

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI



**MEYAN (*Glycyrrhiza glabra* L.) BİTKİSİNİN CİLT KANSERİ
HÜCRELERİNDE APOPTOTİK YOLAKLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Uygar ADAL

Danışman

Prof. Dr. Harun ALP

HATAY – 2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MEYAN (*Glycyrrhiza glabra* L.) BİTKİSİNİN CİLT KANSERİ
HÜCRELERİNDE APOPTOTİK YOLAKLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Uygar ADAL

Danışman

Prof. Dr. Harun ALP

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
18.YL.043 no' lu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MEYAN (Glycyrrhiza glabra L.) BİTKİSİNİN CİLT KANSERİ
HÜCRELERİNDE APOPTOTİK YOLAKLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Uygar ADAL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından/.../ 2019 günü sözlü olarak yapılan
tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı.....()
Üye:()
Üye:()

Bu tez, EnstitümüzAnabilim Dalında hazırlanmıştır.

Akademik Unvanı, Adı Soyadı
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın yapılmasında desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Harun ALP' e, çalıőmanın gerçekleőtirilmesindeki yardımları için Doç Dr. Mahir Kaplan' a, tez çalıőmamı destekleyen Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)' a, geleneksel halk tıbbının bir üyesi olan ve beni bu çalıőmaya sevk eden Vahit Sönmez' e, ayrıca manevi katkıları için de aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Meyan Bitkisinin İçeriği, Yapısı Ve Farmakolojik.....	
Özellikleri	5
2.1. 1. Meyan Bitkisinin İçeriği ve Yapısı	5
2.1. 2. Meyan Bitkisinin Farmakolojik Özellikleri	6
2.2. Meyan Bitkisinin Halk Tıbbında ve Endüstriyel Alanda Kullanımı	7
2.3. Meyan Bitkisinin Yan Etkileri	12
2.4. Meyan Bitkisinin İlaç Etkileşimleri.....	13
2.5. Apoptozun Mekanizması	14
2.6. Hücre Döngüsü, Apoptoz ve Kanser	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.	25
3.1. Çalışmada Kullanılan Glycyrrhiza Türü ve Toplanması	25
3.2. Hücre Kültürü	25
3.3. Doku Homojenizasyonu	26
3.4. Protein Miktar Tayini.....	26
3.5. Elisa Deneyleleri	26
3.5.1 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) testi.....	27
3.5.1.1 Bax miktar tayini.....	27
3.5.1.2 Bcl-2 miktar tayini.....	27
3.5.1.3 Kaspaz- 3 Aktivite tayini.....	27
3.5.1.4 Wee 1 miktar tayini.....	28
3.5.1.5 Gadd153 (Chop) miktar tayini.....	28
3.5.1.6 AIF miktar tayini.....	29
3.5.1.7 P-ERK miktar tayini.....	29

3.5.1.8 P-JNK miktar tayini.....	29
3.6 Sonuçların Değerlendirilmesi.....	30
4. BULGULAR.....	311
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇ.....	40
7. KAYNAKLAR	41
ÖZGEMIŐ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1.1. Glycyrrhiza asymmetrica Hub.-Mor.....	3
Şekil 2.1.2. Glycyrrhiza echinata L.....	3
Şekil 2.1.3. Glycyrrhiza flavescens Boiss. subsp. Antalyensis	3
Şekil 2.1.4 Glycyrrhiza flavescens Boiss. subsp. Flavescens.....	3
Şekil 2.1.5.Glycyrrhiza glabra L. var. glandulifera.....	3
Şekil 2.1.6 Glycyrrhiza iconica Hub.-Mor.....	3
Şekil 2.2 Ankaferd Blood Stopper	12
Şekil 2.3.Apoptoz yolakları.....	16
Şekil 2.4. Bcl-2 yolağı.....	17
Şekil 2.5. ER stresi.....	19
Şekil 2.6.ER stresi sinyal yolakları.....	20
Şekil 2.7. Hücre döngüsü.....	23
Şekil 3.1.Kurutulmuş meyan yaprakları.....	25
Şekil 4.1. Bax miktar ölçümü.....	31
Şekil 4.2. Bcl-2 miktar ölçümü.....	31
Şekil 4.3. Kaspaz- 3 miktar ölçümü.....	31
Şekil 4.4 P-JNK miktar ölçümü.....	31
Şekil 4.5. P-ERK miktar ölçümü.....	32
Şekil 4.6 Kontrol ve Ekstrakt Gruplarına Ait Sonuçlar.....	33
Şekil 5.1 Meyanın Anti-karsinojenik etkisi.....	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1 Kontrol ve ekstrakt grubuna ait yapılan ölçüm sonuçları.....	32

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

CAD	: Kaspazla aktiflenen deoksiribonükleaz
CDK2	: Sikline bağımlı kinaz
DDIT-3	: DNA hasarı ile uyarılan transkript-3
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERK	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Gadd153 (CHOP)	: DNA hasarı ile uyarılan büyümeyi durduran gen
JNK	: c-JUN-N-Terminal kinaz
MAPK	: Mitojenle aktive olan protein kinaz
MPF	: Mitozu ilerleten faktör
UPR	: Hatalı katlanmış proteinler

ÖZET

Meyan (Glycyrrhiza Glabra L.) Bitkisinin Cilt Kanseri Hücrelerinde Apoptotik Yolaklar Üzerine Etkisi

Kanser gelişiminde ve tedavide kullanılan kemoterapötiklere direnç noktasında apoptozisin önemli rolü vardır. Çalışmamızda Hatay' ın Samandağ ilçesinde toplanan meyan (Glycyrrhiza glabra L.) bitkisinin kurutulmuş yaprak ekstresinin, B16F10 cilt kanseri hücrelerinde, kaspaz-3, bax, bcl-2, wee1, gadd153, AIF ve p-JNK protein düzeylerini ve aktivitelerini nasıl etkileyeceğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, cilt kanseri (*B16-F10, melanom*) hücre kültürü yapıldı. Daha sonra bu hücreler meyan ekstresi ile muamele edilip kanser hücrelerinde, kaspaz-3, bax, bcl-2, wee1, gadd153, AIF, p-JNK, p-ERK protein düzeyleri ve aktiviteleri ELISA yöntemiyle analiz edildi. Çalışmamızda, p-JNK ve p-ERK aktivitesinde azalma, kaspaz-3, bax, wee1, gadd153, AIF miktarında artış ve Bcl-2 miktarında azalma tespit edildi. Meyan bitkisinin kurutulmuş yaprak ekstraksiyonunun apoptotik yolakları indükleyerek, anti-karsinojenik etkisi olduğunu ve bu etkinliğini hangi yolaklar üzerinden sağladığını ortaya koyduk.

Anahtar Kelimeler: Meyan, Glycyrrhiza glabra L., B16F10 melanoma, Bax, Bcl-2.

ABSTRACT

The Effect of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) on Apoptotic Pathways in Skin Cancer Cells

Apoptosis plays an important role in resistance to chemotherapeutics used in cancer development and treatment. In this study, we aimed to investigate how dried leaf extract of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) collected in Samandağ district of Hatay will affect bcl-2, caspase-3, bax, bcl-2, wee1, gadd153, AIF and p-JNK protein levels and activities in B16F10 skin cancer cells. For this purpose, skin cancer (B16-F10, melanoma) cell culture was performed. These cells were then treated with licorice extract and caspase-3, bax, bcl-2, wee1, gadd153, AIF, p-JNK, p-ERK protein levels and activities in cancer cells were analyzed by ELISA. In our study, we found decreased p-JNK and p-ERK activity, increased caspase-3, bax, wee1, gadd153, AIF and decreased Bcl-2.

We have demonstrated that the dried leaf extraction of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) plant has anti-carcinogenic effect by inducing apoptotic pathways and through which paths it provides.

Key words: Licorice, *Glycyrrhiza glabra* L., B16F10 melanoma, Bax, Bcl-2.

1. GİRİŞ

Mezopotamya, Sümer, Çin, Hint, Mısır, Yunan ve Roma tıbbında yaygın olarak kullanılan ve en eski yıllardan bu yana tedavi değeri bilinen meyan bitkisi (Armanini ve ark. 2002, Fiore ve ark. 2005, Vaya ve ark. 2004) halk tıbbında yoğun şekilde kullanılması, ayrıca yer aldığı tıbbi bitkiler katalogu ve kodekslerden dolayı da modern tıpta asırlardır önemini koruyan bir bitkidir (Kılıç 2014). Cilt kanserleri oldukça yaygın görülen, insidansı giderek artan ve topluma oldukça yüklü bir maliyete sebep olan ciddi bir sağlık problemidir. Skuamöz hücreli karsinom ve yassı hücreli karsinom (YHK) gibi melanoma dışı cilt kanserleri Amerika’da sıklıkla görülen malignitelerden olup, yaklaşık olarak her yıl 3,5 milyon yeni vaka tespit edilmekte ve bu insidans giderek artmaktadır. Melanom oldukça nadir görülmesine rağmen cilt kanserlerinin en ölümcül olanıdır ve Amerika’da her yıl yaklaşık 60000 kişi tanı alırken, 8600 kişi bu hastalıktan dolayı kaybedilmektedir. Cilt kanserleri hem tedavi aşamasında maddi yük getirmekte hem de güç kaybına yol açmaktadır. Kanser tedavisi sırasında anti kanserojen etkinliği gösterilen meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.) ekstresinin, kemoterapotik tedavi ile birlikte kullanılmasının yararlı potansiyel etkilerini ortaya koymuştur. Bu nedenle meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.) ekstresinin, cilt kanseri hücrelerinin apoptoz yolağına etkisi merak uyandırmaktadır. Bu amaçla cilt kanseri hücre hatları hücre kültüründe alınarak meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.) ekstresinin, bu hücrelerdeki apoptoz mediyatörleri üzerine etkileri araştırılacaktır. Kanserlerde kemoterapötiklere gösterilen dirençte ve kanser gelişiminde apoptozisin önemli rolü vardır. Apoptotik yollar, kanserlerde kemoterapötiklere gösterilen dirençte ve kanser gelişiminde önemlidir. Yapılan çalışmalarda, meyan kökünün anti-oksidan, anti-inflamatuar, anti-viral, anti-tümör, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif biyolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Dhiman, Chawla 2005, Fuhrman ve ark. 2002, Fukai ve ark. 2002, Wang, Nixon 2001). Triterpenik bir bileşen olan Glisirizin, meyan bitkisinin biyolojik olarak en aktif bileşeni olarak bilinmektedir (Wang ve Nixon 2001). Yapılan birçok araştırma Glisirizin’in biyoaktivitesi üzerine yoğunlaşmış olup, Glisirizin ile in- vitro veya in- vivo olarak yapılmış çalışmalarda bir taraftan inflamasyon, melanoma hücre proliferasyonu diğer taraftan da metastazı zayıflattığına dair sonuçlar ortaya konmuştur (Aydemir ve ark. 2011, Kobayashi ve ark. 2002, Rossi ve ark. 2005). Bu nedenle çalışmamızda meyan bitkisinin apoptotik yollar üzerindeki etkilerini inceledik.

2. GENEL BİLGİLER

Meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.) farklı kültür ve dillerde şu isimlerle de anılmaktadır: Anadolu'da; Süs, Buyan, Biyam, Boyam, Piyam, Tatlı kök diye (Şahin 2007, Kıran ve Akçiçek 2014) Avrupada ise; Licorice, Reglisse (Feneon 1839, Uygun 2015), Hindistan da yashimadhu, Çin de Ganco ve Japonya da Kanzo (Bone ve Mills 2013). Meyan bitkisi özellikle Türkiye, Suriye, Beyrut, Cebel ve Bağdat gibi Akdeniz coğrafyasına sahip ülkeler ile Afganistan, Çin, Ukrayna, Rusya ve Türki Cumhuriyetlerde sulak ve nemli yerlerde, ayrıca dere veya nehir civarları kumlu alanlarda, tarla boylarında yetişmektedir. Ayrıca tarımı da yapılmaktadır (Başer 2006). Ülkemiz sınırları içinde Büyük ve Küçük Menderes nehirleri civarında, Adana, Gaziantep, Konya illerinde, Dicle ve Fırat nehirleri bölgesinde yetişen meyan kökü, iki veya üç metre derinliğe kadar ulaşabilen kökler salar ve kökünden de siyah renkte tatlı bir özsuyu elde edilir (Uygun 2015). Bitkinin ilk yılda kökleri zayıftır, ikinci yıla ulaştığında kökler, sarımtırak renk alarak biraz daha kalınlaşmaktadır. Bitki ikinci yılında çevre koşullarına karşı dirençli değildir. Üçüncü yılına giren meyan bitkisinin ancak tam olarak olgunlaştığı söylenebilir (Uygun 2015). Boyu 50 ila 200 cm arasında değişen baklagiller familyasından (Leguminosae=Fabacea) çok yıllık bir bitki olup yaprakları kanat şeklinde, yaprakçıkları ise eliptiktir, üst kısmı koyu renkte olup alt kısımları ise grimsi yeşil renklerde ayrıca tüylüdür. Bol çiçek veren bitkinin, çiçekleri 15 cm uzunluğa kadar erişebilmekte, görüntü olarak simetrik bir dağılımla bitkide yerleşmektedir (Rechinger 1957, Oğuz 1972). Çiçekleri kelebek, başak görünümlüdür. Çiçeklerin renkleri ise pembemsi, leylak, sarı, mor tonlarında olabilmektedir. Meyveleri, siyahımsı kırmızı renkte ve fasulye görünümünde olup bunların içinde ise birkaç tohum bulunur. Kökler ise kazık kök formunda olup gri, siyah, kırmızı arası esmerimsi renklerde (Çınar 2012, Kılıç 2014). Anadolu'da yaşamış hekim Anazarvalı Dioscorides (d. ms 30 -ö. ms 90), 'Materia Medica' isimli eserinde bu bitkiden tatlı (glukos) ve kök (rhiza) olarak söz ettiğinden, bu cinse *Glycyrrhiza* adı verilmiştir (Başer 2006). *Glycyrrhiza* (Leguminosae=Fabacea) cinsinin dünya üzerinde 12 türü bulunmakta (Örn. *Glycyrrhiza inflata* Bat., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch gibi) (Başer 2006) Ayrıca Türkiye'de doğal olarak yetişen meyan bitkisinin 4 tanesi endemik olmak üzere 6 türü yer almaktadır (Chamberlain 1970, Sümbül ve ark. 2003).

- 1- *Glycyrrhiza asymmetrica* Hub.-Mor. (Endemik).
- 2- *Glycyrrhiza iconica* Hub.-Mor. (Endemik).
- 3- *Glycyrrhiza flavescens* Boiss. subsp. *Antalyensis* Sümbül et al (Endemik).
Glycyrrhiza flavescens Boiss. subsp. *Flavescens* (Endemik).
- 4- *Glycyrrhiza aspera* Pall.
- 5- *Glycyrrhiza echinata* L.
- 6- *Glycyrrhiza glabra*

Glycyrrhiza glabra L.'ye ait 2 adet varyete vardır.

Glycyrrhiza glabra L.var. *glabra* (çıplak meyveli)(Çalışmamızda kullanılan türdür).

Glycyrrhiza glabra L. var. *glandulifera* (Waldst. & Kit.) Boiss. (salgı tüylü).



Şekil: 2.1.1 *Glycyrrhiza asymmetrica*



Şekil: 2.1.2 *Glycyrrhiza echinata*



Şekil: 2.1.3 *Glycyrrhiza flavescens* subsp. *antalyensis*



Şekil: 2.1.4 *Glycyrrhiza flavescens* subsp. *flavescens*



Şekil: 2.1.5 *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera*



Şekil: 2.1.6 *Glycyrrhiza iconica*

Şekil: 2.1 Meyan Türleri (Sümbül ve ark. 2003).

Meyan kökleri Ağustos ayından başlanarak Şubat ayı sonuna kadar sökülüp koparılır, yağışlı geçen aylarda toprağın ıslanıp gevşemesinden dolayı tercihen sonbahar aylarında meyan kökü koparılıp toplanmaktadır (Uygun 2015). Biz de çalışmamızda kullandığımız bitkiyi eylül ayında topladık. Genel tababette ve sanayiide en çok kullanılan meyan türü *Glycyrrhiza glabra* ve *Glychrriza echinata*' dır (Baytop 1984). *Glycyrrhiza glabra* türünün en önemli özelliği köklerinin (rizom) tatlı olmasıdır (Akan ve Balos 2008). Çalışmamızda materyal olarak *Glycyrrhiza glabra* L. türünü kullandık.

2.1. Meyan Bitkisinin İçeriği, Yapısı Ve Farmakolojik Özellikleri

2.1.1. Meyan Bitkisinin İçeriği ve Yapısı

Ülkemizde yayılış gösteren Glycyrrhiza cinslerinin farklı kısımlarıyla (toprak üstü ve kök) yapılan birçok çalışmada, içeriğinde bulunan flavon, uçucu yağ bileşenleri nedeniyle yapılan birçok testte yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada bitkinin köklerinden izole edilmiş bazı flavonoidlerin güçlü antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (Gordon ve An 1995). Genel yağ asidi içerik tespitlerinin yapılmasıyla da tekli ve çoklu zincirli doymamış yağ asitlerinin, doymuş yağ asitlere oranın fazla olmasından dolayı bitkinin, kaliteli bir esansiyel yağ asidi kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Çakmak 2011). Aynı çalışmada bitkinin uçucu yağ bileşimleri ve yağ asit içerikleri de tespit edilmiştir. Bunlar; hexanal, dimethylamine, nerolidol, m-cresol, furan-2-pentyl, 1-pentylcyclobutene, acetophenone, β -pinene, α -caryophyllen, 1-phenyl-1-H-pyrazol-3-amine, naphtalene, benzaldehyde, 4-terpineol, hexahydro farnesyl acetone, E-neryl linalool, 1-tetracosanol, phytol, 4-pyridinecarbonitrile, p-hexylacetophenone ve n-hexadecanoic acid' tir. Genel yağ asidi bileşenlerinde ise oleik ve linoleik asit, palmitik asit tespit edilmiş olup bunlar türlerin çok geniş kısmında bulunan yağ asidi içerikleri olarak ortaya konmuştur (Çakmak 2011). Ayrıca meyan içeriğinde glikoz, sakkaroz, nişasta, reçine, flavon glikozitleri, zamk, acı madde ve triterpenik sapononin olan glisirizin bulunur (Karakoçan 1987). Ayrıntılandırıp açıklamak gerekirse içerikteki bileşenler: likoflavonol, kumatakenin, likorikon, glabrol, glabron, glizarin, likoizoflavon A ve B, likoizoflavonon, glisirol, formononetin, likiritigenin, likiritin, neolikiritin, ramnolikiritin, glizaglabrin, 7-hidroksi 2- metil izoflavon, 4'-7 dihidroksiflavon, glabranin; flavonoidler ve izoflavonoidlerdir. İzolikiritigenin, izolikiritin, neo-izolikiritin, likurazit, ramnoizolikiritin, ekinatin, likokalkon A ve B, 4-hidroksikalkon ise kalkonlardır. Umbelliferon, herniarin, likkumarin, glisirin ise kumarinlerdir. Likiritik asit, gisirretol, glabrolit, izoglabrolit, likorik asit, β -amirin, 18- β glisirretinik asit ise triterpenoitlerdir. Stigmasterol, β -sitosterol, 22,23-dihidrosterol ise sterollerdir. Prolin, serin, aspartik asit ise aminoasitlerdir. Asparagin, betain, kolin ise aminlerdir. , Glukoz ve sakkaroz ise şekerlerdir. Ayrıca nişasta, lignin, mum, zamk ve uçucu yağlar da bulunmaktadır (Bozan 1988). Meyan bitkisinin sarımsı esmer renkte köküne rengini veren flavonoidler ve isoflavonoidlerdir. Temel flavonoid ise likuiritindir.

Ayrıca, isolikuiritin, likuiritigenin, rhamnolikuiritin, neo-likuiritin, likoflavonol, likisoflavonler A ve B, licoisoflavon, formononetin glabrol, glabron, glisarin, glabridin, glabrene, 3-hydroxyglabrol, 4'-O-methylglabridin A ve hispaglabridin B eklenmektedir. Meyan kökünün aktif maddelerinden olan glabridin, hispaglabridin A, hispaglabridin B, 4'-O-methylglabridin, 3'-hidroksi-4'-O- metilglabridin, isofrenilkalkone, isolikuiritigenin ve formononetinin, saponinler, steroller, kumarinler, kolinler, zamk, ligninler, biotin, folik asit, inositol, lesitin, pantotenik asit, paraamino benzoik asit, pentasiklik terpenler, şeker, protein, B1, B2, B3, B6 ve E vitaminleridir (Doğan 2004). Meyan bitkisiyle ilgili bildirilen farmakolojik etkiler ise şöyle sıralanabilir; anti-bakteriyel, anti-ülser, anti-tümör, ekspektoran, anti-astım, anti-romatizmal, anti-aterosklerotik, anti-inflamatuar, anti-akne (Nand ve ark. 2012), anti-alerjik, gastroprotektif, immünomodülatör, anti-viral ve antioksidan etkisi vardır (Shibata 2000, Kitagawa 2002, Vaya ve ark. 2004, Şerbetçi 2007, Çınar 2012). Meyan bitkisinin aktif bileşiklerinden gliseritik asitin 3 β -diglukuronit glikoziti, glisirizik asittir ve glisirizin olarak adlandırılmaktadır (Hekiman 2010). Meyan kökünün ana bileşenlerinden olan glisirizin ve gliseritik asitin, klinikte hiperlipidemi, arteroskleroz ile alerjik inflamasyonun tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Lin ve ark. 2005). Glisirizin şekerden daha da tatlı bir yapı olup az miktarda genzi yakan hafif bir acısı vardır. Glisirizin, şeker yapıda değildir ama şekerden çok daha fazla tatlıdır (Şerbetçi 2007). Glisirizinin kalori miktarı düşüktür fakat neden olduğu hipertansiyon, hipokalemi gibi yan etkilerden ve ph 4,5 altında çökmesinden dolayı yapay tatlandırıcı olarak pek fazla kullanılması önerilmemektedir. Bu nedenle glisirizinin amonyum tuzu hazırlanmıştır. Bu şekilde ancak belirli miktarlarda ilaçlarda tat düzenleyici olarak kullanılabilir (Fenercioğlu ve Baran 1991).

2.1.2 Meyan Bitkisinin Farmakolojik Özellikleri

Meyan bitkisiyle son zamanlarda yapılan araştırmalarda, köklerinden elde edilen glisirizin maddesinin, bir anti-viral olan ribavirin' den çok daha etkili olduğu ortaya konulmuştur. Bu sayede HIV-1 ve Hepatit C virüslerine karşı yeni bir tedavi seçeneği sunulmuştur (Çınar 2012). Glycyrrhiza glabra L. bitkisinin kökünde bulunan, glisirutenik asit, deglisirine ve karbenoksolen sodyum nedeniyle mide rahatsızlıklarında ve ülser tedavisinde oldukça etkilidir. Köklerin içeriğinde bulunan flavonoidlerden dolayı anti-ülser etkiler ortaya konulmuştur (Takagi ve Ishi 1967, Marle ve ark. 1981). Daha sonra ticari adı

Aspalon® (Japan Pharmaceutical Information Center, 1997) olan ilaç Japonya’ da üretilmiş ve ülser tedavisinde kullanılmıştır. Glycyrrhiza glabra L. köklerinden elde edilen ekstraktların ciltte oluşan aknelerin tedavisinde (Nand ve ark. 2012), atopik dermatit gibi cilt problemlerinin tedavisinde (Saeedi ve ark. 2013) başarılı neticeler alındığı bildirilmiştir. Meyan kökünün bileşiminde bulunan saponinlerin yüzey gerilimini azaltmak mekanizmasıyla, mukusun vizkozitesini azalttığı, böylece sekretolitik ve ekspektoran etkiyi artırdığı bunlara mukabil nefes borusundaki mukosilyer hareketleri etkilemediği bilinmektedir. Bu özelliğinden dolayı meyan kökü sekretolitik ve sekretomotor aktivite göstermek suretiyle etkili olan bir ekspektoran niteliğindedir (Hekiman 2010). Meyan kökünün içerdiği likuiritin apiozitin (likuiritigenin 4’-apiozit) etkili bir anti- tusif olduğu tespit edilmiş, bu etkinin mekanizmasında likuiritin apiozitinin erken fazda, aglikon olan likuiritigeninin ise geç fazda önemli rol oynadığı ortaya konmuştur (Kılıç 2014, Hekiman 2010). Staphylococcus aureus ve Mycobacterium smegmatis türlerine karşı, ülkemizde yetişen Glycyrrhiza glabra L. varyetelerinin anti-bakteriyel etkilerinin incelendiği bir in-vitro çalışmada, tüm Glycyrrhiza glabra L. varyetelerin etkili olduğu tespit edilmiş, bu etkiye neden olan maddenin meyan içeriğinde bulunan izoflavondan kaynaklandığı düşünülmüştür (Kılıç 2014, Hekiman 2010). Meyan kökünün alkollü sıvı ekstresinin (16 mg glisirhizik asit/ml) sıçanlara 2,5- 10 ml/kg dozunda ağızdan uygulandığı in- vivo bir çalışmada, indometazin ile indüklenmiş ülserlerde doza bağımlı koruyucu etki gösterdiği histopatolojik bulgularla ispatlanmıştır. Aynı ekstreyle 5 ml/kg dozunda, sıçanlar üzerinde, ön tedavi yapıldığında mide özsuyunun asiditesinde belirgin azalmaya, müsin derişiminde ve prostaglandin- E2 miktarında artış sağlandığı görülmüştür (Kılıç 2014, Hekiman 2010).

2.2. Meyan Bitkisinin Halk Tıbbında ve Endüstriyel Alanda Kullanımı

Meyan bitkisi çok eski medeniyetlerce bilindiğinden bu yana geleneksel halk tıbbında, tedavi maksadıyla yaygınlıkla kullanılan bir bitki olmuştur (Tanker ve Özkal 1978). Bitkinin kullanımında eski Yunan, Asurda, eski Mısırdaki, kadim Çinde, Rusya, İspanya, İran-Fars ve Hindu kültürlerinde sıklıkla rastlanmaktadır (Armanini ve ark. 2002, Fiore ve ark. 2005, Şerbetçi 2007). Avrupa’da ise tütün ve alkollü içkilerde tat ve aroma düzenleyicisi olarak kullanılmıştır. Hindistan’ da mide ülserinin tedavisinde, bazı ekstremitelerde rahatsızlıklarında ayrıca konstipasyonda kullanıldığı bilinmektedir. Çin kültüründe gençleştirici etkisinden dolayı insanların yaşam süresini

uzatmak, sađlıđı dűzeltmek, zararlı ve toksik maddelerin vűcuttan atılımını sađlamak, yaraları iyileřtirmek, mide ve sindirim ile ilgili rahatsızlık durumlarında, Roma’da mide, karaciđer ve bűbrek hastalıklarının tedavisinde kullanılmıřtır (řerbetçi 2007). Japonya’ da yarım yűzyıldan geçkin zamanla anti-viral tedavide kronik viral hepatitte, AIDS hastalıđında, herpes enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Çakmak 2011). VI. Asırda yařamıř Romalı hekim Alexandr tıpta en çok yararlanan drogun succus liquiritiae (meyan balı) olduđunu yazmıřtır (Dođan 2004). Bitkinin ilk tarifi Yunanlı filozof Theophrastus (M.Ö. 372-287) tarafından yapılmıřtır. Theophrastus ‘De Causis Plantarum’ adlı kitabında bitkiye ‘tatlı kűk’ anlamına gelen ‘Glycyrrhiza’ (glycys: tatlı, rhiza: kűk) adını vermiř ve gűđűs hastalıklarında dahilten kullanılabileceđini belirtmiřtir (Hekiman 2010). Mezopotamya kodeksinde de bulunmakta olan meyan kűkű, kadim Fars ve İnan’da ‘‘Rishah-ı asl-i sűs’’ olarak bilinmekteydi. Ayrıca eski Hint’te Brahma tarafından tavsiye edilmiřtir. Meyan, Fırat nehri bűlgesi ile Babil’ in gűneyinde de yetiřmektedir. Akaç’ta ‘‘shusha’’ olarak bilinmektedir. Babil tıbbında idrar yolları ve midevi rahatsızlıklarda tedavi edici olarak kullanılmıřtır (Dođan 2004). Eski Yunan’da dahilten gűđűs hastalıklarında, haricen ise yaraların kapatılmasında kullanılmıřtır. Theophrastus’un ‘‘Enquiry into plants’’ isimli eserinde, meyan kűkűnűn ve bunun űzűtűnűn astım ve űksűrűk tedavisinde kullanıldıđı yazılmıřtır (Dođan 2004). Glycyrrhiza glabra L. (Meyan) bitkisinin asırlar boyunca dođadan toplanarak kullanılageldiđi için bu kullanımlara iliřkin ilk yazılı kaynaklara, Asurlular’ın kil tabletleri (M.Ö. 2500) ve Mısır papirűslerinde rastlanmaktadır. Ayrıca, Eski Arabistan’ da űksűrűklere ve laksatiflerin istenmeyen etkilerine karřı kullanıldıđı kayıtlıdır. M.Ö. 23-79 yılları arasında yařamıř olan Romalı subay ve ansiklopedi yazarı Pliny the Elder ise meyanın sesi dűzelttiđini, ekspektoran ve karminatif etkisi olduđunu sűylemiřtir. Roma imparatoru Bűyűk İskender’ in gerçekleřtirdiđi seferlerde, ordunun susuzluđunu gidermek maksadıyla meyan kűkűnűn kullanıldıđı kaydedilmiřtir (Hekiman 2010). Tıp ve eczacılıđın temelini oluřturan eski Romalı Dioscorides (M.S. I. Yűzyıl), ‘‘Materia Medica’’ isimli eserinde meyan kűkűnden ve meyan kűkűnden elde ettiđi űzűtten, ayrıca; meyan balından da sűz etmiřtir. Meyan balını bođaz yaralarının tedavisi maksadıyla kullanılmıřtır.

Tanınmış islam alimlerinden olan ve orta çağda yaşamış Abu Yusuf Yakup ibn İshak al Kındi (d. 800- ö. 870), ‘‘Grabadhin’’ adlı eserinde, meyan kökünden bahsetmektedir. Bu eserde meyan kökü ile ilgili olarak ‘‘Rob sus: meyan kökü; varak-al-sus ise yapraklarıdır’’ denmektedir. Babil tıbbında idrar yolları ve midevi rahatsızlıklarda tedavi edici olarak kullanılmıştır (Doğan 2004). Osmanlı İmparatorluğunda meyan bitkisinden birçok alanda fazlasıyla istifade edilmiştir (Uygun 2015). Evliya Çelebi, Osmanlı İmparatorluğunda meyan bitkisinden ve kullanım alanından şu şekilde bahsetmektedir:

‘‘Rumdan gelür, dibeklerde dövülüp bir gece su içinde yatırılır. Daha sonra at torbalarının içinde süzülerek kırmızı suyu katre katre akarak kabarcık oluşturur bu çıkan suyu keyifle nuş ederler. Bu kökün suyu soğuk olarak içildiği gibi kaynatılarak da içilir. Hakîn Davud, Tezkere-i Dâvûd’da, bu bitkinin yetmiş kadar faydasının olduğunu yazmıştır. Vücut-ı insanda olan harareti def eder. Cümleden hassa-i kübrası mesaneyi gayet pak edip idrar söktürür. Ve cümle balgamı yerinden kal’ edip çıkarır. hakikatte Mısır’ın Nil Nehri balgamidir. Cümle Mısır halkında öksürük mukarrerdir. Bu nedenle çevre diyarlarda evlad-ı Arab’a ‘ohhu ohhu’ diyerek latife ederler. Mısır halkının tamamı ab-ı ırka sûs adı verilen meyandan içerler. Bu sayede ‘ohhu ohhu’ dedikçe lakoz gibi balgamlar çıkıp halas olur. Mısır halkı bu ırk-ı sûsu içmeselerdi hiddet-i hardan cüzzam olurlardı. Cârreler ile çarşıda pazarda ‘ya ırka sûs’ diye feryad edip bir kâsesini bir mangıra satarlar. Ve şiddet-i harda bunu içenin vücudu buz paresine döner. Biyan kökü daha çok Aydın, Saruhan ve Cezire-i İstanköy’da hafredilir, lakin bu ürünün en meşhur diyarı yine Aydın’a bağlı bulunan Balat’tır. Burada yetişen biyan kökü hiçbir diyarda olmaz. Balat’tan gayri diyarda da çok olur amma bu şehrin biyanı herkesçe medholunmuştur. Menderes nehri aracılığıyla Çekeleve kayıkları, Gelibolu ve İstanköy kayıkları, Sönbeki ve Anabolu firkateleri, Zarbuna ve Şayka gemileri içeri girip Balat şehriden biyan kökü alırlar’’ (Evliyâ Çelebi Seyahatnamesi, X., s. 189-266.).

Meyan köklerinin su ile kaynatılmasına müteakip yoğunlaştırılması neticesinde meyan balı üretilir (Doğan 2004). Bu bal, Sultan III. Mehmet için hazırlanan ‘Terkib-i şahî’nin içeriğinde yer alan 6 malzemeden biridir (Hekiman 2010). Adana ve civarlarında, Çukurova bölgesinde meyan kökü ekstraktının çok yaygın bir şekilde üretimi sağlanmakta ve yoğun bir şekilde şerbet olarak tüketilmektedir (Fenercioğlu ve Baran 1991).

Meyan kökü bitkisel drog üretiminde, çay olarak kullanım şeklinin de halk arasında yaygın olduğu bildirilmektedir (Ergün ve ark. 2010). Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisinin kökünün suda belirli bir süre bekletilmesiyle hazırlanan karışım meyan şerbeti olarak isimlendirilmektedir. Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde elde edilen ve sıcak yaz aylarında yoğun olarak kullanılan bu şerbet kolamsı siyah renkte ve lezzeti şerbet tatlılığında ve buz ile içildiğinden serinletici özellikte, kök ve rizomlar; anti- viral, anti-enflamatör, anti- oksidan, anti- alerjik, gastro intestinal sistem koruyucu ve anti-kanserojen etkilere sahiptir (Çınar 2012). Genelde bir çok yerde bulunur, temini kolaydır ve epeyce ucuzdur. Meyan kökünün bir avuç kadar alınıp bir leğen suda bir gün süreyle muamele edilmesiyle şerbeti hazırlanmaktadır. Kesinlikle su ile seyreltilerek içilmesi önerilen bu içecek hazırlandığı anda epeyce derişiktir. Çoğunlukla soğuk ve içine buz konularak tüketilir. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisi yalnız başına içilmesine ek olarak başkaca içilen diğer şeylerle de karıştırılmak suretiyle de tüketilebilir. Mesela çay demliğine bırakılacak bir tutam kuru meyan kökü, çaya güzel tat ve aroma vermekte ayrıca çayı daha lezzetli hale getirir (Şerbetçi 2007). Meyan kökü; adrenal- modülatör, anti- bakteriyel, anti- mutajen, yatıştırıcı, tatlandırıcı, karaciğer koruyucu, cilt hastalıklarında, öksürükte, solunum yolları rahatsızlıklarında, ses kısıklığında, ateşli hastalıklarda ve ülser ağrılarını yatıştırmak için, bağışıklık sistemini uyarıcı etkisinden dolayı modern tıpta, halk arasında ise; diş ağrısı, boğaz ağrısı, mide, böbrek, mesane hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır (Doğan 2004). Meyan bitkisi, hem toprak altı hem de toprak üstü kısımlarıyla tıbbi ve de endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Çınar 2012). Bitkinin kökü magnezyum ve silisyum bakımından zengindir ayrıca ilaç endüstrisinde ilacın acı tadını önlemek için kullanılır (Fenercioğlu ve Baran 1991). Meyan kökü özütü, tütün endüstrisinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır, örneğin; sigara üretim endüstrisinde, enfiye ve çiğneme tütününe karıştırılarak kokunun giderilmesi ve tada aroma katılması maksadıyla kullanılmaktadır. Amerika'da tütün endüstrisinde kullanılan meyan kökü miktarı diğer endüstrilerden epeyce yüksektir, tütün endüstrisindeki kullanım ülkedeki yıllık meyan tüketiminin yaklaşık % 80' ini oluşturmaktadır (Başer ve ark. 1997). Meyan, Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA tarafından hazırlanmış "Federal Gıda, İlaç ve Kozmetik Kanununa" tabii formülasyonlara giren, içeriğe katılan ürün ve kimyasallar için 'genel olarak güvenli kabul edilen' ; (GRAS= Generally Recognised As Safe) sınıflamasına girmektedir. Meyan kökü, Avrupa

Konseyi tarafından da, gıda endüstrisinde kullanılabilir olacak doğal tatlandırıcı olarak tescillenerek, N2 kategorisine alınmıştır. Bu kategori bitmiş üründe belli bir miktarı geçmemek şartıyla yiyeceklere az miktarda katılabilirliği ifade etmektedir (Hekiman 2010). Meyan ekstraktı, ayrıca şarap, bira ve şekerleme endüstrisinde yaygın olarak kullanıldığı aktarılmıştır (Akan ve Balos 2008). Glisirizik asit mono amonyum tuzu şekerden 50-100 kat daha tatlı olduğu için gıda ve droglarda tat verici ve tat düzeltici olarak başta İngiltere olmak üzere tüm Avrupa ülkelerinde ve Amerika'da şekerleme endüstrisinde kullanımı olmaktadır. Özellikle Hollanda ve Danimarka, ithal ettiği meyan kökünün hemen hemen tümünü bu alanda tüketmektedir. Diyabet hastaları ve diyet için hazırlanan meşrubat ve şekerlemelerde % 0,1- 0,5 oranlarında kullanılmaktadır (Bozan 1988). Tatlandırıcı maksatla kolalı içeceklerin bileşimine de girmektedir (Doğan 2004). İlaç sanayisinde şurup, emülsiyon, süspansiyon tipi antibiyotik ve sülfonamid preparatlarında, aminoasit, kolin ve B grubu vitamin şuruplarında, acı bir tada sahip aloe, cacara, senne preparatları, cinchona ve alkaloid taşıyan diğer preparatlarda ek tatlandırıcılarla birlikte formülasyona belirli oranlarda girmektedir. Glisirizik asit beyazlatıcı madde olarak saç ilacı yapımında kimya sektöründe ve kozmetik sanayisinde kullanıldığı görülmektedir (Bozan 1988). Ayrıca, toz ilaç ham maddelerinin, hap farmasötik formuna sokulmasında şekil verici maksatlı olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Şerbetçi 2007). Meyan, yurdumuzda çok yaygın olarak yetişmesine rağmen, bitkisel ilaçlarda çok nadir olarak kullanılmaktadır. Preparat olarak sadece meyan balı içeren pastiller, meyan kökü içeren karışım çaylar bulunmaktadır (Hekiman 2010). Ancak son yıllarda ülkemizde yapılan teşviklerle, artan AR- GE faaliyetlerine paralel olarak bitkisel karışımlar içeren ve pıhtılaşma problemi bulunan hastaların bile kanamalarını anında durdurma başarısı gösteren, tüm geliştirme ve üretim aşamaları milli olan ayrıca sağlık bakanlığından ruhsatlandırılmış bir preparatın formülasyonuna meyan bitkisi girmiştir. Ankaferd Blood Stopper ticari adındaki ürünün içinde 8 mg Glycyrrhiza glabra L. kurutulmuş yaprak ekstresi bulunmaktadır (Ankaferd Blood Stopper).



Şekil: 2.2 Ankaferd Blood Stopper

2.3. Meyan Bitkisinin Yan Etkileri

Meyan içinde bulunan glisirretinik asitten yarı sentez yoluyla elde edilen karbenoksolon ülser tedavisi için son derece etkili bir madde olmasına rağmen, su ve tuz retansiyonu, hipokalemi ve hipertansiyona yol açması gibi yan etkilerinin sık ve şiddetli biçimde görülmesi nedeniyle klinikte kullanımı sınırlı kalmıştır. Karbenoksolonda görülen bu yan etkiler, aynı sıklık ve şiddette olmasa bile, meyan balı kullanımında da ortaya çıkmıştır. Belirtilen tüm bu zararlı etkiler 0,7- 6,0 g glisirzik aside karşılık gelen geniş bir doz aralığında ortaya çıkmaktadır. Çok yüksek miktarlarda olsa bile bir seferlik kullanışta çok büyük bir zararlı etki oluşturmamaktadır. Ancak uzun süreli kullanımlarda meyanın yüksek tansiyon ve hipokalemi etkileri bilinmektedir. Meyanın uzun süreli yüksek oranlarda (10-100g meyan balı) kullanılması durumunda bu etkiler daha da artabilmektedir (Zengin ve ark. 2013, Bozan 1988). Acil başvurularında özellikle yaz aylarında ve bayramlarda akciğer ödemi ve buna eşlik eden hipertansiyon vakalarında meyan şerbeti içilip içilmediği sorgulanmalıdır, çünkü bu durumun bir nedenlerinden birinin meyan olduğu bildirilmiştir (Zengin ve ark. 2013). Meyan kökünün içilmesine müteakip içeriğinde bulunan glisirizin öncelikle bağırsakta bulunan bakteriler tarafından gliseritik aside dönüştürülür. Gliseritik asit, 11-beta hidroksisteroid-dehidrogenaz enzimini inhibe ederek kortizolün kortizona dönüşümünü inhibe eder ve bu şekliyle mineralokortikoid etkiyi arttırmak suretiyle sodyum retansiyonuna ve potasyumun itrahına neden olur (Imtiaz

2011, Ay ve ark. 2014). Bu nedenle meyan şerbetinin fazla miktarda içilmesi sonucunda su ve sodyumun retansiyonuna, potasyumun da itrahına neden olacak böylece biyokimya tetkiklerinde hipokalemi, hipernatremi görülecektir. Bu durumun da hipertansiyona neden olabileceği belirtilmiştir (Imtiaz 2011, Ay ve ark. 2014, Farese ve ark 1991). Bu tablonun oluşması meyan şerbeti içiminin 3. gününden sonra ortaya çıkabilmekte olup işte bu nedenle meyan kökünün fazla tüketilmemesi de ayrıca önerilmektedir (Imtiaz 2011, Ay ve ark. 2014). Ayrıca meyan kökünün aşırı tüketimine bağlı olarak gelişen kuvvetsizlik, akciğer ödemi ve bu duruma bağlı olan nefes darlığı, kuadriparezi, Torsades de pointes olarak adlandırılan polimorfik ventriküler taşikardi vakaları bildirilmiştir (Ay ve ark. 2014, Omar ve ark. 2012, Imtiaz 2011, Hamidon ve Jeyabalan 2006, Zengin ve ark. 2013, Meltem ve ark. 2009, Elinav ve Chajek-Shaul 2003) Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı hipertansif ve kalp yetmezliği hastalarına meyan kökü şerbeti kullanımlarına dair bilgilendirme yapılarak aşırı tüketimden sakınmaları sağlanmalıdır.

Glisirizinin barsaklardan emilimi düşük olduğundan, arı madde yerine kök kullanıldığında, yan etkilere daha az rastlanır. Ayrıca yapılmış başka bir çalışmada; 6 haftadan uzun süreli ve günde 50 g' dan fazla meyan kökü kullanılırsa, vücutta su ve sodyum birikmesine yol açabildiği bildirilmiş ve buna bağlı olarak, yüksek tansiyon, ödem, hipokalemi ve ender olarak miyoglobinuri (kaslara oksijen taşıyan protein miyoglobinin idrarla atılması) görülebileceği tespit edilmiştir. Bu nedenle kardiyovasküler problemi olan hastalarda kullanılmamalıdır. Aşırı miktarda meyan şekerlemesi yiyen iki kişide, akciğer ödemi ve ventriküler taşikardi görülmüştür. Kolestatik karaciğer hastalığı, hipokalemi, yüksek tansiyon ve ciddi böbrek yetmezliği olanların meyan kökü kullanmadan önce mutlaka bir doktora danışmaları önerilir. Ayrıca doğumdan 38 hafta önce, düşük riskini artırdığından gebelikte de kullanılmamalıdır (Başer 2006).

2.4. Meyan Bitkisinin İlaç Etkileşimleri

Meyan kökü kanda potasyum azalmasına yol açan tiyazit diüretiklerin etkisini artırır. Kişide potasyum kaybından ötürü kalp glikozitlerine olan duyarlılık da artar. Kortizon tedavisi gören hastalar meyan kökü kullanmamalıdır (Başer 2006).

Meyan kökünün CYP3A4 ve CYP2D6 sitokrom enzimlerini inhibe ettiği bildirildiğinden hareketle birçok ilacın eliminasyonunu inhibe etmekte, bunun neticesinde ise ilaçların istenmeyen etkilerini arttırabilmektedir. Ayrıca vücudun

elektrolit miktarında değişikliklere sebebiyet vereceğinden meyan kökü kullanımı sırasında EKG değişikliklerinin takibi önerilmektedir (Upton ve Romm 2001, Karadağ ve ark. 2013). Bu nedenlerle ancak doktor tavsiyesine göre meyan bitkisi kullanılmalıdır.

2.5. Apoptozun Mekanizması

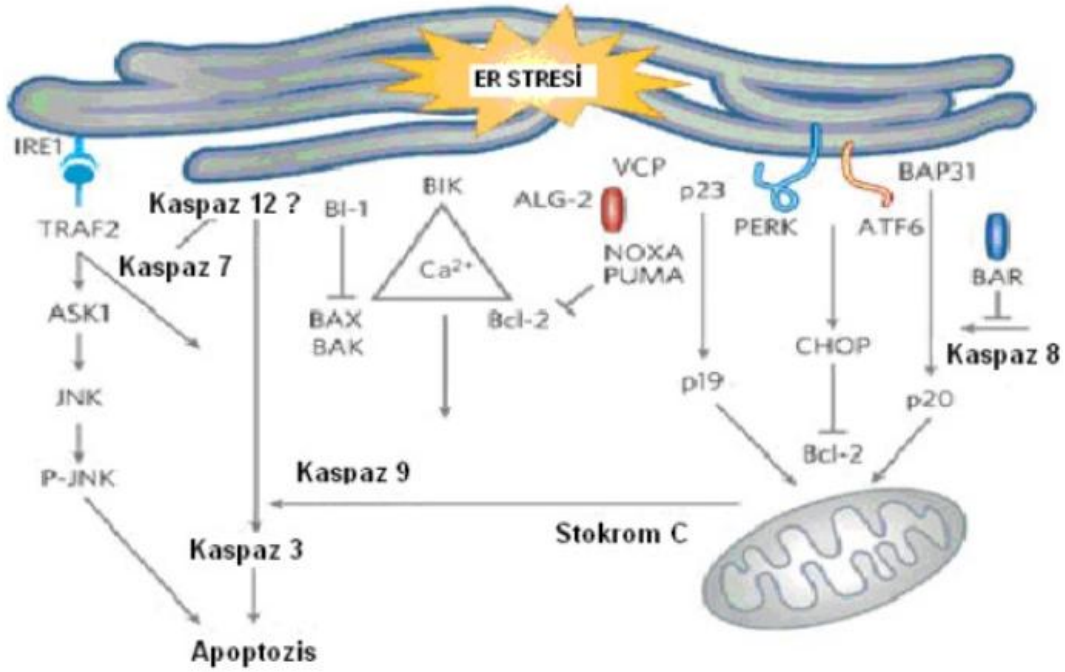
Apoptoz terimi hücre ölümü anlamına gelen, hücrenin programlı ölümü olarak da adlandırılan fizyolojik bir olaydır (Güleş ve Eren 2008). Bu intihar süreci kelime anlamıyla Yunanca’ dan geçen ve ‘‘yaprak dökümü’’ anlamına gelen apoptoz kelimesiyle ya da programlanmış bir şekilde gerçekleşen hücre ölümüyle olmaktadır (Cummings ve ark. 1997, Mak 2003, Pınarbaşı 2007). ‘‘Apo: ayrı, Ptozis: düşme’’ demektir. Bu terimi ilk olarak tanımlayan Avustralyalı bir patolog olan J.F.K. Kerr’ dir ve 1972 yılında kullanmıştır (Kerr ve ark. 1972). Bu fizyolojik olay hemostazı sağlamak amacıyla gerçekleşen bir mekanizma olup ayrıca neticesinde hücrenin gelişimi, yaşlanmasına müteakip ortadan kaldırılması suretiyle dokularda hücre popülasyonunun korunması sağlanmaktadır. Hücrelerin, çeşitli etkenlere maruziyetine neden olmasıyla başlayıp, bundan zarar görmesi sonucu, vücutta fizyolojik olarak gerçekleşen, savunma işlevi gören bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu etkenlere hastalıklar, çeşitli kimyasal zararlı ajanlar örnek gösterilebilir (Elmore 2007, Thompson 1995). Sürece bakıldığında fragmantasyon işlemi, apoptoza uğrayacak hücrelerde CAD (caspase activated DNaz-kaspazla-aktifleşen deoksiribonükleaz-) enziminin DNA’nın ayrılarak parçalanması şeklinde gerçekleşmektedir. CAD enzimi endonükleaz olarak adlandırılan DNaz cinsi enzimdir. Sağlıklı hücrelerde CAD enzimi aktif olmayan formda bulunur. Bu enzim sadece apoptoz uyarısı aldığıında bağlı olduğu ICAD’ tan (inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease-kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz inhibitörü- DNA fragmentasyon faktör 45), kaspaz- 3 enzimi ile aktive edilmesine takiben uyarılmakta ve apoptozu gerçekleştirmektedir. Apoptoz, hücre DNA’ sında çok hızlı şekilde gerçekleşmekte ve DNA’ nın 180- 200 baz çiftlik parçacıklara ayrılmasına neden olarak bu görevini tamamlamaktadır (Pınarbaşı 2007, Cohen 1993, Sakahira ve ark. 1998). Kaspazlar, yapı olarak sistein yapısındadırlar ve güçlü proteazlardan sayılmaktadırlar. Görevlerini gerçekleştirirken aspartik asitten sonra gelen peptid bağlarını parçalamak suretiyle yaparlar. Hücrenin içinde inaktiftirler, apoptoz sinyalinin alınmasıyla birlikte etkileşim ile

aktif enzime dönüşerek yıkıcı/ parçalayıcı işlemi gerçekleştirirler (Mak 2003, Güleş ve Eren 2008). 100 farklı hedef proteini keserek apoptozisi gerçekleştirirler.

Kaspaz ailesini sınıflandırmak gerekirse:

- 1- Başlatıcı kaspazlar; (Kaspaz 2,8,9,10)
- 2- Efektör kaspazlar (Kaspaz 3,6,7)
- 3- İnflamatuar kaspazlar (Kaspaz 1,4,5,11,12,13,14)

olmak üzere 3 gruba ayrılırlar. DNA onarımı ve kopyalanmasını sağlamak maksadıyla lüzumu duyulan enzimleri inaktif ederek görevlerini gerçekleştirirler. Ayrıca mikroskopla görüntülenen hücre zarının tomurcuklanması şeklini hücre iskeleti proteinlerini kesmek suretiyle gerçekleştirmektedirler (Adams ve Cory 2001, Adrain ve Martin 2001, Spierings ve ark. 2004). Apoptozisin aktivasyonu ile hızlı bir şekilde DNA' nın tek ipliğinde geri dönüşsüz şekilde gerçekleşecek olan parçalanma ortaya çıkmaktadır (Coşkun ve Özgür 2011). Kaspazların aktivasyonu apoptozis için gereklidir. Kaspaz-12, Endoplazmik Retikulum stresine uyarılan ve apoptozisin önemli bir düzenleyicisi olarak karşımıza çıkmaktadır (Szegezdi ve ark. 2003). Kaspaz-12, ER stresi ile çeşitli yollarla aktive edilmektedir. İlk yol; aktivasyonu kalsiyum tarafından gerçekleşen ve sitoplazmik parçalayıcı olarak adlandırılan kalpain ile gerçekleşir (Rasheva ve Domingos 2009). Endoplazmik Retikulumda, kaspaz-12'nin aktifleşmesinden sonra kaspaz-12 kendinden sonra prokaspaz-9'u keserek kaspaz- 9' u aktifleştirir, aktif olan kaspaz- 9' da, kaspaz-3'ün aktifleşmesine neden olarak apoptozis ile son bulan reaksiyonlar zincirini gerçekleştirirler. Apoptozisin ikinci yolu ise I κ B ve TRAF2 proteini ile doğrudan doğruya gerçekleşen, oto-uyarım olayıdır. Üçüncü yol; Kaspaz-7 üzerinden gerçekleşmektedir. Bazı uyarılara cevaben Endoplazmik Retikulumda kaspaz 7, doğrudan bağlanır ve bu sayede direkt olarak Kaspaz- 12' yi aktifleştirmek yoluyla apoptozisi gerçekleştirebilir (Seydel ve Aksoy 2012). Endoplazmik Retikulum zarında yerleşik olan ve BAP 31 ve BAR adı verilen proteinler; apoptoz sürecinde prokaspaz- 8 enzimiyle birleşip kompleks görünüm alır. Endoplazmik Retikulum stresinde prokaspaz- 8' in aktifleştirilmesinde BCL2 ve BCL XL düzenleyici olarak görev almaktadır (Hussain ve Ramaiah 2007).

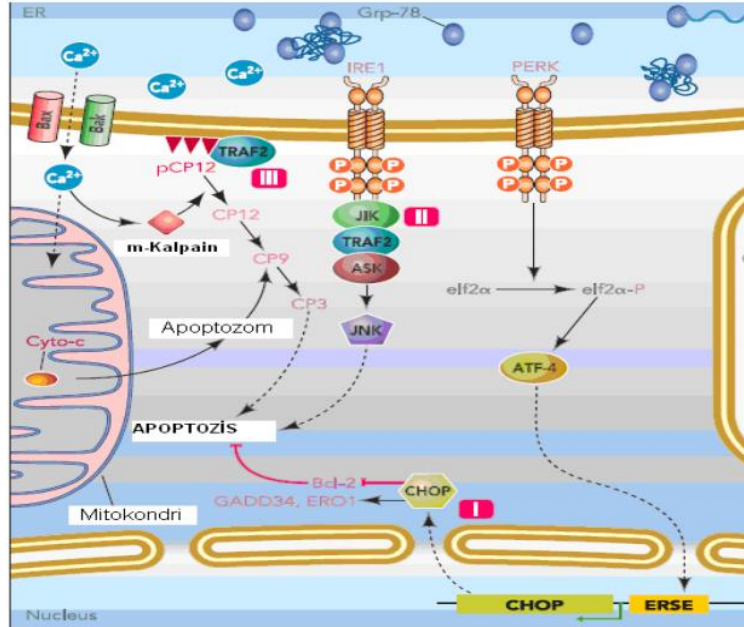


Şekil: 2.3 Apoptoz Yolakları (Hussain ve Ramaiah 2007).

Kaspaz ölüm genleri olup, apoptozisi indüklediği, Bcl-2' nin ise tam tersi yönde görev alarak hücreyi ölüme karşı koruduğu ayrıca apoptozisi engellediği belirlenmiştir (Hengartner ve ark. 1992, Andrew ve ark 2001). Bcl-2 ailesini tanıyacak olursak, birbirine zıt etkide çalışan, 2 gruptan oluşur. Bunlar; Pro-apoptotik üyeler ve Anti-apoptotik üyeler olarak adlandırılmaktadır. Hücrede pro-apoptotik üyeler çok ise hücre apoptozise meyillidir. Anti-apoptotik üyeler daha çok ise hücre apoptozise daha az meyillidir (Adams ve Cory 2001). Pro-apoptotik üyeler "Bad, Bax, Bid, Bcl-Xs, Bak, Bim, Hrk1, Bik, Puma ve Noxa" olarak adlandırılmaktadır. Bu pro-apoptotik üyeler sitozol içinde bulunurlar. Apoptozisi indüklemeleri Sitokrom-C ile Apoptoz indükleyici faktör olarak adlandırılan AIF' nin salımını artırmak vasıtasıyla gerçekleştirirler. Anti-apoptotik üyeler ise "A1, Bcl-2, bcl-xl, bfl-1, BHRL-1, brag-1, mcl-1" dir. Bu proteinler mitokondrinin dış zarında, ER' de ve çekirdeğin zarında bulunmakta ve por oluşturmak suretiyle iyon geçişlerini düzenleyerek bu görevlerini gerçekleştirmektedirler. Mekanizma şöyle özetlenebilir, zarlarda yer alan bu proteinler hücredeki kalsiyum miktarını ayarlayarak geçirgenliği yönetmekte ve kaskadların (kaspazların) ilk formlarıyla da etkileşerek, AIF ve sitokrom-C

salımını engellemek suretiyle apopitozisi inhibe etmektedirler (Adams ve Cory 2001, Adrain ve Martin 2001, Spierings ve ark. 2004). Endoplazmik retikulum stresıyla uyarılan apopitoziste BCL2 proteinlerinin mekanizması anlaşılmış iken, Endoplazmik Retikulum stresince bunun nasıl gerçekleştiği pek az anlaşılmıştır (Szegezdi ve ark. 2006). Endoplazmik Retikulum stresıyla aktive olan ayrıca mitokondriden pro-apopitotik faktörlerle beraber Ca^{++} nın salımını düzenleyen Bcl-2 üyeleri Bax ve Bak proteinleridir (Rasheva ve Domingos 2009, Zong ve ark. 2003). Endoplazmik Retikulum stresini altında, ER membranında değişiklikler oluşmakta ve bu değişikliklere bağlı olarak gelişen sitoplazmaya Ca^{++} 'un salınması olmaktadır. Kalsiyum miktarının sitozolde çoğalması, kalpaini indüklemekte, bu aktivasyon sonucunda da prokaspaz- 12' nin indüklenmesi sağlanmaktadır. Kaspaz- 12 'nin indüklenmesi sonucu pro- kaspaz- 9 aktive olmaktadır. Bu silsile ile kaspazların indüklenmesi gerçekleşmiş olur. Bax ve Bak proteinleri diğer bir yolda ise doğrudan kaspaz- 9' u indüklemek suretiyle apopitozisi gerçekleştirir. Mitokondrinin iç zarında meydana gelen depolarizasyon sitokrom- C salınmasıyla neticelenerek kaspaz- 9 indüklemesi sağlanmaktadır. Bu mekanizmada mitokondri tarafından sitozoldeki kalsiyumun alınması bu olaylar sürecini başlatmaktadır (Lai ve ark. 2007).

Şekil: 2.4 Bcl-2 Yolağı (Lai ve ark. 2007).



Apoptozisin gerçekleşmesi için Bax miktarının Bcl-2 miktarından daha fazla olması gerekir (Zong ve ark. 2006, Bellamy 1996, Foster 2008, King 1996). Hücre döngüsü ilerlemesini düzenleyen çeşitli sinyal yolları vardır. Mitojenle aktifleşen protein kinazı (MAPK: Mitogen-activated protein kinases, mitojenle aktive olan protein kinaz) sinyal yolları, hücre döngüsü ilerlemesi, çoğalma, iltihaplanma, apoptoz ve farklılaşma dahil olmak üzere birçok biyolojik işlemde önemli roller oynar. MAP Kinazlar, ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinazlar (ERK' ler) ve c-Jun N-terminal kinazları (JNK' ler) içermektedir (Chang ve Karin 2001). Protein kinaz formunda olan ve çekirdeğe gömülü olarak bulunan serin ve treonin moleküllerine MAP Kinaz adı verilmektedir. Bu moleküller, çeşitli sinyaller ve bazı büyüme faktörleri ile indüklenmektedir. (Kim ve Choi 2010). Çok hücreli canlıların hücre döngüsünün temelinde bu sinyallerin iletimi yoluyla hücre zarından çekirdeğe bilginin aktarımı embriyogenezin temelini oluşturarak gelişme, çoğalıp farklılaşma ve hücre ölümünün programlanması gerçekleşmektedir (Doğan ve Güç 2004). Mitozu uyaran sinyalin alınması sonucu MAP Kinaz'lar hücre membranından çekirdeğe girmek suretiyle kopyalama unsurlarının DNA' ya bağlanmayı indüklemekle görevlidir.

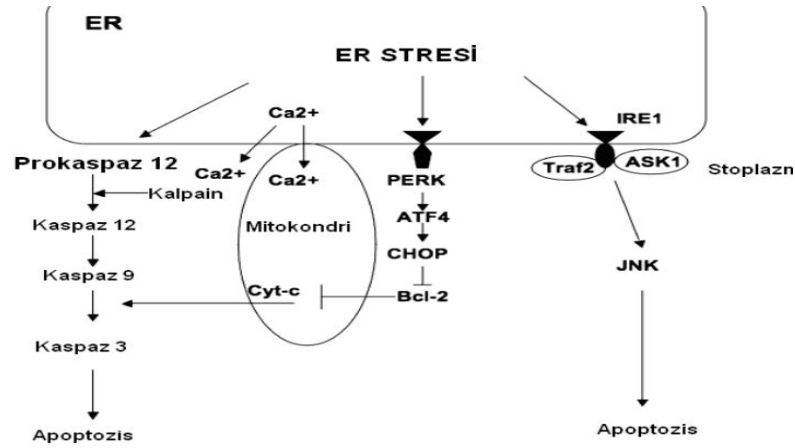
MAP Kinaz ailesinin tespit edilen grupları şunlardır:

- 1) ERK'ler (alt tipleri 1, 2, 4) (Hücre dışı sinyallerle düzenlenen kinazlar)
- 2) P38 (alt tipleri α , β , γ , δ)
- 3) JNK (alt tipleri 1, 2, 3) (c-Jun- N- H2-terminal kinaz).

Protein kinazlar aracılığıyla ERK indüksiyonu gerçekleşir. Bu aktivasyonda rol oynayan protein kinazlar Raf ve MEK adı verilen protein kinazlardır. Mitojen aktivasyonu ile büyüme faktör reseptörlerinin indüksiyonu gerçekleşir. Devamında "GTP-bağlayan ve Raf' la etkileşen protein" aktive olur, bu proteinde Ras indüksiyonunu gerçekleştirir. Ras aktivasyonu MEK indüksiyonu ile devam eder ardından fosforilasyon ile ERK aktive olur. Sonuçta ERK' de hedef proteinleri indükler bu indükleme çekirdek ve sitozol üzerinde etki ederek gerçekleşmektedir. GTP bağlayan proteinlerden bağımsız olarak Sitokinler , mutajenler, hipoksi, oksidatif stress ve UV radyasyonu ile de küçük Ras yolağından farklı olarak JNK ve p38 MAPK aktivasyonu gerçekleşebilmekte ve sonuç itibarıyla de hücre büyümesine alternatif olarak hücre ölümünü tetikleyebilmektedir (Kierszenbaum 2007, Pertuit ve ark. 2009, Kim ve Choi 2010). Kanser hücrelerinin %30' unda bu yolların aşırı aktivasyonun olduğu ispatlanmıştır (Kolch 2000).

Hatalı katlanmış proteinler (UPR), Endoplazmik retikulum (ER) stresini indükleyerek apoptozis yollarını aktive ederler. Hatalı katlanmış proteinlerin (UPR) artması ile ortaya çıkan stresin bastırılması amacıyla UPR yolağı aktive olmaktadır (Seydel ve Aksoy 2012). Eğer UPR miktarı birikerek üstesinden gelinemeyen bir stres oluşturursa, bu durumun önüne geçmek için UPR aktivasyonu yetersiz kalabilmekte ve üstesinden gelinemeyen ER stresi, apoptozise yol açmaktadır (Rasheva ve Domingos 2009). Ayrıca, PERK, ATF6 ve IRE1 sinyal yolları apoptozisi indüklemektedirler (Qu ve ark 2009).

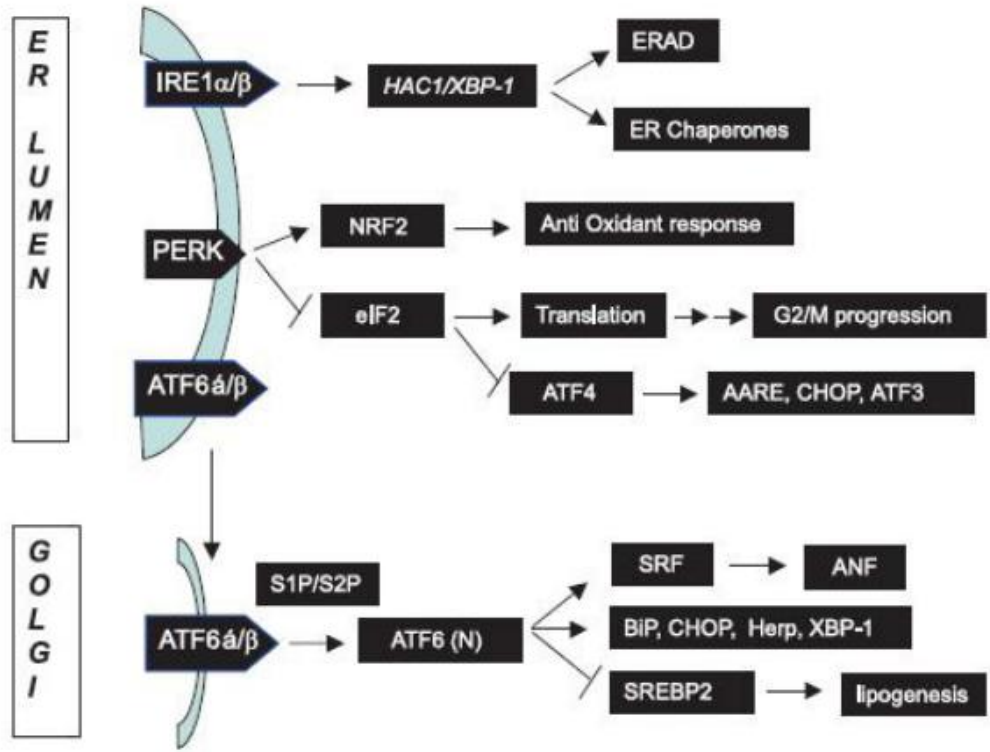
ER stresi, pro-apoptotik sinyalleri de tetiklemektedir. Ancak direkt olarak apoptozise neden olmazlar. Bu sinyaller CHOP (gadd153) veya JNK yolağıyla gerçekleşen akış sürecinde oluşmuş faktörlerin, aktivasyonunu başlatarak etki etmektedirler (Szegezdi ve ark. 2006).



Sekil 5. Endoplazmik Retikulum Stresivte İndüklenen Apoptotik Mekanizmalar.

Şekil : 2.5 Endoplazmik Retikulum Stresi (Szegezdi ve ark. 2006)

UPR' nin üçüncü bir dalı, ATF6 olarak adlandırılan bir transkripsiyonel faktörün proteaz aracılı aktivasyonunu içerir (aktive edici transkripsiyon faktörü-6; ref. 1). ATF6, şaperon indüksiyonunda büyük bir role sahiptir ve ayrıca transkripsiyonel olarak CHOP' u indükleyebilir. Şaperonlar, proteinlerin zamanı gelmeden katlanmalarını önler ve yanlış katlanmış proteinleri düzeltir eğer proteinin onarılması mümkün olmayacaksa onu parçalayarak görev yapan refakatçi proteinlerdir. Ayrıca, CHOP kaynaklı GADD34' ün fosforile edilmiş baskılayıcı etkisine ilave olarak; eIF2a, UPR' nin bir veya daha fazla dalı, belirli ayarlara özgü diğer mekanizmalar tarafından aşağı doğru düzenlenebilir (Lin ve ark 2007, Yan ve ark. 2002, Yoshida ve ark. 2006, Seo ve ark. 2010, DuRose ve ark. 2006).



Şekil: 2.6 ER stres sinyal yolları (Rajan ve ark. 2007; Çelik ve ark. 2015).

ER stresiyile indüklenen apoptozis transkripsiyon faktörlerinin (CHOP), kaskadların (Kaspaz ailesi), pro ve anti apoptotik üyelerin (BCL2 ailesi), protein kinazların (JNK' ler) görev aldığı apoptoz mekanizmalarından oluşur (Seydel ve Aksoy 2012). ER stresiyile; CHOP, JNK ve BCL2 ailesi üyelerinin pro-apoptotik sinyal salmasına müteakip kaspaz aktivasyonu oluşmasıyla apoptozis indüklemesi gerçekleşmiş olur (Szegezdi ve ark. 2006, Seydel ve Aksoy 2012). Protein yapısında olan ve kopyalama görevine sahip CHOP, C/ERB protein grubu içine girer (Düzgün 2010). Bu gene, ayrıca ‘GADD153 (Growth Arrest and DNA Damage Inducible Gene, Büyümei durdurma ve DNA hasarı ile uyarılan gen) ya da DDIT-3 (DNA- Damage Inducible Transcript-3, DNA hasarı ile indüklenen transkript-3) ismi de verilmektedir (Hussain ve Ramaiah 2007, Oyadomari ve Mori 2004). Bu gen, ortaya çıkan DNA sekelinin onarım cevabına istinaden ve hücre içi stres vakalarında daha çok hassas olmakta, miktarı artmaktadır (Szegezdi ve ark. 2006). CHOP' un miktarının aşırı artışının apoptozise neden olduğu ve pro-apoptotik üye gibi çalışarak, ER stres gerçekleştiğinde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Qu ve ark. 2009). ER stres cevabında aktivasyonu fazla oranda artan genlerden olduğu, işte bu

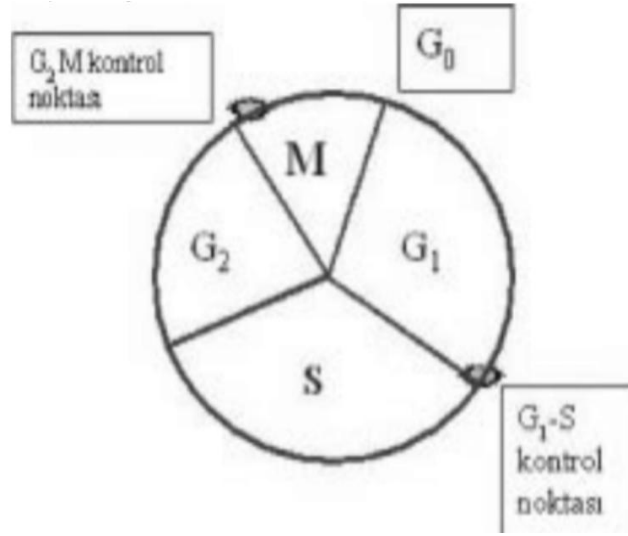
nedenle bir çok kanserli hücre dokularında miktarının artmasına paralel olarak anti- tümör ilaçların geliştirilmesinde hedef alınan bir gen olduğu ve bunun önemine dair çalışmalarla ortaya konmuştur (Qu ve ark. 2009, Düzgün 2010, Hussain ve Ramaiah 2007). Endoplazmik Retikulum stresinde hücre zarına transloke durumdaki “PERK, IRE1 ve ATF6” ile gadd153 indüklenmekte ve gen transkripte olmaktadır. Bu nedenle “PERK-EIF2a- ATF4 yolu” gadd153’ ün transkripsiyonu için şarttır. DNA hasarına veya başka diğer etkenlere bağlı gelişen Endoplazmik Retikulum stresine maruziyette bu yolak cevap olarak indüklenmektedir. Genin ekspresyonuyla da apoptozis yolağı aktive olmaktadır ve bu şekilde homeostazisi düzenleyici görev gerçekleştirmektedir (Seydel ve Aksoy 2012). Apoptozis indüksiyonunda aktivasyon arttırmak amacıyla MAPK proteini vasıtasıyla hücre membranında gömülü olan serin proteinini fosforilleyerek P38 ekspresyonunun kontrolünü, bir kısım pro- apoptotik üyelerin (DR5, ERO1, TRB3, GADD34, karbonik anhidraz VI) apoptoz yolağındaki aktivasyonunu da yine CHOP düzenlemektedir (Hussain ve Ramaiah 2007, Marciniak ve Ron 2006; Ohoka ve ark. 2005). ER stresinde diğer bir apoptotik yol olan “c-jun NH2- terminal kinaz (JNK)” sinyal iletiminde görevli bir protein kinazdır. Hücre ölümüne giden yolaklar ile onarımın sağlanması arasındaki dengenin, karar verici unsurlarından olup, gen ekspresyonunu sağlayarak düzenleyici görev yapan protein kinazlardandır. Endoplazmik Retikulum stresinde hatalı katlanmış protein miktarının (UPR) artmasına bağlı gelişen uyarımla hücre membranına transloke olarak bulunan “ IRE1-TRAF2-ASK1 kompleksinin” ekspresyonu sonucu JNK’ nin indüklendiği düşünülmektedir (Lai ve ark 2007). Eksprese olan kompleksin daha sonra apoptozisi tetikleyen ATF3 yolağını da indüklediği bilinmektedir (Rasheva ve Domingos 2009). Ayrıca IRE1’ in, Xbp1 yolağındaki görevinden bağımsız bir şekilde JNK aktivasyonu indükleyerek apoptozisi tetiklemekte; JNK’nın, fosforilasyonla BCL2 proteinlerini düzenlediği de ayrıca bilinmektedir (Rasheva ve Domingos 2009, Hussain ve Ramaiah 2007).

2.6. Hücre Döngüsü, Apoptoz ve Kanser

Hücrelerin çoğalma sürecinde döngü şeklinde art arda birinin diğerini izlediği iki mitoz bölünme arasına hücre siklusu (hücre döngüsü) adı verilir. Hücre döngüsü, interfaz ve mitoz olmak üzere iki aşamada adlandırılır. Çok hücreli canlılarda hücrelerin bölünerek çoğalması döngüsü ve bu döngüye ait kontrol noktaları şekil 2.7’ de gösterilmiştir.

G0 evresinde hücre dinlenme halindedir ve çoğalmayan hücrelerden oluşur. G1 fazı büyüme ve DNA transkripsiyonuna hazırlık fazını oluşturur. Ardından gelen S fazı ise DNA transkripsiyonunun olduğu fazdır. G2 evresine geçildiğinde gelişme, büyüme ve mitoz hazırlık safhasına geçilmiş olur. Mitoz bölünme fazında ise mitozis gerçekleşmektedir. Bu süreç öncelikle profaz, metafaz, anafaz son olarak telofaz evreleri şeklinde olmaktadır. İnterfazın en belirgin olarak çekirdekdeki replikasyon ile genetik materyal iki misline çıkar. DNA' nın 2 katına çıkması G1 fazından sonra gerçekleşen S fazında vuku bulmaktadır. Bazen hücre döngüsü G0 (G sıfır) fazı adı verilen ve bu fazda ne kadar kalınacağı genetik kodlarla düzenlenen bir dinlenme döneminde kalarak, S fazına hiç geçemeyebilmektedir. G1 evresine giren hücre öncelikle aldığı sinyaller ile hücrenin çevre gelişme ve büyümesini indükler. Ardından genetik materyalin çoğaltılması için hazırlık yapılarak RNA ve protein üretimi gerçekleşir. Bu büyüme ve gelişme süreci G1 fazında bulunan kısıtlayıcı nokta adı verilen "R point" tarafından kontrol ve koordine edilmektedir. Kısıtlayıcı nokta evresinde siklus durmakta veya döngüyü tamamlayıp, kontrollü bir şekilde S fazına geçebilmektedir (Vermeulen ve ark. 2003, Cabadak 1987).

DNA' nın sentezlendiği S fazının ardından gelen G2 fazında ökaryotik hücre, mitoz girmeden hemen önce genetik materyalin iki katına çıkarıldığı safhaya böylece girmiş olur, burada DNA' nın iki katına çıkıp çıkmadığını ayrıca kontrol eder (Lodish ve ark. 2000, Bellamy 1996). Bu döngünün işleyişinin düzgün ve hasarsız sağlıklı bir şekilde sağlanması için burada da bir kontrol merkezi daha bulunur, döngüdeki sistemli geçişlerin kontrol mekanizması siklinler, siklin bağımlı kinazlar ve kinazların inhibitörleri ile sağlanmaktadır. CDK (cyclin-dependent kinase, siklin bağımlı kinaz, SBK)' lar görevlerini, hücre siklusunun kesintiye uğramadan bir sonraki faza geçmesini sağlar. Bunu da gerekli olan önemli hedef proteinleri aktive etmek suretiyle, döngünün kesilmemesini sağlayarak gerçekleştirir. Hücre döngüsünde inaktif olan kinazlar, protein yapıdaki siklin' lere bağlanarak indüklenirler (Sherr 2000, Senderowicz 2000, Golias ve ark. 2004, Joyce ve ark. 2001, Tyagi ve ark. 2002).



Şekil: 2.7 Hücre Döngüsü Döngüsü (Lodish ve ark. 2000, DeVita ve ark. 1997, Cabadak 1987, Foster 2008, Kearns ve ark. 2001).

Hücresinin genetik materyalinde gerçekleşen hasar, onarılıp tamir edilmezse bu hücre kontrol mekanizmalarının denetleyiciliği altında ve bu noktaların yönlendiriciliğinde apoptoza gider. Apoptoza gitmeyen hücrenin hasarlı genetik yapısıyla mitozu girmesi genomik kararsızlığa neden olabilmektedir (Jin ve El-Deiry 2005, Yehielly ve Deiss 2000). Ancak, DNA kontrol noktalarındaki mekanizmalarda yer alan proteinlerde (Rb, p53 gibi) bir hasar oluşmuş ise, hücre apoptoza gidemeyip, hasarlı şekilde bölüneceğinden, aşırı bölünen hasarlı hücreler neoplazik oluşumun gerçekleşmesiyle birlikte kanserleşmeye kadar varabilen olaylar silsilesini tetiklemiş olurlar (Igney ve Krammer 2002, Jaattela 1999). Hücresinin DNA sentezini tamamlamasıyla beraber kontrollü bir şekilde hücre G₂ evresine girmektedir. Mitozu giriş ise Siklin B-cdk1 adı verilen siklin kompleksinin aktivitesinin artmasıyla gerçekleşir. Bu siklin kompleksi ayrıca mitozu ilerleten faktör (MPF) olarak da adlandırılmaktadır (Foster 2008, Molinari 2000, Pines ve Hunter 1991). Daha sonra, S fazının sonlarına doğru, Siklin B sentez edilmeye başlanır. Mitoz evresi tamamlanana kadar devam eden Siklin B sentezinin bölünme tamamlanınca miktarı hızla düşer. Siklin B miktarındaki bu düşüş aktif MPF kompleksinin oluşmasıyla yeniden gerçekleşecek ikinci bir bölünmeyi de engelleme görevini üstlenir işte bu noktada Wee1 protein kinaz, mitozu girmeden önce G₂ / M kontrol noktasının inhibe edici düzenleyicisi olarak kilit rol oynayan bir tirozin kinazdır (Stathis ve Oza 2010).

Erken mitozun inhibisyonundan sorumlu olan Wee 1 protein kinaz görevini mitozu ilerleten faktörü (MPF kompleksi) inaktif etmesiyle gerçekleştirmektedir. Mitozu engelleme Wee 1 protein kinazda bulunan Cdk1 alt biriminin, ATP bağlama bölgesini aktifleştirmesiyle indüklenen mekanizma ile MPF kompleksi inhibe olmaktadır. Wee 1, G2/M geçişini bu mekanizmayla inhibe etmektedir (Kearns ve Liu 2001, Cheng ve ark. 1998, Heald ve ark. 1993). Apoptozun normal mekanizmasının bozulmasının kanser oluşumunun en önemli nedenlerinden olduğu yönünde çalışmalar yapılmıştır (Yar 2012). Ayrıca, kanser hücreleri, anti-apoptotik proteinlerin aşırı üretimi ya da pro-apoptotik proteinlerin yapımı/ etkilerinin azalmasıyla apoptoza dirençli hale gelmektedirler (Igney ve Krammer 2002, Okada ve Mak 2004). Genel anlamda bütün kanser olgularında gözlenen, kanser hücrelerinin doğal apoptotik sürece girmeyen bir özellik kazanmış olmasıdır. Buradan hareketle, kanser tedavisinde temel ilke apoptotik yolların aktifleştirilmesi mantığıyla olmaktadır (Yar 2012). Bu da, hasar görmüş hücrelerin yok edilmesinin hedeflenmesi, genellikle apoptozu başlatarak sağlanmaktadır (Jin ve El-Deiry 2005, Yehielly ve Deiss 2000). Kanser hücrelerini ölüme götürmede radyoterapi ve kemoterapi de sıklıkla kullanılan araçlardır (Fadeel ve Orrenius 2005, Kaufmann ve Earnshaw 2000). Anti-neoplastik ilaçların etki gücü, mevcut kanser hücrelerinde ne oranda apoptozu sağladığıyla yakından ilişkilidir. Kanser ilaçları neden oldukları DNA hasarı üzerinden ya da hasarlı hücredeki DNA tamir mekanizmasındaki yetersizlikten faydalanıp bu hücreleri apoptoza yönlendirmektedir (Jaattela 2004). Kanser hücresinde apoptozun hangi düzeyde regüle olduğunun anlaşılması mümkündür. Bu da apoptozisi indükleyen farklı tedavilerin, kanser hücrelerinde, hangi genlerin ekspresyon miktarını değiştirdiğinin tespiti şeklinde olmaktadır (Yar 2012). Çalışmamızda kaspaz-3, bax, bcl-2, wee1, gadd153, AIF miktarları çalışıldı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Glycyrrhiza Türü ve Toplanması

Çalışmada kullanılan *G. glabra* L. var. *glabra*, florada bilinen lokalitelerden Hatay-Samandağ ilçesi, Yeni Mahallesi, 36.069234, 35.962354 koordinatından yol ve tarla kenarlarından Eylül ayı dönemi toplanmıştır.

Bitki örneklerinin toprak üstü ve kök kısımları toplandıktan sonra, ev damında güneş etkisinde kurutuldu, kurumuş bitkinin yaprakları el ile öğütülerek diğer parçalarından ayrıldı. Öğütülmüş yapraklar daha sonra değirmende iyice toz haline getirildi.



Şekil: 3.1 Kurutulmuş meyan yaprakları

Toz haline gelen örnekler etüvde 24 saat bekletilerek nemi alındı. Analizler için yaklaşık 30 g toz tartılarak, %80'lik etil alkol solüsyonu içerisinde ekstre edildikten sonra filtre edildi. Filtreden geçirilen ekstrenin alkolü uçurularak kuru ekstrenin kalması sağlandı.

3.2. Hücre kültürü

Cilt kanseri (*B16-F10, melanom*) hücreleri, %10 Fetal Bovine Serum (FBS) (Hyclone), %1 L-Glutamine (Hyclone), %1 Penisillinstreptomisin (Hyclone), Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM) (GIBCO) besiyerinde yetiştirildi. Hücreler

24'lük standart hücre kültürü platelerinde 1×10^5 sayısında tek tabaka halinde yetiştirildi. 37 °C sıcaklıkta ve %5' lik CO₂' li etüvde inkübe edildi. Bu hücreler 48 saat Glycyrrhiza (%99,2 kültür medyumunu ve %0.8 Glycyrrhiza ekstraktı) ile muamele edilip ELISA yöntemiyle protein analizleri için homojenize edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.3. Doku homojenizasyonu

Eppendorf içinde -20°C dondurulmuş hücrelerin üzerine gram başına 3ml RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) buffer, 30µl PMSF (fenylmetanesulfonylfluoride), 30µl sodyum vanadat, 30µl proteaz inhibitörü eklendi ve ultrasonic parçalama cihazıyla buz üzerinde dokuların parçalanarak homojenatlar elde edildi. Homojenatlar 10.000 RPM'de 10 dakika santrifüj edildi. Alttaki çökeltiler (pelletler) atıldı. Üstte ayrılan kısımlar (süpernatantlar) ELISA testlerinde kullanılmak üzere alındı (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.4. Protein miktar tayini

Homojenizasyon yapılarak elde edilen homjenatların total protein miktarının tayini için Bradford yöntemi kullanıldı. Sığır serum albumini (1µg/ml) kullanılarak 1, 2, 3, 5, 7, 8, 10 (µg/ml) konsantrasyonlarda standart hazırlandı. Her bir örnekten 10 µl alınarak distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. Standart ve örneklerin üzerine 1ml bradford solüsyonu eklendi ve vorteksle karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 595 nanometre dalga boyunda absorbans miktarları manuel olarak ölçüldü. Prism programında çizilen standart eğriye göre homojenatların protein miktar tayini µg/µl cinsinden yapıldı (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5. ELISA deneyleri

ELISA testleri Rayto firmasından temin edilen ELISA mikroplate okuyucu ve yıkayıcı ile yapılmıştır.

3.5.1. ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi

3.5.1.1. Bax Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek bax protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.2. Bcl-2 miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek bcl-2 protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.3. Kaspaz-3 aktivite Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı

boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek kaspaz-3 enziminin aktivitesi tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.4. Wee1 miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek wee1 protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.5. Gadd153 (Chop) miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek gadd153 protein

miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.6. AIF miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek AIF protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.7. P-ERK miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek p-ERK enzim miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.8. P-JNK miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı

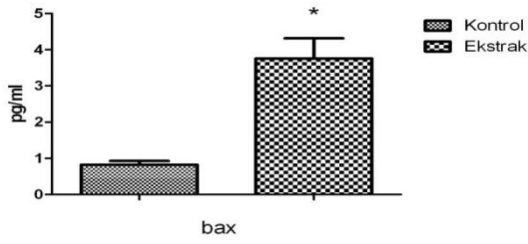
boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’ de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek p-JNK enzim miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.6. Sonuçların değerlendirilmesi

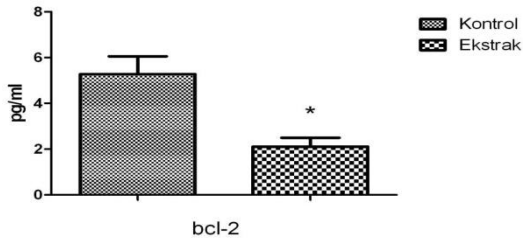
Grafiklerin çizimi ve istatistiksel analiz için bilgisayar ortamında Graph-Pad Prism (CA, USA) programı kullanıldı. Veri setleri 7 ölçüm üzerinden oluşturuldu. Veriler için ön değerlendirme box-plot grafiği ile yapıldı. Bu grafiğe göre aykırı değerler incelendi. Verilerin istatistiksel analizleri, SPSS for Windows (version 21, IBM Corp, Armonk, New York, USA) programında yapıldı. İstatistiksel karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı ve $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

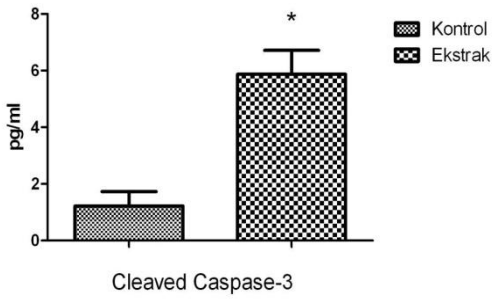
Verilere ait 7 ölçüme göre ön değerlendirme box-plot grafiği ile ifade edilmiştir. Non-parametrik test uygulandığından aykırı veri değerlendirme dışı bırakılmamıştır.



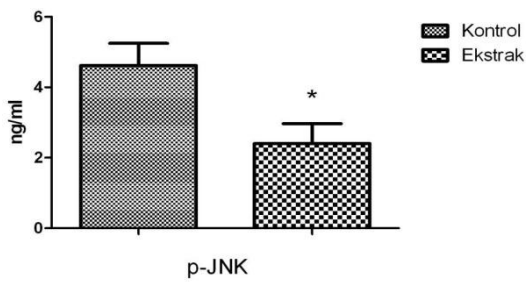
Şekil: 4.1 Bax miktar ölçümü



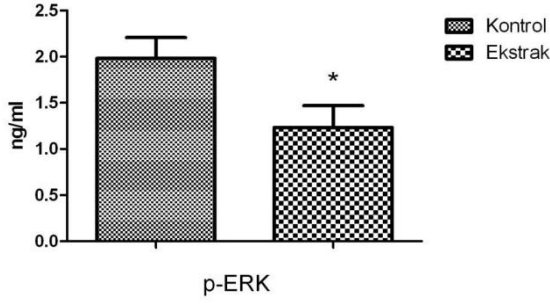
Şekil: 4.2 Bcl-2 miktar ölçümü



Şekil: 4.3 Kaspaz- 3 miktar ölçümü



Şekil: 4.4 P-JNK miktar ölçümü



Şekil: 4.5 P-ERK miktar ölçümü

Kontrol ve ekstrakt grubuna ait yapılan ölçümlere ait sonuçlar Çizelge: 4.1 ve Şekil: 4.6 da verilmiştir.

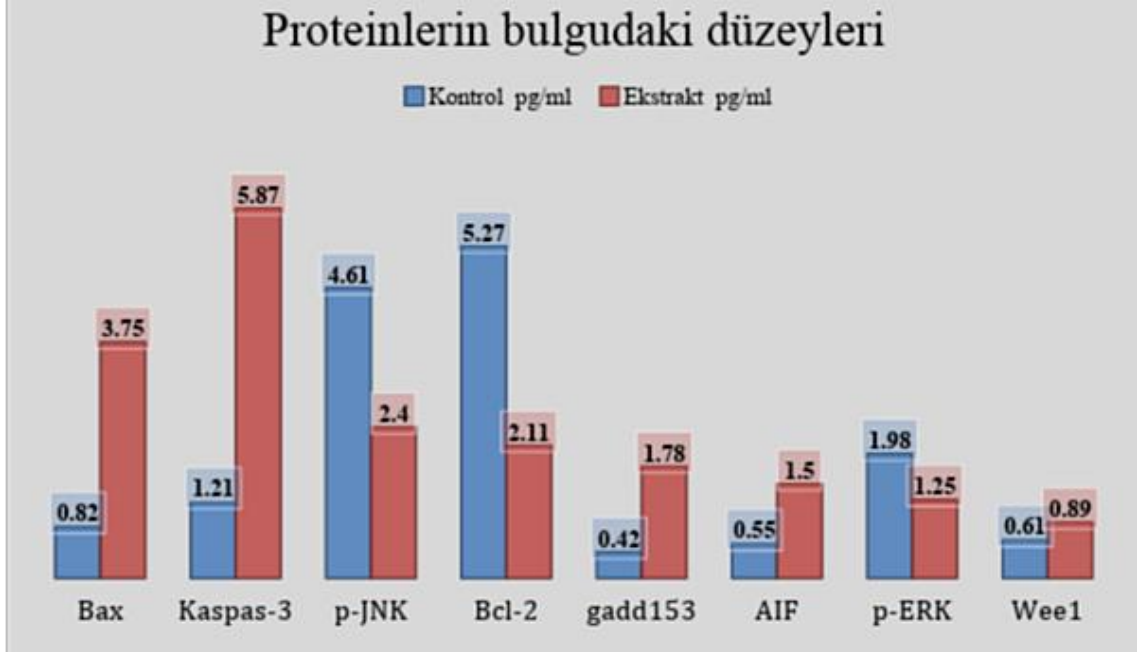
Çizelge: 4.1 Sonuçlara ilişkin çizelge

	Kontrol pg/ml	Ekstrakt pg/ml	p
Bax	0,82±0,28	3,75±1,47	0.002**
Bcl-2	5,27±2,33	2,11±1,08	0.01*
Kaspaz-3	1,21±1,35	5,87±2,23	0.001**
Wee1	0.61±0.08	0.89±0.015	0.001**
gadd153	0.42±0.019	1.78±0.05	0.001**
AIF	0.55±0.03	1.5±0.02	0.001**
p-ERK	1,98±0,61	1,25±0,49	0.03*
p-JNK	4,61±1,54	2,4±1,38	0.01*

Sonuçlar Ortalama ± SS olarak sunulmuştur. Mann-Whitney U test yapıldı.

* : p< 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı

** : P< 0,01 Yüksek düzeyde anlamlı



Şekil: 4.6 Kontrol ve Ekstrakt Gruplarına Ait Sonuçlar

Meyan ekstraktının B16/F10 melanom hücrelerinde, kontrol grubuyla kıyaslandığında; bcl-2, p-ERK, p-JNK miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı fark ve kaspaz-3, wee1, gadd153, AIF ve bax miktarlarında ise istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark tespit ettik. Apoptoz indükleyicileri olan bax, kaspaz-3, gadd153, AIF miktarlarında artışların istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı olduğundan hareketle, B16F10 kanserli hücreyi apoptozise yönlendirilmek suretiyle anti-kanserojen etki oluşmaktadır. Meyan ekstraktının anti-kanserojen etkisinde apoptotik yolları aktive etmesini ayrıca Bax > Bcl-2 miktarı olması tespitiyle de söyleyebiliriz. Anti-apoptotik üyelerden Bcl-2 miktarında azalma ile gadd153 (chop) ekspresyonunda artış anlamlı olarak bulunmuştur. Anti-karsinojenik etkiyi sağlayan apoptozun mekanizmasında bcl-2' nin aşağı regülasyonunda, gadd153 miktarında olan artışın sorumlu olduğunu düşünmekteyiz. Bax ekspresyonuna bağlı olarak artan AIF miktarıyla da apoptozun indüksiyonu sağlanmaktadır. Ayrıca kaspaz-3 ekspresyonunda olan istatistiksel yüksek düzeyde artış da apoptozun ayrıca kaspaz yoluyla gerçekleştiğini açıklamaktadır. Wee1 protein kinaz, G2 / M hücre döngüsü kontrol noktasında mitoz geçişi engelleyerek işlevini yerine getirmektedir. Wee1 ekspresyonu, kanser hücrelerinin zarar görmüş cevapta apoptoz geçirmesini önlese de (Wang ve ark. 2005), meyan kökü ekstresinin, bazı tümör hücrelerinde G2 / M hücre döngüsü durmasını indüklediği ve bu şekilde anti-tümör aktivitesini gösterildiği bilinmektedir (Rafi ve ark. 2002).

P-ERK ve P-JNK miktarlarında azalma da istatistiksel olarak anlamlı olduğu için, meyanın apoptozis mekanizmasında, uzun süreli strese maruziyetin, p-ERK ve p-JNK deaktivasyonundan hareketle diğer apoptotik yolların indüklemesine neden olduğunu, p-ERK azalmasının proliferasyonun inhibisyonunu sağladığını, hücre döngüsünün durmasına sebebiyet vererek anti-karsinojenik etkinin gerçekleşmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir (Liu ve ark. 2009, Kim ve ark. 2008).

5. TARTIŞMA

Yapılmış birçok çalışma Glisirizin' in biyoaktivitesine odaklanmış ve çalışmalar meyan kökü ve Glisirizin' in hem in- vitro hem de in- vivo olarak inflamasyonu, melanom hücre proliferasyonunu ve metastazı azaltabildiğini göstermiştir (Aydemir ve ark. 2011, Rossi ve ark. 2005). Önceki çalışmalara baktığımızda, Glisirizin' in ve Gliseritik Asit' in apoptozu indüklediğini ve melanom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (Abe ve ark. 1987, Liu ve ark. 1998). Meyan kökü kaynaklı flavonoid olan isoangustone A (IAA) ile Nude farelerinde ile yapılmış çalışmada SK-MEL-28 hücrelerinde, tümörlerin hacmini ve ağırlığını önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. IAA' nın anti-kanserojenik etki mekanizmasında, JNK1/2' nin fosforilasyonunu engellemesi tespit edilmiştir. Ayrıca, ERK1/2 fosforilasyonunda veya p38 üzerinde hiçbir etkisi olmadığı da tespit edilmiştir (Song ve ark. 2013). Çalışmamızda apoptozun indüklenmesinde p-ERK ve p-JNK miktarlarında düşüş saptadık ($p < 0,05$). Glycyrrhiza glabra komponentlerinden olan licochalcone-A (LA) ile LNCaP prostat kanser hücreleriyle yapılan bir başka çalışmada ise, meyan kökü LNCaP hücrelerinde kaspaz bağımlı ve otofajiye bağlı hücre ölümüne neden olduğu görülmüştür. Hücre ölümünün etki mekanizmasında otofaji indüksiyonun neden olduğu ayrıca Bcl-2' nin aşağı regülasyonu ve (mTOR) yolunun inhibisyonu eşlik ettiği görülmüştür (Yo ve ark. 2009). Çalışmamızda da bcl-2 miktarında tespit ettiğimiz düşüş literatürle uyumluydu. Meyan kökünden izole edilen bir flavonoid olan izoliquiritigenin (ISL) tarafından indüklenen insan mesane kanseri T24 hücrelerinin apoptozunda sikline bağımlı kinaz 2 (CDK2) aktivitesinin araştırıldığı çalışmada ise, ISL tedavisinin proliferasyon oranında önemli bir azalmaya ve T24 hücrelerinin apoptozunda artışa neden olduğunu gösterdi. ISL 'nin in vitro T24 hücre apoptozisini indüklediği mekanizmada, Bcl-2 ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede düştüğünü, kaspaz-3 ve Bax ekspresyon seviyelerinin anlamlı derecede arttığını göstermiştir (Si ve ark. 2017). Bizim çalışmamızda da bu çalışma ile uyumlu bulgular ortaya çıkardı.

Glisirizin ile yapılan bir başka çalışmada ise B16/F10 murin melanom hücrelerinde melanogenezin uyarıldığı görülmüş ayrıca melanogenezin uyarımının Glisirizin kaynaklı stimülasyon, transkripsiyon seviyesinde artan tirozinaz ve TRP-2 ekspresyonu yoluyla meydana geldiği bulunmuştur (Jung ve ark. 2001). Meyan kökü ve komponentlerinin anti-kanserojenik özelliklerine ilişkin yapılmış bir derlemede ise meyanın, birçok kanser türünde etkili olduğu Şekil: 5.1’ de gösterilmiştir.

Meyan ve etkili türevlerinin antikarsinojenik etkisi üzerine Özet

Hedef Organ	uygulanan deney hayvanı	Kanser indükleyicisi	etkin türev	uygulama yolu	uygulama periyodu
deri	sencar faresi	DMBA/TPA	GL	içerek	Başlangıç
deri	sencar faresi	DMBA/TPA	GL	içerek	Tamamı
deri	sencar faresi	DMBA/TPA	α -GA	topikal	Başlangıç
deri	sencar faresi	DMBA/TPA	β -GA	topikal	Başlangıç
deri	sencar faresi	DMBA/TPA	α -GA	topikal	Arttırarak
deri	sencar faresi	DMBA/TPA	β -GA	topikal	Arttırarak
deri	TCR faresi	DMBA/TPA	GA	topikal	Arttırarak
deri	ICR faresi	DMBA/teleocidin	GA	topikal	Arttırarak
akciğer	A/J faresi	BaP	LWE	içerek	Tamamı
akciğer	A/J faresi	NDEA	LWE	içerek	Tamamı
akciğer	Ddv faresi	4-NQO/gliserol	GL	içerek	Arttırarak
ön mide	A/J faresi	BaP	LWE	içerek	Tamamı
ön mide	A/J faresi	NDEA	LWE	içerek	Tamamı
mide	Rat	MNNG	LWE	oral	Tamamı
karaciğer	C3H/He faresi	3'-Me-DAB	GL	oral	Tamamı
kolon	Rat	MAM acetate	β -GA	oral	Tamamı
kolon	Rat	AOM	CB	oral	Tamamı
meme	Rat	MNU	β -GA	oral	Tamamı
meme	Rat	MNU	CB	oral	Tamamı

Kısaltmalar: DMBA, 7,12-Dimetilbenz(A)antrasen; TPA, 12-O-Tetradekanolforbol-13-asetat; BaP, Benzo[a]piren; NDEA, N-Nitrosdietilamin; 4-NQO, 4-Nitrokinolin 1-oksit; MNNG, N-Metil-N'-nitro-N-nitroguanidin; 3'Me-DAB, 3'-Metil-4-dimetilaminoazobenzen; MAM acetate, Metilazoksimetanol asetat; AOM, Azoksimetan MNU, 1-metil-a-nitrozoüre; GL, Glisirizin; α -GA, 18 α -Gliserinitik Asit; β -GA, 18 β -Gliserinitik Asit; LWE, Meyan/Su ekstraktı; CB, Karbenoksolon.

Şekil: 5.1 Meyanın Anti-karsinojenik etkileri (Wang ve Nixon 2001).

Sencar farelerinde, TCR/ICR farelerinde yapılan DMBA/TPA deri kanseri çalışmalarında, Glisirizin' in ile Gliseritik Asit ve bileşenlerinin anti-kanserojenik etkisinin olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır (Zhi ve ark. 2001). Sencar farelerinde 7-12-dimetilbenz [a] antrasen (DMBA) ve 12-0-tetradekanolforbol-13-asetat (TPA) tarafından indüklenen iki aşamalı bir cilt tümörleri modelinde, DMBA' dan önce içme suyunda % 0.05 GL oral uygulama uygulama (grup GL-1) veya DMBA uygulamasından 112 gün sonra (grup GL-2) cilt tümörü başlangıcına karşı koruma sağladığı görüldü (Agarwal ve ark. 1991). Farelerde TPA ile indüklenmiş cilt tümörü ilerlemesinin inhibitörleri olarak α -GA ve β -GA, benzer

aktiviteye sahiptir (Agarwal ve ark. 1991). Farelerde DMBA-TPA, cilt tümörü oluşumunda, α -GA ve β -GA' nin karşılaştırmalı etkisi değerlendirildiğinde, α -GA ve β -GA' nin, DMBA kaynaklı cilt tümörü başlatıcı aktiviteyi inhibe ettiğini, ancak β -GA' nin, α -GA' dan daha güçlü inhibe edici etkiler gösterdiği bulundu (Wang ve ark. 1991). Farelerde, GA ile yapılan çalışmalarda (Nishino ve ark. 1986, Yasukawa ve ark.1988), DMBA kaynaklı cilt tümörü oluşturularak başlatılan, ardından iki farklı tümör promotörü TPA ve teleocidin' in deri tümörü oluşumu üzerindeki destekleyici etkisini belirgin şekilde bastırıldığı belirtilmiştir. Glycyrrhiza flavescens subsp. antalyensis sudaki ekstraksiyonunun in vitro sitotoksik ve anti-proliferatif etkisinin araştırıldığı çalışmada, B16F10 hücre kültüründe ve metastatik türev hattı olan B16LNAD hücrelerinde apoptozisin indüklenerek melanomanın inhibisyonu sağladığı görülmüştür (Aydemir ve ark. 2011). Bu bulgular hem yaprak hem de bitki özlerinin, melanom hücrelerinin proliferasyonunu doza ve zamana bağlı olarak anlamlı derecede azalttığını göstermiştir. Bu bağlamda çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

Aktif olmayan pro-kaspaz-3' ün protein ekspresyonunun, aktif forma dönüşmesi nedeniyle belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Apoptozis indüksiyonunun gerçekte kaspaz-3 aktivasyonundan kaynaklanıp kaynaklanmadığını doğrulamak için spesifik kaspaz-3 inhibitörünü kullanan çalışmalar yapıldığında, apoptozisin indüksiyonunda belirgin bir azalma olduğu ispatlanmış; bu veriler, melanom hücre proliferasyonunun yaprak veya çiçek özü ile inhibe edilmesinde rol oynayan mekanizmalardan birinin apoptozisin indüklenmesi ile ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Ayrıca, Glabridin ile yapılan bir başka çalışmada, in-vitro B16 murin melanom hücreleri ve gine domuzu kobay derileri kullanılarak, Glabridin' in melanogenez ve inflamasyon üzerindeki inhibitör etkileri araştırıldı. Glabridinin, tirozinaz aktivitesini inhibe ettiğini ama DNA sentezi üzerinde saptanabilir bir etkisinin olmadığını gösterdi. Ayrıca, Gine domuzlarının derilerinde UVB' nin neden olduğu pigmentasyon ve eritemin % 0.5 Glabridinin topikal uygulamaları ile inhibe edildiği de gösterilmiştir (Yokota ve ark. 2006). Aynı çalışmada Glabridin' in in vitro anti-enflamatuar etki mekanizmasının, süperoksit anyon üretimini ve siklooksijenaz aktivitelerini inhibe etmesiyle sağlayarak olduğu gösterilmiştir (Yokota ve ark. 2006), malign melanoma hücreleri (A375 tipi) üzerinde yapılan in-vitro çalışmada ise Glisirizin' in, tirozinaz ve melanom hücreleri üzerinde önemli bir inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Juan ve ark. 2018). Artan tirozinaz ekspresyonunun melanoma

dahil birçok deri hastalığına neden olduğu ve tirozinaz inhibitörleri kapsamında meyan bitkisinin etkisi birçok çalışmayla ortaya konmuştur (Pulok ve ark. 2018). Bir başka çalışmada, Glisirizin' in B16 melanom hücrelerinde melanogenezi uyardığını, GR tarafından melanogenez aktivasyonunun melanom hücrelerinde artan cAMP sinyali yoluyla olabileceğini ancak mitojenle aktive olan protein (MAP) kinazı uyarmasına rağmen (MAP) kinaz' ın melanin içeriği seviyesi üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olmadığı ileri sürülmüştür (Lee ve ark. 2005). Bir mantar metaboliti olan ve antiproliferatif etkinliği olan Terrein ile yapılan çalışmada, insan epidermal keratinositlerinin büyümesinin inhibisyonunda rol alan sinyalleşme yolları üzerindeki, Terrein' in etkisiyle ERK' nın inaktive edildiği ve keratinosit proliferasyonunun inhibe edildiğini saptamışlardır (Kim ve ark. 2008). Çalışmamızda, p-ERK azalmasının proliferasyonun inhibisyonunu sağladığını anti-karsinojenik etkinin gerçekleşmesinde etkili olduğunu düşünmekteyiz. Meyan kökü (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) insan meme kanseri hücrelerinde MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını, Bax' ın yukarı regülasyonu ve bcl-2' nin azalması yoluyla meme kanserinde de aktif hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiş (Jo ve ark. 2004) bizim çalışmamızda da meyan ekstraktının, B16F10 melanoma kanserli hücrelerinde bax ekspresyonunda artış ile bcl-2 azalmasına neden olduğu ve literature bunun uyumlu olduğunu kaydetmekteyiz. Hücre apoptoz yolları bir ER stres yoluyla aktive edilse de, özellikle, uzun süreli ER stresi sıralı aktivasyona, farklı aktivasyon zamanlamalarına ve ardından IRE1, ATF6 ve PERK yollarının tamamının veya bir kısmının deaktivasyonuna yol açabilmektedir. Bu zamanlama dizisinin muhtemelen ER stresi kaynaklı apoptoz için etkileri vardır. ATF6, şaperon indüksiyonunda büyük bir role sahiptir ve ayrıca transkripsiyonel olarak CHOP' u indükleyebilir. Ayrıca, CHOP kaynaklı GADD34' ün fosforile edilmiş baskılayıcı etkisine ilave olarak; eIF2a, UPR' nin bir veya daha fazla dalı, belirli ayarlara özgü diğer mekanizmalar tarafından aşağı doğru düzenlenebilir (Lin ve ark. 2007, Yan ve ark. 2002, Yoshida ve ark. 2006, Seo ve ark. 2010, DuRose ve ark. 2006). Fukoksantin ile yapılmış hepatoma hücrelerindeki çalışmada, hücrelerde, hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinaz (ERK) ve c-Jun N-terminal kinazın (JNK) fosforlanmış formlarında bir azalma ortaya konulmuş ve Fukoksantin' in, hücreler arası iletişimi arttırmasına bağlı olarak hücre içi kalsiyum seviyelerini arttırdığını, bu durumun hepatoma hücrelerinin, hücre döngüsünün durmasına ve hücrenin apoptozisi ile sonlandığı bildirilmiştir (Liu ve ark. 2009). Ayrıca başka bir çalışmada da meyan kökü ekstresinin,

immünoblot ile gösterilmiş göğüs ve prostat tümör hücrelerinde, weel miktarındaki artışa bağlı olarak G2 / M hücre döngüsü durmasını indüklediği ve bu şekilde anti-tümör aktivitesini gösterdiği söylenmiştir (Rafi ve ark. 2002). Anti- karsinojen molekül olduğu bilinen Berberin (Diogo ve ark. 2011, Hur ve ark. 2009, Wang ve ark. 2010, Patil ve ark. 2010) ile indüklenen promyelositik lösemi HL-60 hücreleri ve murin miyelomonositik lösemi WEHI-3 hücrelerinin her ikisinde incelenen hücre hattında, G2 / M-faz durmasını indüklediğini, weel seviyelerinin artmasına bağlı olarak bunu gerçekleştirdiğini söylemişlerdir (Lin ve ark. 2006). Çalışmamızda, bu çalışmalara uyumlu olarak gadd153 (CHOP), weel' in istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı artışını ($p < 0,01$) ve p-ERK ile p-JNK aktivitelerinin ise istatistiksel olarak anlamlı azaldığını ($p < 0,05$) gözlemledik. Melanom hücrelerinin bortezomib ile tedavisinin hem apoptosis indükleyici faktör (AIF) hem de kaspaz-3'ün aktivasyonuna bağlı melanom hücrelerinde apoptozu tetiklediği bildirilmiştir (Selimovic ve ark. 2012). Bir bitki steroidi olan diosgenin ile M4Beu melanom hücreleri içeren hücre kültürü hattındaki yapılan çalışmada, western blot analizi ile elde edilen apoptotik oran (Bax / Bcl-2), diosgenin işleminden sonra (kontrolle karşı 1,6 kat; $p < 0,05$) arttığını, AIF artışı ile kaspaz-3 için (1.6-kat, $p < 0,01$) artış gözlemlendiğini söylemişlerdir (Corbiere ve ark. 2004). Çalışmamızda meyan ekstraktının apoptotik oranı (Bax / Bcl-2) kontrolle karşı 11 kat arttığını ($p < 0,01$), ayrıca AIF artışı ($p < 0,01$) ile beraber kaspaz-3 seviyelerinde de 4.8 kat ($p < 0,01$) artışa neden olduğunu ve bu şekilde yukarıda belirttiğimiz çalışmalarla uyumlu bir sonuç gösterdiğini belirledik.

Anti-karsinojenik etkiyi gerçekleştiren apoptozisin; p-ERK ve p-JNK aktivitelerindeki inhibisyonun, weel miktarındaki artışla beraber hücre döngüsünün durması ve chop, kaspaz-3 ve AIF miktarlarındaki artışla DNA fragmentasyonu gerçekleşmesi, pro-apoptotik üye olan bax miktarındaki artışa paralel anti-apoptotik üye olan bcl-2 miktarındaki azalmayla da desteklendiği görülmüştür. Çalışmamız meyan yapraklarından elde edilen ekstrenin, B16F10 melanoma hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu ile birlikte apoptotik yolların indüksiyonunu sağlayarak anti-karsinojenik etkiyi oluşturduğunu göstermiştir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, gerçekleştirdiğimiz in vitro deneysel çalışmada, meyan (*G. glabra* L.) bitkisinin alkol ekstraktının melanom hücrelerine karşı potansiyel anti-tümör aktivitesi araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, *G. glabra* L. bitkisinin, alkol ile muamele edilmiş ekstraktlarının, chop, kaspaz-3 ve AIF miktarlarındaki artışla DNA fragmantasyonunu gerçekleştirdiğini, bax miktarındaki artış ve bcl-2 miktarındaki azalma ile de apoptozu indüklediğini ayrıca, wee1 miktarındaki artışla beraber hücre döngüsünün durmasının gerçekleştiğini ortaya koydu. *Glycyrrhiza glabra* L. bitkisinin alkolle muamele edilmiş ekstraktının, potansiyel anti-tümör aktivitesi, in- vitro olarak gözlemlendiğinden hareketle bu bitkinin anti-kanserojen etkisine dair ilave çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. *Glycyrrhiza glabra* L. bitkisinin aktif bileşenlerini tanımlamak ve ayrıca ilave etki mekanizmalarını aydınlatmak için çeşitli kimyasal ve farmakolojik araştırmalar yapılması, kanser önleyici ilaç keşfine aday olan meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisi için ciddi önem arz edeceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. **Abe H, Ohya N, Yamamoto KF, Shibuya T, Arichi S, Odashima S.** Effects of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on growth and melanogenesis in cultured B16 melanoma cells. *Eur J Cancer Clin Oncol.* **1987**; 23:1549–55. [PubMed: 3678319]
2. **Adams JM, Cory S.** Life or death decions by the Bcl-2 family. *Trends. Biochem Sci* **2001**;26:61-6
3. **Adrain C, Martin SJ.** The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* **2001**; 26:390-7.
4. **Agarwal, R, Wang, ZY, and Mukhtar, H:** Inhibition of mouse skin tumor-initiating activity of DMBA by chronic oral feeding of glycyrrhizin in drinking water. *Nutr Cancer* 15, 187–193, **1991**.
5. **Akan, H., Balos, M.M. 2008.** GAP Bölgesi'nden Toplanan Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra L.*) Taksonunun ihracat Durumu, Etnobotanik Özellikleri ve TıbbiÖnemi. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 20(2): 233-241.
6. **Andrew GR, Catherine B, Christopher SP.** Education and debate, What is apoptosis, and why is it important, *BMJ* **2001**;322:1536-1538.
7. **Ankaferd Blood Stopper.** Erişim: <http://www.ankaferd.com.tr/uploads/projeler/dosya/ABSGenelBrosur.pdf>. 2018. **Erişim tarihi: 10.01.2018**
8. **Armanini, D., Fiore, C., Matterello, M.J., Bielenberg, J., Palermo, M., 2002,** History of the endocrine effects of licorice, *Experimental and Clinical Endocrinology ;Diabet*, 110, 257-261.
9. **Ay, MO., Aktürk, A., Çolakoğlu, A., Çelikdemir, A., Kozacı, N. Ve ark.** Aşırı meyan kökü şerbeti alımına bağlı hipopotasemik paralizi ve solunum yetersizliği.*Cukurova Medical Journal* **2014**;39(2): 387-391.
10. **Aydemir EA, Oz ES, Gokturk RS, Ozkan G, Fiskin K.** *Glycyrrhiza flavescens* subsp. *antalyensis* exerts antiproliferative effects on melanoma cells via altering TNF-alpha and IFN-alpha levels. *Food Chem Toxicol.* **2011**; 49:820–8. [PubMed: 21145935]
11. **Baran, A. 1990.** Meyan kökünden Elde Edilen Ekstraktın Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dayandırılması Üzerine Bir Aratırma. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 40.
12. **Başbakanlık osmanlı arşivi belgeleri ŞD.** 1384/1, 6 Ekim 1888
13. **Başbakanlık osmanlı arşivi belgeleri, Y., PRK, HH.,** 35/27, 13 Şubat 1904; ŞD.431/8, 1 Temmuz 1909.
14. **Başer K.H.C** Meyan (*Glycyrrhiza glabra L.*). *Bağbahçe Derg*, Ağustos **2006**, s.20-21
15. **Başer, K.H.C., Kirimer, N., Duman, H. 1997.** Composition of the essential oil of *Micromeria dolichodontha* PH Davis. *Flavour and fragrance journal*, 12(4): 289-291.
16. **Baytop, T., 1984,** Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No 3255. İstanbul.
17. **Bellamy COC.** p53 and apoptosis. *Br Med Bull* **1996**; 53(3): 522-38.
18. **Bone, K., Mills S., 2013,** Principles and practice of phytotherapy : modern herbal medicine 2nd Ed, s. 719.

19. **Bozan, B. 1988.** Meyan kökünün özütlenmesi ve saflaştırılması işlemleri. Yüksek lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, s. 103.
20. **Cabadak H.Ö.** İnsan periferik kan ve fibroblast hücre kültürlerinin sinkronizasyonu ve sinkronize hücre kültürlerinden kromozom analizi ve karyotip hazırlanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, **1987**.
21. **Cabadak, H.Ö.** Hücre siklusu ve kanser, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi **2008**; 9(3) : 51 – 61.)
22. **Çakmak, Y.S. 2011.** Türkiye’deki Glycyrrhiza L. Türlerinin Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşenlerinin ve Antioksidant Kapasitelerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 113.
23. **ÇELİK, S., ŞEN, S.,HAZMAN, Ö.** Endoplasmik Retikulum Stresine Cevap Yolakları ve Tip 2 Diyabet Patogenezinde Endoplasmik Retikulum Stres Aracılı Beta Hücre Apoptosisinin Rolü, Kocatepe Tıp Dergisi Kocatepe Medical Journal 16:227-237/Temmuz**(2015)**
24. **Chamberlain, D.F., 1970,** Glycyrrhiza. In: Davis, P.H., (Ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 3, Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 260-263.
25. **Chang L, Karin M.** Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature. **2001**; 410:37–40. [PubMed: 11242034]
26. **Chen X, Zhang B, Yuan X, Yang F, Liu J, Zhao H, Liu L, Wang Y, Wang Z, and Zheng Q,** Isoliquiritigenin-Induced Differentiation in Mouse Melanoma B16F0 Cell Line, Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume **2012**, Article ID 534934, 11 pages.
27. **Cheng M, Sxcl V, Sherr C, Raussel M.** Assembly of cyclin D-dependent kinase and titration of p27Kip1 Regulated by mitogen-activated protein kinase kinase (MEK1) Proc Natl Acad Sci **1998**; 95: 1091-4.
28. **Çınar, 2012.** Sıcaklık ve Sürenin Meyan Kökü (Glycyrrhiza glabra L.) Ekstraksiyonuna Etkisi ve Ekstraksiyon Kinetisinin Modellenmesi. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7(2): 21-30.
29. **Cohen J J (1993):** Programmed cell death and apoptosis in lymphocyte development and function. American College of Physicians, CHEST, 103: 99-101.
30. **Corbiere, C. B Liagre,B., Terro F,** Jbeneytout, J., Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells Cell Research volume14, pages188–196 (**2004**)
31. **Coşkun, G., Özgür, H.** Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması . **2011**; 20: 145 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ADANA
32. **Cummings M C, Winterfold C M, Walker N I (1997):** Apoptosis. Am. J. Surg. Pathol., 21: 88-101.
33. **DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA.** Cancer: principles and practice of oncology. 5 edition: Lippincott-Raven, Philadelphia, **1997**.
34. **Diogo CV, Machado NG, Barbosa IA, Serafim TL, Burgeiro A, Oliveira PJ.**Berberine as a promising safe anti-cancer agent - is there a role for mitochondria?, Curr Drug Targets. **2011** Jun;12(6):850-9.
35. **Doğan, A. L., Güç D.** Hacettepe Tıp Dergisi **2004**; 35:34-42 Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser
36. **Doğan, Y. 2004.** Ratlarda Meyan Kökünün Oksidatif-Antioksidatif Sistem Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa

37. **DuRose JB, Tam AB, Niwa M.** Intrinsic capacities of molecular sensors of the unfolded protein response to sense alternate forms of endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell.* **2006**; 17:3095–3107.[PubMed: 16672378]).
38. **Düzgün A.** Hep2 hücre modelinde deksametazonun unfolded protein response genleri üzerine moleküler etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi ,Samsun, **2010**.
39. **Elinav E, Chajek-Shaul T.** Licorice consumption causing severe hypokalemic paralysis. *Mayo Clin Proc.* **2003**;78:767–8.
40. **Elmore S (2007)** Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 35(4): 495–516.
41. **Ergün, N., Yolcu, H., Karanlık, S., Dikkaya, E. 2010.** Amanoslar'da (Hatay) Yetişen Bazı Bitki Türlerinde Ağır Metal Birikimi ve Mineral İçerik Üzerine Bir Çalıma.Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi (BBAD), 3 (2): 121-127.
42. **Evliyâ Çelebi b. Derviş Mehemed Zallî, Evliya Çelebi Seyahatnamesi, (Haz. Yücel Dağlı-Seyit Ali Kahraman-Robert Dankoff), C. X.,** Yapı Kredi Yayınları, İstanbul **2005**, s. 189, 266.
43. **Evliyâ Çelebi Seyahatnamesi, IX.,** s. 76; Feridun Emecen, “Balat”, İslam Ansiklopedisi, C. V., TDV. İstanbul **1992**, s. 4-6
44. **Evliyâ Çelebi Seyahatnamesi, X.,** s. 189-266.
45. **Fadeel B, Orrenius S.** Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J İnternal Med* **2005**; 258: 479-517.
46. **Farese RV, Biglieri EG, Shakelton CH, Irony I, Gomez-Fontes R.** Licorice-induced hypermineralocorticoidism. *N Engl J Med.* **1991**;325:1223-7.
47. **Feneon, A.,** Culture Industrielle de La Reglisse Ses Usages en Medecine Humaine et Veterinaire, Dans la Preparation des Tabacs, ets, Seguin Freres, Imprimeurs-Editeurs, Avignon **1886**, s. 6-8; “Reglisse”, Encyclopédie du Commerçant Dictionnaire du Commerce et des Marchandises, Tome II, Guillaumin et Cie.,Editeurs, Paris 1839, s. 1918; “La Science Pour Tous”, Science Français, N. 236,XLV Année, 4 Auot 1899, s. 219.
48. **Fenercioğlu, H., Baran, A. 1991.** Meyankökünden Elde Edilen Ekstraktın Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dayandırılması Üzerine Bir Araştırma. Ç.Ü. Ziraat Fak. Gıda Bilimi ve Tek. Bölümü, 16(6): 391-396.
49. **Fiore, C., Eisenhut, M., Ragazzi, E., Zanchin, G., Armanini, D., 2005,** A history of the therapeutic use of liquorice in Europe, *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 317324.
50. **Foster I.** Cancer: A cell cycle defect. *Radiography* **2008**; 14: 144-9.
51. **Golias CH, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K.** Cell proliferation and cell cycle control: A mini review. *Clin Pract* **2004**;58(12):1134-41.
52. **Gordon, M.H., An, J., 1995,** Antioxidant activity of flavonoids isolated from licorice, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43, 1784-1788.
53. **Grossman, D., Altieri, D.C., 2001.** Drug resistance in melanoma: mechanisms, apoptosis, and new potential therapeutic targets. *Cancer and Metastasis Reviews* 20, 3–11.
54. **Güleş, Ö. ve Eren, Ü.,** Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, **2008** (2) 73-78 ISSN 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651 DERLEME 73 Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

55. **Hamidon BB, Jeyabalan V.** Exogenously-induced apparent hypermineralocorticoidism associated with ingestion of “asam boi”. *Singapore Med J.* **2006**;47:156-8
56. **Heald R, McLoughlin M, McKeon F.** Human wee1 maintains mitotic timing by protecting the nucleus from cytoplasmically activated cdc2 kinase. *Cell* **1993**;74: 463-74.
57. **Hekiman, S.B. 2010.** Glycyrrhiza glabra L. Türünden Hareketle Sekretolitik ve Ekspektoran Etkili Bir Preparat Hazırlanması ve Takdimi. Yüksek lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 93.
58. **Hengartner MO, Ellis RE. and Horvitz HR.** Caenorhabditis elegans gene ced-9 protects cells from programmed cell death. , **1992**, *Nature* 356: 494-499.
59. **Herbert M.,** “Turkish-Arab Economic Relation with the United States”, *World Affairs*, Vol. 141, No. 3, Winter **1979**, s. 270
60. **Hur JM, Hyun MS, Lim SY, Lee WY, Kim D. J** *Cell Biochem.* The combination of berberine and irradiation enhances anti-cancer effects via activation of p38 MAPK pathway and ROS generation in human hepatoma cells. **2009** Aug 1;107(5):955-64. doi: 10.1002/jcb.22198.
61. **Hussain SG, Ramaiah KVA.** Endoplasmic reticulum: stress, signalling and apoptosis. *Current Sci* **2007**;93:1684-96.
62. **Igney FH, Krammer PH.** Death and anti-death: Tumor resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* **2002**; 2: 277-88.
63. **Intiaz KE.** Sweet root, bitter pill: liquorice-induced hyperaldosteronism. *QJM.* **2011**;104:1093–5.
64. **Jaattela M.** Escaping cell death, survival proteins in cancer. *Exp Cell Research* **1999**; 248(1): 30-43.
65. **Jaattela M.** Multiple cell death pathways as regulators of tumor initiation and progression. *Oncogene* **2004**; 449(2): 175-185.
66. **Japan Pharmaceutical Information Center (Ed.), 1997,** *Drugs In Japan, Ethical Drugs.* Yakugys Jiho Co., Ltd, Tokyo, p. 24.
67. **Jin Z, El-Deiry WS.** Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* **2005**; 4(2): 139-63.
68. **Jo EH, Hong HD, Ahn NC, Jung JW, Yang SR, Park JS, Kim SH, Lee YS, Kang KS.** Modulations of the Bcl-2/Bax family were involved in the chemopreventive effects of licorice root (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) in MCF-7 human breast cancer cell. *J Agric Food Chem.* **2004** Mar 24;52(6):1715-9.
69. **Joyce D, Albanese C, Steer J, Fu M, Bouzahzah B, Pestell RG.** NF-Kappa and cell cycle regulation: The cyclin connection. *Cytokine Growth Factor Rev* **2001**;12(1): 73-90.
70. **Juan S, Yongan Y, Hailiang Z, Hui Z.** Study on the Interaction Mode of Glycyrrhizin and Tyrosinase, *Pharmacy Information*, 10.12677/PI.2018.76025, 07, 06, (152-157), **(2018)**.
71. **Jung GD, Yang JY, Song ES and Park JW:** Stimulation of melanogenesis by glycyrrhizin in B 16 melanoma cells. *Exp Mol Med* 33: 131-135, **2001**.
72. **Karadağ, MG., Türközü, D., Kapucu, DT.,** Bitkiler ve ilaç etkileşimleri. **2013.** *Göztepe Tıp Dergisi* 28(4):164-170.
73. **Karakoçan, N. 1987.** Süzme Mekanizmalarının ncelenmesi ve Meyan Kökü Ekstraktının Süzülmesine Uygulanması. Yüksek lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 141.
74. **Kaufmann SH, Earnshaw WC.** Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Exp Cell Res* **2000**;

256: 42–9.

75. **Kearns WG, Liu JM.** Cell cycle checkpoint genes and aneuploidy: A short review. *Current Genomics* **2001**; 2:171-80.51
76. **Kerr JF, Wylie AH, Currie AR.** Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* **1972**;26:239-257.
77. **Kierszenbaum AL.** *Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology.* Second edition. Canada: Elsevier **2007**; 85-104.
78. **Kılıç, İH.** Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisinin antioksidant enzim ve pigment içeriğinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, **2014**.
79. **Kim DS, Lee HK, Park SH, Lee S, Ryoo JJ, Kim WG, Yoo ID, Na JI, Kwon SB, Park KC.** Terrein inhibits keratinocyte proliferation via ERK inactivation and G2/M cell cycle arrest. *Exp Dermatol.* **2008** Apr;17(4):312-7. Epub 2007 Nov 2.
80. **Kim EK, Choi EJ.** Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**, 1802: 396-405
81. **King RJB.** *Cancer biology,* Longman, **1996**
82. **Kıran B, Akçiçek E,** Meyan kökü ve İzmir. XI. National Conference on the History of Turkish Pharmacy. Kayseri, Türkiye, 25-28 Mayıs **2014**
83. **Kitagawa, I., 2002,** Licorice root. A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine, *Pure and Applied Chemistry*, 74, 1189-1198.
84. **Kolch W.** Meaningful relationships: The regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochem J* **2000**; 351:289-305.
85. **Lai E, Teodoro T, Volchuk A.** Endoplasmic reticulum stress: Signaling the unfolded protein response. *Physiology* **2007**;22:193–201.
86. **Lee, J., Jung, E., Park, J., Jung, K., Park, E., Kim, J., Hong, S., Park, J., Park, S., Lee, S., Park, D., 2005.** Glycyrrhizin induces melanogenesis by elevating a cAMP level in b16 melanoma cells. *J. Invest. Dermatol.* 124, 405–411.
87. **Lin CC, Lin SY, Chung JG, Lin JP, Chen GW, Kao ST.** Down-regulation of cyclin B1 and up-regulation of Wee1 by berberine promotes entry of leukemia cells into the G2/M-phase of the cell cycle. *Anticancer Res.* **2006** Mar-Apr;26(2A):1097-104).
88. **Lin JH, et al.** IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science.* **2007**;318:944–949. [PubMed: 17991856],
89. **Lin, Z.J., QS-X, Wufuer, A., Shum, L., 2005,** Simultaneous determination of glycyrrhizin, a marker component in radix *Glycyrrhizae* and its major metabolite glycyrrhetic acid in human plasma by LC-MS/MS, *Journal of Chromatography B*, 814, 201-207.
90. **Lingling S.X., Yang X., Yan Y., Wang Q.Z.,** Isoliquiritigenin induces apoptosis of human bladder cancer T24 cells via a cyclin-dependent kinase-independent mechanism, **2017**.
91. **Liu CL, Huang YS, Hosokawa M, Miyashita K, Hu ML:** Inhibition of proliferation of a hepatoma cell line by fucoxanthin in relation to cell-cycle arrest and enhanced gap junctional intercellular communication. *Chem Biol Interact* 82(2-3): 165-172, **2009**)

92. **Liu W, Kato M, Akhand AA, Hayakawa A, Takemura M, Yoshida S, et al.** The herbal medicine sho-saiko-to inhibits the growth of malignant melanoma cells by upregulating Fas-mediated apoptosis and arresting cell cycle through downregulation of cyclin dependent kinases. *Int J Oncol.* **1998**; 12:1321–6. [PubMed: 9592193]
93. **Liu W, Kato M, Akhand AA, Hayakawa A, Takemura M, Yoshida S, et al.** The herbal medicine sho-saiko-to inhibits the growth of malignant melanoma cells by upregulating Fas-mediated apoptosis and arresting cell cycle through downregulation of cyclin dependent kinases. *Int J Oncol.* **1998**; 12:1321–6. [PubMed: 9592193]
94. **Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE.** *Molecular Cell Biology.* 4edition: WH Freeman and Co, New York, **2000**.
95. **Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE.** *Molecular Cell Biology.* 4edition: WH Freeman and Co, New York, 2000, Bellamy COC. p53 and apoptosis. *Br Med Bull* **1996**;
96. **Mak T (2003):** The E. Donnall Thomas Lecture-apoptosis: "tis death that makes life live". *Biol. Blood Marrow Transplant*, 9: 483-8.
97. **Marciniak, SJ, Ron D.** Endoplasmic reticulum stress signalling in disease. *Physiol Rev* **2006**;86:1133-49.
98. **Meltem AC, Figen C, Nalan MA, Mahir K, Sebnem B, Mehlika I et al.** A hypokalemic muscular weakness after licorice ingestion: a case report. *Cases J.* **2009**;2:8053.
99. **Molinari M.** Cell cycle check points and their activation in human cancer. *Cell Prolif* **2000**; 33: 261-74.
100. **Nand, P., Drabu, S., Gupta, RK.,** In vitro antibacterial and antioxidant potential of medicinal plants used in the treatment of acne. **2012.** *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.* Vol 4, Issue 1. s. 185-190
101. **Nishino, H, Nishino, A, Takayasu, J, Hasegawa, T, Iwashima, A, et al.:**Inhibition of the tumor-promoting action of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by some oleanane-type triterpenoid compounds. *Cancer Res* 48, 5210–5215, **1988**.
102. **Nishino, H, Yoshioka, K, Iwashima, A, Takizawa, H, Konishi, S, et al.:**Glycyrrhetic acid inhibits tumor-promoting activity of teleocidin and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage mouse skin carcinogenesis. *Jpn J Cancer Res* 77, 33–38, **1986**.
103. **Nu R.S., Eunjung L., Sanguine B., Jong-Eun K., Madhusoodanan M., Jung H.Y.P., Soon S.L., Ann M. B., Hyong J.L., Ki W.L. and Zigang D.** *Cancer Prev Res (Phila).* **2013** December ; 6(12): . doi:10.1158/1940-6207.CAPR-13-0134, Isoangustone A, a novel licorice compound, inhibits cell proliferation by targeting PI3-K, MKK4 and MKK7 in human melanoma,
104. **Oguz, G., 1972,** Türkiye Glycyrrhiza L. türleri ile ilgili morfolojik ve taksonomik bir araştırma, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmî Raporlar Serisi, No:114, İzmir.
105. **Ohoka N, Yoshii, S, Hattori T, Onozaki K, Hayashi H.** TRB3, a novel ER stress-inducible gene, is induced via ATF4– CHOP pathway and is involved in cell death. *EMBO J* **2005**;24:1243–55.
106. **Okada H, Mak TW.** Pathway of apoptotik and non-apoptotik death in tumour cells. *Nat Rev Cancer* **2004**; 4: 592-603.
107. **Omar HR, Komarova I, El-Ghonemi M, Fathy A, Rashad R, Abdelmalak HD et al.**Licorice abuse: time to send a warning message. *Ther Adv Endocrinol Metab.***2012**;3:125-38.
108. **Oyadomari S, Mori M.** Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*

2004;11:381-9.

109. **Patil JB, Kim J, Jayaprakasha GK.**, Berberine induces apoptosis in breast cancer cells (MCF-7) through mitochondrial-dependent pathway. *Eur J Pharmacol.* 2010 Oct 25;645(1-3):70-8. doi:10.1016/j.ejphar.2010.07.037. Epub 2010 Aug 4.
110. **Pertuit M, Barlier A, Enjalbert A ve ark.** Signalling pathway alterations in pituitary adenomas: involvement of Gsalpha, cAMP and mitogen-activated protein kinases. *Journal of Neuroendocrinology* 2009 November, 21(11): 869-877.
111. **Pınarbaşı E (2007):** Apoptozis (Programlı Hücre Ölümü) (in) Moleküler Biyoloji.
112. **Pines J, Hunter T.** Human cell division: the involvement of cyclins A and B1 and multiple cdc2s. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1991; 56: 449-63.
113. **Pulok, K., Mukherjee, Rajarshi, B., Akanksha S., Subhodip B., Sayan B. and Katiyar, C.K.** Validation of medicinal herbs for anti-tyrosinase potential, *Journal of Herbal Medicine*, 10.1016/j.hermed.2018.09.002, (2018).
114. **Qu L, Liu Z, Zhang HM, Su Y, Ye X.** Endoplasmic reticulum stress-induced cell survival and apoptosis. *Journal of Chinese Clinical Medicine* 2009;8:1-4.
115. **Rafi MM, Vastano BC, Zhu N, Ho CT, Ghai G, Rosen RT, Gallo MA, DiPaola RS.** Novel polyphenol molecule isolated from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) induces apoptosis, G2/M cell cycle arrest, and Bcl-2 phosphorylation in tumor cell lines. *J Agric Food Chem.* 2002 Feb 13;50(4):677-84.
116. **Rajan S.S., Srinivasan V., Balasubramanyam M., Tatu U.,** Endoplasmic reticulum (ER) stres and diabetes. *Indian J Med Res.* 2007;125:411-424.
117. **Rasheva VI, Domingos PM.** Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis* 2009;14:996-1007
118. **Rechinger, K.H., 1957,** Zur Flora von Syrien, Libanon und den angrenzender Türkischen Gebiet, n. *Arkiv for Botanik*, Band 5 nr 1, pp. 1-11.
119. **Rossi T, Benassi L, Magnoni C, Ruberto AI, Coppi A, Baggio G.** Effects of glycyrrhizin on UVB irradiated melanoma cells. *In Vivo.* 2005; 19:319–22. [PubMed: 15796192]
120. **Saeedi, M., Morteza-Semnani, K., Ghoreishi, MR.,** The treatment of atopic dermatitis with licorice gel. *Journal of dermatological treatment.* 2013. vol. 14. Issue 3. s. 153-157.
121. **Şahin, H., câmi'ü'l-fürs örneğinde XVI. Yüzyıl bitki isimleri.** *Türkoloji araştırmaları volume 2/2.* Spring 2007. s.577
122. **Sakahira H, Enari M, Nagata S (1998):** Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature.*, 391: 96–9.
123. **Selimovic D, Porzig BB, El-Khattouti A, Badura HE, Ahmad M, Ghanjati F, Santourlidis S, Haikel Y, Hassan M.** Bortezomib/proteasome inhibitor triggers both apoptosis and autophagy-dependent pathways in melanoma cells. *Cell Signal.* 2013 Jan;25(1):308-18. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.10.004. Epub 2012 Oct 15
124. **Senderowicz AM, Sausville EA.** Preclinical and clinical development of cyclin-dependent kinase modulators. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(5):376-87.
125. **Seo HY, et al.** Endoplasmic reticulum stress-induced activation of activating transcription factor 6 decreases cAMP-stimulated hepatic gluconeogenesis via inhibition of CREB. *Endocrinology.*

- 2010;151:561–568. [PubMed: 20022930].
126. **Şerbetçi, H. 2007.** Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 108.
 127. **Seydel, G.Ş. , Aksoy, K.** Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis Mechanisms. Archives Medical Review Journal. Yıl **2012**, Cilt 21, Sayı 4, Sayfalar 221 - 235
 128. **Sherr CJ.** The Pezcoller lecture: Cancer cell cycles revisited. Cancer Res **2000**;60(14):3698-95.
 129. **Shibata, S., 2000,** A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice, Yakugaku Zasshi, 120, 849-862.
 130. **Si L, Yang X, Yan X, Wang Y, Zheng Q.,** Isoliquiritigenin induces apoptosis of human bladder cancer T24 cells via a cyclin-dependent kinase-independent mechanism, **2017.**
 131. **Song NR, Lee E, Byun S, Kim JE, Mottamal M, Park JH, Lim SS, Bode AM, Lee HJ, Lee KW, Dong Z.** Cancer Prev Res (Phila). **2013** December ; 6(12): . doi:10.1158/1940-6207.CAPR-13-0134, Isoangustone A, a novel licorice compound, inhibits cell proliferation by targeting PI3-K, MKK4 and MKK7 in human melanoma,
 132. **Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E. et al:** Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. J Histochem Cytochem 52(6): 821-831; **2004.**
 133. **Stathis A.,Oza A.** Drug News & Perspectives [01 Sep 2010, 23(7):425-429] 01 Sep **2010**, 23(7):425-429]
 134. **Sümbül, H., Tufan, Ö., Düşen, O., Göktürk, R.S., 2003,** A new taxon *Glycyrrhiza* L.(Fabaceae) from southwest Anatolia, Israel Journal of Plant Sciences, 51, 71-74.
 135. **Szegezdi E, Fitzgerald U, Samali A.** Caspase-12 and ER stress mediated apoptosis: the story so far. Ann NY Acad Sci **2003**;1010:186-94.
 136. **Szegezdi, E., Logue SE, Gorman AM, Samali A.** Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. EMBO Rep **2006**;7:880-5.
 137. **Takagi, K., Ishii, Y., 1967,** Peptic ulcer inhibiting properties of a new fraction from licorice root (Fm 100). I. Experimental peptic ulcer and general pharmacology, Arzneimittel Forschung, 17, 1544-1547.
 138. **Tanker, M., Özkal, N. 1978.** *Glycyrrhiza glabra* L. Bitkisinin Türkiye’de Yetimekte Olan Varyetelerinin Farmakognozik Karşılaştırılması. Ankara Ecz. Fak. Mec., 8 (69): 69-79.
 139. **Thompson C B (1995):** Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science, 267: 1456–1462.
 140. **Tyagi AK, Singh RP, Agarwal C, Chan DC, Agarwal R.** Silibinin strongly synergizes human prostate cancer DU145 cells to doxorubicin-induced growth inhibition, G2-M arrest and apoptosis. Clin Cancer Res **2002**;8(11):3512-9.
 141. **United States Consular Reports on The Licorice Plant,** Published by The Department of State, According to Act of Congress, Washington August **1885**, s. 18.
 142. **Upton R, Romm A.** Guidelines for Herbal Medicine Use. American Herbalists Guild **2001**; 75-96.
 143. **Uygun S.** Batılıların Gözdesi Meyan Kökü ve Üzerine Yaşanan Emperyalist Rekabet. Otam Derg, Bahar **2015**, s.37: 337-373

144. **van Marle, J., Aarsen, P.N., Lind, A., van Weeren-Kramer, J., 1981**, Deglycyrrhizinized licorice (DGL) and the renewal of rat stomach epithelium, *European Journal of Pharmacology*, 72, 219-225.
- Vaya, J., Tamir, S., Somjen, D., 2004**, Estrogen-like activity of licorice root extract and its constituents, *Herbal Medicines*, ed: Lester Packer and Barry Halliwell, Marcel Dekker Inc, 14, 615-634.
145. **Vermeulen K, Berneman ZN, vanBockstaele DR.** Cell cycle and apoptosis. *Cell Prolif* **2003**; 36:165-75.
146. **Wang F, Zhu Y, Huang Y, McAvoy S, Johnson WB, Cheung TH, Chung TK, Lo KW, Yim SF, Yu MM, Ngan HY, Wong YF, Smith DI.** Transcriptional repression of WEE1 by Kruppel-like factor 2 is involved in DNA damage-induced apoptosis. *Oncogene*. **2005 Jun 2**;24(24):3875-85).
147. **Wang N, Feng Y, Zhu M, Tsang CM, Man K, Tong Y, Tsao SW.,** Berberine induces autophagic cell death and mitochondrial apoptosis in liver cancer cells: the cellular mechanism. *J Cell Biochem*. **2010 Dec 15**;111(6):1426-36. doi: 10.1002/jcb.22869.
148. **Wang, ZY, Agarwal, R, Zhou, ZC, Bickers, DR, and Mukhtar, H:** Inhibition of mutagenicity in *Salmonella typhimurium* and skin tumor initiating and tumor promoting activities in SENCAR mice by glycyrrhetic acid: comparison of 18- and 18-stereoisomers. *Carcinogenesis* 12, 187–192, **1991**.
149. **Wang, ZY., Nixon DW.,** Licorice and Cancer, *Nutrition and Cancer*, (**2001**) ,39:1, 1-11, DOI:10.1207/S15327914nc391_1).
150. **Yagi AK, Singh RP, Agarwal C, Chan DC, Agarwal R.** Silibinin strongly synergizes human prostate cancer DU145 cells to doxorubicin-induced growth inhibition, G2-M arrest and apoptosis. *Clin Cancer Res* **2002**;8(11):3512-9.
151. **Yan W, et al.** Control of PERK eIF2 α kinase activity by the endoplasmic reticulum stress-induced molecular chaperone P58IPK. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2002**;99:15920–15925. [PubMed:12446838].
152. **Yan W, et al.** Control of PERK eIF2 α kinase activity by the endoplasmic reticulum stress-induced molecular chaperone P58IPK. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2002**; 99:15920–15925. [PubMed:12446838],
153. **Yar, AS.,** Kolon kanser hücre hatlarında reseptör tirozin kinaz ve jak-stat inhibitörlerinin apoptotik ve antiproliferatif etkilerinin araştırılması doktora tezi Kasım **2012** ANKARA
154. **Yasukawa, K, Takido, M, Takeuchi, M, and Nakagawa, S:** Inhibitory effect of glycyrrhizin and caffeine on two-stage carcinogenesis in mice. *Yakugaku Zasshi* 108, 794–796, **1988**.
155. **Yehielly F, Deiss LP.** Apoptosis and cancer, *Basic Science of Cancer In: Kruh GD, Tew KD, editors.* Chapter 11. Philadelphia: Current Medicine inc; **2000**.
156. **Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B.** (Editör), 423-468, Nobel Yayın, Ankara.
157. **Yo YT, Shieh GS, Hsu KF, Wu CL, Shiau AL.** Supresyon Bcl-2 and mTOR LNCaP prostate cancer cells Licorice and licochalcone-A induce autophagy in LNCaP prostate cancer cells by suppression of Bcl-2 expression and the mTOR pathway. *J Agric Food Chem* **2009**; 57: 8266–8273
158. **Yokota, T , Nishio, H , Kubota, Y, Mizoguchi, M.** The Inhibitory Effect of Glabridin from Licorice Extracts on Melanogenesis and Inflammation **2006**.
159. **Yoshida H, Oku M, Suzuki M, Mori K.** pXBP1(U) encoded in XBP1 pre-mRNA negatively regulates unfolded protein response activator pXBP1(S) in mammalian ER stress response. *J Cell Biol*. **2006**;172:565–575. [PubMed: 16461360].

160. **Zengin, S., Oktay, MM., Al, B., Yılmaz, DA., Boğan, M. ve ark.** Dönemsel bir akciğer ödemi nedeni: meyan şerbeti içimi. Gaziantep Tıp Derg. **2013**;19(2): 99-102.
161. **Zhi Y. Wang & Daniel W. Nixon (2001)** Licorice and Cancer, Nutrition and Cancer, 39:1, 1-11, DOI: 10.1207/S15327914nc391_1 To link to this article: https://doi.org/10.1207/S15327914nc391_1
162. **Zong WX, Li C, Hatzivassiliou G Lindsten T, Yu QC, Yuan J, Thompson CB.** Bax and Bak can localize to the endoplasmic reticulum to initiate apoptosis. J Cell Biol **2003**;162:59–69.
163. **ZongWX, Thompson CB.** Necrotic death as a cell fate? Genes Dev **2006**; 20 : 1-15. 5.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılı Hatay/ Samandağ doğumludur. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden dönem 3. sù olarak mezun olmuş, ardından İstanbul 1. Ordu Komutanlığında askerliğini ifa etmiştir. 2002 yılında Samandağ ilçesinde açtığı eczanesinde halen mesleğini sürdürmekte, seçilmiş olduğu Hatay Eczacı Odası yönetim kurulu üyeliği görevini de ayrıca devam ettirmektedir. Evli ve 3 çocuk babasıdır. İngilizce ve Arapça bilmektedir.