadar geliştirilmiştir.

Telomer uzunluğu hücre yaşlanma ile ilişkili olduğundan, normal hücre yaşlanmayı tersine çevirmek ve yaşlanmanın semptomlarını tedavi etmek için telomeraz aktivatörlerinin geliştirilmesine yönelik ilginç sorunlar olmuştur. Geron Corp ve TA Therapeutics tek bir molekül telomeraz aktivatörü, sikloastragenolü geliştirmişlerdir. Bu



küçük molekülün artık çoğalmayan T lenfositlerdeki telomerazı geçici olarak aktive ettiği gösterilmiştir. Sürekli tedavi ile, bu ajan HIV / AIDS ve bağışıklık yetmezliği olan hastalar için yararlı olabilir. Ayrıca, bu molekül bağışıklık fonksiyonunu ve cilt durumunu iyileştirmek için nutrasötikler ve kozmesötikler geliştirmek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu ürünlerin hareket mekanizmasını ve güvenliğini belirlemek için daha fazla çalışma yapılmalıdır (Sprouse vd., 2012).

Telomer uzunluğunu stabilize eden telomerazdan bağımsız mekanizmalar da mevcut olabilir. Yapılan çalışmalar sonucunda ölümsüz insan hücrelerinde saptanabilir telomeraz aktivitesi olmayan telomer uzaması olduğu da bildirilmiştir (Dahse vd., 1997).

### **2.2.3. Telomeraz İnhibisyon Yöntemleri**

1990'ların başında, telomer, telomeraz, yaşlanma ve kanser arasındaki ilişkinin keşfedilmesi tümör biyolojisi araştırmalarında antikanser tedavisi için tamamen yeni bir yol açmıştır. Telomeraz aktivitesi olmayan ve yaşlanmaya girinceye kadar her hücre bölünmesinde telomer kısalması yaşayan çoğu normal insan hücresinden farklı olarak hücre döngüsü kontrol noktalarında sorunlu olan hücreler (örn., P53, p16 veya ARF / CDKN2A içermeyen erken evre malign hücreler) bölünmeye devam etmektedir. İnsan hücrelerinde, hücre büyümesini sınırlayan bu iki mekanizma (yaşlanma ve kriz) kansere karşı korunma için güçlü mekanizmalardır. İnsan hücrelerinin çoğu bu kriz döneminde kalır, hücre büyümesi hücre ölümü ile dengelenir, ancak nadir durumlarda bir hücre, telomerleri koruyabilen veya uzatabilen telomeraz ifadesi gibi bir mekanizma kazanır. Krizden kaçan hücreler genellikle iki özellik ile karakterize edilmektedir. Bu özellikler telomer stabilitesi ve telomeraz ekspresyonunun yeniden etkinleştirilmesidir. Bu nadir görülen hücre tipi daha sonra sürekli olarak büyüyebilir. Bunun da kanserojenezde çok önemli bir adım olduğuna inanılmaktadır (Mocellin vd., 2013).

#### **2.2.3.1. Antisens Oligonükleotitler (AS-ODNs)**

Telomeraz hedeflemesi için antisens oligonükleotitler yaklaşımı ilk olarak mRNA'nın translasyonunu RNA'yı tamamlayan bir sekansla engellemek için türetilmiştir. Başlangıçta, 1995'te bir antikanser tedavisi olarak kullanılmıştır. AS-ODN'ler, telomerazın katalitik bileşenini veya RNA şablonunu hedeflemek için kullanılmakta ve kısa tek iplikli DNA dizilerinden oluşmaktadır. RNA şablonuna tamamlayıcı şekilde bağlanarak telomeraz aktivitesini inhibe eder. AS-ODN'ler üzerinde yoğun olarak çalışılmış ve son on yılda yapıları

değiştirilip ve önemli ölçüde geliştirilmiştir. Halen geliştirilmekte olan en başarılı AS-ODN'ler GRN163L ya da imetelstat olarak adlandırılan oligonükleotidlerdir.

#### **2.2.3.1.1. GRN163L**

GRN163, en umut verici oligonükleotittir. hTER'i hedef almaktadır. GRN163, telomerazın inhibe edilmesinde iyi sonuçlar vermesine rağmen, bir lipit taşıyıcısının eksikliği ve sınırlı alım nedeniyle potansiyeli düşük kalmıştır. Bu sorunu çözmek için, GRN163L adlı bir lipit modifiyeli versiyon geliştirilmiştir. GRN163L, doğrudan bir telomeraz RNA şablonu antagonisti olarak görev yaparak telomeraz aktivitesinin inhibe edilmesine neden olmaktadır (Ruden ve Puri, 2013).

#### **2.2.3.2. Hammerhead Ribozimler**

Hammerhead ribozimler, spesifik endoribonükleaz aktivitesine sahip küçük RNA molekülleridir. Hedef bölgenin tanınmasında işlev gören anti-sens dizileriyle çevrili bir katalitik çekirdekten oluşurlar. Yokoyama ve arkadaşları, hTERT'de farklı dizilerin 3' ucunu hedef alan üç farklı ribozim yapısı kullanmış ve bunları bir endometriyal kanser hücresi hattına sokmuşlardır. Şablon bölgeyi hedefleyen ribozimin telomeraz aktivitesinin azaltılmasında etkili olduğu ve buna ek olarak dört haftalık bir süre içinde telomer kısalmasına neden olduğunu kanıtlamışlardır. Bu süre zarfında bu hücrelerde proliferasyon hızında bir değişiklik görülmemiştir. (White vd., 2001).

#### **2.2.3.3. Baskın Negatif hTERT**

Baskın negatif -hTERT yapıları, hTER'yi bağlayarak ve kenetleyerek telomeraz aktivitesinin telomerlerin korunmasını potansiyel olarak engelleyebilen katalitik olarak inaktif hTERT mutantlarıdır. Bu mutasyona uğramış telomeraz, telomerik yapıları bağlar, ancak telomeraz-ilişkili RNA'yı bağlamaz. Dolayısıyla, yeterince yüksek seviyelerde eksprese edilirse, böyle bir telomeraz mutanlığı, gerekli bir telomeraz bileşenini tüketmek için kullanılabilir ve böylece telomeraz aktivitesinin bir inhibitörü olarak işlev görebilir.

#### **2.2.3.4. Ters Transkriptaz İnhibitörleri**

Ters transkriptaz inhibitörleri (RTI), ters transkriptaz enziminin uygun şekilde çalışmasını engelleyen bir moleküller sınıfıdır. Genellikle DNA'ya entegre olmaları için endojen nükleik asitlerle rekabet ederek hareket edip daha sonra ters transkriptazın zincir

uzatma fonksiyonuna müdahale ederler. RTI, HIV tedavisinde yoğun olarak çalışılmış ve kullanılmıştır.

### **2.2.3.5. RNA İnterferans (RNAi)**

RNA interferans, genlerin ekspresyonunu modüle eden bir transkripsiyon sonrası gen susturma anti-sens mekanizmasıdır. RNAi, uzun çift sarmallı RNA moleküllerinin, kendisinden 20-21 nükleotid daha kısa dsRNA fragmanlarına bir endoribonükleaz enzimi olan Dicer tarafından işlenmesini ve sonrasında ökaryotik hücrelere sokulmasını sağlamaktadır. Bu fragmanlar daha sonra çözülerek RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) ve bunu takiben antisens sarmalının RISC'ye entegrasyonu ile tek ipliklere ayrılır. Daha sonra, RISC'deki ssRNA'lar Watson Crick baz eşleşmesi ile hedef RNA'larına bağlanır ve mRNA'nın RISC'nin endonükleaz aktivitesi ile bölünmesini sağlar.

Çeşitli araştırma çalışmaları, RNAi'nin telomeraz enzim aktivitesini önemli ölçüde önleyen bir araç olarak önemini göstermiştir. RNAi, SEG-1 Barrett's adenokarsinom hücreleri, CCL-121 insan osteosarkom hücreleri, HT-1080 insan fibrosarkom hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli insan kanserli hücrelerde telomeraz aktivitesinin inhibe edilmesine yol açan hem hTERT hem de hTER'nin hedeflenip azaltılmasında başarılı olmuştur (Agrawal vd., 2012).

### **2.2.3.6. İmmünoterapi**

hTERT'in immünoterapi için potansiyel bir hedef olarak keşfedilmesi durumu, tümörle ilişkili antijenlerin, spesifik anti-kanser T-lenfosit tepkilerine karşı aracılık edebileceğinin anlaşıldığı son 10 yıldaki deneysel bulgulara dayanmaktadır. 1990'ların başlarından kalma öncü çalışmalarda, anti-kanser T hücresi tepkilerinin moleküler hedefleri, hasta kaynaklı T hücrelerinin kapsamlı analizleriyle karakterize edilmiştir. Her ne kadar bu çalışma başlangıçta melanomayı temel alsada, daha sonra T-lenfositlerinin potansiyel olarak saldırabileceği diğer bazı malignitelere de genişletilmiştir. Kansere karşı antijen spesifik terapötik aşılama stratejileri geliştirmeye yönelik yöntemler, özellikle melanom ve hematolojik malignitelerdeki çalışmalar sonucunda, tümörle ilişkili antijenlere karşı aşılamanın güvenli ve potansiyel olarak etkili olduğu düşüncesini büyük ölçüde arttırmıştır (Vonderheide, 2002).

#### **2.2.3.6.1. GRNVAC1**

Dendritik hücreler, güçlü bağışıklık tepkisi üretebilen ve güçlü T-hücresi epitoplarnı tümörler için kullanılabilen en verimli antijen sunan hücrelerdir. MHC allel kısıtlamasına göre

sınırlanmadıklarından, birçok HLA alleli tipi için epitoplari kodlayabilirler. GRNVAC 1, hem CD4 + hem de CD8 + immün tepkilerini uyarabilen otolog bir dendritik hücre aşısıdır. GRNVAC1, hTERT'i ve lizozoma bağılı membran proteininin bir kısmını kodlayan tam bir mRNA sekansıyla ex vivo olarak transfekte edilmiş olgunlaşmamış DC'lerden oluşur. LAMP-1, hTERT'yi bir lizozoma yönlendirerek peptitlere kolayca ayrıştırır ve daha güçlü bir immün tepkiye yol açar (Ruden ve Puri, 2013).

### **2.2.3.7. Gen Terapisi**

Telomeraz gen terapisinde, intihar gen terapisi ve onkolitik viral terapi olmak üzere iki genel yaklaşım vardır. Telomeraz gen terapisinin prelinik çalışmaları, normal hücre suşları ve kapsamlı bir kanser modelleri dizisi kullanılarak, özgüllük ve etkinliğe dikkat çekmektedir. Hem hTERT hem de hTER promotörleri, onkolitik virüs ve intihar gen terapisi ortamlarında, çalışmalarında ümit vaat etmektedir. Bununla birlikte onkolitik virüs çalışmalarından ortaya çıkan hedef dışı etkiler konusunda bazı küçük kaygılar bulunmaktadır.

#### **2.2.3.7.1. İntihar Gen Terapisi**

Adeno ile ilişkili virüsler düşük immünojeniklik gösterir, bilinen bir patojeniteye sahip değildir, proliferatif olmayan hücreleri hedef alır ve ayrı genom yerleştirme bölgelerine sahip olabilir. “İntihar” gen terapisinin, bir AAV vektörünün kullanımıyla oral kanser hücre çizgilerinde uygulanabilir olduğu gösterilmiştir. AAV vektörleri ayrıca, klinik öncesi kanser modellerinde antisens veya ribozim genlerini transfer etmek için başarıyla kullanılmıştır. AAV vektörlerinin beyinde, iskelet kasında, karaciğerde ve muhtemelen CD34 + kan hücrelerinde verimli bir şekilde transdüksiyona neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bazı hücreler çok yüksek bir enfeksiyon çeşitliliğine ihtiyaç duyar yani transdüksiyonu sağlamak için gereken hücre başına viral parçacıkların sayısı değişkenlik göstermektedir. AAV genomu küçüktür. Yaklaşık 4.8 kb'lık bir DNA için olarak sağlamaktadır. Bunun yanı sıra viral partiküllerin üretimindeki problemler henüz tam olarak çözülememiştir (Mali, 2013).

#### **2.2.3.7.2. Onkolitik Viral Terapi**

Bu yaklaşım, telomeraz eksprese eden kanser hücrelerini seçici olarak hedef almalarını ve yok etmelerini sağlayan onkolitik veya kanser öldürücü özelliklere sahip olmak için manipüle edilmiş veya tasarlanmış adenovirüslerden faydalanır. Adenovirüs replikasyonunu düzenleyen telomeraz (hTERT) geninin promotör bölgesi, kanser hücrelerinde seçici viral

yayılım sağlar, ancak telomeraz ifade etmeyen normal hücelere izin vermez. Böylece, telomeraz spesifik virüsü içeren telomeraz eksprese eden tümör hüceleri, sonunda bitişik hücelere yayılarak lizis olur. Bu aynı tasarlanmış virüsler normal somatik hüceleri enfekte ettiğinde, çoğaltma veya öldürme etkisi olmaz (Shay ve Keith, 2008).

#### **2.2.3.8. BIBR1532**

BIBR1532, bugüne kadar en umut verici hTERT spesifik aktif bölge inhibitörlerinden biridir. BIBR1532, hTERT'nin aktif bölgesine rekabetsiz bir şekilde bağlanarak telomerazı inhibe eden, nükleotidik olmayan, küçük molekülü bir sentetik bileşiktir. BIBR1532, temel şablon kopyalama adımlarını engellemez, fakat TTAGGG tekrarlarının sayısını azaltarak özellikle şablon kopyalama üzerine DNA substratının uzamasını etkiler. Bu nedenle, BIBR1532'nin enzim-DNA-substrat kompleksinin translokasyonu üzerinde bir etkiye sahip olabileceğinden veya enzim şablon kopyalama sırasında DNA substratından ayrılmaya neden olabileceğinden şüphelenilmektedir. BIBR1532 üzerinde yapılan çoklu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, yüksek konsantrasyonlarda BIBR1532 ile telomeraz dozuna bağlı bir inhibisyon göstermiştir ve normal insan hüceleri üzerinde önemli bir etki göstermemiştir (Ruden ve Puri, 2013).

#### **2.2.3.9. G-quadruplex stabilizatörleri**

G-quadruplex, Hoogsteen hidrojen bağları ile stabilize edilmiş dört guanin bazı tarafından oluşturulan bir tetrad düzlemsel yapıdır ve bu yapı, telomerler de dahil olmak üzere guanin bakımından zengin nükleik asitlerde oluşabilir. G-quadruplex yapılarının varsayılan işlevi telomer uçlarını nükleaz saldırısından korumaktır. Bu koruyucu dörtlü konfigürasyonlar tanınır ve kısmen 3' uç uzatma için telomeraz ile çözülür. Buna karşılık G-quadruplex yapılarının “stabilizatörler” ile bağlanması, dörtlü konfigürasyonda telomerleri etkili bir şekilde “kilitler” ve telomeraz veya ALT tarafından telomer uzamasını önler. Bu, telomer kısalmasını ve ardından hücre ölümünü hızlandırır. Telomer kitleme özelliğine ek olarak, G-quadruplex ajanları telomerin kapanmasını indüklemek için telomer yapısına da müdahale etmektedir.

#### **2.2.3.10. T-oligo**

T-oligo, tek zincirli, zincir çıkıntısı dizisine homolog olan 11-baz oligonükleotit sekansından (GTTAGGGTTAG) oluşan başka bir yeni antikanser ajandır. T-oligo'nun kanser hücelere girmesi, DNA hasar cevabını, apoptoz veya otofajiyi uyarır. Melanom

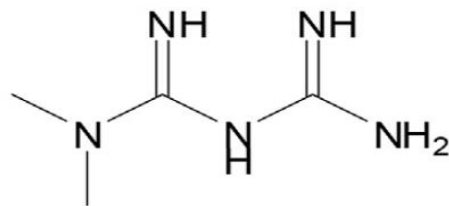
hücrelerinde yapılan bir çalışma, T-oligo'nun p53 aktivitesini arttırdığını, hücreler farklılaşmaya ve apoptozise yol açtığını göstermiştir. Ek olarak, veriler ayrıca T-oligo aracılı hasar yanıtları için pozitif telomer uzatma düzenleyicisi olan tankiraz-1'in gerekli olduğunu göstermiştir. Telomer hedefli T-oligo'nun etki mekanizması halen araştırılmaktadır.

### 2.2.3.11. Tankiraz İnhibitörleri

Tankiraz, telomer uzunluğu düzenlemesi de dahil olmak üzere çeşitli hücreler işlemlerde rol oynayan poli ADP-riboz polimeraz protein süper ailesine aittir. Telomerin uzaması, telomerazın telomere erişebilmesi için TRF1'in telomerden ayrılmasını sağlar. Tankiraz, TRF1'in ubiquitin bozunması yoluyla telomerden TRF1'in ayrışmasını kolaylaştırır. Bu nedenle, tankiraz inhibisyonu TRF1'in telomerden ayrışmasını azaltır ve telomerazın telomere bağlanmasını önler, böylece telomer uzunluğunu inhibe eder. Bugüne kadar, tankiraz inhibisyonunun telomer kısalmasını ve hücre ölümünü arttırdığı gösterilmiştir (Xu ve Goldkorn, 2016).

### 2.3. Metformin

İki ana biguanid bileşeni olan metformin ve fenformin, 1950'lerin sonlarında piyasaya sürülmüştür. Fenformin, 1970'lerin sonunda laktik asidoz ile bir ilişkisi tanımlandığından birçok ülkede klinik kullanımdan çekilmiştir. Bu biguanidlere karşı bir önyargı oluşmasına neden olsa da metforminin laktik asidoz ile bir ilişkisi bulunmamıştır ve şu anda birçok ülkede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Bailey vd.,1996). Şekil 2.6'da metforminin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Metforminin kimyasal yapısı

Metformin, uzun yıllardır tip 2 diyabet tedavisi için önemli bir ilaç olmuştur. En sık kullanılan oral antihiperlipidemik ajandır ve halen yeni tanı almış tüm T2D hastaları için

birinci basamak tedavi olarak önerilmektedir. Hipoglisemiye veya kilo alımına neden olmadan ve kardiyovasküler sisteme zarar vermeden hiperglisemiye hafifletmektedir (Foretz vd.,2014).

Diyabet, tüm ülkelerde yayılmış, sürekli büyüyen, popülasyonu tehdit eden küresel bir salgındır (Simon-Szabo vd., 2014). Hiperglisemi ve lipidlerin, karbonhidratların ve insülin direncinin metabolizmasındaki değişiklikler ile karakterize metabolik bir hastalıktır ve bulaşıcı olmayan hastalıklar içinde dünya çapında ölüme neden olan önemli hastalıklardan biridir. 2013 yılında dünya çapında T2D ile yaklaşık 382 milyon insanın yaşadığı tahmin edilmekte ve bunların yaklaşık % 90'ının T2D olduğu düşünülmektedir. Mevcut bilgilere göre 2035 tahminleri dünya çapında 592 milyon T2D vakası olacağını göstermektedir (Ochoa-Gonzalez vd., 2016). Diyabetli hastaların yaklaşık % 95'inde aşırı kalorik alım, sınırlı fiziksel aktivite ve obezite sonucu gelişen tip 2 diabetes mellitus vardır. T2D, en yaygın olarak yaşlı insanları etkilemekte ve insülin direnci, adacık hücresi fonksiyon bozukluğu ve insülin sekresyonunda aşamalı bir azalma ile de karakterize edilmektedir (Morales ve Morris, 2014). Metformin, hepatik glukoz çıkışını inhibe edip periferik dokuların insülin duyarlılığını artırarak ve glikozun intestinal emilimini azaltarak antihiperglisemik etki göstermektedir (Sehdev vd., 2015). T2D'de kullanımının yanı sıra, polikistik over hastalığı, diyabetik nefropati ve gebelik diyabetinin tedavisinde de metformin kullanımı söz konusudur (Foretz vd., 2014). Metformin, hepatositler, iskelet kası, endotel hücreleri, pankreas beta hücreleri ve nöronları içeren çeşitli dokularda mitokondriyal solunum zinciri kompleksi I'ni spesifik olarak inhibe etmektedir. Mitokondriyal solunum zinciri kompleksi I'ni inhibisyonu, hücrel enerji durumunda geçici bir azalmaya neden olmakta ve bu adenosin trifosfat üretimi ve tüketimi arasındaki dengeyi değiştirerek, adenosin monofosfatın ATP'ye oranla artmasına neden olmaktadır. Artan AMP seviyeleri, düzenleyici bölgelere bağlanarak AMP ile aktive olan protein kinazı aktive etmekte ve enzimde konformasyonel bir değişime neden olmaktadır. AMPK, hücrel enerji durumunu izleyen ve enerji kısıtlı koşullar altında hücrel fonksiyonları koruyan filogenetik olarak korunmuş bir protein kinazdır. AMPK'nın aktivasyonu, hücrenin ana metabolik enzimlerin fosforilasyonu ve gen ekspresyonunu modüle eden transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yoluyla enerji dengesini yeniden sağlama girişimi sırasında anabolikten katabolik duruma geçmesine neden olmaktadır. Sırasıyla aktive edilmiş AMPK, karaciğerde yağ asidi oksidasyonu ve glukoz alımını uyarırken glukoneogenez, lipogenez ve protein sentezinin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bununla birlikte metformin, fruktoz-1,6-bisfosfataz gibi enerji metabolizmasında yer alan anahtar enzimlerin düzenlenmesi yoluyla gen ifadesinden bağımsız bir mekanizmada glukoneogenez

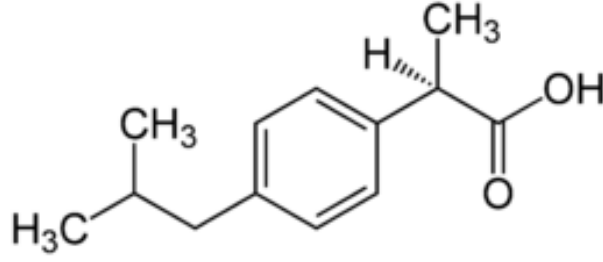
de inhibe edebilmektedir. Ayrıca, metforminin birincil hedefinin mitokondriyal solunum zinciri kompleksi 1 olduğu düşünülmesine rağmen, metforminin karakteristik olarak mitokondri içermeyen eritrositlerin metabolizmasını etkilediği gösterilmiş olduğu için ayrı bir etki mekanizmasının olabileceği düşünülmektedir (Morales ve Morris, 2014).

Yapılan çalışmalar metforminin antikarsinojenik özelliklere sahip olduğunu ve kullanımının meme kanseri, yumurtalık kanseri, kolon kanseri ve prostat kanseri gibi birçok kanser türünde olumlu sonuçlar ile ilişkili olduğu göstermektedir (Wang vd.,2015; Patel vd.,2015). Metforminin kanser gelişimi ve tümör gelişimi üzerindeki inhibitör etkilerini ürettiği mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır fakat bunlar sistemik insülin veya glukoz seviyeleri üzerindeki dolaylı etkileri veya tümör hücresi büyümesi ve sağkalımı üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir. Metforminin kanser hücreleri üzerindeki doğrudan etkileri, hücre çoğalmasının inhibe edilmesini ve hücre ölümünün indüklenmesini içermektedir. Metformin etkisi ile kanser hücresi çoğalmasının inhibe edilmesi, AMP ile aktive edilmiş protein kinazın aktivasyonunu, mTOR aktivitesinin inhibisyonunu, protein translasyonunu ve siklin D1'in G1'de hücre döngüsünün durmasına sebep olan bir süreçtir. Metforminin hücre ölümünü arttırdığı gösterilen çalışmalarda, mekanizmanın apoptotik yolların aktivasyonunu içerdiği görülmektedir (Zhuang ve Miskimins, 2011).

#### **2.4. İbuprofen**

NSAID'ler, çeşitli antienflamatuar, analjezik ve antipiretik özelliklere sahip farmasötik ajanlardır. Kimyasal olarak bunlar heterojen bir gruptur ve yapı açısından yakından ilişkili değildir. Bununla birlikte ortak çeşitli terapötik eylemlere ve yan etkilere sahiptirler. Bu grup içinde en yaygın kullanılan farmasötikler asetilsalisilik asit, parasetamol, diklofenak, ibuprofen ve naproksendir (Islas-Florez vd.,2013). İlk olarak Aralık 1961'de sentezlenen ibuprofen, kısa bir eliminasyon yarı ömrüne ve istisnai gastrointestinal tolere edilebilirliğe sahiptir. İbuprofen, günümüzde çoğunlukla dismenore, migren dahil baş ağrısı, ameliyat sonrası ağrı, diş ağrısı, kas-iskelet sistemi ve eklem iltihabı spondilit, osteoartrit ve romatoid artrit gibi eklem hastalıkları gibi durumlarda hafif-orta şiddette ağrı ve iltihaplanma tedavisinde ve ateşi azaltmak için de kullanılmaktadır (Bramlage ve Goldis, 2008). Dünya Sağlık Örgütü'nün "Temel İlaçlar Listesi" nde yer alan ibuprofen bu bağlamda dünya çapında büyük miktarlarda üretilen ilaçlardan biridir (Han vd.,2010). Şekil 2.7'de ibuprofenin kimyasal yapısı gösterilmiştir.





Şekil 2.7. İbuprofenin kimyasal yapısı

İbuprofen öncelikle karaciğerdeki oksidasyonla 2-hidroksi ibuprofen ve 2-karboksi ibuprofen olarak metabolize edilmektedir (Al-Nasser, 2000). İbuprofen gastrointestinal sistemden emilip ve alımdan yaklaşık 1 ila 2 saat sonra pik plazma konsantrasyonlarına ulaşmaktadır. Biyoyararlanım % 80'in üzerindedir. İdrarda hızla metabolitler ve konjugatları olarak atılmaktadır. Değişmeyen ibuprofen olarak idrarla yaklaşık % 1 oranında atılım görülmektedir (Bramlage ve Goldis, 2008).

Ibuprofen, hem hayvanlarda hem de insanlarda anti-enflamatuar, antipiretik ve analjezik aktivite göstermektedir (David ve Pancharatna, 2009). İbuprofen istenilen anti-enflamatuar etkiyi üretmek için iltihaplanmaya katkıda bulunan arasıidonik asit metabolizmasından türetilmiş bir grup bileşik olan prostaglandinlerin azalmasına neden olmakta ve seçici olmayan bir siklooksijenazı inhibe ederek istenilen etkiyi yaratmaktadır (Jeffries vd., 2015).

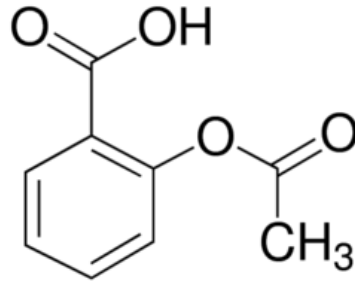
Prostaglandinler, siklooksijenazların artışı, onkojen sentezi ve ekspresyonu, viral aktivasyon, sinyal bozulması, başarısız apoptoz, tümör başlatılması ve teşviki, anjiyogenez, metastaz, immünoşüpresyon, otoimmünite ve telomeraz aktivasyonu gibi olası karsinogenez mekanizmalarından sorumludurlar. Prostaglandinler, genlerin ve onkojenlerin sentezini, inhibisyonunu ve ekspresyonunu ve hücrelerin replikasyonunu düzenler. Bu yüzden Aspirin ve ibuprofen gibi prostaglandin inhibitörlerinin kronik kullanımı, kolon ve diğer kanserler riskini azaltabilir (Lieb, 2007).

COX enzimi izoformları 1, 2 ve 3 vücutta bulunur ve ağrı, iltihap ve ateşin fizyolojik transdüksiyonunda ve ayrıca gastrointestinal mukozanın koagülasyonu ve kemoproteksiyonu dahil olmak üzere diğer fizyolojik işlevlerin sayısız rolünde kritik rol oynamaktadırlar. COX-1 trombositlerde ve GI mukozasında ifade edilirken, COX-2 iskelet, düz ve kalp kası boyunca bulunmaktadır. Şu anda COX-3 hakkında çok az şey bilinmesine rağmen, beyinde ifade edilmektedir. Çoğunlukla NSAID'ler, COX-2'nin inhibisyonu yoluyla arzu edilen klinik

etkilerini gösterirken, COX-1'in inhibisyonu, kanama veya GI sistemde komplikasyonlara yol açabilir (Kroll, 2012). Ayrıca kardiyovasküler etkiler, renal etkiler ve hepatik etkiler dahil olmak üzere ibuprofen kullanımıyla ilişkili çok çeşitli olası yan etkiler vardır (Al-Nasser, 2000). Buna ilaveten yapılan bazı çalışmalar ibuprofenin eser konsantrasyonlarının toksik etkilerini tanımlamıştır (Islas-Florez vd., 2013).

## 2.5. Asetilsalisilik Asit

Asetilsalisilik asit, ilk olarak 1897'de Felix Hoffmann tarafından sentezlenmiştir. Bu yeni ilaç, ertesi yılında hastalar üzerinde test edilmiştir ve aspirinin ticari üretimi başlamıştır. Klinik ve hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlar 1899'da yayınlanmıştır. 1904'te toz formu tablete dönüştürülmüş ve bu da günlük kullanımının artmasına neden olmuştur. O zamandan beri aspirin dünya çapında en yaygın kullanılan ilaç haline gelmiştir (Pasche vd., 2014). Aspirin, sıklıkla analjezi için veya düşük dozda miyokard enfarktüsü ve inmenin önlenmesi için bir antiplatelet ajanı olarak kullanılan yaygın bir steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçtır. Aspirin, siklooksijenazı geri dönüşümsüz biçimde inhibe edilmesi ile etki edip prostaglandinlerin sentezi için gerekli olan PTGS-2'nin aktivitesini değiştirmektedir (Fraser vd., 2014). Şekil 2.8'de asetilsalisilik asitin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Asetilsalisilik asitin kimyasal yapısı

Son yıllarda kanserde kemopreventif etki gösteren en eski ajanlardan biri, klinik uygulamada 19. yüzyıldan beri kullanılan aspirindir. Aspirin, doğal olarak meyve ve sebzelerde oluşan salisilatların sentetik bir analogudur (Jankowska vd., 2010). Geçtiğimiz yıllarda aspirin alımı ile kanser riskinde azalma arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Aspirinin kanser tanılı hastalarda antikanser ajan olarak kullanılıp kullanılmayacağı yakın zamana kadar bilinmiyordu fakat yapılan son çalışmalar, aspirinin bazı kanser türlerinin

adjuvan tedavisinde terapötik fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir (Pasche vd., 2014). Steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçlardan özellikle aspirinin, birçok yaygın kanser türü için kemo-koruyucu veya hatta terapötik özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir (Fraser vd., 2014). Düşük dozajda kullanılan aspirin anti-trombosit bir ajan olarak etki gösterebilmektedir. Trombositler, tümör hücresi göçünde önemlidir ve deneysel veriler, aspirinin dolaşımdaki tümör hücrelerinin platelet kaynaklı yapışmasını inhibe edebileceğini ve metastaz oluşumunu önleyebildiğini gösterilmiştir. Özellikle meme kanserinde hem in vitro, hem de hayvan modellerinde aspirin için anti-anjiyojenik ve pro-apoptotik etkiler, ayrıca tümör hücresi ekstrasvazasyonu ve doku istilasının baskılanması gibi etkileri gözlemlenmiştir (Mc Menamina vd., 2017). Kadınların her gün 100 mg aspirin veya plasebo alacak şekilde randomize edildiği bir klinik çalışmada, aspirin alan kadınlar arasında meme kanseri riskinde bir azalma gözlenmemiştir. Bununla birlikte 2008 yılında yayınlanan, 38 çalışmayı ve 2 milyondan fazla kadını kapsayan bir meta analiz, herhangi bir aspirin veya diğer steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçların kullanımı ile bağlantılı olarak genel olarak meme kanseri riskinin azaldığı sonucuna varmıştır (Clarke vd., 2017).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Model Organizma: *Mus musculus***

Fare genomu insan genomuna % 99 benzerdir ve insan geninin benzerlerini veya işlevsel olarak ilişkili genleri içermektedir. Farenin ömrü kısadır ve laboratuvarında üremesi ve kullanımı kolaydır. Daha da önemlisi, fare genomu kolayca manipüle edilir. Bu spesifik genlerin in vivo çalışmasının detaylı bir şekilde incelenmesini ve çeşitli insan hastalıkları için mükemmel modeller temin edilmesini sağlayan istenilen özellikte mutant fare suşlarının üretilmesini mümkün kılmaktadır. Böylece fare temel ve uygulamalı araştırmalar için önde gelen bir memeli model sistemidir (Han vd., 2016).

Bu çalışmada deney hayvanı olarak *Mus musculus* Swiss albino fareler kullanılmıştır. Bu fareler Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş olup 42 adet dişi *Mus musculus* Swiss albino'dur. Farelerin kullanımı ve farelere yapılan uygulamalar, MAKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 15.08.2018 tarihli 391 no'lu kararı gereğince yapılmıştır.

Deney hayvanlarının barınması ise Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı tarafından sağlanmıştır. Fareler standart kafeslerde pelet yem ile beslenmiştir.

##### **3.1.2. Deney Hayvanlarına Verilen Maddeler, Maddelerin Hazırlanması ve Verilişi**

Metformin, ibuprofen ve asetilsalisilik asit etken maddesi içeren ilaçlar DMSO'da çözülmüştür.



**Şekil 3.1.** Maddelerin farelere verilmesi

Bu etken maddeler, 30 gün boyunca belirtilen dozlarda, 10 µl sıvı içerisinde deney hayvanlarına mikropipet vasıtasıyla verilmiştir. Tablo 3.1’de belirtilen dozlar Şekil 3.1’de gösterildiği gibi deney hayvanlarına verilmiştir. Bu dozlar, insanlarda metformin için yaklaşık günde 1000 mg ve 2500 mg; ibuprofen için 200 mg ve 1000 mg; asetilsalisilik asit için ise yine 200 mg ve 1000 mg’a karşılık gelmektedir.

**Tablo 3.1.** Farelere uygulanan maddeler ve doz miktarları

<b>ETKEN MADELER</b>	<b>DOZLAR</b>
Metformin	13 mg/kg ve 32 mg/kg
İbuprofen	2 mg/kg ve 10 mg/kg
Asetilsalisilik asit	2 mg/kg ve 10 mg/kg

### **3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler**

Bu çalışmada; santrifüj (Hettich), vortex (Dragon Lab Mx-f), doku homojenizatörü (Qiagen), manyetik karıştırıcı (WiseStir MSH-20A), mikropłaka çalkalayıcı inkübatörü (Zhwy-2000), Termal cyler cihazı (Biorad C1000 Touch), PCR kabini (Bioair), ELISA okuyucu(Thermo), spektrofotometre (PG T70 UV/VIS), buzdolabı (Arçelik) ve otoklav (Alp) cihazları kullanılmıştır. Bunların yanında pens, pipet, makas, ependorf tüpler, PCR tüpleri, pipet uçları, cam şişeler ve diğer malzemeler kullanılmıştır ve bu malzemeler kullanılmadan önce otoklavda steril edilmiştir.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Deney Hayvanlarının Diseksiyonu**

Diseksiyon çalışmaları Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Fareler disekte edilmeden önce dietilere maruz bırakılarak bayıltılmışlardır. Diseksiyonla çıkarılan karaciğer dokusu hemen hazır bulunan % 0,9 luk soğuk serum fizyolojik çözeltisi ile buz içerisinde perfüze edilerek olabildiğince kandan arındırılmıştır. Daha sonra ependorf tüplere alınarak buza konulmuştur.

### **3.2.2. Telomeraz Aktivitesi Ölçümü**

Yapılan bu çalışmada Roche Telomerase PCR-ELISA kiti kullanıldığı için çalışmalar bu kitin prosedürüne uygun bir şekilde yürütülmüştür.

#### **3.2.2.1. Dokulardan Ekstrakt Eldesi**

Önceden hazırlanmış ve otoklavlanmış ependorf tüpler içerisine 200 µl lizis solüsyonu eklenmiş ve derin dondurucu da muhafaza edilen karaciğer dokularından yeteri miktarda tüpe koyulmuştur. Daha sonra dokuları homojenize etmek için Qiagen Tissue Raptor cihaz kullanılmıştır. Dokular homojenize edildikten sonra 30 dakika boyunca buz üzerinde inkübe edilmiştir. İnkübe edildikten sonra 9500 rpm de 20 dakika boyunca santrifüj edilip santrifüjden sonra oluşan süpernatandan 175 µl kadar ayrı tüplere alınmıştır. Ayrı tüplere alınan süpernatantlar PCR işlemi gerçekleştirilene kadar derin dondurucuya kaldırılmıştır.

### 3.2.2.2. PCR

Steril PCR tüplerinin her birine kit ile birlikte gelen 25 µl reaksiyon karışım solüsyonu eklenmiştir. Reaksiyon karışım solüsyonu eklenen bu tüplere 3 µl doku ekstraktı konulmuştur. Daha sonra her tüpe 22 µl ultra saf su ilave edilmiş ve tüpler PCR işlemi için hazır hale getirilmiştir.

Bu işlemler kontaminasyon olmaması için PCR kabininde gerçekleştirilmiştir.

PCR işlemi için termal cycler cihazı;

- 20 dakika 25°C’de 1 döngü olarak çalışmıştır. Bu aşamada telomeraz enzimi ile primerlerin uzaması amaçlanmıştır.
- Daha sonra 5 dakika boyunca 94°C de 1 döngü olarak çalışmıştır. Bu aşama ise telomeraz enziminin inaktive olması için yapılmıştır.
- 94°C’de 30 saniye denatürasyon, 50°C’de 30 saniye bağlanma ve 72°C’de 30 saniye polimerizasyon safhaları 25 döngü olarak gerçekleştirilmiştir.
- Son olarak ise 72°C’de 10 dakika boyunca 1 döngü olarak son uzama safhası yapılmış ve PCR işlemi tamamlanmıştır.

PCR işlemi tamamlandıktan sonra PCR ürünleri ELISA işlemi gerçekleştirilene kadar derin dondurucuya kaldırılmıştır. PCR hazırlık aşaması Şekil 3.2’de gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. PCR hazırlama aşaması

### 3.2.2.3 ELISA

Reaksiyon tüplerine 10 µl denatürasyon solüsyonu ile 2,5 µl PCR ürünü eklenmiştir. Oluşan karışım 10 dakika 15 – 25 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra

tüplere 100 µl hibridizasyon solüsyonu eklenmiştir. Hibridizasyon solüsyonu eklendikten sonra her tüp kısa bir süre vortekslenmiştir.

Vorteksleme işleminden sonra her tüpteki karışımdan 100'er µl alınmış ve kit ile gelen mikroplakadaki vellere yüklenmiştir. Yükleme işlemi bittikten sonra mikroplakanın üzeri kapatılmış ve çalkalama özelliği olan inkübatörde 2 saat boyunca 300 rpm'de 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi bittikten sonra hibridizasyon solüsyonu mikroplakadaki vellerden uzaklaştırılmıştır. Bu işlemden sonra -mikroplakadaki bütün veller 250 µl yıkama solüsyonu( kullanılmadan önce 1:9 oranında otoklavlanmış distile su ile seyreltilmiştir) ile 3 kez yıkanmıştır. Her yıkamada en az 30 saniye beklenmiştir. Bu aşamalardan sonra her bir velle 100 µl anti – DIG – HRP solüsyonu ( kullanılmadan önce 240 µl otoklavlanmış distile su ile çözülmüştür, bu çözelti konjuge dilüsyon solüsyonu ile 1:20 oranında seyreltilmiştir) eklenmiştir. Solüsyon eklendikten sonra tekrardan üstü kapatılmış ve 30 dakika boyunca 300 rpm' de 15-25 °C'de inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra yine solüsyon vellerden uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 5 kez 250 µl yıkama solüsyonu eklenerek yine yıkama işlemi yapılmış ve her yıkamada yine 30 saniye beklenilmiştir. Yıkama işleminden sonra oda sıcaklığındaki TMB solüsyonundan her velle 100 µl eklenmiş ve üstü kapatılarak 10-20 dakika boyunca 300 rpm'de 15-25 °C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi bittikten sonra her velle 100 µl stop solüsyonu eklenmiş ve sarı renk oluşumu gözlenmiştir. Mikroplaka okuyucu spektrofotometre kullanılarak 450 nm ve 690 nm'de ölçümler gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.3. Lowry Protein Tayini**

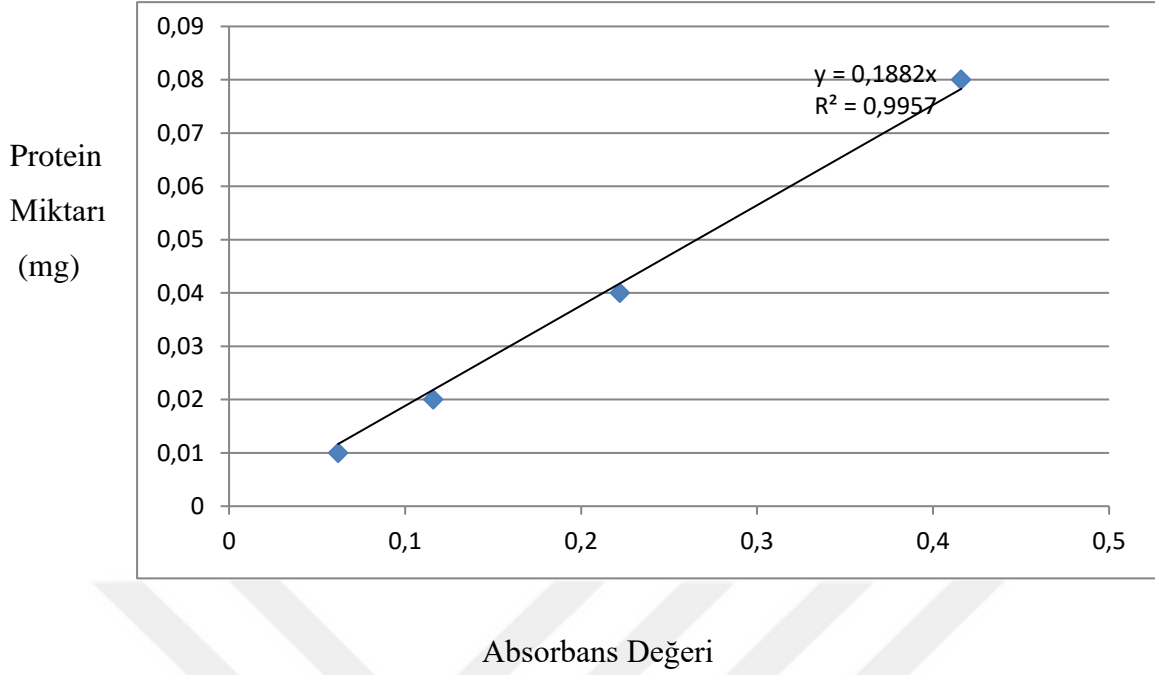
Bu yöntem ile protein tayini yapmadan önce Karışım A çözeltisinin ve BSA standartlarının hazırlanması gerekmektedir.. Karışım A;

- % 2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + % 0,4'lük NaOH
- % 2 NaK tartrat
- % 1 Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Bileşikleri 100:1:1 oranında karıştırılarak elde edilmiştir.

Standart grafiği oluşturmak için BSA çözeltisi kullanılmıştır.





Şekil 3.3 BSA standart grafiği

Örneklerin analizi için, önceden steril edilen cam tüplere 2,5 mL Karışım A ve 10 µl süpernatant eklenmiştir. Bütün tüpler iki kez vorteksledikten sonra 10 dakika beklenilmiştir. Bekleme süresinden sonra her tüpe 250 µl katılmak üzere bidistile su ile folin 1:1 oranında dilue edilmiş ve her tüpe eklenmiştir. Folin eklendikten sonra tekrardan iki kez daha vorteksleme yapılmıştır. Vorteksleme işleminden sonra tüpler karanlık ortamda 45 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresinden sonra 695 nm’de spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. Şekil 3.3’de BSA Standart Grafiği gösterilmiştir.

#### 3.2.4. Relatif Telomeraz Aktivitesinin Hesaplanması

Telomeraz ELISA işleminde, mikrolaka okuyucu spektrofotometreden elde edilen absorbans değerleri ve örneklerin protein miktarları kullanılarak RTA (relatif telomeraz aktivitesi) belirlenmiştir. Buna göre  $\Delta$ Absorbans: 450nm A- 690 nm A olmak üzere  $RTA = (\Delta$ Absorbans değeri) / (Protein Miktarı) x 100 olarak hesaplanmıştır.

#### 3.2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerin yapılması için minitab programı kullanılarak, Mann-Whitney, KruskalWallis ve Mood’s Median non-parametrik testleri uygulanmıştır.

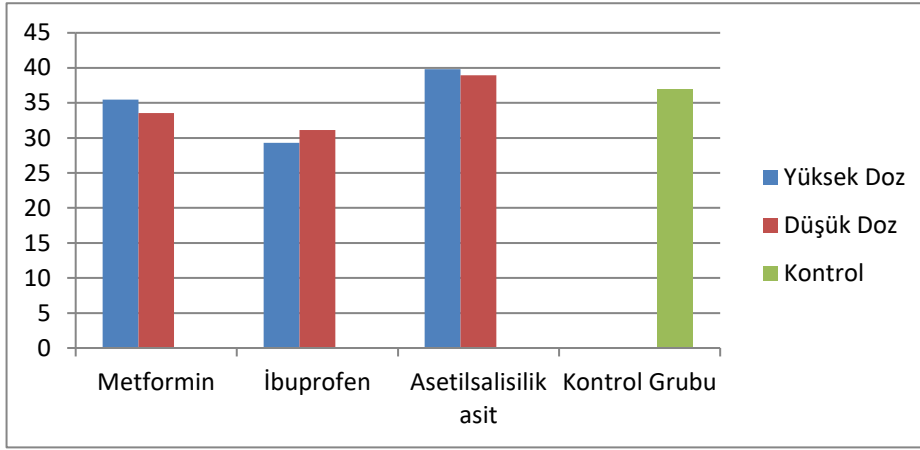
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Uygulama gruplarındaki Relatif Telomeraz Aktivitesi (RTA) değerleri ortalamaları Tablo 4.1 de gösterildiği gibidir. Bu değerler Mann-Whitney, Kruskal Wallis ve Mood's Median nonparametrik testleri ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda Mood's Median testinde, İbuprofen Yüksek Doz grubunun istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir.

**Tablo 4.1.** Uygulama dozlarına göre RTA değerleri ile standart hata düzeyi

Gruplar	RTA Değerleri $\pm$ Standart Hata
Metformin Yüksek Doz	35,45 $\pm$ 2,23
Metformin Düşük Doz	33,55 $\pm$ 2,78
İbuprofen Yüksek Doz	29,30 $\pm$ 1,87
İbuprofen Düşük Doz	31,14 $\pm$ 1,27
Asetilsalisilikasit Yüksek Doz	39,80 $\pm$ 1,88
Asetilsalisilikasit Düşük Doz	38,96 $\pm$ 1,79
Kontrol Grubu (Taşıyıcı DMSO)	36,90 $\pm$ 2,86

Sonuçların grafiksel olarak gösterimi, Şekil 4.1 de incelenebilir.



**Şekil 4.1.** RTA değerlerinin grafik gösterimi

Dünyada yaşam beklentisi arttıkça, yaşlanmanın fizyolojik ve patolojik etkileri popülasyonda dikkat çekici bir hale gelmiştir. Yaşlanma, kademeli bir fonksiyonel düşüş ve ilerleyen bir fizyolojik entegrasyon bozukluğu ile karakterize bir durumdur. Genomik instabilite, epigenetik değişiklikler, telomerik ve mitokondriyal yıpranma, kök hücre tükenmesi, onkogen sinyalleri aktivasyonu, hücreler arası iletişim değişikliği gibi yaşlanma ile ilgili birçok mekanizma bulunmaktadır. Kanser insidansı yaşlı popülasyonda büyük ve yaygın bir problem haline gelmiştir. Yaşlanmaya bağlı hasarların zamana bağlı birikimi, yaşlılarda azalan sağlık ve yüksek kanser insidansı ile ilişkili olan bağışıklık sistemini ve kök hücre yenileme fonksiyonunu bozmaktadır. Kromozom kararsızlığı gibi kanser patogenezinde temel problemlerin riski yaşla birlikte artmaktadır. Kanser ve yaşlanma ortak kökenleri paylaşan durumlardır. Bununla birlikte kanser ve yaşlanmanın zıt süreçler olduğu öne sürülmüştür. Yaşlanma, anti-tümör rolünde önemli bir rol oynamaktadır ve bunun tersi olarak da tümör anti-yaşlanmada rol oynamaktadır (Li vd., 2019).

Yapılan son çalışmalar biguanidlerin, özellikle metforminin üstün güvenlik profili nedeniyle geroprotektif etkileri olduğunu bildirmiştir. Metforminin bu terapötik profili yaşa bağlı hastalıklar ve uzun ömür için kullanımını desteklemektedir. Birçok çalışma da metforminin solucanlar, sinekler, fareler ve sıçanların yaşam süresi üzerindeki olumlu etkilerini doğrulanmıştır. Ayrıca, metformin reçete edilen diyabetik ve kardiyovasküler hastaların da sağkalım oranları artmıştır. Son zamanlarda metforminin, T2DM'li yaşlı yetişkinlerde güçsüzlüğü önleyerek uzun ömürlülüğü destekleyebileceği de öne sürülmüştür. Diyabetli hastalarda metformin ile yapılan kronik tedavi, bilişsel gerileme ve demans riskini

azaltabilir ve çeşitli kanser türlerinde sağkalımı arttırabileceği düşünülmektedir (Novelle vd., 2019). Metforminin iltihaplanma, otofaji ve hücrel yaşlanma gibi yaşa bağlı durumların gelişimi ile yakından ilişkili metabolik ve hücrel süreçleri olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (Barzalai vd., 2016). Science tarafından yayınlanan çalışmalarda metformin ile tedavi edilen diyabet hastalarının tedavi olarak insülin alan veya pankreastan insülin sekresyonunu artıran sülfonilüre ilaçlarını alanlardan % 25 ila % 40 daha az kansere sahip oldukları gösterilmiştir. Metforminin yıllık 120 milyon kadar yüksek bir şekilde reçete edilmesi tarihteki herhangi bir ilaçtan daha fazla insanı kanserden kurtarmış olabileceğini düşündürmektedir. Metformin ile tedavi edilen hastalarda kanser ve kardiyovasküler hastalık riskinde azalma olduğunu gösteren yayınların sürekli arttığı gözlenmiştir (Asinimov, 2013).

Kanser ve diyabet sık görülen bir durumdur ve bu nedenle bir hastada diyabet ve kanser birlikteliği seyrek değildir. Bununla birlikte, birçok gözlemsel çalışma, kanser ve diyabetin birlikte ortaya çıkmasının tesadüfen beklenenden daha sık gerçekleştiğini göstermektedir. Diyabet teşhisinin, obezite ile ilişkisinden bağımsız olarak bir dizi kanser için önemli bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir (Mallik ve Chowdhury, 2017). Metformin esas olarak antidiyabetik bir ajan olarak kabul edilmesine rağmen melanom, kolon kanseri, yumurtalık kanseri, prostat kanseri ve mesane kanseri dahil olmak üzere birçok kanser türünde kanser hücresi apoptozunu arttırarak, epitelyal mezenkimal geçişi inhibe ederek ve kanser kök hücrelerini hedefleyerek antikanser etki göstermiştir. Ayrıca metforminin bazı kemoterapötik ilaçlar ile de sinerji oluşturabileceği kanıtlanmıştır. Örneğin, metformin meme tümör hücresi büyümesini inhibe etmekle kalmaz, aynı zamanda CSC'leri seçici bir şekilde bastırıldığı da gözlenmiştir (Liu vd., 2016).

Leigh ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, metforminin hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi ve metformin hücre sinyalinin özellikle hTERT'in önemli hedeflerinin ekspresyonu endometrial kanser hücrelerinde değerlendirilmiştir. Bulgular, metforminin doza bağımlı bir şekilde proliferasyonu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, metformin G1 tutulmasına, hTERT ekspresyonunun azaltılmasına ve apoptozisin indüksiyonuna neden olmuştur (Javidfarc vd., 2018).

Ayrıca metformin ve metformin - paklitaksel kombinasyonu hTERT mRNA ekspresyonunu azaltırken, tek başına paklitakselin telomeraz aktivitesi üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Bu bulgular, metformin ve paklitaksel kombinasyonunun endometrial kanser hastalarının tedavisinde etkili bir tedavi stratejisi olabileceğini düşündürmektedir (Hanna vd., 2012).

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre metformin, fare karaciğerinde telomeraz aktivitesinde herhangi bir anlamlı değişikliğe yol açmamıştır. Düşük doz uygulamada (13 mg/kg) hafif bir düşüşe yol açtığı gözlenirse de, istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmamıştır. Bu durumda metforminin yukarıda bahsedilen, kanser hücreleri üzerindeki terapötik etkisinin telomerazdan bağımsız başka mekanizmalarla olduğu düşünülebilir. Aslında literatürdeki kanser – metformin ilişkisi ile ilgili çalışmaların çoğu hücre kültürü üzerinde yapılan denemelerdir ve doğrudan yaşayan bir organizma ile yapılan çalışmalar, hücre kültürü ile yapılan çalışmalardan, hem uygulanabilecek toksik doz açısından hem de maddenin metabolize edilmesi yönünden farklılıklar içerdiği için, farklı sonuçlar elde edilebilir. Ayrıca telomeraz enzimi yönünden bakıldığında, uygulanan herhangi bir maddenin, kanser hücre hatları ile normal hücre hatları arasında bile farklı sonuçlar gösterdiği literatürde görülebilir.

İbuprofenin de tıpkı metformin gibi, genel kullanım alanlarının dışında da terapötik etkileri olabileceği ile ilgili literatürde pek çok bilgi bulunmaktadır. Alzheimer hastalığında (AD) ibuprofenin etkisini ölçen bir çalışmada, AD ile ilişkili patolojinin gelişiminin ibuprofen tedavisine duyarlı olup olmadığını belirlemek için, ibuprofen ile beslenen Tg2576 farelerinin beyin dokusu, IL-1b, GFAP, aktive edilmiş mikroglia, distrofik nöritler, amiloid plaklardaki değişiklikler yönünden analiz edilmiştir. Kronik bir oral ibuprofen dozunun, tüm bu parametrelerin seviyelerindeki değişiklikleri azalttığını, ibuprofenin AD'nin bu transgenik fare modelinde bazı AD patolojisi formlarının gelişimini önemli ölçüde engelleyebileceği gösterilmiştir (Lim vd., 2000).

Yine geniş çaplı bir çalışmada, ibuprofen kullanımının gelecekteki Parkinson hastalığı (PD) riskinin düşük olması ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Buna karşılık, aspirin, asetaminofen veya diğer NSAID kullanımı ile PD riski arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Mevcut tüm prospektif çalışmaların meta analizleri ayrıca ibuprofen kullanıcılarının, sigara kullananlardan yaklaşık % 30 daha düşük PD riskine sahip olduğunu göstermiştir (Gao vd., 2011).

Yapılan çalışmalar ayrıca, ibuprofenin proliferasyonu etkili bir şekilde baskılayabildiğini ve klinik olarak ilgili konsantrasyonlarda prostat kanseri hücrelerinin apoptozunu indükleyebildiğini göstermektedir (Andrews vd.,2002). Ayrıca ibuprofen tedavisi, gastrik kanser hücresi proliferasyonu üzerinde etkilidir. İbuprofenin, gastrik kanser hücre hattı MKN-45 hücrelerinin zaman ve konsantrasyona bağlı bir şekilde proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir (Bonelli vd., 2011). Bazı klinik, laboratuvar ve hayvan çalışmaları, ağrı ve iltihap tedavisinde klinik olarak kullanılan bazı diğer nonsteroid anti-

enflamatuar ilaçların da (NSAID'ler) kolon kanserinde antikarsinojen etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Redpath vd., 2009).

İbuprofenin telomeraz aktivitesi üzerine etkisi ile ilgili yapılmış çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalar da hücre kültürü ortamındadır. Kültürlenmiş MCG-101 (Murin sarkoma) hücreleri üzerinde yapılan çalışmada ibuprofen dışındaki tüm NSAID'lerin telomeraz aktivitesini deprese ettiği gözlenmiştir (Lonroth vd., 2001). Ayrıca periferik kan ve iskelet kası hücrelerinde ibuprofenin telomer uzunluğu üzerine etkilerinin bakıldığı bir çalışmada, telomer uzunluğuna herhangi bir etki etmediği gözlenmiştir (Ekstrand, 2011).

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre, ibuprofenin 10 mg/kg olarak uyguladığımız yüksek dozunda, fare karaciğerinde istatistiksel olarak anlamlı bir telomeraz inhibisyonu gözlenmiştir. Aslında 2 mg/kg'lık dozda da hafif bir inhibisyon söz konusu olmakla birlikte, bu inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu durumda, ibuprofenin yukarıda bahsedilen bazı etkilerinin, özellikle anti karsinojenitesinin, telomeraz enzimi üzerine inhibe edici etkisi ile de bağlantılı olabileceği düşünülebilir.

Dünyada en çok kullanılan ilaçlardan olan aspirinin etken maddesi olan asetilsalisilik asit de tıpkı ibuprofen gibi, steroid olmayan anti enflamatuar ilaçlar grubundandır. Serbest radikal yaşlanma teorisi, dejeneratif yaşlanmanın büyük ölçüde oksidatif son ürünlerin kümülatif etkisinin sonucu olduğunu öne sürmektedir. Ortaya çıkan veriler oksidatif stres ile telomeraz aktivitesinin azalması arasında olası bir bağlantı olduğunu göstermiştir. We ve diğerleri, daha önce bu uyarıcıların yan etkisinin oksidatif stresi azaltan, telomerazın aktivitesini koruyan ve replikatif yaşlanmanın başlamasını geciktiren antioksidanlar tarafından in vitro olarak tersine çevrilebileceğini göstermiştir. Aspirinin bu çalışmada, oksidatif hasara karşı endotel korumasını açıklayabilen antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Aspirinin bir antioksidan olarak potansiyel rolünü vurgulamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Örneğin aspirin, endotel hücrelerini sito-koruyucu ve antioksidan özelliklere sahip bir protein olan ferritin sentezinin induksiyonu yoluyla demir bağımlı oksijen radikal oluşumunun zararlı etkilerinden koruyabilir.

Yapılan başka bir çalışmada ilk kez terapötik olarak bazı konsantrasyonlarda aspirinin endotel hücrelerinin yaşlanmasını önlediği gösterilmiştir. Bu etkinin, nitrik oksit (NO) sentezindeki artış ve oksidatif stresin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bulgular ile uyumlu olarak, bir NO sentaz endojen inhibitörü olan asimetric dimetilarginin (ADMA) oluşumu azaltılmış ve ADMA'yı parçalayan enzim olan dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) aktivitesi artırılmıştır. İbuprofen veya asetaminofen gibi diğer nonsteroidal anti-enflamatuar ilaçlar, endotel yaşlanmasının başlamasını engellemiştir

fakat elde edilen veriler, in vitro endotel yaşlanmasında aspirin kaynaklı gecikme için yeni bir mekanizma olduğunu düşündürmüştür (Böger vd., 2005).

Aspirin, uzun bir geçmişi olan antipiretik bir analjeziktir. Hepimiz biliyoruz ki bu ilaç soğuk algınlığı, ateş, baş ağrısı, diş ağrısı, eklem ağrısı ve romatizmayı tedavi etmek için kullanılabilir. Ayrıca trombosit agregasyonunu inhibe edebilir, iskemik kalp hastalığını, kardiyopulmoner enfarktüsü, serebral trombozu ve diğer hastalıkları önleyebilir ve tedavi edebilir. Ek olarak, asetilsalisilik asidin anti-kanser etkisine sahip olduğu da bazı çalışmalarda gösterilmiştir. ABD önleyici hizmetler için çalışma grubu, asetilsalisilik asidin kardiyovasküler hastalık ve kolorektal kanserin birincil önlemi olarak kullanılabileceği konusunda bir kılavuz yayınlamıştır. Kılavuz ilk kez kolorektal kanserin yüksek riskli gruplarının kolorektal kanserin birincil önlenmesi için asetilsalisilik asidi kullanılabileceğini önermiştir. Belirli bir dozda asetilsalisilik asidin günlük olarak alınmasının meme kanserinin büyümesini etkili bir şekilde engelleyebildiği de gösterilmiştir. Ayrıca, asetilsalisilik asit kolon kanseri, gastrointestinal kanser, prostat kanseri ve diğer kanserler üzerinde belirli bir inhibitör etkiye sahip olabilir (Huang vd., 2018).

Aspirin'in çeşitli malignitelerde kanser mortalitesi üzerindeki doza bağlı etkisini inceleyen bazı endometrial kanser çalışmalarında daha ayrıntılı olarak incelenmiş olmasına rağmen az sayıda çalışma mevcuttur. Bazıları 5 yıllık tedaviden sonra kanser ölümlerindeki azalmanın belirginleştiğini ve yararlı etkilerin 20 yıldan fazla tedaviyle arttığını göstermiştir. Genel olarak, aspirin kanser ölümlerini % 20, özellikle de 5 yıllık tedaviden sonra % 40 azaltmıştır. Bu, aspirinin bu kanserlerin büyümesini ve metastazını azaltmaya çalıştığını düşündürmektedir (Takiuchi vd., 2018).

Aspirinin yukarıda bahsedilen bu etkileri literatürde yer almakla birlikte, telomeraz enzimi aktivitesini nasıl etkilediğine dair az sayıda çalışma mevcuttur. Endotel hücre kültürünün aspirin ile muamelesi sonucu telomeraz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (Böger vd., 2005). Yapılan başka bir çalışmada aspirinin, karotis lipid açısından zengin plaklardan gelen Polimorfonükleer nötrofillerdeki (PMN) telomeraz aktivitesini inhibe ettiği, ancak dolaşımdaki PMN'ler üzerinde hiçbir inhibitör etkiye sahip olmadığı ortaya koyulmuştur. Telomerazın aspirin ile inhibisyonunun, hTERT mRNA ve protein ekspresyonunun inhibisyonuna atfedilip atfedilmediğini belirlemek için daha ileri çalışmalar yapılmıştır. RT-PCR ve western blot analizi, aspirinin, PMN'lerde hTERT'nin mRNA ve protein ekspresyon seviyelerini karotis plaklarından gelenlerde azalttığını, ancak dolaşımdaki PMN'lerde düşürmediğini göstermiştir (Li vd., 2013).

Hua He ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, NSAID lerin kolon kanseri hücre hatlarında telomeraz aktivitesini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Telomeraz aktivitesi, çalışmada kullanılan tüm dört kolon karsinom hücre hattında (HT-29, COLO-205, CRL-2134 ve SW1116) tespit edilmiştir. Aspirin, indometasin ve SC-236'nın, HT-29, COLO205 ve CRL-2134'deki telomeraz aktivitesini DMSO ile muamele edilen kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında farklı boyutlarda inhibe ettiği fakat çalışmada kullanılan tüm NSAID'lerin SW1116 hücrelerinde telomeraz aktivitesi üzerinde belirgin inhibitör etkisi olmadığı gözlenmiştir (He vd., 2006).

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre asetilsalisilik asit, fare karaciğerinde telomeraz aktivitesini hafifçe yükseltmiştir. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yukarıda bahsedildiği gibi literatürdeki sonuçlar da, uygulama yapılan hücre tipine bağlı olmak üzere farklılıklar göstermektedir. Fakat bizim bulduğumuz telomeraz aktivitesindeki artışın, literatürde yoğun olarak bahsedilen asetilsalisilik asitin anti oksidan etkisine uygun olduğu düşünülebilir.



## 5. SONUÇ

Metformin, ibuprofen ve asetilsalisilik asitin birbirine benzer ve farklı birçok etkisi bulunmaktadır. Her üç ilacın da kanser hücreleri üzerine çeşitli etkilerinin olması ortak özelliklerinden biridir. Metforminin kanser hücreleri üzerinde hücre çoğalmasının inhibe edilmesi ve hücre ölümünün indüklenmesi gibi etkileri bilinmektedir. İbuprofenin kanser hücreleri üzerinde ise doğrudan değil de dolaylı yoldan onkojen sentezi, anjiyogenez, metastaz ve apoptoz gibi mekanizmalara etki ettiği literatürde ortaya koyulmuştur. Asetilsalisilik asitin de kanser hücreleri üzerinde pro-apoptotik ve metastazı önleyici etkileri olduğu bilinmektedir. Fakat bu etkilerin telomeraz ile bir bağlantısı olup olmadığı kesin olmamakla birlikte, telomeraz aktivitesi üzerine doğrudan etkilerinin araştırıldığı çalışmalar kısıtlı sayıdadır.

Bu tez çalışmasında metformin, ibuprofen ve asetilsalisilik asitin seçilme sebebi hepsinin de antikanser veya ömür uzatıcı etkilerinin olduğuna dair literatürde bazı bilgilerin olmasıdır. Telomeraz enzimi hem kanser hem de ömür uzunluğu üzerinde etkili olan bir enzim olduğu için, bu ilaçların literatürde bahsedilen bazı etkilerinin telomeraz kaynaklı olup olmadığının araştırılmasının faydalı olacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızda metformin, fare karaciğerindeki telomeraz aktivitesi üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Fakat yine de düşük doz uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir inhibitör etki göstermiştir. İbuprofen ise hem yüksek hem de düşük doz gruplarında inhibitör etki göstermiş olmasına rağmen, sadece yüksek doz grubundaki etki istatistiksel olarak anlamlıdır. Asetilsalisilik asit ise yüksek ve düşük doz uygulama gruplarında aktivatör etki gösterse de istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmamıştır.

Doğal moleküller veya sentetik moleküllerin çeşitli enzim aktivitelerindeki değişimlere etkilerine bakıldığında, bu etkilerin büyük çoğunlukla uygulanan doz ve uygulama yapılan hücre tipine bağlı olduğu görülmektedir. Bu durum, farklı uygulama dozlarında farklı sonuçlara ulaşılmasına neden olabilir. Literatürde bir maddenin etkileri hakkında yapılan araştırmalarda çelişkili görülebilecek sonuçların sebebi genel olarak bu uygulama veya model organizma farklılıklarıdır.

Bu tez çalışmasında, literatürde şimdiye kadar yapılan çalışmalardan farklı olarak *Mus musculus* swiss albino fareler kullanılmıştır. Hücre kültürü yerine canlı organizma kullanılmasındaki amaç, ilaçların insanlara günlük verilebilecek dozlarının canlı organizma üzerindeki etkilerinin analiz edilmesidir. Hücre kültürü üzerinde yapılan çalışmalarda günlük

dozun çok üzerinde dozlar kullanılarak değişik sonuçlar ve hatta yararlı sonuçlar da elde edilebilir. Fakat bu yüksek dozun canlı organizmada ya da insanda kullanılması, göstereceği toksik etkiler sebebiyle çoğu zaman mümkün değildir. Ayrıca hücre kültüründen farklı olarak, canlı organizmaya uygulanan moleküllerin karaciğerde metabolize edilmesi söz konusudur ki, bu da hücre kültüründe alınan sonuçlara göre epey farklılık yaratabilir.

Telomerler yaşla kısalır ve progresif telomer kısalması yaşlanmaya ve / veya apoptoza neden olmaktadır. Daha kısa telomerlerin de genomik dengesizlik ve onkogeneze neden olduğu gösterilmiştir. Daha kısa telomere sahip yaşlı insanların kalp ve bulaşıcı hastalıklardan ölme riskinin üç ila sekiz kat arttığı belirlenmiştir. Bu nedenle telomer kısalması oranı, bireyin sağlığı ve yaşlanma hızı için kritik öneme sahiptir. Sigara içmek, çevresel kirliliğe maruz kalmak, fiziksel aktivite eksikliği, obezite, stres ve sağlıksız beslenme, oksidatif yükü ve telomer kısalmasını arttırmaktadır. Telomerleri korumak, kanser riskini ve yaşlanma hızını azaltmak için daha az ve sağlıklı beslenmek düşünülebilir. Bunları içeren Akdeniz tipi bir diyetle tam tahıllı gıdalar birleştirildiğinde telomerlerin korunmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (Shammas, 2011).

Metformin, ibuprofen ve asetilsalisilik asit dünya çapında çokça kullanılan, hatta reçetesiz bile kullanılabilen ve milyonlarca insanı etkileyen ilaçlardır. Bu ilaçların, bilindik etkilerinin yanı sıra, telomeraz gibi hem yaşlanma hem de kanserde çok önemli bir enzim üzerinde aktivator veya inhibitör etki gösterebileceği, bu tez çalışmasında ortaya koyulmuştur. Bu ilaçları kullanan insanlar bu ilaçların bilindik etkilerinden faydalanmak isterken aynı zamanda vücutlarında oluşabilecek bir kansere veya yaşlanmaya karşı önlem aldıklarının farkında bile olmayabilirler. Bu ilaçların telomeraz enzimi üzerine etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde, insanlar üzerinde de araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- Agrawal, A., Dang, S., Gabrani, R., 2012. Recent patents on anti-telomerase cancer therapy. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 7, 102-117.
- Al-Nasser, I.A., 2000. Ibuprofen-induced liver mitochondrial permeability transition. *Toxicology Letters*, 111, 213-218.
- Andrews, J., Djakiew, D., Krygier, S., Andrews, P., 2002. Superior effectiveness of ibuprofen compared with other NSAIDs for reducing the survival of human prostate cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 50, 277–284.
- Anisimov, V. N., 2013. Do we finally have an anti-aging drug?. *Cell Cycle*, 12, 3483–3489.
- Bailey, C.J., Path, M.R.C., Turner, R.C., 1996. Metformin. *The New England Journal of Medicine*, 334, 574-579.
- Barzilai, N., Crandall, J. P., Kritchevsky, S. B., Espeland, M. A., 2016. Metformin as a tool to target aging. *Cell Metabolism*, 1060-1065.
- Bode-Böger, S. M., Lobenhoffer, J. M., Tager, M., Schröder, H., Scalera, F., 2005. Aspirin reduces endothelial cell senescence. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 334,1226–1232.
- Bonelli, P., Tuccillo, F. M., Calemma, R., Pezzetti, F., Borrelli, A., Martinelli, R., Rosa, D., Esposito, D., Palaia R., Castello, G., 2011. Changes in the gene expression profile of gastric cancer cells in response to ibuprofen: a gene pathway analysis. *The Pharmacogenomics Journal*, 11, 412-428.
- Bramlage, P., Goldis, A., 2008. Bioequivalence study of three ibuprofen formulations after single dose administration in healthy volunteers. *BMC Pharmacology*, 8, 1-9.
- Broccoli, D., 2004. Function, replication and structure of the mammalian telomere. *Cytotechnology* 45, 3-12.
- Chan, S.R.W.L., Blackburn, E.H., 2003. Telomeres and telomerase. *The Royal Society*, 359, 109- 121.
- Chang, C.C., Kuo, I.C., Ling, I.F., Chen, C.T., Chen, H.C., Lou, P.J., Lin, J.J., Chang, T.C., 2004. Detection of quadruplex DNA structures in human telomeres by a fluorescent carbazole derivative. *Analytical Chemistry*, 76, 4490-4496.
- Chen, Y., Zhang, Y., 2016. Functional and mechanistic analysis of telomerase: An antitumor drug target. *Pharmacology & Therapeutics*, 163, 24-47.

- Clarke, C.A., Canchola, A.J., Moy, L.M., Neuhausen, S.L., Chung, N.T., Lacey Jr, J.V., Bernstein, L., 2017. Regular and low-dose aspirin, other nonsteroidal anti-inflammatory medications and prospective risk of HER2-defined breast cancer: the California Teachers Study. *Breast Cancer Research*, 19, 1-12.
- Cunningham, D.D., Collins, K., 2005. Biological and biochemical functions of RNA in the *Tetrahymena* telomerase holoenzyme. *Molecular and Cellular Biology*, 25, 4442-4454.
- Dahse, R., Fiedler, W., Ernst, G., 1997. Telomeres and telomerase: biological and clinical importance. *Clinical Chemistry*, 43:5, 708-714.
- David, A., Pancharatna, K., 2009. Developmental anomalies induced by a non-selective COX inhibitor (ibuprofen) in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27, 390-395.
- Ekstrand, M., 2011. The Effects of Muscle Damaging Electrically Stimulated Contractions and Ibuprofen on Muscle Regeneration and Telomere Lengths in Healthy Sedentary Males, Yüksek Lisans Tezi. Örebro Üniversitesi Spor Fizyolojisi ve Sağlığı, Örebro, İsveç.
- Foretz, M., Guigas, B., Bertrand, L., Pollak, M., Benoit Viollet, B., 2014. Metformin: from mechanisms of action to therapies. *Cell Metabolism*, 20, 953-966.
- Fraser, D.M., Sullivan, F.M., Thompson, A.M., McCowan, C., 2014. Aspirin use and survival after the diagnosis of breast cancer: a population-based cohort study. *British Journal of Cancer*, 111, 623-627.
- Gao, X., Chen, H., Schwarzschild, M. A., Ascherio, A., 2011. Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology*, 76, 863-869.
- Gomez, D.E., Armando, R.G., Farina, H.G., Menna, P.L., Cerrudo, C.S., Ghiringhelli, P.D., Alonso, D.F., 2012. Telomere structure and telomerase in health and disease (Review). *International Journal of Oncology*, 41, 1561-1569.
- Han, S., Choi, K., Kim, J., Ji, K., Kim, S., Ahn, B., Yun, J., Choi, K., Khim, J.S., Zhang, X., Giesy, J.P., 2010. Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. *Aquatic Toxicology*, 98, 256-264.
- Han, S., Yang, A., Lee, S., Lee, H.W., Park, C.B., Park, H.S., 2017. Expanding the genetic code of *Mus musculus*. *Nature Communications*, 1-7.
- Hanna, R. K., Zhou, C., Malloy, K. M., Sun, L., Zhong, Y., Gehrig, P. A., Bae-Jump, V. L., 2012. Metformin potentiates the effects of paclitaxel in endometrial cancer cells through inhibition of cell proliferation and modulation of the mTOR pathway. *Gynecologic Oncology*, 125, 458-469.

- He, H., Xia, H. H., Wang, J., Gu, Q., Lin, M. C. M., Zou, B., Lam, S. K., Chan, A. O. O., Yuen, M. F., Kung, H. F., Wong, B. C., 2006. Inhibition of human telomerase reverse transcriptase by nonsteroidal antiinflammatory drugs in colon carcinoma. *Cancer*, 106, 1243-1249.
- Hiyama, E., Hiyama, K., 2007. Telomere and telomerase in stem cells. *British Journal of Cancer*, 96, 1020-1024.
- Huang, G., Cheng, H., Liu, Y., Hu, J., 2018. Preparation and activity of glycosylated acetylsalicylic acid. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26, 263-265.
- Huffman, D.M., Schafer, M.J., LeBrasseur, N.K., 2016. Energetic interventions for healthspan and resiliency with aging. *Experimental Gerontology*, 86, 73-83.
- Islas-Flores, H., Gómez-Oliván, L.M., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Neri-Cruz, N., Dublán-García, O., 2013. Effect of ibuprofen exposure on blood, gill, liver, and brain on common carp (*Cyprinus carpio*) using oxidative stress biomarkers. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 5157-5166.
- Iwano, T., Tachibana, M., Reth, M., Shinkai, Y., 2003. Importance of TRF1 for functional Telomere structure. *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 1442-1448.
- Jankowska, H., Hooper, P., Jankowski, J.A., 2010. Aspirin chemoprevention of gastrointestinal cancer in the next decade. *Polish Archives of Internal Medicine*, 120, 407-411.
- Javidfar, S., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., Farajzadeh, R., Lotfi-Attari, J., Shafiei-Irannejad, V., Hashemi, M., Zarghami, N., 2018. The inhibitory effects of nano-encapsulated metformin on growth and hTERT expression in breast cancer cells. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 43, 19-26.
- Jeffries, K.M., Brander, S.M., Britton, M.T., Fangué, N.A., Connon, R.E., 2015. Chronic exposures to low and high concentrations of ibuprofen elicit different gene response patterns in a euryhaline fish. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 17397-17413.
- Jesus, B.B., Maria A. Blasco, M.A., 2013. Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends in Genetics*, 29, 513-520.
- Jiang, J., Miracco, E.J., Hongd, K., Eckertd, B., Chanb, H., Cashb, D.D., Mind, B., Zhou, Z.H., Collins, K., Feigon, J., 2013. The architecture of Tetrahymena telomerase holoenzyme. *Nature*, 496, 187-192.
- Johnson, J.E., Broccoli, D., 2007. *Apoptosis, Senescence and Cancer*, İkinci Baskı. 127 s.
- Kachouri-Lafond, R., Dujon, B., Gilson, E., Westhof, E., Fairhead, C., Teixeira, M.T., 2009. Large telomerase RNA, telomere length heterogeneity and escape from senescence in *Candida glabrata*. *FEBS Letters*, 583, 3605-3610.

- Kim, N.W., Piatyszek, M.A., Prowse, K.R., Harley, C.B., West, M.D., Ho, P.L.C., Coviello, G.M., Wright, Weinrich, S.L., Shay, J.W., 1994. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 266, 2011-2014.
- Kiecolt-Glaser, J.K., Glaser, R., 2010. Psychological stress, telomeres, and telomerase. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24, 529-530.
- Kroll, P.B., 2012. Intravenous ibuprofen for postoperative pain. *Pain Manage*, 2, 47-54.
- Li, F., Guo, Y., Jiang, X., Zhong, J., Li, G., Sun, S., 2013. Aspirin inhibits human telomerase activation in unstable carotid plaques. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 6, 204-208.
- Lia, H., Wei, C., Zhou, R., Wang, B., Zhang, Y., Shao, C., Luo, Y., 2019. Mouse models in modeling aging and cancer. *Experimental Gerontology*, 120, 88-94.
- Lieb, J., 2007. Antidepressants, prostaglandins and the prevention and treatment of cancer. *Medical Hypotheses*, 69, 684-689.
- Lim, G. P., Yang, F., Chu, T., Chen, P., Beech, W., Teter, B., Tran, T., Ubeda, O., Ashe, K. H., Frautschy, S. A., Cole, G. M., 2000. Ibuprofen suppresses plaque pathology and inflammation in a mouse model for alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience*, 20, 5709-5714.
- Liu, Q., Yuan, W., Tong, D., Liu, G., Lan, W., Zhang, D., Xiao, H., Zhang, Y., Huang, Z., Yang, J., Zhang, J., Jiang, J., 2016. Metformin represses bladder cancer progression by inhibiting stem cell repopulation via COX2/PGE2/STAT3 axis. *Oncotarget*, 7, 28235-28246.
- Lonnroth, C., Andersson, M., Lundholm, K., 2001. Indomethacin and telomerase activity in tumor growth retardation. *International Journal of Oncology*, 18, 929-937.
- Lu, W., Zhang, Y., Liu, D., Songyang, Z., Wan, M., 2013. Telomeres-structure, function, and regulation. *Experimental Cell Research*, 319, 133-141.
- Mallik, R., Chowdhury, T. A., 2017. Metformin in cancer. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 143, 409-419.
- Mali, S., 2013. Delivery systems for gene therapy. *Indian Journal of Human Genetics*, 19, 3-8.
- Mason, M., Schuller, A., Skordalakes, E., 2011. Telomerase structure function. *Current Opinion in Structural Biology*, 21, 92-100.
- Mathiasa, F.T., Fockink, D.H., Disner, G.R., Prodocimo, V., Ribas, J.L.C., Ramos, L.P., Cestari, M.M., Assis, H.C.S., 2018. Effects of low concentrations of ibuprofen on freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 59, 105-113.

- Mc Menamina, U.C., Cardwella, C.R., Hughesb, C.M., Murraya, L.J., 2017. Low-dose aspirin use and survival in breast cancer patients: A nationwide cohort study. *Cancer Epidemiology*, 47, 20-27.
- Mocellin, S., Pooley, K.A., Donato Nitti, D., 2013. Telomerase and the search for the end of cancer. *Trends in Molecular Medicine*, 19, 125-133.
- Modena, B., White, A.A., Woessner, K.M., 2017. Aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs hypersensitivity and management. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, (Baskıda).
- Morales, D.R., Morris, A.D., 2014. Metformin in cancer treatment and prevention. *Annual Review of Medicine*, 66, 17-29.
- Novelle, M. G., Ali, A., Dieguez, C., Bernier, M., Cabo, R., 2019. Metformin: A hopeful promise in aging research. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1-12.
- Ochoa-Gonzalez, F., Cervantes-Villagrana, A.R., Fernandez-Ruiz, J.C., Nava-Ramirez, H.S., Hernandez-Correa, A.C., Enciso-Moreno, J.A., Castañeda-Delgado, J.E., 2016. Metformin induces cell cycle arrest, reduced proliferation, wound healing impairment in vivo and is associated to clinical outcomes in diabetic foot ulcer patients. *Plos One*, 1-16.
- Pasche, B., Wang, M., Pennison, M., Jimenez, H., 2014. Prevention and treatment of cancer with aspirin: where do we stand?. *Seminars Oncology*, 41, 397-401.
- Patel, S., Singh, N., Lalit Kumar, L., 2015. Evaluation of effects of metformin in primary ovarian cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16, 6973-6976.
- Popp, S., Schulze, B., Granzow, M., Keller, M., Holtgreve-Grez, H., Schoell, B., Brough, M., Hager, H.D., Tariverdian, G., Brown, J., Kearney, L., Jauch, A., 2002. Study of 30 patients with unexplained developmental delay and dysmorphic features or congenital abnormalities using conventional cytogenetics and multiplex FISH telomere (M-TEL) integrity assay. *Human Genetics*, 111, 31-39.
- Redpath, M., Marques, C. M. G., Dibden, C., Waddon, A., Lalla, R., MacNeil, S., 2009. Ibuprofen and hydrogel-released ibuprofen in the reduction of inflammation-induced migration in melanoma cells. *British Journal of Dermatology*, 161, 25-33.
- Rhodes, D., Giraldo, R., 1995. Telomere structure and function. *Current Opinion in Structure Biology*, 5, 311-322.
- Rouda, S., Skordalakes, E., 2007. Structure of the RNA-Binding domain of telomerase: implications for RNA recognition and binding. *Structure*, 15, 1403-1412.
- Ruden, M., Puri, N., 2013. Novel anticancer therapeutics targeting telomerase. *Cancer Treatment Reviews*, 39, 444 - 456.

- Sandin, S., Rhodes, D., 2014. Telomerase structure. *Current Opinion in Structural Biology*, 2014, 25, 104-110.
- Schumpert, C., Nelson, J., Kim, E., Dudycha, J.L., Patel, R.C., 2015. Telomerase activity and telomere length in daphnia. *Plos One*, 1-15.
- Sehdev, A., Shih, Y.C.T., Vekhter, B., Bissonnette, M.B., Olopade, O. I., Polite, B.N., 2015. Metformin for primary colorectal cancer prevention in patients with diabetes: A case-control study in a US population. *Cancer*, 121, 1071-1078.
- Shammas M. A., 2011. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 14, 28-34.
- Shay, J.W., Keith, W.N., 2008. Targeting telomerase for cancer therapeutics. *British Journal of Cancer*, 98, 677-683.
- Shay, J.W., Wright, W.E., 2011. Role of telomeres and telomerase in cancer. *Seminars in Cancer Biology* 21, 349-353.
- Shay, J.W., 2018. Telomeres and aging. *Current Opinion in Structural Biology*, 52, 1-7.
- Shippen, D.E., McKnight, T.D., 1998. Telomeres, telomerase and plant development. *Trends in Plant Science*, 3, 126-130.
- Simon-Szabo, L., Kokas, M., Mandl, J., Keri, G., Csala, M., 2014. Metformin attenuates palmitate-induced endoplasmic reticulum stress, serine phosphorylation of IRS-1 and apoptosis in rat insulinoma cells. *Plos One*, 9, 1-7.
- Singh, M., Wang, Z., Koo, B.K., Patel, A., Cascio, D., Collins, K., Feigon, J., 2012. Structural basis for telomerase RNA recognition and RNP assembly by the holoenzyme La Family Protein p65. *Molecular Cell*, 47, 16-26.
- Sprouse, A.A., Steding, C.E., Herbert, B.S., 2012. Pharmaceutical regulation of telomerase and its clinical potential. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16, 1-7.
- Takiuchi, T., Blake, E.A., Matsuo, K., Sood, A. K., Brasky, T. M., 2018. Aspirin use and endometrial cancer risk and survival. *Gynecologic Oncology*, 148, 222-232.
- Vonderheide, R.H., 2002. Telomerase as a universal tumor-associated antigen for cancer immunotherapy. *Oncogene*, 21, 674-679.
- Wang, Y., Liu, G., Tong, D., Parmar, H., Hasenmayer, D., Yuan, W., Zhang, D., Jiang, J., 2015. Metformin represses androgen-dependent and androgen-independent prostate cancers by targeting androgen receptor. *The Prostate*, 75, 1187-1196.
- White, L.K., Wright, W.E., Shay, J.W., 2001. Telomerase inhibitors. *TRENDS in Biotechnology*, 19, 114-120.



- Wills, L.P., Schnellmann, R.G., 2011. Telomeres and telomerase in renal health. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22, 39-41.
- Xu, Y., Goldkorn, A., 2016. Telomere and telomerase therapeutics in cancer. *Genes*, 7, 22.
- Zakian, A.V., 2012. Telomeres: The beginnings and ends of eukaryotic chromosomes. *Experimental Cell Research*, 318, 1456-1460.
- Zhuang, Y., Miskimins, W.K., 2011. Metformin induces both caspase-dependent and poly(ADP-ribose) polymerase-dependent cell death in breast cancer cells. *Molecular Cancer Research*, 9, 603-615.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Aykut TOPAL  
Doğum Yeri ve Yılı : BURDUR / 1995



### Eğitim Durumu

	<u>Yıl</u>
Lise : Burdur Cumhuriyet Anadolu Lisesi	2009-2013
Lisans : Uşak Üniversitesi	2013 - 2017
Yüksek Lisans : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	2017 - 2019

### Çalıştığı Kurum / Kurumlar

-

Yıl

### Yayınları (SCI ve diğer makaleler)

- 1- International Health Science and Life 2018 – Poster (Theories of Aging)