



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[GLUTATYON-S-TRANSFERAZ'IN BAZI BİTKİ EKSTRELERİ
TARAFINDAN İNHİBİSYONU]

[CEMRE ALTUNOK]

[DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ]

[II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ]

[Kimya Anabilim Dalı]

[Biyokimya Programı]

[İSTANBUL-2021]

Bu çalışma, [23.08.2021] tarihinde aşağıdaki jüri tarafından [Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı]nda [Yüksek Lisans tezi] olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

[Dr. Öğr. Üyesi] [İsmet Burcu TÜRKYILMAZ] (Danışman)
[İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Özlem SAÇAN]
[İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa]
[Mühendislik Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Ayşegül PEKSEL]
[Yıldız Teknik Üniversitesi]
[Fen-Edebiyat Fakültesi]



[20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa’nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FLY-2018-32557 numaralı projesi ile desteklenmiştir.]

ÖNSÖZ

[Yüksek Lisans tez çalışmalarım süresince çalışmalarına ışık tutan, yaptığım deneylerin, araştırmaların her aşamasında bilgi ve önerileriyle gelişmeye büyük katkı sağlayan, her türlü desteğiyle daima yanımda olan danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a en derin duygularıyla teşekkürü borç bilirim.

Yüksek Lisans ve Lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tez konumun seçilmesinde ve hazırlanmasında ilgi ve desteğini gördüğüm çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca her zaman ve her konuda desteğini ve ilgisini hissettiğim hocam Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a gönülden teşekkür ederim.

Ayrıca hocam Sayın Prof. Dr. Sevim TUNALI'ya, Dr. Öğretim Üyesi Bertan Boran BAYRAK'a, Araş. Gör. Onur ERTİK ve Araş. Gör. Eda DAĞSUYU'na ve çalışma arkadaşlarıma yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Tüm desteğini ve sevgisini hayatın her alanında olduğu gibi bu süreçte de hissettiren, manevi olarak çok şey borçlu olduğum hayat arkadaşım, sevgili eşim Taha ALTUNOK'a ve bu zorlu çalışma sürecimde beni varlığıyla mutlu eden, her koşulda destekleyen biricik kız kardeşim Elif Nehir BABAOĞLU'na sonsuz teşekkürler ederim.

]

Ağustos 2021

[Cemre ALTUNOK]

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

[ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. ENZİMLER	3
2.2. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI.....	5
2.3. ENZİM İNHİBİSYONU	9
2.3.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu	9
2.3.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) Enzim İnhibisyonu.....	9
2.3.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) Enzim İnhibisyonu	10
2.3.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) Enzim İnhibisyonu.....	11
2.3.2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu.....	11
2.4. KLİNİK ALANDA ENZİMLERDEN YARARLANILMASI	12
2.5. GLUTATYON.....	13
2.6. GLUTATYON-S-TRANSFERAZLAR.....	15
2.6.1. Glutatyon-S-Transferazların Yapısı.....	15
2.6.2. Ksenobiyotik Mekanizmasında Glutatyon-S-Transferazların Rolü ve Biyolojik Aktiviteleri	18
2.6.3. Glutatyon-S-Transferazların Substratları.....	21
2.7. FİTOKİMYASAL KAVRAMI	23
3. MALZEME VE YÖNTEM	25
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR.....	25
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	25
3.3. ENZİM İNHİBİSYON DENEYLERİNDE KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİ	26

3.3.1. Deneylerde Kullanılan Bitkilerin Sulu Ekstrelerinin Hazırlanması	26
3.3.2. Deneylerde Kullanılan Bitki Ekstreleri.....	26
3.3.2. Doku Homojenizatının Hazırlanması	27
3.4. ENZİM İNHİBİSYON DENEYLERİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	27
3.5. GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİM İNHİBİSYONUNUN BELİRLENMESİ.....	28
4. BULGULAR	29
4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ.....	29
4.2. KİMYASAL MADDELERİN GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ.....	31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
KAYNAKLAR	44
EKLER.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	60

]

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Enzim substrat ilişkisi (www.monolib.net).....	3
Şekil 2.2: Laktat dehidrojenaz tarafından katalizlenen reaksiyon (https://www.brenda-enzymes.org).....	6
Şekil 2.3: Alanin aminotransferaz tarafından katalizlenen reaksiyon (https://www.brenda-enzymes.org).	6
Şekil 2.4: Üreaz tarafından katalizlenen reaksiyon (https://www.brenda-enzymes.org).	7
Şekil 2.5: Dekarboksilaz tarafından katalizlenen reaksiyon (https://www.brenda-enzymes.org).....	7
Şekil 2.6: Trioz fosfat izomeraz tarafından katalizlenen reaksiyon (https://www.brenda-enzymes.org).....	8
Şekil 2.7: Piruvat karboksilaz tarafından katalizlenen reaksiyon (https://www.brenda-enzymes.org).....	8
Şekil 2.8: Yarışmalı enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği (Nelson ve Cox, 2016).	10
Şekil 2.9: Yarışmasız enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği (https://slidetodoc.com).	11
Şekil 2.10: Yarı yarışmalı enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği (Nelson ve Cox, 2016).	11
Şekil 2.11: Glutatyonun moleküler yapısı (γ -L-glutamil- sisteinil-glisin) (https://www.sigmaaldrich.com)	13
Şekil 2.12: γ -Glutamil siklusu (A) ve GSH:GSSG (B) dönüşümü (Anjeyenulu ve diğ., 2008).	14
Şekil 2.13: İnsan glutatyon-S-transferazlarının sınıflandırılması (Wu ve Dong, 2012).....	16
Şekil 2.14: Glutatyon-S-transferaz enziminin üç boyutlu yapısı (Dixon ve diğ., 2002).	17
Şekil 2.15: Detoksifikasyon reaksiyonlarının şeması (Temel ve diğ., 2017).	19
Şekil 2.16: Elektrofilik bir ksenobiyotiğin glutatyon ile konjugasyonu ve merkaptürik asit oluşum mekanizması (Saygılı, 2004).	21

Şekil 2.17: Glutasyon-S-transferazın 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile reaksiyonu (Enache ve Oliveira-Brett, 2015).....	22
--	----



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Enzimlerin kofaktörü olan bazı inorganik iyonlar (Nelson ve Cox, 2016).	4
Tablo 2.2: Geçici taşıyıcı olarak görev alan bazı koenzimler (Nelson ve Cox, 2016).	5
Tablo 3.1: Bitki materyallerinin Latince isimleri ve tercih edilen kısımları.....	27
Tablo 4.1: Çeşitli bitki ekstraktlarının glutatyon-S-transferaz enzimi üzerine % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.	29
Tablo 4.2: Bazı kimyasal maddelerin glutatyon-S-transferaz enzimi üzerine % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.	31

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
----------	----------

g	: Gram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre

Kısaltmalar	Açıklama
-------------	----------

ATP	: Adenozin trifosfat
CDNB	: 1-Kloro-2,4-dinitro benzen
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DCNB	: 1,2-Dikloro-4-nitrobenzen
E.C.	: Enzim komisyon numarası
EPNP	: 1,2-Epoksi-3-propan
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutatyon
GST	: Glutatyon-S-transferaz
HIV	: İnsan bağışıklığı yetmezliği virüsü
IC₅₀	: Enzimin % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli madde miktarı
MAPEG	: Eikosanoid ve glutatyon metabolizmasında membran ilişkili proteinler
MDR	: Çoklu ilaç direnci
MRP	: Dışarı pompalama sistemleri
4-NBC	: 4-Nitrobenzil-klorür
PGD₂	: Prostaglandin D ₂
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
PGH₂	: Prostaglandin H ₂
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

]

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[GLUTATYON-S-TRANSFERAZ'IN BAZI BİTKİ EKSTRELERİ TARAFINDAN İNHİBİSYONU]

[Cemre ALTUNOK]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

[Kimya Anabilim Dalı]

[Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

II. Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ]

[Günümüzde teknolojinin gelişimiyle paralel olarak sağlık alanında da yeni gelişmeler olmaktadır. Ancak, kanser hastalığı halen insan sağlığı için tehdit oluşturmaya devam etmektedir. Glutasyon-S-transferazlar (GST; E.C. 2.5.1.18), Faz II zehirsizleştirme reaksiyonlarında görevlidirler. Yapılan araştırmalar sonucunda, kanserli dokularda uygulanan ilaçların etkinliklerinin azaldığı ve ilaçlara karşı direnç olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, artan GST seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Bundan dolayı, kanser hastalarında bu enzimin aktivitesinin azaltılması için çalışmalar başlamıştır.

Bu çalışmada Habig ve diğ. yöntemine göre bazı bitki ekstralarının ve kimyasal maddelerin GST üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi. Çalışmamızda kullandığımız bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin GST üzerindeki % inhibisyon değerlerinin konsantrasyon artışı ile birlikte arttığı saptandı.

GST enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkisi gösterenin, bitki ekstraları içinde pazı, kimyasal maddeler içinde ise bakır sülfat olduğu belirlendi.

Çalışmamızda yüksek GST inhibitör etkisi gösteren bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin klinik anlamda kullanımının uygun olabileceği sonucuna varıldı.]

Ağustos 2021, [74] sayfa.

Anahtar kelimeler: [Glutasyon-S-Transferaz, Bitki Ekstresi, İnhibisyon]



SUMMARY

[M.Sc. THESIS]

**[INHIBITION OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE BY SOME PLANT
EXTRACTS]**

|

[Cemre ALTUNOK]

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

[Department of Chemistry]

Supervisor : [Assist. Prof. Dr.] [İsmet Burcu TURKYILMAZ]

[Co-Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAG]

[Nowadays, new developments are taking place in the field of health in parallel with the development of technology. However, cancer disease still goes on threatening of human health. Glutathione-S-transferases (GST; E.C. 2.5.1.18) are in charge of Phase II detoxification reactions. It was determined at the conclusion of researches that there existed a diminishment of the applied drug efficacy and drug resistance in cancer cells. This situation was associated with elevated GST levels. For this reason, the studies were began for decreasing this enzyme activity on cancer patients.

In this study, the GST inhibitory effect of some plant extracts and chemical substances were examined according to Habig et al. method. It was detected that the inhibition ratio was increased by the elevated concentration of plant and chemical substances which were used in our study.

The highest inhibition on GST was determined as chard among the plant extracts as well as cooper sulphate among the chemical substances.

It was concluded that, the plant extracts and chemicals which have shown high GST inhibitory effects, can be used as clinically.]

August 2021, [74] pages.

Keywords: [Glutathione-S-transferase, Plant Extract, Inhibition]



1. GİRİŞ

Kanser, kalıtsal ve çevresel faktörlere bağlı olarak hücre DNA'sının mutasyona uğraması sonucu meydana gelen kontrolsüz hücre bölünmesi olarak tanımlanan ve günümüzde ölüm sebepleri açısından değerlendirildiğinde, gelişmiş ülkelerde dahi kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yerini koruyan bir hastalıktır (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).

Son yirmi yılda elde edilen verilere göre dünyanın çeşitli bölgelerinde bazı kanser tiplerinin dağılımının ve görülme sıklığının da farklı olduğu belirlenmiştir. Örneğin; kolon ve meme kanserinin nadiren görüldüğü Japonya'da mide kanseri daha yaygınken; Amerika'da bunun tam tersi olarak kolon, akciğer ve meme kanserlerine daha sık rastlandığı bilinmektedir. Bununla birlikte, Amerika'ya göç eden Japonlarda iki jenerasyon sonrasında yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarının değişmesi ile ilişkili olarak görülen kanser türlerinin de değiştiği saptanmıştır (Giray ve diğ., 1996).

Kanser tedavisinde yararlanılan tedavi yöntemleri, radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi yöntemlerdir. Kemoterapi tedavisindeki amaç hem kullanılan ilaçlar yardımıyla tümörün büyümesine ve farklı bölgelerde yeniden gelişmesine engel olmak hem de tümörün tamamının ortadan kaldırılmasını sağlayacak sitotoksik tesiri sağlamaktır (Calabresi ve Welch, 1962). Ancak tedavi esnasında tümör hücrelerinin hastalara uygulanan kemoterapötik ajanlara karşı bazı kanser türlerinde kendiliğinden, bazılarında ise tedavi sonrasında geliştirdikleri direnç mekanizmaları ciddi bir klinik soruna sebep olmaktadır (Gaté ve Tew, 2001). Çoklu ilaç direnci olarak adlandırılan bu klinik sorun, tümör hücresi popülasyonunun farklı kimyasal yapılara sahip ajanların hücreler üzerindeki etki mekanizmasına karşı korunmasıdır. İlaçların tümörlü hücrelerden aktif olarak atılımı temeline dayanan bu mekanizma, kanser tedavilerindeki başarısızlıkların en önemli nedenlerinden biridir (Marie ve Legrand, 2003; Zhao ve Wang, 2006).

Kanser hücrelerinde antikanser ilaçlara karşı çoklu ilaç direnci gelişmesi ile ilgili olarak bilinen mekanizmalar şunlardır (Young ve diğ., 2003):

- Hücre yüzeyinde reseptör kaybına veya ilacın hücre dışına pompalanmasını sağlayan taşıyıcıların aşırı ekspresyonuna bağlı olarak gerçekleşen azalmış hücre içi ilaç seviyesi

- Hücresel hedeflerdeki farklılıklar
- İlacın biyoaktivasyonunda azalma
- Hücresel ilaç detoksifikasyonundaki artışlar

Hücre içi ilaç düzeylerindeki azalma;

- glutatyon-S-transferazların (GST) glutatyon ve kemoterapötik ajanlar arasındaki etkileşimleri hızlandırmak suretiyle ilaç detoksifikasyonunu arttırmaları,
- oluşan çoklu ilaç direnci ile ilişkili dışarı pompalama proteinlerinin (MRPs) artışı ile açıklanabilir. MRP ailesi, ATP bağımlı taşıyıcı proteinlerin bilinen en büyük grubu olup, anyonik ilaçlar ve asidik ligandlar ile konjuge olmuş glukuronat, glutatyon, sülfat gibi yapıları taşırlar (Avcu, 2006; Zhao ve Wang, 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda tümör hücrelerindeki artmış glutatyon ve GST seviyelerinin hücresel ilaç direnci gelişimi ile paralel olduğunun gösterilmesi, GST inhibitörlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. GST inhibitörlerinin kanser tedavisinde kullanılan ilaçların içeriğine eklenmesi ile tümör hücrelerinin ilaç direncine gösterdiği etkiyi azaltmak, ilacın tümör dokusuna daha fazla miktarda taşınmasını sağlamak ve hücre içerisindeki konsantrasyonunun azalmasını önlemek mümkündür (Townsend ve Tew, 2003; Mahajan ve Atkins, 2005). Ayrıca, geleneksel kanser tedavilerinin beraberinde terapötik ve koruyucu amaçlar ile bitkisel kaynaklı olm

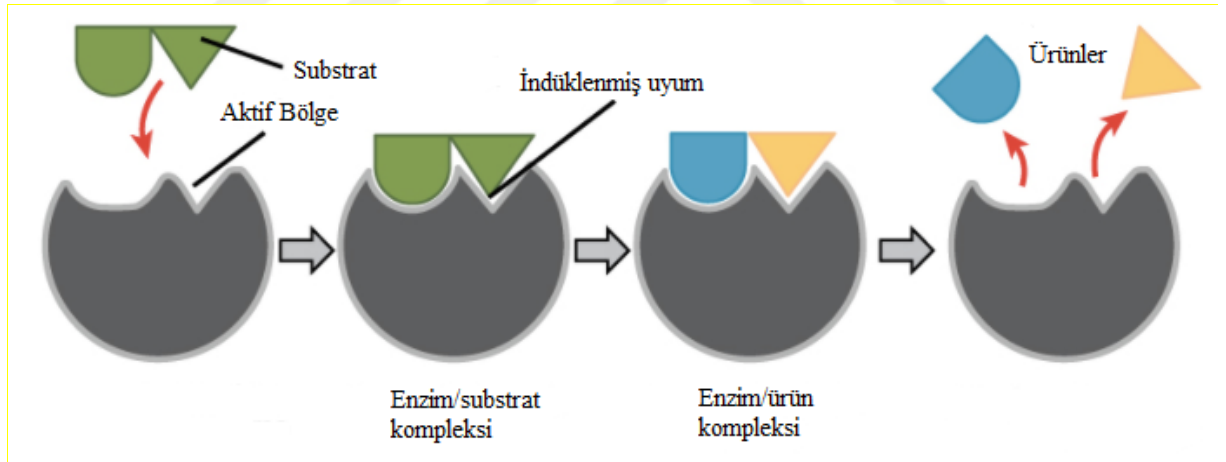
alarından ötürü daha güvenilir olan fonksiyonel gıdalar ve fitokimyasallardan yararlanması da tedavi sürecinde tamamlayıcı veya destekleyici olmaktadır (Kaufman ve diğ., 2002).

Çalışmamızda geleneksel antikanser ilaçlar ile kullanımında faydalı olabileceği düşünülen bazı bitki ekstraktlarının ve kimyasal bileşiklerin GST enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.]

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ENZİMLER

Hücrelerde gerçekleşen anabolik ve katabolik olaylar, sindirim, hücre solunumu, kas kasılması gibi önemli fizyolojik faaliyetlerin tamamı metabolizma reaksiyonlarının neticesinde gerçekleştiğinden dolayı yaşam; enzimlerin katalizlediği tepkimelerden ibaret bir sistem olarak tanımlanmaktadır (Tekman ve Öner, 1998). Bu bağlamda, temel öncül maddelerden çeşitli makromoleküllerin meydana geldiği metabolik yollarda sayısız reaksiyon basamağını kataliz eden enzimler, canlı hücreler tarafından sentez edilen ve metabolizmadaki kimyasal tepkimeleri hızlandırmak suretiyle yan ürün oluşturmaksızın yüzde yüz ürün verimi sağlayan biyolojik katalizörler olarak da açıklanabilirler (Tüzün, 1997; Keha ve Küfrevioğlu, 2018). Enzimatik reaksiyonlar, enzimlerle kataliz edilmeyen tepkimelere göre 10^3 - 10^{17} kat daha hızlı gerçekleşir. Aynı zamanda reaksiyon tamamlandığında tamamen orijinal hallerine geri dönerler (Murray ve diğ., 1993; Solomons ve diğ., 2002) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Enzim substrat ilişkisi (www.monolib.net).

Enzimler ile aynı fonksiyonu gerçekleştirdikleri halde ribozim olarak adlandırılan bazı RNA molekülleri (ribonükleaz, ribozomal RNA gibi) haricinde tüm enzimler protein yapılı olduklarından bütün proteinler gibi genler tarafından şifrelenirler. Dolayısıyla, büyük ve değişen molekül ağırlıkları, ısı ile kolayca denatüre olmaları, ortamın alkali veya asit oluşuna duyarlı olma gibi proteinlere ait tüm yapısal özellikleri gösterdikleri gibi amino asit dizilimleri de kendilerine özgüdür. Bundan dolayı enzimler, daima bir çeşit veya aynı tip benzer

tepkimleri katalizlerler. Enzimler kataliz ettikleri tepkimelerin aktivasyon enerjisini düşürerek daha hızlı dengeye ulaşmasını sağlarlar (Keha ve Küfrevioğlu, 2018).

Bir enzim denatüre edilir veya alt ünitelerine ayrıştırılır ise genellikle kaybolan katalitik aktiviteleri, enzimin amino asit komponentlerine ayrılması ile tamamiyle kaybolur, yani doğal protein konformasyonlarının bütünlüğü bozulmuş olur. Enzimler, etki ettikleri maddeler olarak bilinen substratlara olan seçici davranırlar. Bu durum, enzimleri oluşturan amino asitlerin sayı, diziliş sırası ve molekül yapıları tarafından belirlenir (Kalaycıoğlu ve diğ., 2006). Enzim ve substrat, birbirlerine hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler ve Van der Waals bağları gibi etkileşimler ile bağlanırlar (Solomons ve diğ., 2002).

Bir enzimatik tepkimede substratın, enzim-substrat kompleksini oluşturmak amacıyla “*aktif bölge*” adı verilen bir kısma bağlandığı bilinmektedir. Aktif bölge, genellikle enzimin birkaç amino asidi tarafından oluşturulurken, protein molekülündeki diğer amino asitler aktif bölgenin konfigürasyonunu korumak üzere bir iskelet oluştururlar. Protein yüzeyinde bir cep görünümünde olan aktif bölge ile substratın biçimi arasındaki uyumluluk, enzimin özgülüğünü belirlemektedir. Substrat bu cebe girdiği anda, indüklenmiş uyum adı verilen ve enzimin biçimini az miktarda değiştirecek bir etki meydana getirir. Bu etki; aktif bölgenin substratı ile etkileşimi kolaylaştırarak, aktif bölgedeki kimyasal grupların tepkimeyi katalizleme yeteneklerini artırır (Campbell ve Reece, 2013).

Enzimlerin hangi maddeye etki edeceğini protein kısımları olarak bilinen “*apoenzim*” kısımları belirler. Enzimler, katalitik etki gösterebilmek adına protein kısım haricinde bir metal iyonuna, organik bir bileşiğe yahut her ikisine birden ihtiyaç duyabilirler. Protein olmayan ve esansiyel iyonlar ile organik bileşiklerden oluşan bu kısım “*kofaktör*” olarak bilinir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Enzimlerin kofaktörü olan bazı inorganik iyonlar (Nelson ve Cox, 2016).

İyonlar	Enzimler
Cu^{2+}	Sitokrom oksidaz
Fe^{2+} veya Fe^{3+}	Sitokrom oksidaz, katalaz, peroksidaz
K^{+}	Piruvat kinaz
Mg^{2+}	Heksokinaz, glukoz 6-fosfataz, piruvat kinaz
Mn^{2+}	Arginaz, ribonükleotid redüktaz
Ni^{2+}	Üreaz
Zn^{2+}	Karbonik anhidraz, alkol dehidrojenaz, karboksipeptidaz A ve B

Enzimde esas işlev gören, protein kısmına nazaran çok daha küçük molekül, özgül işlevsel grupların geçici taşıyıcısı olarak görev yapan, organik ya da inorganik kısımlar “*koenzim*” olarak bilinmektedir (Tablo 2.2). Koenzimlerin çoğunluğunu diyet ile birlikte alınması gerekli organik besinler olan vitaminler oluşturur. Bir enzime diyalizle uzaklaştırılamayacak kadar sıkı, hatta kovalent olarak bağlanan koenzim yahut metal iyonuna ise “*prostetik grup*” denilmektedir ve prostetik gruplar, flavin mononükleotid, flavin adenin dinükleotid örneklerindeki gibi nükleotid yapısında da olabilirler. Apoenzim kısmı, metal iyonları veya koenzimiyle birlikte katalitik olarak aktif olan bir enzim “*holoenzim*”dir (Tekman ve Öner, 1998; Nelson ve Cox, 2016).

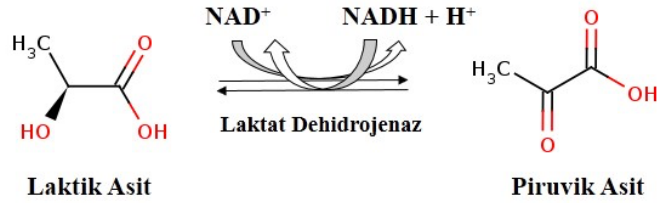
Tablo 2.2: Geçici taşıyıcı olarak görev alan bazı koenzimler (Nelson ve Cox, 2016).

Koenzim	Aktarılan Kimyasal Gruplara Örnekler	Memelilerin Diyetindeki Öncülleri
Biyositin	CO ₂	Biyotin
Koenzim A	Açıl grupları	Pantotenik asit ve diğer bileşikler
5'-Deoksiadenozilkobalamin	H atomları ve alkil grupları	Vitamin B ₁₂
Flavin adenin dinükleotid (FAD)	Elektronlar	Riboflavin (Vitamin B ₂)
Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD ⁺)	Hidrit iyonu (:H ⁻)	Niasin (Vitamin B ₃)
Piridoksal fosfat	Amino grupları	Piridoksin (Vitamin B ₆)
Tetrahidrofolat	Tek karbonlu gruplar	Folat
Tiamin pirofosfat	Aldehitler	Tiamin (Vitamin B ₁)

2.2. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI

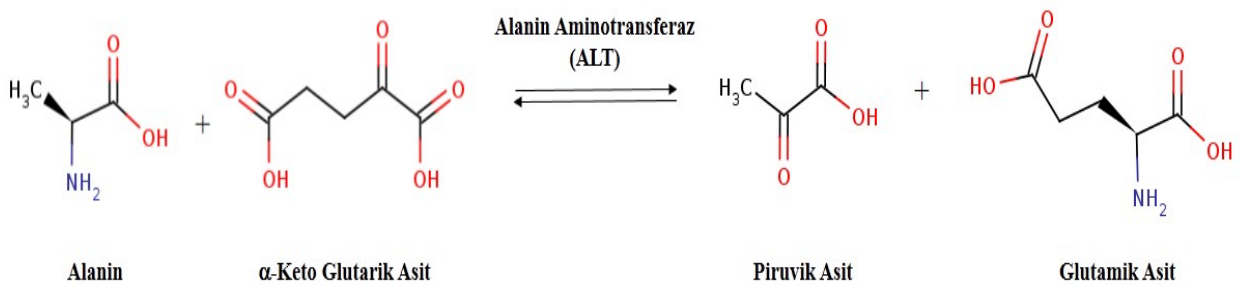
Günümüzde iki binden fazla sayıda ve birbirinden farklı enzim olduğu bilinmekle beraber, enzimler için geçmişte herhangi bir tanıma uymayan amigladin, pityalin, pepsin gibi karmaşık bir isimlendirme kullanılmıştır. Ancak zaman geçtikçe farklı bir sistematik bir isimlendirmeye gereksinim duyulmuştur. Bu isimlendirme, Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB)’ne göre enzimlerin hem reaksiyon hem de substrat spesifikliğini dikkate alan bir sınıflandırma olup, katalizledikleri genel reaksiyon çeşidinin sonuna “*az*” eki getirilmek yoluyla gerçekleştirilir ve altı temel sınıfın her biri, ayrı reaksiyon özgülüğüne sahip enzimleri içerir (Can ve Akev, 2016; Keha ve Küfrevioğlu, 2018). Temel olarak 6 sınıfa ayrılan enzim sınıfları şu şekildedir:

1- *Oksidoredüktazlar*: Glutamat dehidrojenaz ve katalaz örneklerinde olduğu gibi dehidrojenazlar, oksidazlar ve oksijenazlar olmak üzere alt sınıflara da ayrılabilen oksidoredüktazlar, iki substrat arasındaki indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir (Şekil 2.2).



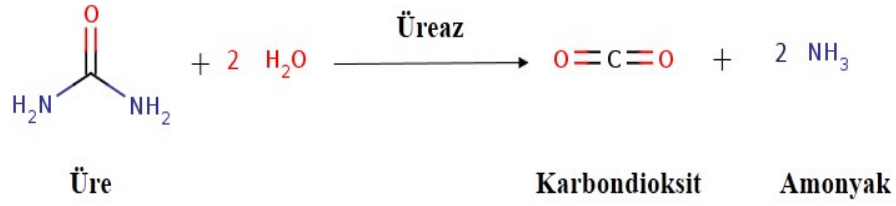
Şekil 2.2: Laktat dehidrojenaz tarafından katalizlenen reaksiyon (<https://www.brenda-enzymes.org>).

2- *Transferazlar*: Tek karbonlu grupları, aldehit, keton, açıl, glikozil, fosfat grupları ve kükürt içeren grupları aktaranlar olmak üzere farklı alt sınıflara ayrılan transferazlar, iki substrat arasındaki fonksiyonel grupların birinden diğerine aktarımını kataliz ederler (Şekil 2.3).



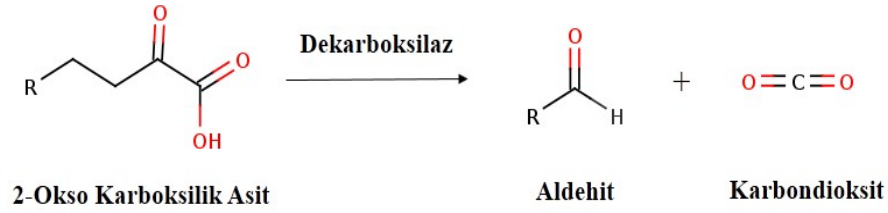
Şekil 2.3: Alanin aminotransferaz tarafından katalizlenen reaksiyon (<https://www.brenda-enzymes.org>).

3- *Hidrolazlar*: Lipaz, tripsin, üreaz örneklerinde olduğu gibi ester, eter, peptit, asetanhidrit bağlarının su katılması vasıtasıyla parçalanması reaksiyonlarını kataliz etmekle görevlidirler (Şekil 2.4).



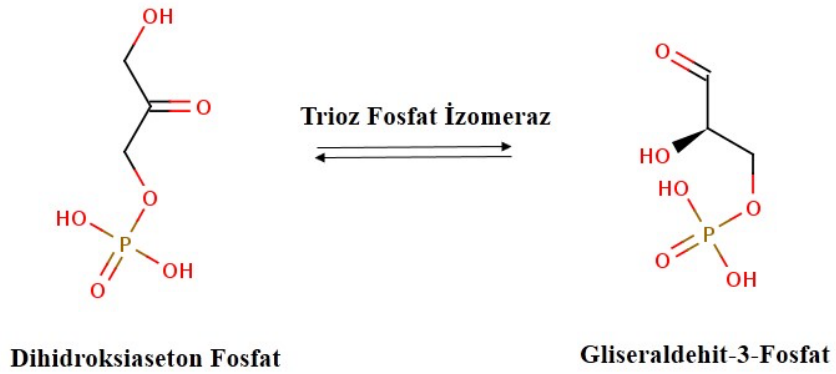
Şekil 2.4: Üreaz tarafından katalizlenen reaksiyon (<https://www.brenda-enzymes.org>).

- 4- *Liyazlar:* Karbonik anhidraz, piruvat dekarboksilaz enzimi gibi bazı enzimleri içeren liyazlar; substratlardan grupların uzaklaştırılıp çift bağların oluşumunu katalizleyen enzimlerdir (Şekil 2.5).



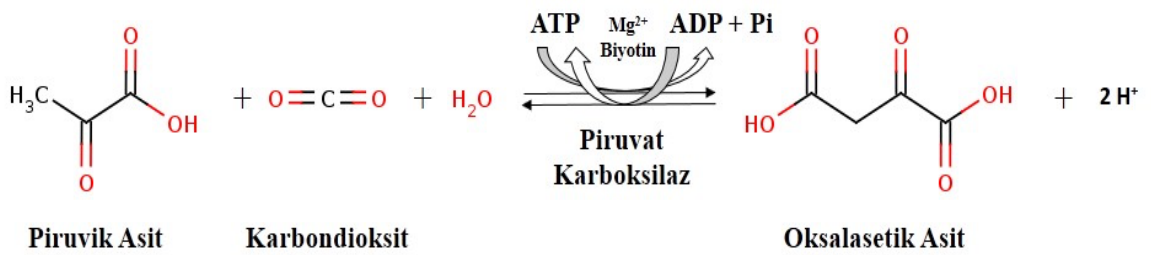
Şekil 2.5: Dekarboksilaz tarafından katalizlenen reaksiyon (<https://www.brenda-enzymes.org>).

- 5- *İzomerazlar:* Bu grup enzimler, geometrik, optik veya yapısal izomerlerin birbirlerine dönüştürülmesini kataliz etmekle görevli olup, epimerazlar ve rasemazlar, intramoleküler transferaz, cis-trans izomerazlar ve intramoleküler oksidoredüktazlardan oluşan alt sınıflara ayrılırlar (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Trioz fosfat izomeraz tarafından katalizlenen reaksiyon (<https://www.brenda-enzymes.org>).

6- *Ligazlar:* Bir diğer adı sentetazlar olan ligazlar, ATP gibi yüksek enerjiye sahip fosfat bileşiklerinden fosfat bağının kopması neticesinde açığa çıkan enerji ile iki molekülün birleşmesini kataliz ederler. Bu sınıf enzimlere örnek olarak, piruvat karboksilaz reaksiyonu verilebilir. Reaksiyon Şekil 2.7’de yer almaktadır (Tekman ve Öner, 1981; Can ve Akev, 2016).



Şekil 2.7: Piruvat karboksilaz tarafından katalizlenen reaksiyon (<https://www.brenda-enzymes.org>).

Sistemik isimlendirmenin özellikleri şu şekildedir:

* Her enzim için kısa ve günlük kullanıma elverişli bir “*önerilmiş isim*”

* Katalizlediği reaksiyona göre bir “*sistemik isim*”

* Uluslararası araştırma dergileri, özetler ve indekslerde yer almak üzere enzimin doğru ve açık tanımını yapan bir “*Enzim Komisyon Numarası (E.C.)*”

Tepkimeler ve bu tepkimeleri kataliz eden enzimler altı gruba bölünmüş ve bu gruplar da kendi aralarında dört ila on üç arasında alt gruplara ayrılmışlardır. Sistematik isimlendirmeyi glukozun glukoz-6-fosfat’a dönüşümünü katalizlediği bilinen ve önerilmiş ismi heksokinaz olan enzim üzerinden örnek verebiliriz. Katalizlediği tepkimeye göre sistematik ismi ATP: glukoz fosfotransferaz ve sınıflandırma numarası ise E.C. 2.7.1.1’dir. EC numarasında ilk sayı olan 2, ait olduğu sınıf olan transferazları temsil ederken; 7, alt sınıfını yani enzimin bir fosfotransferaz olduğunu gösterir. Üçüncü sayı olan 1, fosfotransferaz vazifesi gören enzimin hidroksil grubu alıcısı olduğunu gösterirken, dördüncü sayı olan 1 ise komisyon tarafından verilmiş özel bir seri numarasını ifade eder (Bekpınar ve Ünlüçerçi, 2016).

2.3. ENZİM İNHİBİSYONU

Bazı enzimler katalitik aktivitelerini arttırabilmek adına K^+ , Ca^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Br^- , Cl^- , F^- , OH^- gibi iyonlara gereksinim duymaktadırlar. Bu iyonların bir bölümü yalnızca substratla birleşerek enzimi aktive etme tesiri gösterirken, diğer bir bölümü enzimle birleşmek suretiyle enzimin aktivitesini arttırmaktadır ki bu iyonlara “*aktivatör*” denilmektedir (Onat ve diğ., 2006).

Enzimatik tepkimelerin *in vivo* ya da *in vitro* ortamlarda hızlarını azaltan veya enzimlerin kataliz görevlerini yerine getirmelerini tamamiyle engelleyen maddelere de “*inhibitör*” adı verilmektedir. Birçok ilaç ve toksik madde spesifik bir enzimi inhibe etmek yoluyla etkisini gösterebilir. Ayrıca, koagülasyon, fibrinoliz, enflamasyon reaksiyonları gibi metabolizma fonksiyonlarının da enzim inhibisyonu ile düzenlendiği bilinmektedir (Bekpınar ve Ünlüçerçi, 2016).

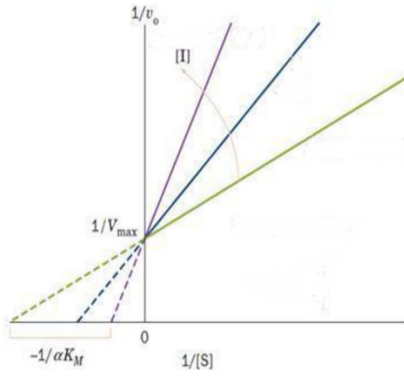
2.3.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu

2.3.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) Enzim İnhibisyonu

Yarışmalı inhibitörler, enzimin etki edeceği substrata yapı bakımından oldukça benzemektedir. İnhibitörler, enzime tıpkı substrat gibi geri dönüşümlü olarak bağlanarak aktif bölgesini işgal

etmek yoluyla, enzimin gerçek substratı ile ilişki kurmasını engeller ve bu yolla enzimin katalitik aktivitesini yavaşlatırlar (Bingöl, 1977; Altınışık, 2009).

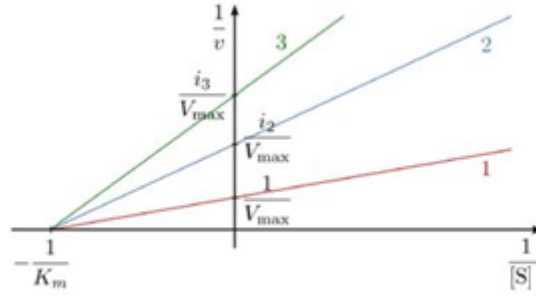
Ortamda yarışmalı inhibitör bulunduğunda, enzim moleküllerinin bir bölümü substrat ile birleşmekte, buradan bir miktar ürün oluşumu gerçekleşmektedir. Ancak, bir kısım enzim ise inhibitör ile birleşir ve ürün elde edilmesi engellenir. Bu durum inhibitör ile substrat arasında enzimle birleşme esnasında bir yarışma olduğu anlamına gelmektedir. Bunların yanında; hem enzim-substrat hem de enzim-inhibitör komplekslerinin ayrılmaları birer denge tepkimesi olduğundan, substrat konsantrasyonu artırılır ise denge, enzim-substrat kompleksi lehine kayacak, yani inhibitör etki yok edilebilecektir (Onat ve diğ., 2006; Keha ve Küfrelioğlu, 2018). Yarışmalı enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği Şekil 2.8’da gösterilmiştir.



Şekil 2.8: Yarışmalı enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği (Nelson ve Cox, 2016).

2.3.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) Enzim İnhibisyonu

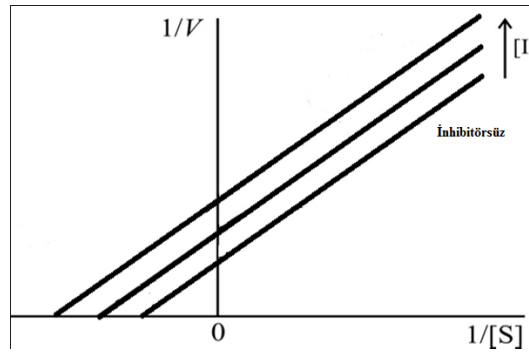
Yarışmasız inhibisyonda inhibitörler, yarışmalı inhibisyonun aksine substrata hiç benzememekte veya çok az benzemektedirler. Yarışmasız inhibitörler, enzime aktif bölge dışında farklı bir bölge üzerinden bağlanmaya çalıştıklarından, substrat ile inhibitör arasında enzimle kompleks oluşturmak adına herhangi bir rekabet söz konusu değildir. Bunlara ek olarak bağlanan inhibitör, enzimin üç boyutlu yapısında değişime sebep olmak yoluyla katalitik aktiviteyi azaltır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006; Hames ve Hooper, 2006). Yarışmasız enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği Şekil 2.9’da gösterilmiştir.



Şekil 2.9: Yarışmasız enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği (<https://slidetodoc.com>).

2.3.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) Enzim İnhibisyonu

Bu inhibisyon türünde inhibitör, yalnızca enzim-substrat kompleksi oluşuktan sonra aktif bölgenin başka bir yerine reversibl bağlanarak enzimi inaktif hale getirir (Altınışık, 2009). Tek substratlı tepkimelere kıyasla çift substratlı ve yer değiştirmeli tepkimelerde daha sık rastlanan yarı yarışmalı inhibisyonların klinik alanda bilinen en klasik örneği; intestinal alkalen fosfatazın L-fenilalanin ile inhibisyonu reaksiyonudur (Bekpınar ve Ünlüçerçi, 2016). Yarı yarışmalı enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10: Yarı yarışmalı enzim inhibisyonu için Lineweaver-Burk grafiği (Nelson ve Cox, 2016).

2.3.2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu

Geri dönüşümsüz enzim inhibisyonlarında, inhibitör aktif bölgeye kovalent bağlarla sıkı sıkıya bağlanır, enzimin yapısını bozmak suretiyle geri dönüşüm engellemektedirler (Altınışık, 2009). Bu tip enzim inhibisyonuna örnek olarak, asetilkolin esteraz enziminin diizopropil fosforidat tarafından geri dönüşümsüz olarak inhibe edilmesi verilebilir.

2.4. KLİNİK ALANDA ENZİMLERDEN YARARLANILMASI

Enzimlerden tıp alanında gittikçe artan bir ölçüde yararlanılmaya başlanması ve enzimlerin nitelik ve nicelik tayinlerinin yapılabilmesi sayesinde, kalıtsal hastalıklar teşhis edilebilmekte, hastalığın seyri hakkında fikir sahibi olunabilmektedir. Ayrıca, bazı hastalıkların tedavisinde de enzim preparatlarından ilaç şeklinde faydalanılabilmektedir.

Hücre içerisinde enzim seviyelerinde artış gözlenmesi, enzim sentezinin veya enzim sentezleyen hücre sayısının artması gibi çeşitli faktörlerin de etkisiyle, bazı enzimlerin hücre dışı sıvıya daha fazla geçtiği bilinmektedir (Bingöl, 1977). Örneğin; dokudan kana geçmiş olan enzimlerin büyük çoğunluğunu hücre içinde fonksiyon gösterip, kan içerisinde herhangi bir etkinliği bulunmayan enzimler oluşturur. Normal şartlar altında kanda düşük düzeylerde bulunan bu enzimlerin kandaki seviyeleri, hücrede sentezlerinin hızlanması veya bulundukları dokuda hasarın oluşması ile artış göstermektedir. Karaciğerin koagülasyonda görevli enzimlerin inaktif formlarını sentez ederek kana verdiği bilindiğinden bunun gibi doku kaynaklı enzimlerin kandaki düzeylerinin ölçülmesi de doku hasarını değerlendirme amacıyla klinik alanda yarar sağlamaktadır.

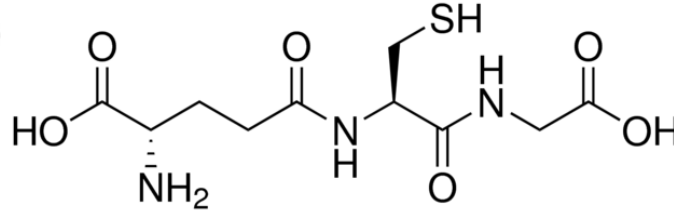
Aynı reaksiyonu katalizleyen ve farklı molekül yapılarına sahip oldukları bilinen izozimler, dokulara has dağılım göstermektedir. Olası bir kalp krizi vakasını takiben izozimlerin aktivitelerinin kanda artış veya azalmalarının değerlendirilmesi, krizin meydana gelme zamanı veya tedavinin etkin olup olmadığı hususunda bilgi vermektedir. Örneğin, tetramer yapıda olan laktat dehidrojenazın (LDH) iskelet ve karaciğer kaslarında iki izomerinden birisi olan $M_4(LDH)_5$ bulunurken, kalp kasında yaygın olarak $H_4(LDH)_1$ formu görülmektedir (Bekpınar ve Ünlüerçi, 2016).

Bazı ilaç etken maddeler sayesinde, ilgili enzimin inhibe edilmesi şeklinde tedaviler yapılabilir. İndometazin, ibuprofen gibi antiinflamatuvar ilaçlar, siklooksijenaz enzimini, başlangıç maddesi arasıdonik asit ile yarışma yoluyla inhibe ederler ve bu biyomoleküllerin sentezine engel olurlar. Aspirinin etken maddesi olarak bilinen asetilsalisilik asit, siklooksijenazı aktif bölgesindeki serin kalıntısını asetilemek yoluyla geri dönüşümsüz şekilde inhibe ettiğinden dolayı inflamasyonu baskılamak amacıyla tercih edilmektedir. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde mikroorganizmalara spesifik enzimleri inhibe eden ajanlardan yararlanılır. Kanser tedavisinde yararlanılan ve dihidrofolat redüktaz enziminin yarışmalı

inhibitörü olan metotreksat ise, DNA (timidilat) sentezi esnasında koenzim olarak rol oynayan tetrahidrofolat-dihidrofolat dönüşümünü engellemek yoluyla timidilat sentezini inhibe eder. Dolayısıyla kanser ve lösemi hücreleri gibi süratle bölünen hücrelerin hasar görmesini sağlar (Bekpınar ve Ünlüçerçi, 2016).

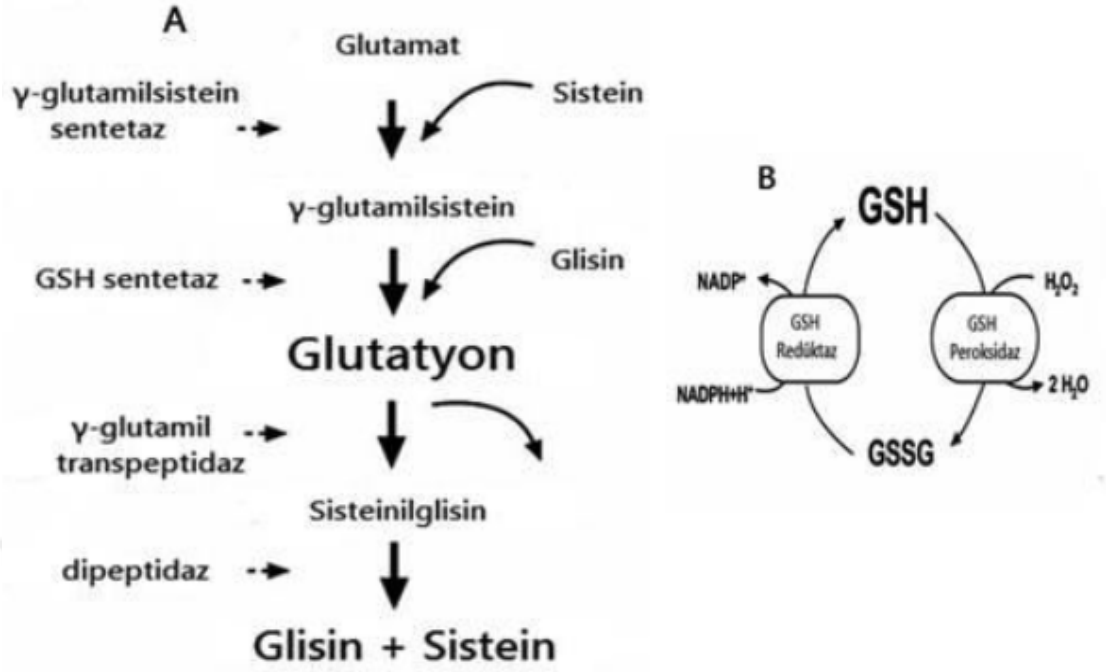
2.5. GLUTATYON

Glutatyon; intraselüler ve ekstraselüler transport işlemlerini üstlenmek yoluyla hücrel detoksifikasyonda önemli bir yer kazanmış; glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinin birleşiminden oluşan, hücre içi derişimi oldukça yüksek, bütün memeli hücrelerince sentezlenebilen, karaciğer, lens, böbrek ve eritrositlerde belirgin olarak yüksek düzeylerde bulunan bir tripeptittir (Commandeur ve diğ., 1995). İki karboksil, bir amino ve bir tiyol grubu ile iki peptid bağı ihtiva eden glutatyon; indirgenmiş glutatyon (GSH) (Şekil 2.11) ile yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) olacak şekilde iki formda ve dokular içerisinde birbirleriyle denge halinde bulunur. Hücre içi GSH; selenyum ihtiva eden glutatyon peroksidaz enzimi katalizi ile GSSG'ye yükseltgenir (Konukoğlu ve Akçay, 1995).



Şekil 2.11: Glutatyonun moleküler yapısı (γ -L-glutamil- sisteinil-glisin) (<https://www.sigmaaldrich.com>) .

Eritrositlerde GSH:GSSG oranının 99:1 olmasının yanında, bu optimum oranın korunması hücreler için kritik bir öneme sahiptir (Keha ve Küfrevioğlu, 2018). Bu oranın sağlanması, GSH/GSSG dönüşümünü gerçekleştiren redoks tepkimeleriyle ve γ -glutamil siklusu ile mümkündür (Anjaneyulu ve diğ., 2008). Glutatyon, γ -glutamilsistein sentetaz ve glutatyon sentetaz enzimlerinin yardımıyla hücre içerisinde sentez edilirken, glutatyon konjugatlarının yıkımı hücre dışında ve hücre zarı üzerinde γ -glutamil transferaz aracılığıyla başlatılır (Townsend ve Tew, 2003; Modén ve Mannervik, 2014) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12: γ -Glutamil siklusu (A) ve GSH:GSSG (B) dönüşümü (Anjaneyulu ve diğ., 2008).

Canlı hücrelerde birçok önemli fonksiyona sahip olan glutatyonun görevleri şu şekilde sıralanabilir:

- * DNA ve protein sentezlerinin düzenlenmesi reaksiyonlarındaki enzimlerin koenzimleri olarak görev yaparlar.
- * Proteinlerdeki $-SH$ gruplarının korunmasını sağlar.
- * Amino asitlerin transportunda görev alır.
- * Yapısındaki sisteinin $-SH$ grubundan kaynaklanan antioksidan kapasitesi mevcuttur. Bundan dolayı hücre savunmasında da kilit rol oynar (Commandeur ve diğ., 1995; Konukoğlu ve Akçay, 1995).
- * GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde var olan sistein kalıntılarını indirgenmiş şekilde tutarak alyuvarlarda sülfidril tamponu vazifesi yapar (Keha ve Küfrevioğlu, 2018).

Bunlara ek olarak; Faz II detoksifikasyon tepkimelerinde, glutatyon konjugasyonu en önemli reaksiyonlardan biridir (Yang ve diğ., 2011). GST ve glutatyon peroksidazların (GPx) katalizi

aracılığıyla serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girme yeteneğine sahip olan glutatyon; bu özelliği ile hücreleri oksidatif tahribata karşı korumakta olup, epoksitler gibi reaktif metabolitlerle konjugat oluşturmak suretiyle onları inaktif pozisyona getirir ve detoksifikasyon işlemine hazırlamış olur. Böylelikle hücredeki oksidatif hasar riski de azaltılır. Çünkü; toksik moleküllerin elektrofilik bölgelerinde gerçekleşen konjugasyon tepkimeleri, bu maddelerin biyolojik moleküllerle tepkimeye girmesini engelleyeceğinden, DNA hasarı da engellenmiş olur (Commandeur ve diğ., 1995; Townsend ve Tew, 2003). Ayrıca, GSH:GSSG oranındaki değişimin; kanser, nörodejeneratif bozukluklar, kistik fibrozis, insan bağışıklığı yetmezliği virüsü (HIV) ve yaşlanma gibi geniş bir patoloji ile ilişkilendirildiği de bilinmektedir (Townsend ve Tew, 2003).

2.6. GLUTATYON-S-TRANSFERAZLAR

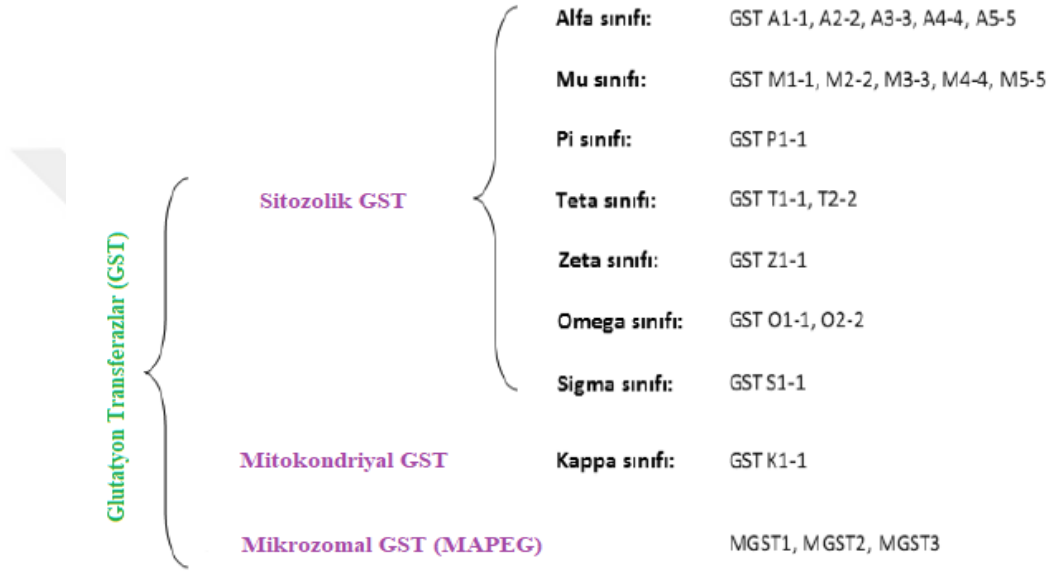
2.6.1. Glutatyon-S-Transferazların Yapısı

Glutatyon-S-transferazlar (GST; E.C. 2.5.1.18), polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve aromatik aminler gibi eksojen kaynaklı ya da metabolizmada gerçekleşen tepkimeler sonucunda oluşan hidroperoksitler ve alkenaller gibi endojen kaynaklı, elektrofilik ve hidrofobik özellik gösteren bileşiklerin glutatyon ile konjugasyonunu sağlamak yoluyla onları genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü kataliz eden Faz II detoksifikasyon enzim ailesidir (Armstrong, 1987; Hayes ve diğ., 2005). GST, bir biyotransformasyon enzimi olup, fonksiyonları arasında zehirsizleştirme reaksiyonları, organizmayı karsinogenik bileşimler ile bu bileşimlerin dokudaki ve kandaki toksik etkilerinden korumak gibi yararlı etkileri bulunur.

GST'lar, genellikle 23-28 kDa ağırlığında olup, aynı ya da farklı alt ünitelerin birleşerek oluşturdukları homodimer veya heterodimer proteinlerdir (Mannervik ve Danielson, 1988). Vücutta başta karaciğerde olmak üzere, testis, böbrek, akciğer, ince bağırsak gibi doku ve organlarda bulunurlarken; hücre içerisinde de sitozol ve mikrozomlarda bulundukları bilinmektedir (Landi, 2000).

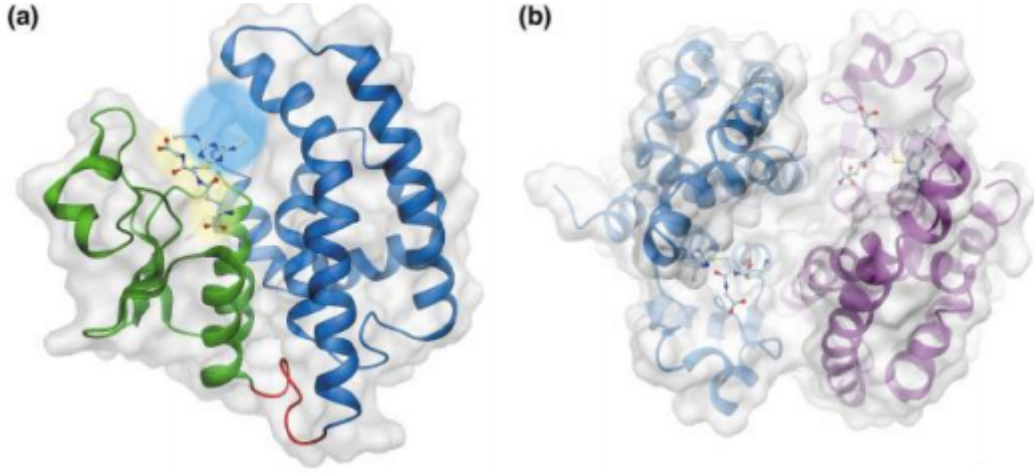
GST enzimleri, primer yapıları, antikorlarla alakalı tepkimeleri, yapısal karakteristik özellikleri, kimyasal affiniteleri, amino asit dizileri, enzimlerin kimyasal davranışları gibi özellikleri değerlendirilerek; *sitozolik GST*, *mikrozomal GST* ve *mitokondriyal GST* olacak şekilde alt sınıflara ayrılmışlardır (Şekil 2.13). GSH ile elektrofilleri konjuge etme yeteneklerinde de

önemli farklılıklar olduğu bilinen GST izozimlerini kategorize edebilmek için, genellikle bu izozimlere spesifik olan substratlardan yararlanılır. GST izozimleri arasında en iyi tanımlanmış ve en geniş yelpazeye sahip aile ise sitozolik GST'lerdir. (Hayes ve Pulford, 1995; Vural, 2005). Memelilerde sitozolik GST'ler; alfa (α), pi (π), mü (μ), teta (θ), sigma (σ), zeta (ζ) ve omega (ω) olacak şekilde yedi gruba ayrılırlar (Mannervik ve diğ., 1985).



Şekil 2.13: İnsan glutatyon-S-transferazlarının sınıflandırılması (Wu ve Dong, 2012).

GST ailesinin her bir alt ünitesi, iki farklı fonksiyonel bölgeden oluşan bir adet aktif bölgeye sahiptir. Bu aktif bölgelerin her biri ise, fizyolojik substrat olan glutatyonu bağlayan hidrofilik G bölgesi ile farklı yapıdaki elektrofilik substratları bağlayan hidrofobik H bölgelerini içerir. Glutatyonun bağlandığı G bölgesi, N-terminal uçtan meydana gelirken; substratların bağlandığı H bölgesi α -heliks yapıdaki C-terminal uçtan oluşur. GST enzimlerinin substrat bağlayan H bölgesi, yapısal olarak birbirinden farklı substratların bağlanabilmeleri için hidrofobik ortam sağlar ve davranışı, glutatyonla spesifik bağlanma bölgesi olan G bölgesinin aksine, ailedeki farklı GST'ler arasında oldukça değişkenlik gösterir ki bu da; enzim ailesinin substrat çeşitliğinin sebebidir (Commandeur ve diğ., 1995; Armstrong, 1997; Eaton ve Bammler, 1999). Şekil 2.14'te gösterilen amino terminal uç yeşil renk ile, karboksi terminal uç mavi renk ile ve protein yüzeyi ise gri alan ile temsil edilmektedir.



Şekil 2.14: Glutatyon-S-transferaz enziminin üç boyutlu yapısı (Dixon ve diğ., 2002).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre; sitozolik GST'ler arasında kanser çalışmaları en çok öne çıkan enzim ailesi, Pi sınıfı GST'lardır. GST Pi enzimi, karsinojenler ve sitotoksik ilaçlar gibi elektrofilik bileşiklerin zehirsizleştirilmesinde görev almaktadır. Kemoterapi uygulanan kanser hastalarından elde edilen tümörlerde, GST enzimlerinin tamamının aktivitesinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. İnsan tümörlerinin birçoğunda özellikle Pi sınıfı GST'lerin yüksek miktarda bulunması, tedavi sürecinde azalan ilaç etkinliği ile Pi sınıfı GST'lerin ilişkilendirilmesine sebebiyet vermiştir (Özaydın, 2000; Tozkoparan ve Aytaç, 2007).

Diğer bir aile olan mikrozomal GST'ler (MAPEG), eikozanoid sentezinde yer alan GSH'a bağımlı transferaz ve izomeraz tepkimelerini katalizleyen membran proteinleri olarak bilinirler. Sitozolik GST'ler eksojen ve endojen kaynaklı ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesinde görev alırken; mikrozomal GST'ler araşidonik asit metabolizmasından sorumludurlar (Wilce ve diğ., 1995; Landi, 2000).

Kappa sınıfı olan mitokondriyal GST'ler ise mikrozomal GST'lerin aksine sitozolik GST'ler ile yapısal benzerlikler gösteren, çözünabilir enzimlerdir (Allocati ve diğ., 2018). Katalitik aktiviteleri ve bazı taşıma fonksiyonlarının dışında yağ asitlerinin β -oksidasyonunda rolleri olduğu düşünülmektedir (Vural, 2005).

2.6.2. Ksenobiyotik Mekanizmasında Glutatyon-S-Transferazların Rolü ve Biyolojik Aktiviteleri

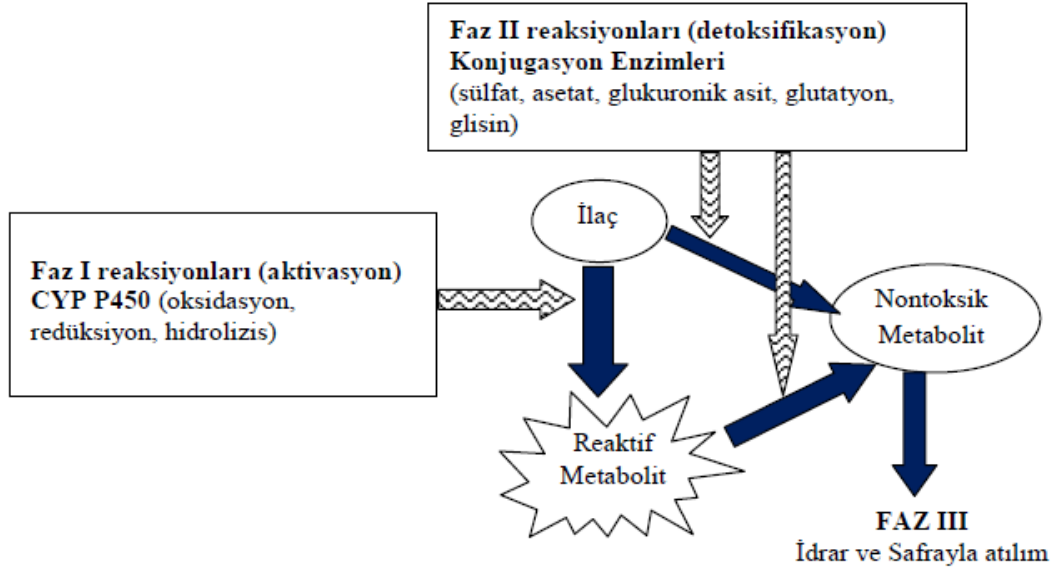
Yaşayan organizmalar dış çevre ile daima etkileşim halinde olduklarından dolayı sık sık kimyasal bileşiklere ve ksenobiyotiklere maruz kalmaktadırlar. Doğal olarak meydana gelen bu maddelerin veya insanlar tarafından üretilmiş anti-kanser ilaçlar, pestisitler, herbisitler gibi kimyasalların çoğunun solunması veya absorbe edilmesi durumunda metabolizma için zararlı olabileceği bilinmektedir (Yang ve diğ., 2011). Bu sebeple organizmalar, birçoğu büyük ölçüde polar olmayan, yapısal olarak birbirlerinden farklı bu zararlı moleküllerin zehirsizleştirme süreçlerini katalizleyen enzim sistemlerinden oluşan gelişmiş savunma stratejileri geliştirmişlerdir (Dirr ve diğ., 1994). Birçok bakteri türünde reaktif bileşikler enzimler aracılığıyla yararlı metabolitlere dönüştürülürken, daha yüksek yapıları yaşam formlarında toksik bileşikler zararsız formlara çevrilerek organizmadan uzaklaştırılırlar (Perbandt ve diğ., 2004).

Çoğu enzim, bir substrata sıkı bir biçimde bağlanmakta iken, zehirsizleştirme enzimlerinin stratejisi daha farklıdır. Zehirsizleştirme enzimlerinin çoğunlukla farklı substrat özgüllüklerine sahip çok sayıda izoenzim içerebilmektedir. Bu strateji sayesinde, tek bir enzim ailesi, hücre ne kadar çeşit ksenobiyotiğe maruz kalırsa kalsın onları detoksifiye ederek, organizmayı korur (Gulick ve Fahl, 1995). Yapılan birçok çalışma; kanser, Parkinson, fibromiyalji ve kronik yorgunluk, immün işlev bozukluğu gibi hastalıklar ile hasar görmüş detoksifikasyon durumu arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı ksenobiyotiklerin oluşturmuş olduğu etkilerden hücrenin korunmasında zehirsizleştirme mekanizmalarının önemi bir kere daha vurgulanmaktadır (Liska, 1998; Thier ve diğ., 2003).

Yabancı bir kimyasal madde, organizmada farklı enzimatik tepkimelerle farklı etkiler gösteren metabolitlere dönüşebilir ve daha sonra konjugasyon mekanizmaları ile inaktif hale getirilerek organizmadan uzaklaştırılır. Bu mekanizma reaksiyonları neticesinde, bir ksenobiyotik veya metabolitlerinin toksisitesinin azaltılması veya tamamen kaldırılması olayına detoksifikasyon denilmektedir (Thier ve diğ., 2003; Vural, 2005).

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyon mekanizmaları üç fazda toplanabilir. Bunlardan ilki olan Faz I tepkimeleri; yükseltgenme, indirgenme ve hidroliz olaylarını içerirler. Maddelere aktif gruplar eklemek suretiyle Faz II tepkimeleri için substrat hazırlamış olurlar. Örneğin,

birinci fazda; lipitte çözünebilen ksenobiyotikler daha polar moleküller haline geçmiş olurlar. Birtakım konjugasyon ve sentez olaylarını ihtiva eden Faz II tepkimeleriyle ise; endojen maddelerle birleşen polar metabolitler inaktif hale getirilerek eliminasyona uğrarlar (Vural, 2005). Zehirsizleştirme reaksiyonlarında ABC taşıyıcılar (ATP binding cassette transporters/ATP bağlayan kaset taşıyıcılar) da denilen proteinler detoksifikasyon süreçlerinde rol oynamaktadır (Dermauw ve van Leeuwen, 2014; Merzendorfer, 2014). Bu proteinler aracılığıyla gerçekleşen detoksifikasyon, ikinci fazda gerçekleşen konjugasyon tepkimelerinin ileri metabolizması olup, bazı bilim insanları tarafından Faz 0 olarak nitelendirilse de, genellikle Faz-III olarak bilinmektedir. ABC taşıyıcılar, hücre içinde bulunan ksenobiyotiği hücre dışına pompalayarak etkisiz hale getirmekle görevlidirler (Dermauw ve van Leeuwen, 2014). Detoksifikasyon reaksiyonları ile ilgili genel şema, Şekil 2.15'te gösterilmektedir.



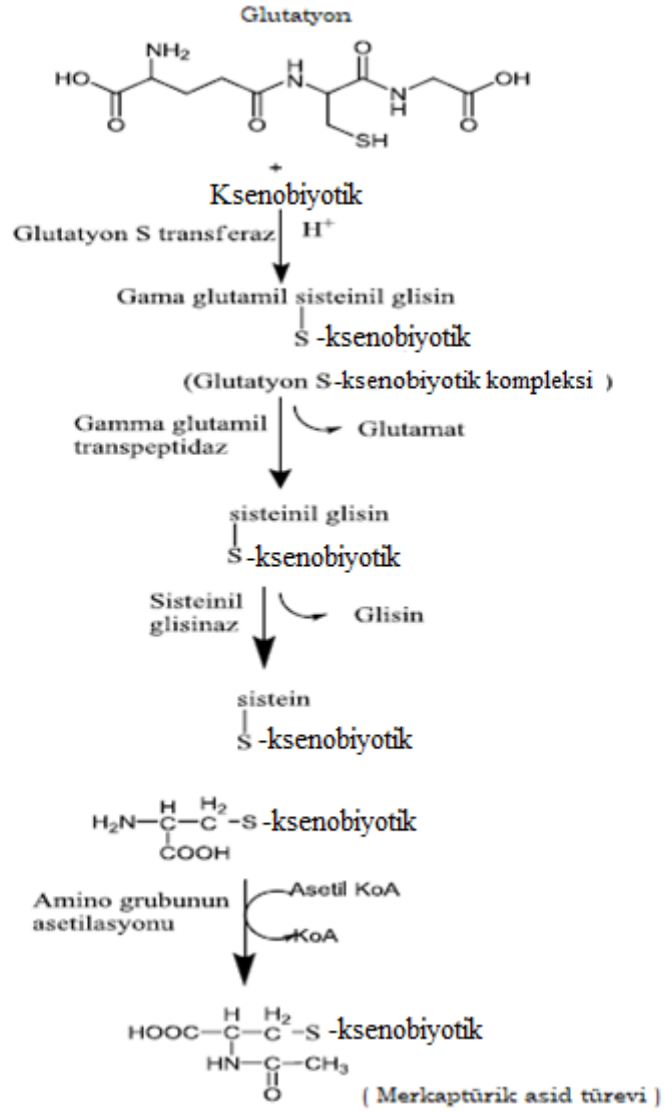
Şekil 2.15: Detoksifikasyon reaksiyonlarının şeması (Temel ve diğ., 2017).

Tümör hücrelerinin çoklu ilaç dirençleri ile ilgili olarak yapılan bir çalışma; bazı antikanser ilaçların hücrelerden dışarı atılmasında aracılık eden ve bir plazma zarı glikoproteini olan P-glikoproteininin farkedilmesini sağlamıştır. Glutatyon-S-konjugatlarının Faz II tepkimeleri sonucunda hücre dışarısına atılımını sağlayan bir diğer ATP bağımlı taşıyım pompası ise GS-X pompasıdır ve bu hücre fonksiyon; intraselüler metabolitlerin, başta bilirubin olmak üzere, hem, safra tuzları ve bazı ilaçların membrandan hızlı bir şekilde taşınması, ksenobiyotiklerin eliminasyonu ya da lökotrien C₄ gibi doğal yollarla oluşan biyolojik olarak aktif glutatyon-S-

konjugatlarının düzenlenmesinde kritik bir öneme sahiptir (Endicott ve Ling, 1989; Ishikawa, 1992). Bu bilgiler ışığında; toksik metabolitlerin detoksifikasyonunda vazifesi olan enzimlerin en önemlilerinden biri GST genleri tarafından kodlanan glutatyon-S-transferaz izozim ailesidir denilebilir. Bu enzimler, hidrofobik ve elektrofilik karakterdeki toksik bileşiklerle karşılaştıklarında, glutatyon ile toksik bileşik arasındaki konjugasyon tepkimesini katalizlemek suretiyle suda çözünür hale getirdikleri zararlı bileşenlerin hücreden atılmasını, dolaylı olarak dokuların oksidatif tahribattan korunmasını sağlarlar (Commanduer ve diğ., 1995; Mannervik ve diğ., 2005).

GST enzim ailesi konu işlevlerini, zehirsizleştirme metabolizması son ürünü olarak bilinen merkaptürik asit oluşumu tepkimelerinin ilk basamağını kataliz ederek sağlarlar. GST enziminin aktivitesini gösterebilmesi için kosubstratı olan GSH muhakkak ortamda bulunmalıdır (Baş ve diğ., 2006) (Şekil 2.16).

GST enzim ailesi, detoksifikasyon ve konjugasyon fonksiyonlarının yanı sıra, insan alfa sınıfı GST izozimleri vasıtasıyla lipit peroksidasyonunun endojen metabolitlerine karşı peroksidaz aktivitesine de sahiptir. Ayrıca, memelilerde GST sınıflarının bazı izoformları testosteron ve progesteron gibi steroid hormonlarının biyosentezi için öncül maddelerin üretiminde rol oynarken, prostaglandin D-sentetaz adıyla da bilinen sigma sınıfı GST'ler, PGH_2 'nin PGD_2 'ye izomerleşmesini kataliz ederek PGE_2 yapımında da önemli rol oynarlar (Mannervik ve diğ., 2005). GST enzim ailesinin bazı ligandların tesirini azaltarak anti-sitotoksik etki oluşturdukları, tirozin ve fenilalanin katabolizmasındaki görevleri ve protein kinaz aktivitesini etkileyerek sinyal yollarının modülasyonunda görev aldıkları da yapılan çalışmalar ile aydınlatılmıştır (Abu-Hijleh, 1999; Laborde, 2010).

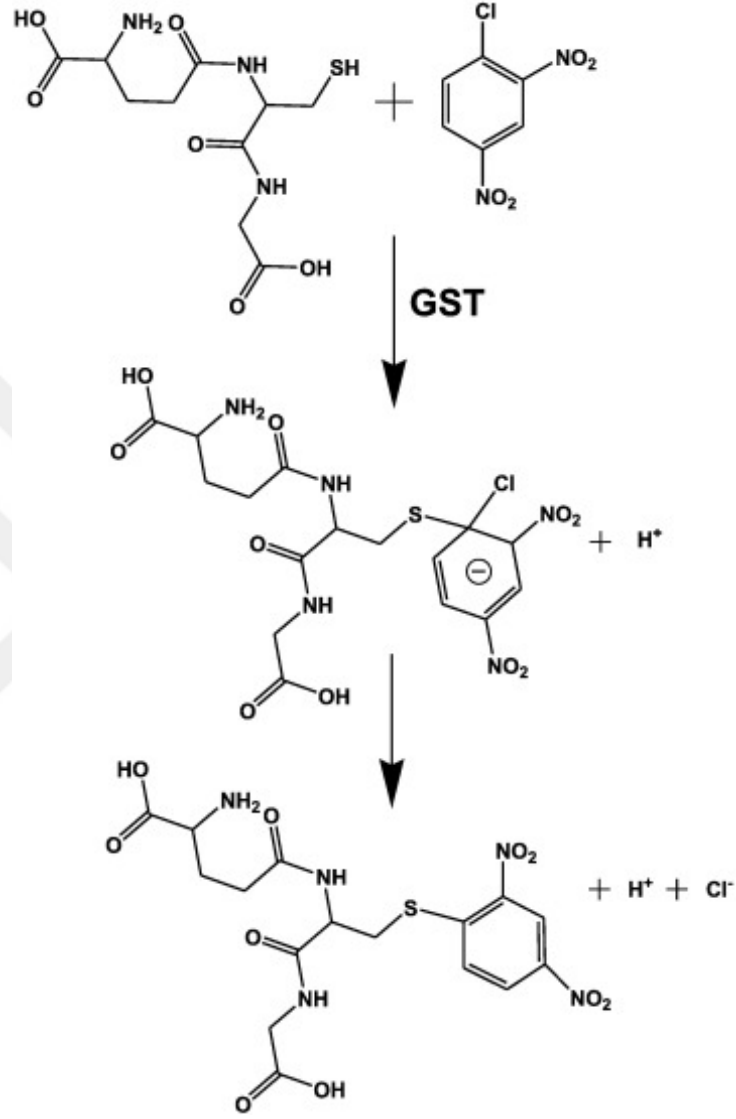


Şekil 2.16: Elektrofilik bir ksenobiyotığın glutasyon ile konjugasyonu ve merkaptürik asit oluşum mekanizması (Saygılı, 2004).

2.6.3. Glutasyon-S-Transferazların Substratları

Anti-kanser ilaçların birçoğu yapılan araştırmalar sonucunda, GST enzim ailesinin substratları olarak tanımlanmıştır. GST'lerin oldukça geniş bir substrat özgüllüğüne sahip olmalarına karşın, bazı izozimler bazı substratları öncelikli olarak tercih etmektedir. Bu durum, kanser tedavisi ile ilgili çalışmalarda GST'leri birer terapötik hedef haline getirmektedir (Laborde, 2010). 1-Kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), izozimlerin aktivite tayinleri için tercih edilen genel bir model substrattır. GSH ile konjuge edilen CDNB, 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümlerle takip edildiğinde S-(2,4-dinitrofenil)glutasyon ürününü verdiği

bilinmektedir (Habig ve diğ., 1974; Eaton ve Bammler, 1999). Reaksiyon Şekil 2.17’de gösterilmiştir.



Şekil 2.17: Glutatyon-S-transferazın 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile reaksiyonu (Enache ve Oliveira-Brett, 2015).

1,2-Dikloro-4-nitrobenzen (DCNB) ise, mü sınıfı GST’lerin spesifik substratı olarak tanınır ve tepkime sonucunda oluşan ürün 345 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenebilir (Habig ve diğ., 1974). 1,2-Epoksi-3-propan (EPNP), 4-nitrobenzil-klorid (4-NBC) ve 1-menaftil sülfat (MS) ise teta sınıfı GST enzimleri için önerilen substratlardır (Meyer ve diğ., 1991; Hussey ve Hayes, 1992).

2.7. FİTOKİMYASAL KAVRAMI

Fitokimyasal kavramı, beslenmedeki yeri yakın geçmişte oldukça dikkat çekici bir hale gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın de tavsiyesi olan sebze ve meyvelerden oluşan sağlıklı beslenme stili, günümüzde kanser ve kardiyovasküler rahatsızlıklarda hayvansal kökenli besinlerin tüketilmesinin rolünün olduğunun fark edilmesi ve toplumda oluşan farkındalık ile daha da ön plana çıkmıştır (Dündar, 2001). Bitkisel ürünlerin temel alındığı beslenmenin kronik hastalık riskini, özellikle kanser riskini azaltabildiğine dair çok sayıda *in vivo*, *in vitro* ve klinik deneme verileri bulunmakta olup, diyetlerinde fazla miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerde az miktarda tüketenlere kıyasla kanser riskinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla günümüzde fitokimyasallar, tedavi edici stratejilerin geliştirilmesinde tek başlarına kullanılabildikleri gibi, geleneksel kanser tedavileriyle birlikte de kullanılabilmektedir (Block ve diğ., 1992).

Fitokimyasallar, bitkilerin kendilerine özgü renklerinin, koku ve tatlarının oluşumunda görevli, diyetle eklenerek tüketildikleri zaman sağlık açısından faydalı tesirleri olan, sahip oldukları kuvvetli antioksidan kapasite ile hücreleri dışarıdan gelebilecek zararlardan koruyan biyoaktif bileşikler olarak tanımlanabilir (Balch ve Balch, 1997; Visioli ve diğ., 2000). Meyve, sebze ve tahıllardan izole edilerek tanımlandığı bilinen beş binden fazla fitokimyasal; bağırsak florasını düzenlemek, safra asitlerini kontrol etmek, sinyal iletim yollarını uyarmak, hormon metabolizmasını düzenlemek, detoksifikasyonu arttırmak gibi daha birçok önemli metabolik olayda rol oynamaktadır. Ayrıca yalnızca sebze ve meyve tüketimi arttırılarak tespit edilen edilen kanser vakalarının yüzde yirmisinin ve dolayısıyla iki yüz bin kanser sebepli ölümün önüne geçilebileceği de bildirilmektedir (Açıkgöz ve Yıldız, 2017). Fitokimyasalların bahsi geçen kansere karşı koruyuculuk işlevlerini nasıl gösterdiklerini ise güncel bilimsel yaklaşımlarla açıklamak mümkündür. Örneğin; Faz I enzimleri fitokimyasallar tarafından inhibe edilerek veya Faz II aşamasına ulaşmış karsinojenlerin detoksifikasyonu sağlanarak kanserojen etkinin önüne geçilebilir. Anormal hücrelerin kontrolsüz bir biçimde çoğalmaları durdurularak tümör oluşumu engellenebilir. Yine fitokimyasalların etkisi ile bazı metabolitler yakalanarak DNA yapısının zarar görmesi önlenir ve farklı kanserlere yakalanma riski ile hasta üzerindeki etkileri azaltılabilir (Dündar, 2001).

Kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyuculukları ile tanınan ve fitokimyasalların ciddi bir kısmını oluşturan fenolik bileşikler iyi birer antioksidan olmaları ile birlikte, aynı zamanda anti-alerjen, anti-kanserojen, anti-inflamatuvar karakterleri ile de dikkat çekmektedirler (Hemingway, 1998; Friedman ve Levin, 2009). Faz I enzimlerini inhibe etme yetenekleri olan ve fitokimyasal olarak nitelendirilen flavonoidler, özellikle turunçgiller ile çilek, böğürtlen gibi küçük ve sulu meyvelerde bolca bulunurlar ve kanser hastalığına sebebiyet veren bazı hormonların hücrelere taşınmasına engel olurlar (Dündar, 2001). Çin’de kalabalık bir grupta yapılmış bir vaka-kontrol denemesine göre, mide kanseri riski ile sarımsak ve soğan tüketimi arasında ters bir oran olduğu kanıtlanmıştır. Bu durum, sarımsak ve soğanda bulunan kükürtlü bileşiklerin bağışıklık sistemini güçlendirmesi, tümör hücresi proliferasyonunu baskı altında tutan enzimleri uyarması ve karsinojenlerin detoksifikasyonunu arttırması ile ilişkilendirilmiştir (Coşkun, 2005). Maydanoz ve domateste bulunan fitokimyasallardan kumarinlerin ve klorojenik asitin, karsinojenik maddelerin tahrip edici etkilerini engellediği; soya fasulyesinde bulunduğu bilinen genisteinin kanserden korucuyucu etkisini, anjiyogenez inhibitörü özelliği sayesinde ve yeni kılcal damarların oluşumuna engel olarak tümör hücrelerinin beslenmesine engel olmak yoluyla gösterdiği belirtilmiştir (Dündar, 2001).

Bu bilgiler dikkate alınarak, bitki kaynaklı besinlerde dengeli şekilde bulunan ve yapay yollar ile üretilmesi oldukça zor olan fitokimyasalların, hastalıkların önlenmesi veya iyileştirilmesinde, özellikle kanser tedavisinde yaygın kanser türlerinin görülme sıklığının azaltılmasında büyük potansiyele sahip olmaları nedeniyle, çalışmamızda bazı bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin GST üzerine inhibisyon etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

]

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR

Buzdolabı: Arçelik

Derin Dondurucu: Beko

Distile Su Cihazı: Brand MonaDest 3000

Etüv: Memmert

Evaporatör: Bibby Rotary Evaporator RE100

Isıtıcı: Electromantle

pH metre: Hanna Instruments HI 2211

Sonikatör: Bandelin Sonorex

Spektrofotometre: Shimadzu UV-mini 1240

Teraziler: Radwag AS 220/C/2 ve Radwag AS 220/X Hassas Teraziler

Vorteks: Fisons Whirlimixer

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

İnhibisyon deneyinde kullanılan kimyasal maddeler şu şekilde sıralanmıştır:

-Disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Fluka 71642)

-İndirgenmiş glutatyon (GSH) (Fluka 49750)

-1-Kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) (Fluka 24440)

-Mutlak alkol (Riedel de Häen 32221)

-Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Riedel de Häen 04243)

-Sodyum klorür (NaCl) (Merck 106404)

3.3.ENZİM İNHİBİSYON DENEYLERİNDE KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİ

3.3.1. Deneylerde Kullanılan Bitkilerin Sulu Ekstrelerinin Hazırlanması

Çeşitli aktarlardan temin edilen bitki örnekleri, iyice yıkandıktan sonra, distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulma işleminin ardından, ekstrelerin hazırlanacağı güne kadar +4°C’de bekletildi.

100 g kuru bitki materyali, bir cam balona konuldu. 1L distile su ilavesinin ardından, geri soğutucu altında 8 saat reflüks işlemi yapıldı. Bu işlemden sonra, karışım oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzme işlemi, önceden darası alınmış bir cam balon içerisine gerçekleştirildi. Evaporatöre yerleştirilen balon içerisindeki çözeltinin suyu, basınç değeri düşük tutularak ortamdan uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre, önceden darası alınmış bir porselen kroze alınılarak, 37°C’deki etüvde 1 hafta boyunca bekletildi. Bu işlem ile ekstre içinde kalması muhtemel suyun uzaklaştırılması amaçlandı. İşlem sonucunda elde edilen ekstreler, Eppendorf tüplerine aktarıldı ve deneyin yapılacağı güne kadar -20°C’de muhafaza edildi.

3.3.2. Deneylerde Kullanılan Bitki Ekstreleri

İnhibisyon deneyinde kullanılan bitki ekstrelerinin Latince isimleri ve bitkilerin kullanımda tercih edilen kısımları Tablo 3.1’de gösterildi.

Tablo 3.1: Bitki materyallerinin Latince isimleri ve tercih edilen kısımları.

Bitki Materyalinin Türkçe İsmi	Bitki Materyalinin Latince İsmi	Bitkinin Deneyde Kullanılan Kısım
Avokado	<i>Persea americana</i>	Meyve
Brüksel Lahanası	<i>Brassica oleracea gemmifera</i>	Yaprak
Elma	<i>Malus domestica</i>	Meyve
Havuç	<i>Daucus carota</i>	Sebze
Ispanak	<i>Spinacia oleracea</i>	Yaprak
Kara Lahana	<i>Brassica oleracea acephala</i>	Yaprak
Kereviz	<i>Apium graveolens dulce</i>	Sap ve yaprak
Kivi	<i>Actinidia chinensis</i>	Meyve
Limon	<i>Citrus limon</i>	Kabuk
Pazı	<i>Beta vulgaris L. var. cicla</i>	Yaprak
Pırasa	<i>Allium porrum L.</i>	Sebze
Siyah Turp	<i>Raphanus sativus var. sativus</i>	Sebze

3.3.2. Doku Homojenizatının Hazırlanması

Enzim kaynağı olarak, dana karaciğeri kullanıldı. Doku homojenizatı, % 0.9 NaCl kullanılarak hazırlandı. Homojenizat 10000 x g hızı ile +4°C’de santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant, Eppendorf tüplerine aktarıldı. Deneyin yapılacağı güne kadar -20°C’de muhafaza edildi.

3.4. ENZİM İNHİBİSYON DENEYLERİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Enzim inhibisyon deneylerinde inhibitör etkileri incelenen kimyasal maddeler şu şekilde sıralanmaktadır:

Askorbik asit (Merck 100127)

Bakır sülfat (Panreac)

Benzoik asit (Merck 136)

Çinko sülfat (Merck 8881)

Gallik asit (Fluka 48630)

Magnezyum klorür (Fluka 63065)

Nikel sülfat (Merck 6726)

U vitamini (Fluka 64382)

3.5. GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİM İNHİBİSYONUNUN BELİRLENMESİ

GST inhibisyon deneyi, Habig ve diğ. (1974) tarafından geliştirilen yöntemle göre tayin edildi. Kör tüpüne 950 µL, kontrol tüpüne 850 µL, numune tüpüne 790 µL 0.1 M pH 6.6 fosfat tamponu eklendi. Bütün tüplere sırayla 15 µL CDNB, 5 µL mutlak alkol ve 30 µL GSH çözeltileri ilave edildi. Örnek tüpüne, 60 µL inhibitör çözeltisinden eklendi. Ardından kontrol ve örnek tüplerine 100 µL enzim kaynağı (doku homojenizatı) ilave edildi. Kontrol ve örnek tüplerinin absorbansları kör tüpüne karşı spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda 3 dakika boyunca ölçüldü.

GST inhibisyon deneyinde elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(\Delta K_{\text{kontrol}_{\text{abs}}} - \Delta \text{Örnek}_{\text{abs}}) / (\Delta K_{\text{kontrol}_{\text{abs}}})] \times 100$$

$\Delta K_{\text{kontrol}_{\text{abs}}} = 3$ dakika boyunca kontrol tüpünde meydana gelen absorbans değişimi

$\Delta \text{Örnek}_{\text{abs}} = 3$ dakika boyunca örnek tüpünde meydana gelen absorbans değişimi

GST enziminin IC₅₀ değerleri, absise çalışılan madde konsantrasyonu ve ordinata % enzim inhibisyon değerleri konularak çizilen grafikten elde edilen doğru denklemi yardımıyla hesaplandı. Sonuçlar bulgular kısmında belirtildi.

]

4. BULGULAR

[Çalışmamızda, sulu ekstreleri hazırlanan bazı bitki ekstrelerinin ve kimyasal maddelerin, GST enzimi üzerine inhibitör etkisi incelendi.

4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ

Sulu ekstreleri hazırlanan bazı bitki ekstrelerinin GST enzimi üzerine % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri, Tablo 4.1’de gösterildi.

Tablo 4.1: Çeşitli bitki ekstrelerinin glutatyon-S-transferaz enzimi üzerine % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri.

Bitki Ekstresinin Adı	Konsantrasyon (mg/mL)	İnhibisyon (%)*	IC ₅₀ Değeri (mg/mL)*
Avokado	10	25.30 ± 2.87	31.28 ± 2.71
	20	35.12 ± 2.73	
	30	49.25 ± 3.14	
Brüksel lahanası	10	14.33 ± 0.86	44.36 ± 3.21
	15	19.10 ± 2.29	
	20	24.83 ± 0.73	
Elma	40	18.62 ± 2.01	92.87 ± 5.75
	50	23.19 ± 1.93	
	60	30.72 ± 2.66	
Havuç	40	11.97 ± 1.35	75.50 ± 3.59
	50	26.48 ± 3.86	
	60	32.67 ± 2.27	
Ispanak	5	13.80 ± 0.53	24.93 ± 2.86
	10	32.04 ± 5.60	
	20	40.24 ± 3.21	

*Ortalama ± standart sapma

Tablo 4.1 (devamı): Çeşitli bitki ekstralarının glutatyon-S-transferaz enzimi üzerine % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri.

Bitki Ekstresinin Adı	Konsantrasyon (mg/mL)	İnhibisyon (%)*	IC ₅₀ Değeri (mg/mL)*
Kara lahana	10	7.35 ± 0.74	35.72 ± 5.78
	15	15.69 ± 1.82	
	20	24.51 ± 4.41	
Kereviz (Sapı ve yaprağı)	30	22.25 ± 0.65	67.96 ± 12.94
	35	25.36 ± 0.78	
	40	30.22 ± 2.59	
Kivi	30	6.95 ± 0.96	64.31 ± 2.69
	40	17.91 ± 0.90	
	50	32.52 ± 1.44	
Limon (Kabuk)	5	11.31 ± 1.35	29.32 ± 2.98
	10	28.85 ± 0.89	
	20	34.60 ± 2.52	
Pazı	1	7.16 ± 0.63	17.01 ± 1.16
	3	11.69 ± 1.52	
	5	17.97 ± 1.36	
Pırasa	30	8.57 ± 0.94	76.35 ± 5.96
	40	18.76 ± 1.78	
	50	26.43 ± 2.50	
Siyah turp	10	12.05 ± 0.89	68.57 ± 2.86
	30	22.03 ± 1.86	
	50	38.78 ± 0.93	

*Ortalama ± standart sapma

Tablo 4.1'e göre; sulu ekstreleri hazırlanan bitki ekstrelerinin GST enzimi üzerine % inhibisyon değerleri, konsantrasyon değerlerinin artması ile artış gösterdi. En düşük IC_{50} değeri ise en yüksek orandaki enzim inhibisyonunu göstermektedir.

Buna sonuçlara göre; en düşük IC_{50} değerinin pazı ekstresinde (17.01 ± 1.16 mg/mL) olduğu ve bu ekstrenin en yüksek GST inhibisyonunu gösterdiği tespit edildi. Pazı bitkisinin yanı sıra, ıspanak (24.93 ± 2.86 mg/mL) ve limon kabuğu (29.23 ± 2.98 mg/mL) sulu ekstrelerinin de GST enzimini yüksek oranda inhibe ettiği tespit edildi.

Bu sonuçlara göre; en düşük IC_{50} değerleri göz önünde bulundurularak, bitki ekstreleri arasındaki en yüksek inhibitör etki sıralaması şu şekilde yapılmaktadır: pazı, ıspanak, limon kabuğu, avokado, kara lahana, brüksel lahanası, kivi, kereviz sapı ve yaprağı, siyah turp, havuç, pırasa, elma.

4.2. KİMYASAL MADDELERİN GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ

Tablo 4.2'de, bazı kimyasal maddelerin GST enzimi üzerine % inhibisyon ve IC_{50} değerleri gösterilmektedir.

Tablo 4.2: Bazı kimyasal maddelerin glutatyon-S-transferaz enzimi üzerine % inhibisyon ve IC_{50} değerleri.

Kimyasal Maddenin Adı	Konsantrasyon (mM)	İnhibisyon (%)*	IC_{50} Değeri (mM)*
Askorbik asit	300	52.53 ± 2.24	280.28 ± 21.42
	400	65.16 ± 3.03	
	500	78.73 ± 1.04	
Bakır sülfat	1	10.94 ± 2.11	5.72 ± 0.13
	5	32.53 ± 2.95	
	10	95.26 ± 1.06	

*Ortalama $\pm$ standart sapma

Tablo 4.2 (devamı): Bazı kimyasal maddelerin Glutatyon-S-transferaz enzimi üzerine % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri.

Kimyasal Maddenin Adı	Konsantrasyon (mM)	İnhibisyon (%)*	IC ₅₀ Değeri (mM)*
Benzoik asit	30	10.11 ± 1.67	66.55 ± 3.35
	40	22.92 ± 1.66	
	50	31.93 ± 2.32	
Çinko sülfat	1	14.30 ± 2.29	25.68 ± 1.62
	10	22.08 ± 1.20	
	50	88.77 ± 4.92	
Gallik asit	50	19.01 ± 1.95	104.32 ± 4.54
	75	34.88 ± 2.97	
	100	46.98 ± 2.34	
Magnezyum klorür	100	28.30 ± 3.22	326.16 ± 21.00
	250	43.59 ± 4.52	
	500	66.22 ± 2.07	
Nikel sülfat	10	7.29 ± 1.19	75.74 ± 20.49
	25	11.81 ± 2.10	
	50	35.54 ± 8.31	
U vitamini	100	10.47 ± 0.69	1100.00 ± 223.21
	300	17.53 ± 1.64	
	500	27.05 ± 4.48	

*Ortalama ± standart sapma

Tablo 4.2’de belirtilen kimyasal maddelerin GST enzimi üzerine % inhibisyon değerleri, konsantrasyon değerlerinin artması ile artış göstermiştir. En düşük IC₅₀ değeri ise en yüksek orandaki enzim inhibisyonunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlara göre; en düşük IC_{50} değerleri göz önünde bulundurularak en yüksek inhibitör etki gösteren kimyasal maddenin bakır sülfat (5.72 ± 0.13 mM) olduğu tespit edildi. Bakır sülfatın yanı sıra, çinko sülfat (25.68 ± 1.62 mM) ve benzoik asidin de (66.55 ± 3.35 mM) yüksek inhibisyon gösterdiği tespit edildi. En düşük IC_{50} değerleri göz önüne alındığında, kimyasal maddeler arasındaki en yüksek inhibitör etki sıralaması şu şekildedir: Bakır sülfat, çinko sülfat, benzoik asit, nikel sülfat, gallik asit, askorbik asit, magnezyum klorür ve U vitamini.

]



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

[Transferazlar, iki substrat arasında hidrojen dışındaki grupların transferini gerçekleştiren enzimlerdir. Glutatyon-S-transferazlar (GST; E.C. 2.5.1.18), bu enzim sınıfına dahil olup prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunmaktadır. GST, başta karaciğerde olmakla beraber, akciğer, böbrek, lens, retina ve kornea ile plasenta, beyin ve eritrositlerde de mevcuttur (Ahmed ve diğ., 2016).

GST, hem endojen hem de eksojen kaynaklı olan gerek elektrofilik gerekse hidrofobik ve sitotoksik birçok bileşiğin GSH ile konjugasyon reaksiyonunu gerçekleştiren bir enzim ailesidir. Bu konjugasyon, GSH'ın yapısında yer alan serbest tiyol grubunun nükleofilik katılımı ile sağlanır. Bu reaksiyon sonucunda toksik olan bazı bileşikler, inaktif hale getirilebilir ve vücuttan daha kolay atılabilir bir yapıya dönüştürülürler (Nepovim ve diğ., 2004; Tozkoparan ve Aytac, 2007).

Bu enzim, detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli bir yere sahiptir ve Faz II aşamasında glutatyon ile konjuge olmuş bileşiklerin oluşmasını sağlar (Nepovim ve diğ., 2004). Oluşan konjugasyon ara bileşiğinden öncelikle glutamik asit ve glisin ayrılır, ardından sistein asetillenir ve son aşamada ise merkaptürik asit oluşumu gerçekleşir (Habig ve diğ., 1974). Enzimin Faz II reaksiyonlarındaki bu aktif etkisi, geniş substrat spesifitesi ile tanımlanmaktadır (Raha ve Tew, 1996). Bu substrat spesifitesi, GST izozimlerinin H bölgesinde (hidrofobik substratları bağlayan bölge) bulunan amino asitlerin dizilim farklılıklarından ileri gelmektedir. Bu farklılık sayesinde, katekolaminler, aromatik hidrokarbon bileşikleri, prostaglandinler GST substratları olarak sayılmaktadır (Aksoy, 2010).

GST'in oksidatif stres ürünlerinin detoksifikasyonunun yanı sıra aromatik asitlerin yıkılması, steroid hormonların sentezi, eikosanoidlerin sentezi ve inaktivasyonları (Hayes ve diğ., 2005), izomerizasyon ve hücre sinyal iletimleri gibi farklı reaksiyonlarda yer aldığı, çeşitli araştırmacılar tarafından yayınlanmıştır (Cho ve diğ., 2001; Axarli ve diğ., 2004; Işık ve diğ., 2015; Ahmed ve diğ., 2016).

Endojen olarak tanımlanan tüm bu olumlu yönlerine rağmen, GST enzimlerinin çeşitli kanser vakalarında aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir. Kanser ve GST enzimleri arasındaki bağlantı ise şu şekilde açıklanmaktadır.

Kanser, hücrelerin kontrol edilemeyen bir hızla çoğalması ve invazif özellik kazanarak yayılım (metastaz) yapması ile karakterize edilen bir hastalıktır (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Vücudun çeşitli organ ve dokularında ortaya çıkabilen bu hastalığın günümüzdeki temel tedavi şekli ise cerrahi yöntemler, kemoterapi ve/veya radyoterapi uygulanması ile gerçekleştirilmektedir. Kemoterapik yöntemler ile kişilere verilen antikanser ilaçlarının büyük bir çoğunluğu malign hücre gelişimini ve çoğalmasını önlemektedir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007). Ancak bazı durumlarda ise tümör hücreleri gerek doğal yollardan gerekse uygulanan kemoterapi sürecinde uygulanmış olan kanser ilaçlarına karşı direnç geliştirmektedirler (Gaté ve Tew, 2001). Bu şekilde oluşan direncin GST enzimleri ile olan bağlantısının temelleri ise tümör hücrelerindeki GSH seviyelerinin belirlenmesi ile atılmıştır.

Normal koşullarda, plazma GSH seviyeleri 30 μ M seviyelerinde iken böbrek hücrelerindeki konsantrasyon değeri 3 mM civarındadır. Tümör olan farklı organlarda ise GSH konsantrasyonlarının 10 mM'a kadar yükseldiği bildirilmiştir (Tew ve diğ., 1993; Tew, 1994). GSH seviyelerinin tümör olan organlarda beklenmedik şekilde yükselmesi, araştırmacıları GST enzimlerinin aktiviteleri ve ekspresyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmalara yönlendirmiştir. Yapılan çalışmalar, tümör tespit edilen organlarda GST enzim ailesine ait bazı enzimlerin ekspresyonunun arttığını vurgulamaktadır (Townsend ve Tew, 2003; Di Pietro ve diğ., 2010). Bu etkisinin yanı sıra enzim, tedavide uygulanan antikanser ilaçların GSH ile gerçekleşen konjugasyonu sonucunda, bu ürünlerin protein yapısına sahip bazı pompalar sayesinde hücre dışına taşınmasını sağlamaktadır. Böylece, artan enzim aktivitesi ile ilaçların hücre içinde kalma süreleri de azalmaktadır (Franco ve Cidlowski, 2009). Kanser ilaçlarının büyük bir çoğunluğunun alkilleyici yapıda ve GST'in substratları olduğu Townsend ve Tew (2003) tarafından bildirilmiştir.

Kanser vakalarında ekspresyonları ve aktiviteleri artan bazı GST izozimlerinin GSTM, GSTT ve GSTP olduğu bilinmektedir. Bu enzimlerin etkili olduğu kanser türleri şu şekilde sıralanabilir: Baş ve boyun kanseri (Rebbeck, 1997), böbrek kanseri (Karami ve diğ., 2008; Simic ve diğ., 2009), göğüs kanseri (Gudmundsdottir ve diğ., 2001), kolorektal kanser (Clapper ve Szarka, 1998), mide kanseri (Chen ve diğ., 2010), prostat kanseri (Lima ve diğ., 2008) ve tiroid kanseri (Li ve diğ., 2012).

GST enzim ailesinin bu şekilde etki göstermesinin önüne geçebilmek için farklı formlara sahip ilaç ve moleküller geliştirilmektedir. İlaç niteliğinde geliştirilmekte olan spesifik GST inhibitörleri temel olarak iki grupta toplanmaktadır. Birinci grup, yapısı GSH'a benzeyen bileşiklerden, ikinci grup ise GSH ile kolaylıkla konjuge olabilecek elektrofilik grupları içeren bileşiklerden oluşmaktadır (Turella ve diğ., 2005, Cui ve diğ., 2008). Fakat, yapı olarak GSH'a benzer şekilde tasarlanan bazı bileşiklerin GST'ı etkili bir biçimde inhibe etmelerine rağmen, hücre içinde birikimleri çeşitli pompalar yardımıyla engellenmesinden dolayı kanser hücrelerinde etkilerini net olarak göstermediği bildirilmektedir (Aksoy, 2010).

Tüm dünya genelinde, birçok hastalığın tedavisinde kimyasal ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak, tedavi amaçlı tercih edilen bu kimyasal ilaçların yan etkileri, yararlı etkilerini kısıtlamaktadır. Bundan dolayı, yapılan araştırmalar, meyve ve sebzelerin, fitokimyasallar açısından zengin bitkisel kökenli doğal ürünlerin ve besinlerin tercih edilmesini tavsiye etmektedir (Chikara ve diğ., 2018). Bu ürünler, gerek birçok kanser türü gerekse diyabet, kalp-damar hastalıkları, Alzheimer gibi günümüzde çok yaygın olan birçok hastalığın gelişimini ve ilerleyişini önleyici etkiye sahiptir (Kris-Etherton ve diğ., 2002; Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2014; Sharma ve diğ., 2017; Wightman, 2017; Chikara ve diğ., 2018).

Bu sebeplerden dolayı, çalışmamızda bazı bitkilerin sulu ekstreleri hazırlandı ve GST üzerine inhibitör etkileri incelendi.

Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*), dünyanın birçok bölgesinde kolaylıkla yetiştirilebilen ve geleneksel olarak tercih edilen bir bitkidir. Yaprakları ve kökleri, besinsel olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Pazı, fitokimyasal içeriği bakımından oldukça zengin bir bitkidir. Pazı bitkisi yapısında A, C, B vitaminleri, kalsiyum, demir, fosfor, saponinler, flavonoid ve fenolik bileşikler bulundurmaktadır (Bolkent ve diğ., 2000; Pyo ve diğ., 2004). Yapılan araştırmalar neticesinde pazı bitkisinin antidiyabetik, antioksidan, antibakteriyel, antiasetilkolinesteraz özelliklerinin olduğu ve çeşitli kimyasal maddeler ile oluşturulan organ toksisite modellerinde koruyucu etkilerinin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Sacan ve Yanardag, 2010; Oztay ve diğ., 2015; Akyuz ve diğ., 2019; Tunali ve diğ., 2020).

Çalışmamızda pazı bitkisinin sulu ekstresinin, tüm bitki ekstreleri ile karşılaştırıldığında GST enzimini en yüksek oranda inhibe ettiği ve en düşük IC₅₀ (17.01 ± 1.16 mg/mL) değerine sahip olduğu tespit edildi. Çeşitli bitkilerde bulunan C vitamini, flavonoid ve fenolik yapıların GST

enzimini inhibe ettikleri, buna ek olarak farklı mekanizmalar ile kanser hastalıklarının etkilerinin azaltılmasında son derece etkili oldukları çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Yu ve Abo-Elghar, 2000; Park, 2013; Khwairakpam ve diğ., 2018). Pazı bitkisinin GST enzimini inhibe etmesinin nedeni, yapısında yer alan önemli miktarda C vitamini ve flavonoid içeriği nedeniyle olabilir.

Ispanak; bazı vitaminler ve mineraller başta olmak üzere birçok fitokimyasal ve biyoaktif bileşeni içinde barındıran temel bir yiyecektir (Roberts ve Moreau, 2016). Yapısında β -karoten, folat, α -tokoferol ve askorbik asit gibi vitaminler ve vitamin öncülleri ile flavonoidler ve fenolik asitler bulunmaktadır (Bunea ve diğ., 2008; Milano ve diğ., 2019). Buna ek olarak, yapılan araştırmalar, 100 g ıspanak bitkisinin günlük magnezyum, potasyum ve demir ihtiyaçlarını sırasıyla % 20, % 16 ve % 15 oranında karşıladığını kanıtlamıştır (U.S. Department of Agriculture).

Akkemik ve diğ. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, demir, bakır ve çinko gibi bazı metallerin bileşiklerinin GST enzimi üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmamızda ıspanak bitkisinin sulu ektresinin, GST enzimini yüksek oranda inhibe ettiği ve IC_{50} değerinin 24.93 ± 2.86 mg/mL olduğu bulundu. Ispanak bitkisi, yapısında demir içermesinin yanı sıra, pazıya benzer özellikte β -karoten, C vitamini, flavonoid içeriğine sahiptir. Tüm bu içerikleri göz önüne alındığında, ıspanak bitkisi de pazı gibi yüksek bir inhibisyon ve düşük bir IC_{50} değeri ile GST'ı inhibe etmiştir.

Limon, tüm dünya genelinde yetiştirilen bir meyvedir. Ülkemiz, limon üretiminde dünya sıralamasında 6. sırada yer almaktadır (Yalçın Sever, 2020). Limonun, yapısında yer alan birçok yararlı bileşenler ile obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türlerinin önlenmesinde ve kan lipid seviyelerinin düşürülmesinde önemli rolü olduğu birçok araştırmacı tarafından literatürde belirtilmektedir (Benavente-García ve Castillo, 2008; Lee ve diğ., 2018; Den Hartogh ve Tsiani, 2019; Mahmoud ve diğ., 2019).

Yapılan *in vitro* çalışmalarda, limonun yapısında yer alan biyoaktif maddeler şu şekilde belirlenmiştir: eriositrin, naringin ve hesperidin gibi flavononlar; luteolin, diosmin ve diosmetin gibi flavonlar; rutin, kuersetin ve kaempferol gibi flavonol bileşikleri ile A vitamini (retinol), B (B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , B_9 vitaminleri) ve C vitamini, belirli bir oranda kalsiyum, demir, magnezyum,

fosfor, potasyum, sodyum ve çinko ile eser miktarda bakır, mangan ve selenyum (González-Molina ve diğ., 2010; Ashraful Alam ve diğ., 2014).

Çalışmamızda, limon ekstresinin GST enzimini inhibe ettiği tespit edildi. Flavonoid bileşiklerinin büyük bir çoğunluğunun, yapılarındaki aromatik B halkasında yer alan hidroksi gruplarının sayesinde, GST enziminin inhibisyonunda rol oynadığı Boušová ve diğ. (2012) tarafından bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, luteolin, C vitamini ve bazı metallerin GST inhibisyonunda rol oynadığı bilinmektedir (Akkemik ve diğ., 2012; Park, 2013; Balyan ve diğ., 2015). Limonun GST enzimini inhibe etmesi, bu biyoaktif maddeleri içermesi nedeni ile olabilir.

Avokado, Meksika ve Amerika başta olmak üzere dünyanın birçok yerinde üretilen ve tüketilen bir meyvedir. Zengin besinsel içeriği ile sağlıklı beslenme açısından sıklıkla tercih edilen bir meyve olan avokadonun kanser, diyabet ve kardiyovasküler rahatsızlıkları önleyici, mikrobiyal ve anti-inflamatuar etkilerinin olduğu Bhuyan ve diğ. (2019) tarafından yayınlanmıştır. Buna ek olarak yapılan çalışmalar sayesinde yapısında, bu hastalıkları önlemede etkili olan birçok yararlı bileşenler olduğu da tanımlanmıştır. Proantosiyanın, p-kumarik asit, gallik asit, klorojenik asit, kuersetin, kateşin gibi fenolik asitler, lutein, α - ve β - karotenler gibi karotenoidler, kalsiyum, demir, magnezyum, fosfor, potasyum, sodyum, çinko, bakır, mangan, selenyum gibi mineraller, B vitaminleri, C ve K vitamini gibi bileşenler avokadonun yapısında bulunan yararlı bileşenlerden bazılarıdır (Tremocoldi ve diğ., 2018; Bhuyan ve diğ., 2019; Salazar-López ve diğ., 2020).

Çalışmamızda, avokado sulu ekstresinin GST enzimini 30 mg/mL konsantrasyon değerinde % 49.25 ± 3.14 mg/mL inhibisyon değeri ve 31.28 ± 2.71 mg/mL IC_{50} değeri ile inhibe ettiği tespit edildi. Avokadonun yapısındaki çeşitli biyoaktif bileşenler sayesinde, GST inhibisyonu gösterdiği söylenebilir.

Kara lahana ve brüksel lahanası, *Brassica oleracea* sınıfına dahil olan ve sıklıkla tercih edilen iki sebzedir. Beyaz lahana, karnabahar ve brokolinin de aynı sınıfa dahil olduğu bu sebzeler, antioksidan ve diğer biyoaktif bileşenler açısından oldukça zengindir.

Kara lahanada bulunan yararlı bileşenlerin tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, kara lahananın kalsiyum, çinko, demir, potasyum ve fosfor gibi mineralleri ve C vitamini, polifenol, sulforafan gibi glukosinolat türleri ve karotenoidler açısından zengin olduğu (Becerra-Moreno ve diğ., 2014; Kapusta-Duch ve diğ., 2012; Gründemann ve Huber, 2018), tüm *Brassica oleracea* sınıfı içerisinde radikal yakalama ve metal kelatlama özelliklerinin yanı sıra (Heimler ve diğ., 2007), en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Podsędek, 2007). Brüksel lahanasının da yüksek miktarda çeşitli vitaminleri karotenoid ve polifenol içerdiği (Jakopic ve diğ., 2016; Blažević ve diğ., 2020), tüm Brassica ailesinin başta akciğer, mide, kolon, rektal kanserleri olmak üzere birçok kanser türünü önlemede, prostat kanseri riskinin azaltılmasında etkin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından literatürde belirtilmektedir (Silverman ve diğ., 1998; Van Poppel ve diğ., 1999; Jakopic ve diğ., 2016).

Bu çalışmada, kara lahana ve brüksel lahanasının sulu ekstrelerinin IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 35.72±5.78 mg/mL ve 44.36±3.21 mg/mL olduğu tespit edildi. Bu ekstrelerin GST enzimini inhibe etmelerinin sebebi, içerdikleri zengin mineral ve C vitamini, polifenol içeriklerinden kaynaklanabilir.

Kivinin kuersetin ve türevlerini içerdiği, bu içeriği sayesinde anjiyotensin dönüştürücü enzimi (ACE) inhibe ettiği (Hettihewa ve diğ., 2018), polifenol, karotenoidler, birçok amino asit, C ve E vitaminleri, esansiyel yağ asitlerini ve mikroelementleri bulundurduğu (Papunidze ve diğ., 2001; Ma ve diğ., 2017; Wang ve diğ., 2018), antitümör, antioksidan, antiinflamatuvar etkilerinin olduğu, tirozinaz ve kollajenaz enzimlerini inhibe ettiği, çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan tez çalışmalarında ve literatürde belirtilmektedir (Calay, 2010; Deng ve diğ., 2013; Sinanoğlu, 2013; Sun ve diğ., 2017; Hou ve diğ., 2018).

Çalışmamızda kivi ekstresinin GST enzimini 50 mg/mL konsantrasyonda % 32.52±1.44 oranında inhibe ettiği bulundu. Kuersetin ve fenolik bileşiklerin GST enzimini inhibe ettikleri Çoruh ve diğ. (2007) ile Arınç ve diğ. (2015) tarafından saptanmıştır. İçerdiği bu biyoaktif bileşenler sayesinde kivinin GST enziminin aktif merkezini inhibe etmekte olduğu söylenebilir.

Kereviz, yapısında β-karoten ve C vitamini ile sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi bazı mineralleri içermektedir (Fazal ve Singla, 2012). Antioksidanlar açısından zengin olup yapısında yer alan klorojenik asit ve luteolin türevi fenolik bileşiklerin kronik hastalıklar üzerinde iyileştirici etkileri vardır (Liu ve diğ., 2017). Bunun yanı sıra kerevizin antidiyabetik,

karaciğeri koruyucu, total trigliserid, total kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyelerini düşürücü etkilerinin olduğu bilinmektedir (Tsi ve diğ., 1995; Popovic ve diğ., 2006; Shivari ve diğ., 2013; Yusni ve diğ., 2018). Çalışmamızda kullanılan kereviz sapı ve yaprağının yapısında hesperidin, luteolin, kuersetin ve rosmarinik asit gibi flavonoidler tanımlanmış olup (Priecina ve Karklina, 2014), bu kısımların antitümör ve antiinflamatuvar etkileri bulunmaktadır (Sellami ve diğ., 2012). GST enzimi üzerindeki inhibitör etkisinin yapısında yer alan flavonoidlerden kaynakladığı söylenebilir. Kereviz sağı ve yaprağının IC₅₀ değerinin 67.96±12.94 mg/mL olduğu tespit edildi.

Siyah turp, tüm dünya genelinde yetiştirilebilen, salatalarda ve yemeklerde kullanılan bir sebzedir. Yapısındaki fenolik bileşiklerin varlığı Goyeneche ve diğ. (2015) tarafından belirtilmiştir. Buna ek olarak Chihoub ve diğ. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, içerisinde belirli miktarda okzalik asit ve sitrik asit içerdiği de ispatlanmıştır. Çalışmamızda, siyah turp sulu ekstresinin GST enzimini 50 mg/mL konsantrasyonda % 38.78 ± 0.93 oranında inhibe ettiği tespit edildi.

Geleneksel besin olarak da sıklıkla tercih edilen havucun besinsel değerini zengin kılan fitokimyasallar; karotenoidler, fenolik bileşikler, poliasetlenler ve askorbik asit olarak tanımlanmaktadır (Ahmad ve diğ., 2019). Tüm karotenoidlerin antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikal oluşumunu engelledikleri (Rao ve Rao, 2007), immun sistemi (hem immunoglobulin A (IgA) konsantrasyonunu arttırmak hem de IgA salgılayan hücrelerin sayılarını arttırmak suretiyle) düzenledikleri (Nishida ve diğ., 2014), kanser oluşumunda rol oynayan enzimlerin aktivitelerinin azaltılması (Freudenheim ve diğ., 1996) yönünde etkileri oldukları literatürde yer almaktadır. Fenolik bileşikler ve askorbik asite ek olarak, havuçta yer alan falkarinol gibi poliasetlen türevi bileşiklerin de bu özellikleri ile kolit ile ilişkili kolon kanserini önlediği Butler ve diğ. (2013) tarafından bildirilmiştir.

Çalışmamızda, havucun GST enzimini 50 mg/mL konsantrasyonda % 26.48 ± 3.86 oranında inhibe ettiği ve IC₅₀ değerinin 75.50 ± 3.59 mg/mL olduğu tespit edildi. Havucun bu inhibisyon etkisinin yapısında yer alan biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı söylenebilir.

Pırasa, uzun yaprakları olan ve silindirik beyaz bir kökle yetişen bir sebzedir. Halk arasında, kolay yetiştirilmesi ve yapısında yer alan birçok fitokimyasal bileşenden dolayı, en çok tüketilen sebzelerden biridir (Bernaert ve diğ., 2014). Yapılan araştırmalar, pırasanın yapısında

yer alan organosülfür ve fenolik bileşiklerinin yanı sıra, pek çok amino asidin ve organik asidin bulunduğunu vurgulamaktadır (Bianchini ve Vainio, 2001; Hsing ve diğ., 2002). Bunun yanı sıra, pırasanın prostat, kolorektal ve mide kanserleri risklerini azalttığı literatürde yer almaktadır. *Allium* sınıfında yer alan pırasa ve diğer sebzelerin tüketiminin göğüs kanseri riskini önemli ölçüde azalttığı Pourzand ve diğ. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada belirtilmiştir. Pırasa ve bu sınıfa ait sebzelerin antikanser etkisi, yapısında yer alan organosülfür bileşikleri ile ilişkilendirilmektedir (Challier ve diğ., 1998, Milner, 2001). Çalışmamızda pırasa ekstresi, GST enzimini 50 mg/mL konsantrasyon değerinde 26.43 ± 2.50 oranında inhibe etmiştir. Yapısında yer alan aktif bileşenlerin enzimin inhibisyonunda rol oynadığı söylenebilir.

Elmanın yapısında yer alan ve bu meyveye antioksidan özelliğini kazandıran kimyasal bileşikler, flavonoidler, prosiyanidinler, terpenoidler, pektik asit ve floretinler olarak literatürde bildirilmiştir (Gerhauser, 2008; Delphi ve Sepehri, 2016). Yapılan araştırmalar sonucunda, tıpkı diğer flavonoidler gibi floretinin de yapısında yer alan hidroksi gruplarının sayesinde antioksidan etkisinin olduğu (Mendes ve diğ., 2018), buna ek olarak prostat, servikal ve mide kanserleri (Hsiao ve diğ., 2019; Kim ve diğ., 2020; You ve diğ., 2020) üzerinde antikanser etkisinin de bulunduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada, elmanın sulu ekstresi GST enzimini, 50 mg/mL konsantrasyonda 23.19 ± 1.93 oranda inhibe ettiği ve IC_{50} değerinin 92.87 ± 5.75 mg/mL olduğu tespit edildi. Elmanın GST enzimi üzerindeki bu etkisinin, yapısında yer alan flavonoidlerden kaynakladığı ileri sürülebilir.

Çalışmamızda, sulu ekstreleri hazırlanan bu bitkilere ek olarak askorbik asit, bakır sülfat, benzoik asit, çinko sülfat, gallik asit, nikel sülfat, magnezyum klorür ve U vitamini gibi bazı kimyasal maddelerin de GST enzimi üzerine inhibisyon etkisinin olup olmadığı incelendi. Yaptığımız deneyler neticesinde bakır sülfatın, GST inhibisyonunu yüksek oranda inhibe ettiği bulundu. Enzimi inhibe etme oranlarına göre kimyasal maddelerin sırası benzoik asit, çinko sülfat, gallik asit, nikel sülfat, askorbik asit, magnezyum klorür ve U vitamini şeklindedir.

Biyolojik sistemlerde elektron transfer reaksiyonlardan, bakır iyonlarının çok önemli bir rolü vardır. Bakır iyonlarının hem tiyol gruplarına karşı hem de proteinlerin yapısını oluşturan amino asitlere karşı yüksek affinite gösterdiği bilinmektedir (Ahmed ve diğ., 2016). Ahmed ve diğ. (2016), iki değerlikli bakır iyonlarının deve karaciğerinden saflaştırdıkları GST enzimi üzerinde inhibisyon etkisinin olduğunu saptamıştır. Bu inhibitör etkiyi, bakır iyonlarının GST

yapısında yer alan tiyol gruplarına olan yüksek ilgileri ile ilişkilendirmişlerdir. Bu bilgiye paralel olarak, çalışmamızda bakır sülfatın 10 mM konsantrasyonda % 95.26 ± 1.06 mM oranında inhibe ettiği ve IC_{50} değerinin 5.72 ± 0.13 mM olduğu tespit edildi.

Benzoik asit, besinlerin sindirimlerini arttırmaya yarayan, patojenik bakterilerin proliferasyonunu inhibe eden ve bağırsaktaki mikro-ekolojik dengenin korunmasına yardımcı olan, en temel yapıları karboksilik asittir (Diao ve diğ., 2014). Benzoik asit ve türevlerinin asetilkolin esterase, miyeloperoksidaz, nöraminidaz ve tirozinaz gibi bazı enzimleri inhibe ettiği çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da belirtilmektedir (Calay, 2010; Ertik, 2015; Huang ve diğ., 2015; Guo ve diğ., 2019; Oliveira ve diğ., 2019). Çalışmamızda benzoik asit, bakır sülfattan sonra GST enzimini yüksek oranda inhibe eden kimyasal madde olarak belirlendi.

Metal bileşiklerinin proteinlere olan affiniteleri neticesinde kolaylıkla bağlanabilmelerinden dolayı, proteinleri inaktif hale getirdikleri bilinmektedir. Çalışmamızda kullanılan çinko sülfat, nikel sülfat ve magnezyum klorürün GST enzimini inhibe ettikleri tespit edildi. Bu metal bileşiklerinin hepsi, bileşiklerinde iki değerlikli halde olup, iki değerlikli bakır iyonlarının enzim üzerindeki inhibisyonuna benzer şekilde inhibitör etki gösterdiği öne sürülebilir.

Gallik asit, biyolojik aktivite açısından önemli polifenolik bileşiklerden biridir (Verma ve diğ., 2013). Gallik asitin ribonükleotid redüktaz ve siklooksijenaz inhibisyonu, apoptozu indüklemesi gibi değişik yollar ile kanser metabolizması üzerinde koruyucu etki gösterdiği (Verma ve diğ., 2013), akut miyeloid lösemi ve over kanseri gibi bazı kanser türleri üzerinde antikanser etkisinin olduğu bazı araştırmacılar tarafından literatürde bildirilmiştir (Gu ve diğ., 2018; Varela-Rodríguez ve diğ., 2020). Gallik asidin yaptığımız deneyler sonucunda IC_{50} değerinin 104.32 ± 4.54 mg/mL olduğu bulundu. Gallik asidin bu etkisinin, bitkilerde olan diğer fenolik bileşiklerin GST üzerindeki inhibitör etkilerine paralel olarak, yapısında yer alan hidroksi grupları sayesinde gerçekleştiği öne sürülebilir.

Çözünürlük açısından suda çözünen vitaminler sınıfında olan askorbik asit (C vitamini), antioksidan özelliği ile büyük önem arz eden yapılardan biridir. Askorbik asidin immun sistemi düzenleyici ve kronik inflamasyon hastalıklarını önleyici özelliğinin olduğu (Sorice ve diğ., 2014), ilerlemiş kanser vakaları üzerinde antikanser etkisinin bulunduğu (Ohno ve diğ., 2009), kalp sağlığı üzerinde koruyucu etkisinin olduğu (Moser ve Chun, 2016) literatürde yer

almaktadır. Buna ek olarak Anabilim Dalımızda yapılan yüksek lisans tez çalışmalarında da anjiyotensin dönüştürücü enzim, asetilkolin esterase, elastaz, histon deasetilaz, kollajenaz ve nöraminidaz enzimlerini inhibe ettiği bulunmuştur (Çepel, 2011; Orak, 2011; Göktaş, 2012; Sinanoğlu, 2013, Dağsuyu, 2015; Ertik, 2015).

Çalışmamızda, askorbik asit içeriği yüksek olarak bilinen bitkilerin GST enzimi üzerindeki inhibitör etkileri incelendi. Askorbik asidin IC_{50} değeri ise 280.28 ± 21.42 mM bulundu. Askorbik asidin enzim üzerindeki inhibitör etkisinin yapısında yer alan hidroksi grupları sayesinde olduğu öne sürülebilir.

U vitamini (S-metil metiyonin sülfonyum klorür), son otuz yıllık zaman dilimi içerisinde çeşitli toksisite modellerinde birçok doku ve organ üzerinde koruyucu etkisinin olduğu kanıtlanmış olan kükürt içeren bir maddedir (Salim,1992; Sokmen ve diğ., 2012; Oktay ve diğ., 2018; Turkyilmaz ve Yanardag, 2019; Oztay ve diğ., 2020). Esas olarak lahana başta olmak üzere Brassicacea ailesinin tüm türlerinde belirli miktarlarda bulunmaktadır (Rácz ve diğ., 2008). Antioksidan ve radikal yakalayıcı özelliğinin yanı sıra (Tunali ve diğ., 2015), anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik etkilerinin olduğu Gezginci-Oktayoglu ve diğ. (2016) tarafından literatürde belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda, U vitamininin bu etkilerinin yapısında yer alan kükürtlü gruptan kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, U vitamininin GST üzerindeki inhibitör etkisinin, yapısında yer alan kükürten dolayı olduğu ileri sürülebilir. Çalışmamızda, U vitamini, GST enzimi üzerinde 500 mM konsantrasyon değerinde $\% 27.05 \pm 4.48$ oranında inhibitör etki göstermiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda GST enzimi üzerinde inhibitör etkilerinin olduğu belirlenmiş olan bu bitkilerin ve kimyasal maddelerin, enzimin inhibisyonu vasıtasıyla antikanser etkili ilaçların tasarlanmasında yararlı olacağı öne sürülebilir.]

KAYNAKLAR

- [Abu-Hijleh, A.A., 1999, *Purification, kinetic and immunologic characterization of theta class glutathione S-transferase GSTT1-1 from normal and cancerous human breast tissues*. Middle East Technical University, Graduate School of Natural and Applied Sciences. Ankara, Turkey.
- Açıkgöz, A., Yıldız, E., 2017, Meme kanseri ve fitokimyasallar, *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 45, 77-82.
- Ahmad, T., Cawood, M., Iqbal, Q., Ariño, A., Batool, A., Tariq, R.M.S., Azam, M., Akhtar, S., 2019, Phytochemicals in *Daucus carota* and their health benefits, *Foods*, 8:424.
- Ahmed, A., Malik, A., Jagirdar, H., Rabbani, N., Khan, M.S., Al-Senaidy, A.M., Ismael, M.A., 2016, Copper-induced inactivation of camel liver glutathione S-transferase, *Biological Trace Element Research*, 169, 69-76.
- Akkemik, E., Taser, P., Bayindir, A., Budak, H., Ciftci, H., 2012, Purification and characterization of glutathione S-transferase from turkey liver and inhibition effects of some metal ions on enzyme activity, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34, 888-894.
- Aksoy, Y., 2010, Kanserde ilaç direncinin üstesinden gelmenin yolları: Yeni ilaçların tasarımı, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 30, 2011-2016.
- Akyuz, S., Moufti Chousein, O., Sacan, O., Yanardag, R., Kalaycı, S., Yarat, A., Sahin, F., 2019, Antibacterial and photodynamic effects of some plant extracts for cavity T disinfection, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 26, 48–52.
- Allocati, N., Masulli, M., Di Ilio, C., Federici, L., 2018, Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases, *Oncogenesis*, 7:8.
- Altınışık, M., 2009, *Enzimler*, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, [<https://www.mustafaaltinisik.org.uk> , Ziyaret Tarihi: 22 Kasım 2020].
- Anjaneyulu, M., Berent-Spillson, A., Russell, J.W., 2008, Metabotropic glutamate receptors (mGluRs) and diabetic neuropathy, *Current Drug Targets*, 9, 85-93.
- Arinç, E., Yilmaz, D., Bozcaarmutlu, A., 2015, Mechanism of inhibition of CYP1A1 and glutathione S-transferase activities in fish liver by quercetin, resveratrol, naringenin, hesperidin, and rutin, *Nutrition and Cancer*, 67, 137-144.
- Armstrong, R.N., 1987, Enzyme-catalyzed detoxification reactions, mechanisms and stereochemistry, *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 22, 39-88.
- Ashraful Alam, A., Subhan, N., Mahbubur Rahman, M., Uddin, S.J., Reza, H.M., Sarker, S.D., 2014, Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action, *Advances in Nutrition*, 5, 404-417.

- Armstrong, R.N., 1997, Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases, *Chemical Research in Toxicology*, 10, 2-18.
- Avcu, F., 2006, Hematolojik malignitelerde ilaç direnç mekanizmaları, *Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi, Temel Moleküler Hematoloji Kursu*, 61-64.
- Axarli, I.A., Rigden, D.J., Labrou, N.E., 2004, Characterization of the ligandin site of maize glutathione S-transferase I, *The Biochemical Journal*, 382, 885-893.
- Balch, J.F., Balch, P.A., 1997, *Prescription for nutritional healing*, 2nd Edition, Avery Publishing Group, Garden City Park, New York.
- Balyan, R., Kudugunti, S.K., Hamad, H.A., Yousef, M.S., Moridani, M.Y., 2015, Bioactivation of luteolin by tyrosinase selectively inhibits glutathione S-transferase, *Chemico-Biological Interactions*, 240, 208-218.
- Baş, M., Ersun, A.Ş., Kıvanç, G., 2006, The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey, *Food Control*, 17, 317-322.
- Becerra-Moreno, A., Alanís-Garza, P.A., Mora-Nieves, J.L., Mora-Mora, J.P., Jacobo-Velázquez, D.A.J., 2014, Kale: an excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates, *CyTA – Journal of Food*, 12, 298-303.
- Bekpınar, S., Ünlüçerçi Y., 2016, *Tıbbi Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevleri, İkinci Baskı, İstanbul, ISBN: 978-605-335-264-8.
- Benavente-García, O., Castillo, J., 2008, Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6185-6205.
- Bernaert, N., De Loose, M., Van Bockstaele, E., Van Droogenbroeck, B., 2014, Antioxidant changes during domestic food processing of the white shaft and green leaves of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1168-1174.
- Bhuyan, D.J., Alsherbiny, M.A., Perera, S., Low, M., Basu, A., Dev, O.A., Barooah, M.S., Li, C.G., Papoutsis, K., 2019, The odyssey of bioactive compounds in avocado (*Persea americana*) and their health benefits, *Antioxidants (Basel)*, 8:426.
- Bianchini, F., Vainio, H., 2001, Allium vegetables and organosulfur compounds: Do they help prevent cancer?, *Environmental Health Perspectives*, 109, 893-902.
- Bingöl, G., 1977, *Vitaminler ve Enzimler*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitap Serisi, Ankara.
- Blažević, I., Montaut, S., Burčul, F., Olsen, C.E., Burow, M., Rollin, P., Agerbirk, N., 2020, Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants, *Phytochemistry*, 169:112100.

- Block, G., Paterson, B., Subar, A., 1992, Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence, *Nutrition and Cancer*, 18, 1-29.
- Bolkent, S., Yanardağ, R., Tabakoğlu-Oğuz, A., Özsoy-Saçan, Ö., 2000, Effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: a morphological and biochemical study, *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 251-259.
- Boušová, I., Hájek, J., Dršata, J., Skálová, L., 2012, Naturally occurring flavonoids as inhibitors of purified cytosolic glutathione S-transferase, *Xenobiotica*, 42, 872-879.
- Bunea, A., Andjelkovic, M., Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M., Verhé, R., Van Camp, J., 2008, Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.), *Food Chemistry*, 108, 649-656.
- Butler, S.M., Wallig, M.A., Nho, C.W., Pan, C.H., Lee, E.H., Jung, S.H., Jeffery, E.H., 2013, A polyacetylene-rich extract from *Gymnaster koraiensis* strongly inhibits colitis-associated colon cancer in mice, *Food and Chemical Toxicology*, 53, 235-239.
- Calabresi, P., Welch, A.D., 1962, Chemotherapy of neoplastic diseases, *Annual Review of Medicine*, 13, 147-202.
- Calay, O., 2010, *Tirozinaz enziminin bazı tıbbi bitkiler tarafından inhibisyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Campbell, N., Reece, J., 2013, *Campbell Biology*, 10th Edition, 97-99.
- Can, A., Akev, N., 2016, *Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biyokimya Dersleri*, İstanbul, ISBN: 978-605-07-0595-9.
- Challier, B., Perarnau, J.M., Viel, J.F., 1998, Garlic, onion and cereal fibre as protective factors for breast cancer: a French case-control study, *European Journal of Epidemiology*, 14, 737-747.
- Chen, B., Cao, L., Zhou, Y., Yang, P., Wan, H.W., Jia, G.Q., Liu, L., Wu, X.T., 2010, Glutathione S-transferase T1 (GSTT1) gene polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of epidemiologic studies, *Digestive Diseases and Sciences*, 55, 1831-1838.
- Chihoub, W., Dias, M.I., Barros, L., Calhelha, R.C., Alves, M.J., Harzallah-Skhiri, F., Ferreira, I.C.F.R., 2019, Valorisation of the green waste parts from turnip, radish and wild cardoon: Nutritional value, phenolic profile and bioactivity evaluation, *Food Research International*, 126:108651.
- Chikara, S., Nagaprashantha, L.D., Singhal, J., Horne, D., Awasthi, S., Singhal, S.S., 2018, Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment, *Cancer Letters*, 413, 122-134.
- Cho, S.G., Lee, Y.H., Park, H.S., Ryoo, K., Kang, K.W., Park, J., Eom, S.J., Kim, M.J., Chang, T.S., Choi, S.Y., Kim, Y., Dong, M.S., Lee, M.J., Kim, S.G., Ichijo, H., Choi, E.J., 2001,

- Glutathione S-transferase mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1, *Journal of Biological Chemistry*, 276, 12749-12755.
- Clapper, M.L., Szarka, C.E., 1998, Glutathione S-transferases-biomarkers of cancer risk and chemopreventive response, *Chemico-Biological Interactions*, 111-112, 377-388.
- Commandeur, J.N., Stijntjes G.J., Vermeulen N.P., 1995, Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. Role in bioactivation and detoxication mechanisms of xenobiotics, *Pharmacological Reviews*, 47, 271-330.
- Coşkun, T., 2005, Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 69-84.
- Cui, H., Shen, J., Lu, D., Zhang, T., Zhang, W., Sun, D., Wang, P.G., 2008, 4-Aryl-1,3,2-oxathiazolylum-5-olate: a novel GST inhibitor to release JNK and activate c-Jun for cancer therapy, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 62, 509-515.
- Çepel, S., 2011, *Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çoruh, N., Sağdıçoğlu Celep, A.G., Özgökçe, F., İşcan, M., 2007, Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L. extracts and inhibition on glutathione-S-transferase activity, *Food Chemistry*, 100, 1249-1253.
- Dağsuyu, E., 2015, *Bazı bitki ekstreleri ve kimyasal maddelerin antioksidan aktiviteleri ve histon deasetilazın inhibisyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Delphi, L., Sepehri, H., 2016, Apple pectin: A natural source for cancer suppression in 4T1 breast cancer cells in vitro and express p53 in mouse bearing 4T1 cancer tumors, in vivo, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 637-644.
- Den Hartogh, D.J., Tsiani, E., 2019, Antidiabetic properties of naringenin: A citrus fruit polyphenol, *Biomolecules*, 9:99.
- Deng, J.J., Yang, H.X., Fan, D.D., Cao, W., Luo, Y.E., 2013, Antibacterial activities of polyphenolic extract from kiwi fruit (*Actinidia chinensis* Planch.) seeds, *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7, 491-494.
- Dermauw, W., Van Leeuwen, T., 2014, The ABC gene family in arthropods: comparative genomics and role in insecticide transport and resistance, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45, 89-110.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X.B., Yu, J., Chen, D.W., 2014, Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets, *Livestock Science*, 167, 249-256.

- Dirr, H., Reinemer, P., Huber, R., 1994, X-ray crystal structures of cytosolic glutathione S-transferases. Implications for protein architecture, substrate recognition and catalytic function, *European Journal of Biochemistry*, 220, 645-661.
- Di Pietro, G., Mango, L.A.V., Rios-Santos, F., 2010, Glutathione S-transferases: an overview in cancer research, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 6, 153-170.
- Dixon, D.P., Davis, B.G., Edwards, R., 2002, Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants. Identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana*, *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 30859-30869.
- Dündar, Y., 2001; Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2, 131-138.
- Eaton, D. L., Bammler, T. K., 1999, Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology, *Toxicological Sciences*, 49, 156-164.
- Enache, T.A., Oliveira-Brett, A.M., 2015, Electrochemical evaluation of glutathione S-transferase kinetic parameters, *Bioelectrochemistry*, 101, 46-51.
- Endicott, J.A., Ling, V., 1989, The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance, *Annual Review of Biochemistry*, 58, 137-171.
- Ertik, O., 2015, *Bazı bitki ekstreleri ve kimyasal maddelerin nöraminidaz aktivitesi üzerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Fazal, S.S., Singla, R.K., 2012, Review on the pharmacognostical & pharmacological characterization of *Apium graveolens* Linn, *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2, 36-42.
- Franco, R., Cidlowski, J.A., 2009, Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant, *Cell Death and Differentiation*, 16, 1303-1314.
- Freudenheim, J.L., Marshall, J.R., Vena, J.E., Laughlin, R., Brasure, J.R., Swanson, M.K., Nemoto, T., Graham, S., 1996, Premenopausal breast cancer risk and intake of vegetables, fruits, and related nutrients, *Journal of the National Cancer Institute*, 20, 340-348.
- Friedman, M., Levin, C.E., 2009, *Analysis and biological activities of potato glycoalkaloids, calystegine alkaloids, phenolic compounds and anthocyanins*, Advances in Potato Chemistry and Technology, In: Singh, J., Kaur, L., (Eds.), Chapter 6, ISBN: 978-0-12-800002-1, 127-161.
- Gaté, L., Tew, K.D., 2001, Glutathione S-transferases as emerging therapeutic targets, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 5, 477-489.
- Gerhauser, C., 2008, Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components, *Planta Medica*, 74, 1608-1624.
- Gezginci-Oktayoglu, S., Sacan, O., Bolkent, S., Ipci, Y., Kabasakal, L., Sener, G., Yanardag, R., 2014, Chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract ameliorates hyperglycemia by

- increasing GLUT2 through Akt2 and antioxidant defense in the liver of rats, *Acta Histochemica*, 116, 32-39.
- Gezginci-Oktayoglu, S., Turkyilmaz, I.B., Ercin, M., Yanardag, R., Bolkent, S., 2016, Vitamin U has a protective effect on valproic acid-induced renal damage due to its anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-fibrotic properties, *Protoplasma*, 253, 127-135.
- Giray, B., Gürsoy, A., Hıncal, F., 1996, Kanser: oluşumu, risk faktörleri ve korunma, *Sendrom*, 8, 96 – 107.
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A., García-Viguera, C., 2010, Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51, 327-345.
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., Di Scala, K., 2015, Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots, *Journal of Functional Foods*, 16, 256–264.
- Göktaş, H., 2012, *Elastaz enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Gründemann, C., Huber, R., 2018, Chemoprevention with isothiocyanates – From bench to bedside, *Cancer Letters*, 414, 26–33.
- Gu, R., Zhang, M., Meng, H., Xu, D., Xie, Y., 2018, Gallic acid targets acute myeloid leukemia via Akt/mTOR-dependent mitochondrial respiration inhibition, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 491-497.
- Gudmundsdottir, K., Tryggvadottir, L., Eyfjord, J.E., 2001, GSTM1, GSTT1, and GSTP1 genotypes in relation to breast cancer risk and frequency of mutations in the p53 gene, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 10, 1169-1173.
- Gulick, A.M., Fahl, W.E., 1995, Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy, *Pharmacology & Therapeutics*, 66, 237-257.
- Guo, M., Ni, J., Yu, J., Jin, J., Ma, L., Zhang, H., Wang, D., Zhang, X., Dou, J., Zhou, C., 2019, Antiviral activity of benzoic acid derivative NC-5 against influenza A virus and its neuraminidase inhibition, *International Journal of Molecular Sciences*, 20:6261.
- Gürdöl, F., Ademoğlu, E., 2006, *Biyokimya*, 1.Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974, Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- Hames, D., Hooper, N., 2006, *Biochemistry*, Third Edition, Owen, E. (Ed.), ISBN: 0-4153-6778-6.
- Hayes, J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R., 2005, Glutathione transferases, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 51-88.

- Hayes, J.D., Pulford, D.J., 1995, The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 30, 445-520.
- Heimler, D., Isolani, L., Vignolini, P., Tombelli, S., Romani, A., 2007, Polyphenol content and antioxidative activity in some species of freshly consumed salads, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1724–1729.
- Hemingway, R.W., 1998, Practical polyphenolics from structure to molecular recognition and physiological action (by Edwin Haslam), *Journal of Natural Products*, 61, 1454-1455.
- Hettihewa, S.K., Hemar, Y., Vasantha Rupasinghe, H.P., 2018, Flavonoid-rich extract of *Actinidia macrosperma* (a wild kiwifruit) inhibits angiotensin-converting enzyme in vitro, *Foods (Basel, Switzerland)*, 7:146.
- Hou, J.J., Wang, L.Y., Wu, D.J., 2018, The root of *Actinidia chinensis* inhibits hepatocellular carcinomas cells through LAMB3, *Cell Biology and Toxicology*, 34, 321-332.
- Hsiao, Y.H., Hsieh, M.J., Yang, S.F., Chen, S.P., Tsai, W.C., Chen, P.N., 2019, Phloretin suppresses metastasis by targeting protease and inhibits cancer stemness and angiogenesis in human cervical cancer cells, *Phytomedicine*, 62:152964.
- Hsing, A.W., Chokkalingam, A.P., Gao, Y.T., Madigan, M., Deng, J., Gridley, G., Fraumeni, J.F., 2002, Allium vegetables and risk of prostate cancer: A population- based study, *Journal of the National Cancer Institute*, 94, 1648-1651.
- Huang, J., Smith, F., Panizzi, J.R., Goodwin, D.C., Panizzi, P., 2015, Inactivation of myeloperoxidase by benzoic acid hydrazide, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 570, 14-22.
- Hussey, A.J., Hayes, J.D., 1992, Characterization of a human class theta glutathione S-transferase with activity towards 1-menaphthyl sulphate, *The Biochemical Journal*, 286, 929-935.
- Ishikawa, T., 1992, The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump, *Trends in Biochemical Sciences*, 17, 463-468.
- Işık, M., Demir, Y., Kırıcı, M., Demir, R., Şimşek, F., Beydemir, Ş., 2015, Changes in the anti-oxidant system in adult epilepsy patients receiving anti-epileptic drugs, *Archives of Physiology and Biochemistry*, 121, 97-102.
- Jakopic, J., Weber, N., Cunja, V., Veberic, R., Slatnar, A., 2016, Brussels sprout decapitation yields larger sprouts of superior quality, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 7459-7465.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M., 2006, *Biyokimya*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, ISBN: 975-591-131-6.

- Kapusta-Duch, J., Kopeć, A., Piatkowska, E., Borczak, B., Leszczyńska, T., 2012, The Beneficial effects of Brassica vegetables on human health, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 63, 389–395.
- Karami, S., Boffetta, P., Rothman, N., Hung, R.J., Stewart, T., Zaridze, D., Natritalova, M., Mates, D., Janout, V., Kollarova, H., Bencko, V., Szeszenia-Dabrowska, N., Holcatova, I., Mukeria, A., Gromiec, J., Chanock, S.J., Brennan, P., Chow, W.H., Moore, L.E., 2008, Renal cell carcinoma, occupational pesticide exposure and modification by glutathione S-transferase polymorphisms, *Carcinogenesis*, 29, 1567-1571.
- Kaufman D.W., Kelly J.P., Rosenberg L., Anderson, T.E., Mitchell, A.A., 2002, Recent patterns of medication use in the ambulatory adult population of the United States: the Slone survey, *JAMA*, 287, 337-344.
- Keha, E., Küfrevioğlu, İ., 2018, *Biyokimya*, 12. Baskı, Aktif Yayınevi, Erzurum, ISBN: 975-6755-20-02.
- Khwairakpam, A.D., Bordoloi, D., Thakuri, K.K., Monisha, J., Arfuso, F., Sethi, G., Mishra, S., Kumar, A.P., Kunnumakkara, A.B., 2018, Possible use of *Punica granatum* (Pomegranate) in cancer therapy, *Pharmacological Research*, 133, 53-64.
- Kim, U., Kim, C.Y., Lee, J.M., Oh, H., Ryu, B., Kim, J., Park, J.H., 2020, Phloretin inhibits the human prostate cancer cells through the generation of reactive oxygen species, *Pathology & Oncology Research*, 26, 977-984.
- Konukoğlu, D., Akçay T., 1995, Glutatyon metabolizması ve klinik önemi, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 15, 214-218.
- Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M. Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., Etherton, T.D., 2002, Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer, *The American Journal of Medicine*, 113, 71S-88S.
- Laborde, E., 2010, Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death, *Cell Death and Differentiation*, 17, 1373-1380.
- Landi, S., 2000, Mammalian class theta GST and differential susceptibility to corcinogens: a review, *Mutation Research*, 463, 247-283.
- Lee, Y.S., Yang, W.K., Kim, H.Y., Min, B., Caturla, N., Jones, J., Park, Y.C., Lee, Y.C., Kim, S.H., 2018, Metabolaid ® Combination of lemon verbena and hibiscus flower extract prevents high-fat diet-induced obesity through AMP-activated protein kinase activation, *Nutrients*, 10:1204.
- Li, J., Long, J., Hu, Y., Tan, A., Guo, X., Zhang, S., 2012, Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and thyroid cancer risk: A meta-analysis, *Cancer Epidemiology*, 36, e333-e340.
- Lima, M.M., Oliveira, M.N.L., Granja, F., Trindade, A.C.G., De Castro Santos, L.E.M., Ward, L.S., 2008, Lack of association of GSTT1, GSTM1, GSTO1, GSTP1 and CYP1A1

- polymorphisms for susceptibility and outcome in Brazilian prostate cancer patients, *Folia Biologica (Praha)*, 54, 102-108.
- Liska, D.J., 1998, The detoxification enzyme systems, *Alternative Medicine Review*, 3, 187-193.
- Liu, G., Zhuang, L., Song, D., Lu, C., Xu, X., 2017, Isolation, purification, and identification of the main phenolic compounds from leaves of celery (*Apium graveolens* L. var. dulce Mill./Pers.), *Journal of Separation Science*, 40, 472-479.
- Ma, T.T., Sun, X.Y., Zhao, J.M., You, Y.L., Lei, Y.S., Gao, G.T., Zhan, J., 2017, Nutrient compositions and antioxidant capacity of kiwifruit (*Actinidia*) and their relationship with flesh color and commercial value, *Food Chemistry*, 218, 294–304.
- Mahajan, S., Atkins, W.M., 2005, The chemistry and biology of inhibitors and pro-drugs targeted to glutathione S-transferases, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 1221-1233.
- Mahmoud, A.M., Hernández Bautista, R.J., Sandhu, M.A., Hussein, O.E., 2019, Beneficial effects of citrus flavonoids on cardiovascular and metabolic health, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019:5484138.
- Mannervik, B., Alin, P., Guthenberg, C., Jensson, H., Tahir, M.K., Warholm, M., Jörnvall, H., 1985; Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82, 7202-7206.
- Mannervik, B., Danielson, U.H., 1988, Glutathione transferases - structure and catalytic activity, *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 23, 283-337.
- Mannervik, B., Board, P.G., Hayes, J.D., Listowsky, I., Pearson, W.R., 2005, Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases, *Methods in Enzymology*, 401, 1-8.
- Marie, J.P., Legrand, O., 2003, Drug resistance in acute leukaemia and reversion, *Turkish Journal of Medical Sciences*, 33, 271-279.
- Mendes, R.A., Silva, B.L.S.E., Takeara, R., Freitas, R.G., Brown, A., de Souza, G.L.C., 2018, Probing the antioxidant potential of phloretin and phlorizin through a computational investigation, *Journal of Molecular Modelling*, 24:101.
- Merzendorfer, H., 2014, *ABC transporters and their role in protecting insects from pesticides and their metabolites*, *Advances in Insect Physiology*, In: Cohen, E. (Ed.), 46: 1-72, ISSN: 0065-2806.
- Meyer, D.J., Coles, B., Pemble, S.E., Gilmore, K.S., Fraser, G.M., Ketterer, B., 1991, Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man, *The Biochemical Journal*, 274, 409-414.

- Milano, F., Mussi, F., Fornaciari, S., Altunoz, M., Forti, L., Arru, L., Buschini, A., 2019, Oxygen availability during growth modulates the phytochemical profile and the chemoprotective properties of spinach juice, *Biomolecules*, 9:53.
- Modén, O., Mannervik, B., 2014, Glutathione transferases in the bioactivation of azathioprine, *Advances in Cancer Research*, 122, 199-244.
- Milner, J.A., 2001, A historical perspective on garlic and cancer, *The Journal of Nutrition*, 131, 1027S-1031S.
- Moser, M.A., Chun, O.K., 2016, Vitamin C and heart health: A review based on findings from epidemiologic studies, *International Journal of Molecular Sciences*, 17:1328.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Ersoz, B., Dikmen, N., Menten, G., Özgünen, T., 1993, Harper'ın Biokimyası, Barış Kitapevi, ISBN: 978-975-953-311-3.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2016, *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*, 5.Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-355-139-3.
- Nepovím, A., Podlipná, R., Soudek, P., Schröder, P., Vanek, T., 2004, Effects of heavy metals and nitroaromatic compounds on horseradish glutathione S-transferase and peroxidase, *Chemosphere*, 57, 1007-1015.
- Nishida, K., Sugimoto, M., Ikeda, S., Kume, S., 2014, Effects of supplemental β -carotene on mucosal IgA induction in the jejunum and ileum of mice after weaning, *British Journal of Nutrition*, 111, 247–253.
- Ohno, S., Ohno, Y., Suzuki, N., Soma, G.I., Inoue, M., 2009, High-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy in the treatment of patients with advanced cancer, *Anticancer Research*, 29, 809-815.
- Oktay, S., Bayrak, G., Alev, B., Ipekci, H., Ustundag, U.V., Turkyilmaz, I.B., Pisiriciler, R., Emekli-Alturfan, E., Tunali-Akbay, T., Yanardag, R., Yarat, A., 2018, The effect of vitamin U on the lung tissue of pentylene-tetrazole-induced seizures in rats, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 391, 177-184.
- Oliveira, C., Bagetta, D., Cagide, F., Teixeira, J., Amorim, R., Silva, T., Garrido, J., Remião, F., Uriarte, E., Oliveira, P.J., Alcaro, S., Ortuso, F., Borges, F., 2019, Benzoic acid-derived nitrones: A new class of potential acetylcholinesterase inhibitors and neuroprotective agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 174, 116-129.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., 2006, *Enzimler*, İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara, 233-235.
- Orak, N., 2011, *Asetilkolinesteraz'ın bazı tıbbi bitkiler tarafından inhibisyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Oztay, F., Sacan, O., Kayalar, O., Bolkent, S., Ipci, Y., Kabasakal, L., Sener, G., Yanardag, R., 2015, Chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*) extract improved hyperglycemia-induced oxidative

- stress and surfactant-associated protein alterations in rat lungs, *Pharmaceutical Biology*, 53, 1639-1646.
- Oztay, F., Tunali, S., Kayalar, O., Yanardag, R., 2020, The protective effect of vitamin U on valproic acid-induced lung toxicity in rats via amelioration of oxidative stress, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34: e22602.
- Özaydın, A., 2000, *Glutasyon-S-transferaz GSTM1 VE GSTT1 polimorfizmlerin glutasyonla ilişkili detoksifikasyon sistemlerine etkisi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Papunidze, G., Kalandiya, A., Papunidze, S., Vanidze, M., 2001, Kiwifruit chemical composition, *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 164, 544–546.
- Park, S., 2013, The effects of high concentration of vitamin C on cancer cells, *Nutrients*, 5, 3496-3505.
- Perbandt, M., Burmeister, C., Walter, R.D., Betzel, C., Liebau, E., 2004, Native and inhibited structure of a Mu class-related glutathione S-transferase from *Plasmodium falciparum*, *Journal of Biological Chemistry*, 279, 1336-1342.
- Podsędek, A., 2007, Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review, *Journal of Food Science and Technology*, 40, 1-11.
- Popovic, M., Kaurinovic, B., Trivic, S., Mimica-Dukic, N., Bursac, M., 2006, Effect of celery (*Apium graveolens*) extracts on some bio- chemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride, *Phytotherapy Research: PTR*, 20, 531–537.
- Pourzand, A., Tajaddini, A., Pirouzpanah, S., Asghari-Jafarabadi, M., Samadi, N., Ostadrahimi, A.R., Sanaat, Z., 2016, Associations between dietary allium vegetables and risk of breast cancer: a hospital-based matched case-control study, *Journal of Breast Cancer*, 19, 292-300.
- Priecina, L., Karklina, D., 2014, Natural antioxidant changes in fresh and dried spices and vegetables, *International Journal Biological Veterinary Agricultural Food Engineering*, 8, 480–484.
- Pyo, Y., Lee, T., Logendra, L., Rosen, R.T., 2004, Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts, *Food Chemistry*, 85, 19–26.
- Rácz, I., Páldi, E., Szalai, G., Janda, T., Pál, M., Lásztity, D., 2008, S-methylmethionine reduces cell membrane damage in higher plants exposed to low-temperature stress, *Journal of Plant Physiology*, 165, 1483-1490.
- Raha, A., Tew, K.D., 1996, Glutathione S-transferases, *Cancer Treatment and Research*, 87, 83-122.
- Rao, A.V., Rao, L.G., 2007, Carotenoids and human health, *Pharmacological Research*, 55, 207–216.

- Rebbeck, T.R., 1997, Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 6, 733-743.
- Roberts, J.L., Moreau, R., 2016, Functional properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) phytochemicals and bioactives, *Food & Function*, 7, 3337-3353.
- Sacan, O., Yanardag, R., 2010, Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*), *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1275-1280.
- Salazar-López, N.J., Domínguez-Avila, J.A., Yahia, E.M., Belmonte-Herrera, B.H., Wall-Medrano, A., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G.A., 2020, Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds, *Food Research International*, 138:109774.
- Salim, A.S., 1992, Role of sulfhydryl-containing agents in the healing of erosive gastritis and chronic gastric ulceration in the rat, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81, 70-73.
- Saygılı, E.İ., 2004, *Mesane kanserli hastalarda metil guanin DNA metil transferaz aktivitesi, glutatyon S transferaz ve nitrik oksit'in önemi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Sellami, I.H., Bettaieb, I., Bourgou, S., Dahmani, R., Limam, F., Marzouk, B., 2012, Essential oil and aroma composition of leaves, stalks and roots of celery (*Apium graveolens* var. *dulce*) from Tunisia, *Journal of Essential Oil Research*, 24, 513-521.
- Sharma, P., McClees, S.F., Afaq, F., 2017, Pomegranate for prevention and treatment of cancer: An Update, *Molecules*, 22:177.
- Shivashri, C., Rajarajeshwari, T., Rajasekar, P., 2013, Hepatoprotective action of celery (*Apium graveolens*) leaves in acetaminophen-fed freshwater fish (*Pangasius sutchi*), *Fish Physiology and Biochemistry*, 39, 1057-1069.
- Silverman, D.T., Swanson, C.A., Gridley, G., Wacholder, S., Greenberg, R.S., Brown, L.M., Hayes, R.B., Swanson, G.M., Schoenberg, J.B., Pottern, L.M., Schwartz, A.G., Fraumeni Jr., J.F., Hoover, R.N., 1998, Dietary and nutritional factors and pancreatic cancer: a case-control study based on direct interviews, *Journal of the National Cancer Institute*, 90, 1710-1719.
- Simic, T., Savic-Radojevic, A., Pljesa-Ercegovac, M., Matic, M., Mimin-Oka, J., 2009, Glutathione S-transferases in kidney and urinary bladder tumors, *Nature Reviews Urology*, 6, 281-289.
- Sinanoğlu, G., 2013, *Kollajenaz enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Sokmen, B.B., Tunalı, S., Yanardag, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methyl methionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.

- Solomons, G.T.W., Fryhle, C.B., Okay, G., Yıldırım, Y., 2002, *Organik Kimya*, Literatür Yayıncılık, ISBN: 975-8431-87-0.
- Sorice, A., Guerriero, E., Capone, F., Colonna, G., Castello, G., Costantini, S., 2014, Ascorbic acid: its role in immune system and chronic inflammation diseases, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 14, 444-452.
- Sun, L. F., Li, X. F., Li, G., Dai, B., Tan, W., 2017, Actinidia chinensis Planch. improves the indices of antioxidant and anti-inflammation status of type 2 diabetes mellitus by activating keap1 and nrf2 via the upregulation of microRNA-424, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017:7038789.
- Tekman, S., Öner, N., 1998, *Genel Biokimya Dersleri*, Emek Matbaacılık, İstanbul.
- Temel, Y., Bozkuş, T., Karagözoğlu, Y., Çiftci, M., 2017; Glutatyon redüktaz (GR) enziminin japon bıldırcın (*Coturnix coturnix japonica*) eritrositlerinden saflaştırılması ve karakterizasyonu, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7, 143-150.
- Tew, K.D., Houghton, J.A., Houghton, P.J., 1993, Preclinical and clinical modulation of anticancer drugs, Boca Raton, FL: CRC Press.
- Tew, K.D., 1994, Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance, *Cancer Research*, 54, 4313-4320.
- Thier, R., Brüning, T., Roos, P.H., Rihs, H.P., Golka, K., Ko, Y., Bolt, H.M., 2003, Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes, *The International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 206, 149-171.
- Townsend, D.M., Tew, K.D., 2003, The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance, *Oncogene*, 22, 7369-7375.
- Tozkoparan, B., Aytaç, S.P., 2007, Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon-S-transferazlar, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27, 139-164.
- Tremocoldi, M.A., Rosalen, P.L., Franchin, M., Massarioli, A.P., Denny, C., Daiuto, É.R., Paschoal, J.A.R., Melo, P.S., de Alencar, S.M., 2018, Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds, *PloS One*, 13:e0192577.
- Tsi, D., Das, N.P., Tan, B.K., 1995, Effects of aqueous celery (*Apium graveolens*) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet, *Planta Medica*, 61, 18-21.
- Tunali, S., Kahraman, S., Yanardag, R., 2015, Vitamin U, a novel free radical scavenger, prevents lens injury in rats administered with valproic acid, *Human and Experimental Toxicology*, 34, 904-910.
- Tunali, S., Cimen, E.S., Yanardag, R., 2020, The effects of chard on brain damage in valproic acid-induced toxicity, *Journal of Food Biochemistry*, e13382.

- Turella, P., Cerella, C., Filomeni, G., Bullo, A., De Maria, F., Ghibelli, L., Ciriolo, M.R., Cianfriglia, M., Mattei, M., Federici, G., Ricci, G., Caccuri, A.M., 2005, Proapoptotic activity of new glutathione S-transferase inhibitors, *Cancer Research*, 65, 3751-3761.
- Turkyilmaz, I.B., Yanardag, R., 2019, Protecting effect of vitamin U against amiodarone-induced hepatic damage via its antioxidative activity, *Bulgarian Chemical Communications*, 51, 20-24.
- Tüzün, C., 1997; *Biyokimya*, Üçüncü baskı, Palme Yayınları, Ankara, 124-125.
- U.S. Department of Agriculture, Nutrient Data Laboratory, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28, <http://www.ars.usda.gov/nea/bhnrc/ndl>. (Ziyaret Tarihi: 19.01.2021).
- Van Poppel, G., Verhoeven, D.T., Verhagen, H., Goldbohm, R.A., 1999, Brassica vegetables and cancer prevention. Epidemiology and mechanisms, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 472, 159-168.
- Varela-Rodríguez, L., Sánchez-Ramírez, B., Hernández-Ramírez, V.I., Varela-Rodríguez, H., Castellanos-Mijangos, R.D., González-Horta, C., Chávez-Munguía, B., Talamás-Rohana, P., 2020, Effect of gallic acid and myricetin on ovarian cancer models: a possible alternative antitumoral treatment, *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20:110.
- Verma, S., Singh, A., Mishra, A., 2013, Gallic acid: molecular rival of cancer, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35, 473-485.
- Visioli, F., Borsani, L., Gali, C., 2000, Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals, *Cardiovascular Research*, 47, 419-425.
- Vural, N., 2005, *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 71-81, ISBN: 975-482-289-1.
- Wang, Y., Zhao, C.L., Li, J.Y., Liang, Y.J., Yang, R.Q., Liu, J.Y., Ma, Z., Wu, L., 2018, Evaluation of biochemical components and antioxidant capacity of different kiwifruit (*Actinidia* spp.) genotypes grown in China, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32, 1-8.
- Wightman, E.L., 2017, Potential benefits of phytochemicals against Alzheimer's disease, *The Proceedings of Nutrition Society*, 76, 106-112.
- Wilce, M.C.J., Board, P.G., Feil, S.C., Parker, M.W., 1995, Crystal structure of a theta-class glutathione transferase, *The EMBO Journal*, 14, 2133-2143.
- Wu, B., Dong, D., 2012, Human cytosolic glutathione transferases: structure, function and drug discovery, *Trends in Pharmacological Sciences*, 33, 656-668.
- Yalçın Sever, C., 2020, Limon üretiminde 6. sıradayız, *Türk Tarım ve Orman Dergisi*, <http://www.turktarim.gov.tr/Haber/481/limon-uretiminde-6-siradayiz>, Ziyaret Tarihi: 19.01.2021.

- Yang, Z., Yu, Y., Yao, L., Li, G., Wang, L., Hu, Y., Wei, H., Wang, L., Hammami, R., Razavi, R., Zhong, Y., Liang, X., 2011, DetoxiProt: an integrated database for detoxification proteins, *BMC Genomics*, 12:S2.
- You, Q., Xu, J.P., Zhu, Z.X., Cai, Q.P., 2020, Phloretin flavonoid exhibits selective antiproliferative activity in doxorubicin-resistant gastric cancer cells by inducing autophagy, inhibiting cell migration and invasion, cell cycle arrest and targeting ERK1/2 MAP pathway, *Journal of the Balkan Union of Oncology*, 25, 308-313.
- Young A.M., Allen C.E., Audus K.L., 2003, Efflux transporters of the human placenta, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 125-132.
- Yu, S.J., Abo-Elghar, G.E., 2000, Allelochemicals as inhibitors of glutathione S-transferases in the fall armyworm, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68, 173-183.
- Yusni, Y., Zufry, H., Meutia, F., Sucipto, K.W., 2018, The effects of celery leaf (*Apium graveolens* L.) treatment on blood glucose and insulin levels in elderly pre-diabetics, *Saudi Medical Journal*, 39, 154–160.
- Zhao, G., Wang, X., 2006; Advance in antitumor agents targeting glutathione-S-transferase, *Current Medicinal Chemistry*, 13, 1461-1471.
- <https://www.brenda-enzymes.org>. Ziyaret Tarihi: 29.07.2021
- <https://www.monolib.net>. Ziyaret Tarihi: 29.07.2021
- <https://www.sigmaaldrich.com>. Ziyaret Tarihi: 29.07.2021
- <https://slidetodoc.com>. Ziyaret Tarihi: 29.07.2021

EKLER

]

