

**T.C.  
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİS-1,2,4-TRİAZOL TÜREVLERİNİN ANTİKANSER VE  
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Emine AKDEMİR**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Dr. Öğr. Üyesi Gülden KOÇAK**

**BİNGÖL -2019**



**T.C.**  
**BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİS-1,2,4-TRIAZOL TÜREVLERİNİN ANTİKANSER VE ANTİMİKROBİYAL  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Öğr. Üyesi Gülden KOÇAK** danışmanlığında, **Emine AKDEMİR** tarafından hazırlanan bu çalışma **05/09/2019** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ** Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Dr. Öğr. Üyesi Gülden KOÇAK	İmza	:
Üye	: Doç.Dr. Üyesi Nevzat ESİM	İmza	:
Üye	: Doç.Dr. Üyesi Serhat KESER	İmza	:

**Yukarıdaki sonuç ;**

Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../..... tarih ve ...../..... nolu karar ile onaylanmıştır.

**Doç . Dr. ZAFER ŞİAR**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Bingöl Üniversitesi, Merkezi Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve çalışmanın her aşamasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyelerinden danışman hocam Sayın Dr.Öğr. Üyesi Gülden KOÇAK' a derin minnet ve şükranlarımı sunarım. Çalışmamızda kullandığımız 1,2,4-triazol türevlerinin temininde gerekli yardım ve kolaylığı sağlayan Prof. Dr. Ahmet ÇETİN'e antimikrobiyal çalışmamda katkı ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR' ve çalışmamın her aşamasında katkı ve desteklerini esirgemeyen Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümündeki Arş. Gör. Gökhan DERVİŞOĞLU ve Arş. Gör. Gürkan AYKUTOĞLU' na tüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak sürekli yanımda olan aileme ve ayrıca Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne teşekkürlerimi bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISATMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Dünyada ve Türkiye’de Kanser .....	3
1.2. Prostat Kanseri .....	3
1.2.1. Prostat Kanseri Risk Faktörleri .....	4
1.2.2. Prostat Kanseri Genetiği .....	6
1.2.3. Prostat Kanseri Güncel Tedavi Yöntemleri .....	7
1.3. Kanserde Hücresel ve Moleküler Düzeyde Apoptoz Mekanizması .....	8
1.3.1. Apoptozda İntersik ve Ekstrinsik Yolaklar.....	10
1.3.2. Apoptozu Belirleme Yöntemleri .....	11
1.3.3. Apoptoz ve Kanser .....	13
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	15
2.1.Triazoller ve Biyolojik Etkileri .....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	18

3.1. Materyal .....	18
3.1.1. Cam ve Plastik Materyaller, Kimyasallar, Enzimler ve Kitler .....	18
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	19
3.1.3. Tampon Çözeltiler ve Solusyonlar .....	19
3.1.3.1. PC-3 Hücre Kültürü Büyüme Ortamı .....	19
3.1.3.2. Bakteri Büyüme Ortamı .....	20
3.1.4. Hücre Hatları .....	20
3.1.5. Bakteri Suşları.....	20
3.1.6. 1,2,4-triazol Türevleri .....	21
3.2. Metod .....	23
3.2.1. WST-1 Hücre Canlılık Testi .....	23
3.2.1.1. Hücre Hatlarının Sıvı Azottan Açılması ve Pasajlanması.....	23
3.2.1.2. Hücre Hatlarının Saklanması .....	23
3.2.1.3. Madde Ekstraktlarının PC-3 İçeren Plaklara Ekilmesi .....	23
3.2.1.4. Triazol Türevlerinin WST-1 Hücre Canlılık Testi.....	24
3.2.2. Apoptaz Caspase-3 Assay Kit[C].....	25
3.2.3 . Antimikrobiyal Etkinin İncelenmesi .....	25
3.3. İstatistiksel Analizler .....	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	26
4.1. PC-3 Hücre Hatları Üzerindeki Antikanser Etkilerinin Belirlenmesi .....	26
4.2. Antimikrobiyal Etkinin İncelenmesi .....	32
4.2.1. 4C no'lu Madde .....	32
4.2.2. 4B no'lu Madde .....	34
4.2.3. 3B no'lu Madde .....	35
4.2.4. 3C no'lu Madde .....	36
4.2.5. 2 no'lu Madde .....	37
4.3. Apoptoz-Kaspaz-3 Analizi.....	39
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	42
KAYNAKLAR .....	43

ÖZGEÇMİŞ .....	54
----------------	----

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

<b>4B</b>	: (piridin-2,5-diilbis(4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol)
<b>4C</b>	: (5,5'-piridin-2,5diilbis[4-(4-metoksifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol])
<b>3B</b>	: (2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-etilhidrazinkarbotiyoamit)
<b>3C</b>	: (2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-(p metoksifenil)hidrazinkarbotiyoamit)
<b>2</b>	: (piridin-2,5-dikarbahidrazit)
<b>DMSO</b>	: Dimetilsulfoksit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tartaasetik asit
<b>µM</b>	: Mikrolitre
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>DMEM</b>	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
<b>RPM</b>	: Revolutions Per Minute
<b>PBS</b>	: Phosphate Buffered Saline
<b>PC-3</b>	: Prostate Cancer Cells

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 1.	İnsan prostat kanser oluşum yolağı (Shen and Shen 2019.....	7
Şekil 1.2.	Apoptoza maruz kalan bir hücrede hücre ölümünün aşamaları [Altunkaynak ve Özbek 2008; <a href="http://ajprenal.physiology.org">http://ajprenal.physiology.org</a> ].....	8
Şekil 1.3.	Hücrede gerçekleşen apoptozun ardından oluşan apoptotik cisimlerin ışık mikroskopik görünümü. Oklar; hücre içerisinde görülen lipid damlacıklarını, ok başı; heterokromatik ve koyu eozinofil sitoplazmalı bir hücreyi, yıldız; apoptotik cisimleri işaret etmektedir (Özbek ve Özbek. 2003).....	9
Şekil 4.1.	PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 4C maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; *** P <0,001, ** P <0,01, ns P >0,05 (Student's two-tailed t-test).....	27
Şekil 4.2.	PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 4B maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; * P <0,05, ns P >0,05 (Student's two-tailed t-test).....	28
Şekil 4.3.	PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 2 maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; * P <0,05, ns P >0,05 (Student's two-tailed t-test).....	29
Şekil 4.4.	PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 3B maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; *** P <0,001, ** P <0,01, * P <0,05, ns P >0,05 (Student's two-tailed t-test). ....	30



- Şekil 4.5. PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 3C maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; \*\*\* P <0,001, \* P <0,05, ns P >0,05 (Student's two-tailed t-test). ..... 31
- Şekil 4.6. PC-3 hücre hattında 4B,4C,3B,3C,2 maddelerinin apoptotik etkilerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; \*\*\* P <0,001, (Student's two-tailed t-test). ..... 39

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.	Kimyasallar, enzimler ve kitler ile sağlayıcıları.....	18
Tablo 4.1.	4C Bileşğinin farklı bakteri türlerine karşı disk difuzyon duyarlılık testi sonuçları.....	34
Tablo 4.2.	4B Bileşğinin farklı bakteri türlerine karşı disk difuzyon duyarlılık testi sonuçları.....	35
Tablo 4.3.	3B Bileşğinin farklı bakteri türlerine karşı disk difuzyon duyarlılık testi sonuçları.....	36
Tablo 4.4.	3C Bileşğinin farklı bakteri türlerine karşı disk difuzyon duyarlılık testi sonuçları.....	37
Tablo 4.5.	2 Bileşğinin farklı bakteri türlerine karşı disk difuzyon duyarlılık testi sonuçları .....	38

## BİS-1,2,4-TRIAZOL TÜREVLERİNİN ANTİKANSER VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

Bu çalışmada daha önce antioksidan kapasiteleri ortaya konulmuş bazı sentezlenmiş bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin *in vitro* ortamda prostat kanser hücre hattı-3 (PC-3) üzerindeki antikanser, antiapoptotik ve antibakteriyel etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmamızda 5 farklı 1,2,4-triazol türevleri maddenin ön denemeler sonucunda belirlenen konsantrasyon değerlerine göre PC-3 hücre kültürlerinde WST-1 yöntemi kullanılarak sitotoksik aktivite değerleri ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda 4C (5,5'-piridin-2,5-diilbis[4-(4-metoksifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol]), 4B (piridin-2,5-diilbis(4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol), 2 (piridin-2,5-dikarbahidrazit), 3B (2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-etilhidrazinkarbotiyoamit), 3C (2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil) bis (N-(p-metoksifenil)hidrazinkarbotiyoamit) maddeleri karşılaştırıldığında artan konsantrasyonlara bağlı olarak canlı kanser hücre sayısının giderek azaldığı görülmüştür. En yüksek sitotoksik etkinin 500 µM konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Antibakteriyel çalışmada ise maddelerinin gram pozitif üzerinde daha fazla etkili olduğu görülmektedir. Apoptotik indeks oranlarına bakıldığında ise en düşük apoptotik indeks oranı 4B maddesi uygulandığında en yüksek apoptotik indeks oranı 3C maddesi uygulandığında tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** : PC-3, hidrazinkarbotiyoamit, triazol, antikanser, antiapoptotik, antibakteriyel etkileri.

## INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTICANCER EFFECTS OF BIS-1,2,4-TRIAZOL DERIVATIVES

### ABSTRACT

The aim of this thesis is to find out the anticancer activities on the PC-3 prostate cell lines, antiapoptotic and antibacterial effects of some synthesized and their bis-hydrazinecarbothioamide bis-1,2,4-triazole derivatives that antioxidant capacities were recorded before. In this study cytotoxic values of 5 different compounds were presented on PC-3 cell lines by WS-1 method. According to the results of cytotoxic studies cell numbers decreased by the concentration of 4C (5,5'-piridin-2,5-diilbis[4-(4-metoksifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol]), 4B (piridin-2,5-diilbis (4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol), 2 (piridin-2,5-dikarbahidrazit), 3B (2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil) bis (N-etilhidrazin karbotiyoamit), 3C (2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-(p-metoksifenil) hidrazin karbotiyoamit) compounds. The maximum cytotoxic effect was found on 500  $\mu$ M concentration. The results of the antibacterial tests showed that all compounds used in this study are more effective on gram positive bacteria. As a result of antiapoptotic activity studies the lowest index was found on 4B and the highest index was found on 3C compounds.

**Keywords:** PC-3, triazole, Hydrazinecarbothioamide, anticancer, antiapoptotic, antibacterial effects.

## 1. GİRİŞ

Kanser dünyada hızla çoğalan bir sağlık problemidir. Dünyadaki ölümlerin %13'ü kanserden kaynaklanmaktadır. Ülkemizde ise kanser görülme sıklığının her 100 bin kişide 229 olduğu açıklanmıştır (Arıca vd. 2011).

Kanser gelişimine neden olan faktörler arasında sigara dumanı ve katranında bulunan kimyasal ve karsinojenik ajanlar, radyasyon ve güneş ışığından gelen zararlı ultraviyole ışınlar ve ağır metallerdir. Bu zararlı faktörlere ek olarak; vitaminler, mineraller ve antioksidan molekülleri içeren gıdaların yetersiz tüketilmesi ile hücrelerin zararlı moleküllere ve serbest radikallere karşı koruyucu savunma mekanizmalarının zayıflaması da hücre hasarının artmasına yol açmakta ve böylece kanser gelişimini tetiklemektedir (Dönmez vd. 2010; Doll and Peto 1981).

Prostat kanseri erkek genital sisteminde ortaya çıkan ve erkeklerde sıklıkla rastlanan bir kanser türüdür. Erken tanı konulmadığı ve tedavi edilmediği takdirde lenf ve kan damar yollarıyla çevresindeki kemiklere ve lenf düğümlerine hatta akciğer, karaciğer ve diğer organlara yayılır. Prostat kanseri dünya genelinde ve ülkemizde erkeklerde en sık görülen kanser tiplerinden birisidir. Nedenleri arasında hormonlar, yaş, genetik ve ailesel faktörler ile çevresel faktörler sayılabilir (Botswick et al. 2004; Shen and Shen 2019).

Kanser tedavisinde kullanılan yöntemler kemoterapi, radyoterapi, cerrahi tedavi ve hormon terapisi. Bu tedavi yöntemleri hastalarda ağır yan etkiler gösterdiği için ve tedavi sonucunun başarı olasılığının düşük olması nedeniyle başka yöntemlere arayışların arttığı görülmektedir (Tekin vd. 2012). Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların çoğunun etken maddesi doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Bu doğal kaynaklar, insanlık tarihinin çok eski dönemlerinden beri hem hastalıkların tedavisinde hem de hastalıklara karşı korunmada önemli bir role sahiptir. Dolayısıyla dünyada doğal yaşam, sağlıklı ve

uzun yaşama isteğine paralel olarak tıbbi bitkisel ürünlerin, bitkisel ilaçların kullanımı gittikçe önem kazanmıştır.

PC-3 insan prostat kanser hücre hattı, prostat kanser araştırmalarında kullanılan bir hücre hattıdır. Bu hücreler prostat kanser hücrelerindeki biyokimyasal değişimleri çalışmak ve kemoterapik ajanları uygulamak için oldukça elverişlidir. Ayrıca bu hücrelerin deney hayvan çalışmalarında model kanser oluşturmada da kullanılabilirliği vardır. PC-3 hücrelerinin metastatik etkilerinin de fazla olması hücre göçü çalışmalarında kullanılmasına olanak sağlar.

Triazoller heteroatom karbon ve hidrojen dışında atom içeren halkalı bileşiklerdir. Günümüzde; antioksidant, antimikrobiyal ve antikanser özelliklerine sahip polifonksiyonel ve heteroatom ihtiva eden halkalı bileşiklerin sentezi önemli olup; biyokimya, tıp ve eczacılık gibi çok önemli disiplinlerde kullanım alanı bulabilmektedir. Son yıllarda 1,2,4-triazollerin heterosiklik türevleri üzerindeki çalışmalar biyolojik öneminden dolayı giderek artmaktadır. 1,2,4-triazol bileşiklerinin antitümör, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuar, antitüberküloz, antikonvüsan, diüretik, antitüberküler ve platelet agregasyonunu inhibe edici etkileri olduğu bilinmektedir (Lewenstein 1954; Doub 1958; Shah 1969; Gall 1976; Bonjean 1987; Reader 1987; Tantwy 1988; Rusinov 1990; Al Nakib 1994).

Bu çalışmada ilk defa, aşağıda açık moleküler formülleri metot ve materyal kısmında sunulmuş olan ve daha önce antioksidan kapasiteleri ortaya konulmuş bazı sentezlenmiş bis-hidrazinkarbotiyoamid türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin in *vitro* ortamda prostat kanser hücre hattı PC-3 üzerindeki antikanser, antiapoptotik ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 1.1. Dünyada ve Türkiye’de Kanser

Global istatistik verilerine göre dünya çapında 2012 yılında toplam 14.1 milyon yeni kanser vakası gelişmiştir ve kanserden ölen kişi sayısı 8.2 milyondur. 2015 yılında ise 8.8 milyon kansere bağlı ölüm gerçekleşmiştir. Az gelişmiş ülkelerde akciğer ve meme kanseri sırasıyla erkeklerde ve kadınlarda en fazla görülen kanser tipleri olmuştur. Gelişmiş ülkelerde ise erkeklerde en fazla prostat, kadınlarda en fazla akciğer kanserlerine rastlanmıştır. Dünya çapında görülen diğer en sık kanser tipleri ise erkeklerde, karaciğer, mide ve kolorektum iken kadınlarda, mide, serviks ve kolorektum olarak sıralanmıştır (Torre et al. 2015). Az gelişmiş düşük gelirli ülkelerde gelişmiş ülkelere kıyasla daha yaygın görülen enfeksiyonlara bağlı olarak karaciğer, mide ve serviks kanser tipleri daha fazla ortaya çıkmaktadır (de Martel et al. 2012).

Türkiye’de ise Kanser Daire Başkanlığı 2018 verilerine göre erkeklerde sırasıyla en sık görülen kanser tipleri, akciğer, prostat, kolorektal, mesane ve mide olurken kadınlarda, sırasıyla, meme, tiroid, kolorektal,7 uterus ve akciğer olmuştur.

## 1.2. Prostat Kanseri

Prostat kanseri dünya genelinde erkeklerde en sık görülen kanser tiplerinden birisidir. 2018 GLOBOCAN verilerine göre prostat kanseri dünya genelinde erkekler arasında en sık ikinci görülen kanser tipi iken kansere bağlı ölümlerde beşinci sırada bulunmaktadır (Torre et al. 2018).

0-39 yaş erkeklerde rastlanma olasılığı %0,01, 40-59 yaş erkeklerde %2.58 ve 60-79 yaş erkeklerde %14,7 olarak tespit edilmiştir (Jemal et al. 2005). Ortaya çıkmasında ırk ve etnik kökenlerin etkisi bulunmaktadır. Buna göre Hindistan’da her 100,000 kişinin 4.4 ünde, ABD ’de ise her 100,000 kişinin 118,2 sinde ortaya çıkmaktadır (Kimura and Egawa 2018). Güncel çalışmalar prostat kanser görülme ortalamasının pek çok Asya ülkesinde arttığını göstermektedir (Kimura et al. 2016). İstatistiki verilere göre görülme sıklığının arttığı Asya ülkeleri arasında, Japonya (Baade et al. 2013), Kore (Hann et al. 2015),Türkiye (Zorlu vd. 2014), Endonezya (Umbas et al. 2015),İran (Moradpour and

Fatemi 2013),Filipinler (Baade et al. 2013),Tayland (Baade et al. 2013),Çin (Chen et al. 2015),Pakistan (Bhurgri et al.2009).

Hindistan (Hariharan and Padmanabha 2016) ve Vietnam (Van Dong et al. 2014) bulunmaktadır. Malezya'da 2001'den 2011'e kadar herhangi bir artış gözlenmezken (MNCR, 2007-2011), Bahreyn'de 1998'den 2011 yılına kadar düşüş gözlenmiştir (Al Awadhi et al. 2016).

### **1.2.1. Prostat Kanseri Risk Faktörleri**

Prostat kanserine yol açan genel faktörler arasında, yaş ve oksidatif stres, çevresel faktörler, hormonlar, diyet, ırk, ailesel kalıtım ve genetik faktörler sayılabilir (Bostwick et al. 2004; Shen and Shen 2019). Risk faktörleri endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılabilir. Endojen kaynaklar aile geçmişi, hormonlar, ırk, yaş ve oksidatif stres gibi faktörlerini, eksojen kaynaklar ise diyet, çevresel ajanlar ve meslek gibi risk faktörlerini içerir. (Bostwick et al. 2004).

Prostat kanserinin ailesel kalıtımıyla ilgili ilk bilgiler 1956 yılında Morgan ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Morgan et al. 1956). Ancak ilk kez 1992 yılında gerçekleştirilen bir çalışma ile kalıtım mekanizması açıklanmıştır (Carter et al. 1992). Bu çalışmada 691 lokalize prostat kanser hasta ile çalışılmış ve prostat kanser yapılan testlerin sonuçlarına göre durumlarının %9'u ailesel yüksek riskli allellerden kaynaklanmaktadır. Bu allellerin 85 yaşına kadar penetransı %88 olarak hesaplanmıştır (Carter et al. 1992).

Birçok önemli biyolojik data androgenlerin prostat kanser gelişimindeki önemine işaret etmektedir. Örneğin bazı yapılan çalışmalarda anti-androjen terapilerin ve testosteron uygulamalarının laboratuvar hayvanlarında prostat kanserinin gelişimine neden olduğu gösterilmiştir (Noble 1977; Richie 1999). Hormon seviyelerindeki değişiklik hem endojenik (genetik) hem de ekzojenik (çevresel kimyasal maddeler) kaynaklardan etkilenebilir (Bostwick et al. 2004).



Dünyada Afrikalı-Amerikalı zencilerde prostat kanser görülme sıklığı beyaz Amerikalılara göre daha fazladır (Wynder et al. 1991). Genetik yatkınlık, mikrosatelitlerin androjen reseptör lokuslarındaki allel frekansları, polimorfik varyasyonlar, sosyoekonomik faktörler ve tıbbi bakıma ulaşım gibi faktörlerin yanı sıra diyet ve ırklar arasındaki vücut kompozisyon değişiminin de bu farklılığa katkı sağladığı düşünülmektedir (Tarman et al. 2000; Bostwick et al. 2004; Amling et al. 2004).

Farklı insan dokularındaki birçok insan hücre hatlarında yapılan çalışmalarda yüksek seviyelerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) bulunduğu tespit edilmiştir (Szatrowski and Nathan 1991; Toyokuni et al. 1995). Oksidatif stres kanser hücrelerinde ve tümör dokularında hücre çoğalması, mutasyonların birikmesi, genetik kararsızlık, invazyon ve metastaza yol açtığı düşünülmektedir (Toyokuni et al. 1995; Pelicano et al. 2004). Hücre içesindeki ROS seviyesinin normal seviyelerde olması redoks balansının korunmasında ve hücre sel sinyal iletiminin sağlıklı gerçekleşmesinde oldukça önemlidir (McCord 1995; Martin and Barrett 2002). Oksidatif stres ve prostat kanser riski arasındaki bağlantı son zamanlarda daha net bir şekilde ortaya konmuştur. ROS un ana kaynağı mitokondridir ve prostat kanser gelişiminde değişmiş mitokondriyal bioenerjinin önemi olduğu vurgulanmaktadır (Kumar et al. 2008) Klinik çalışmalar selenyum, tokoferol (vitamin E) ve likopen (karotenoid) alımının prostat kanserine karşı koruduğunu belirtmektedir (Botswick et al. 2004).

Ekolojik çalışmalar prostat kanserinin batılı yaşam tarzı ile bağlantılı olabileceğini ve özellikle yüksek miktarda yağ, kırmızı et ve hayvansal ürünlerle beslenmeyle ilişkisini ortaya koymuşlardır (Armstrong 1975; Hayes et al. 1999). Kırmızı et tüketiminde etin miktarından çok pişirilme şeklinin önemli olduğu ve yüksek ısıda pişirilen etlerin kanserojen etki gösterdiği tespit edilmiştir (Augustsson et al. 1999). Özellikle Asya'da prostat kanserinin daha az görülmesinin nedenlerinden bir tanesi de beslenme şekilleridir. Yüksek miktarda soya fasulyesi içeren diyetler aynı zamanda prostat kanserine karşı koruculuğu olan fitoöstrojen ve özellikle flavonoidler bakımından da zengindir (Severson et al. 1989; Strom et al. 1999; Kolonel et al. 2000; Stattin et al. 2002). Domateste bulunan likopen antioksidan özellikte bir karotenoid olup prostat kanserine karşı koruyucu özellik göstermektedir (Giovannucci et al. 2002). Mikrobeyinlerden selenyum ve E vitamininin

prostat da dahil olmak üzere çeşitli tümör gruplarına yakalanma riskini düşürdüğü farklı çalışmalarla gösterilmiştir (Heinonen et al. 1998).

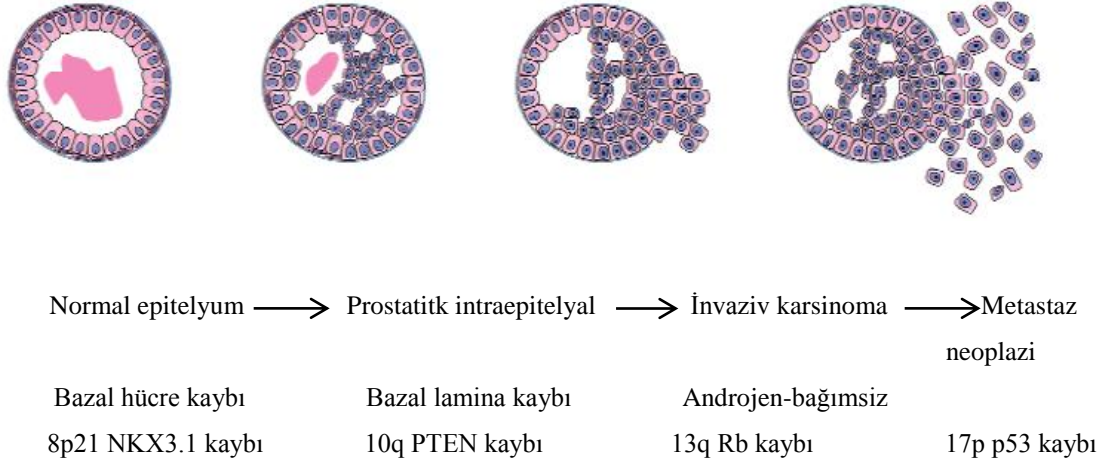
Prostat kanserini tetikleyen çevresel faktörler sınıflarından bir tanesi endokrin bozan kimyasallardır (EDC). EDC'ler doğal veya sentetik kimyasal maddeler olmakla beraber pozitif veya negatif şekilde hormonların etkilerini değiştirirler. Bunlar arasında bazıları östrojen agonisti gibi hareket ederken bazıları örneğin, vinclozolin bir androjen antagonistidir ve androjen reseptörüne bağlanarak bazı hormonal genlerin ekspresyonunu azaltır (Euling and Kimmel 2001; DiVall 2013).

Çeşitli iş alanlarında çalışan insanlarda prostat kanserine yakalanma oranının arttığı farklı çalışmalar ile analiz edilmiştir. Özellikle metal kaplama ve fotoğrafik film geliştirme endüstrisinde çalışan erkeklerde riskin arttığı tespit edilmiştir (Ross et al. 1983). Yine otomotiv sektöründe makine yağlarına maruz kalan kişilerde (Tolbert et al. 1992), özellikle hayvancılıkla uğraşan, zootonik ve virüslerle çeşitli kimyasallara maruz kalan kişilerde riskin arttığı görülmüştür (Keller-Byrne et al. 1997).

### **1.2.2. Prostat Kanseri Genetiği**

Germline mutasyonları 55 yaş altı erkeklerde prostat kanserlerinin %45 ini oluşturmaktadır. Prostat kanserinin ailesel kalıtımın genetiği tam olarak anlaşılmamıştır fakat bağlantı haritalarında bu hastalıkla ilgili 1q42.2-43, 1p36, Xq11, Xq27-28, 20q13 ve 11p gibi çeşitli kromozomal bölgeler aydınlatılmıştır (Berthon et al. 1998; Xu et al. 1998; Gibbs et al. 1999; Smith et al. 1999; Gibbs et al. 2000; Berry et al. 2000; Riley and Krieger 2001; Zhang et al. 2003). Pienta vd. çalışmaları sonucu prostat kanseri gelişimi sırasında oluşan somatik mutasyonlar için bir model oluşturulmuştur. Bu modele göre; normal prostat epitelyum lokalize prostat kanser oluşumuna doğru ilerler, daha sonra metastatik prostat kanserine dönüşür ve en son olarak androjen-bağımsız kanser oluşur. Bu olaylar sırasında, metilasyon değişiklikleri gözlemlenir, glutatyon-S-transferaz pi gen bölgesi kaybolur, androjen reseptörlerinde CAG tekrarlarında değişiklikler gerçekleşir. Kromozom 16q, Rb (hücre döngüsü regülatörü) ve KAI (integral membran proteini) kaybı ile p53 (transkripsiyon/apoptotik regülatörü) inaktivasyonu ve farklılaşmış E-

kaderin ekspresyonu sonucu metastatik hücreler oluşur (Pienta et al. 1996). Prostat tümörlerinde tümör baskılayıcı protein tirozin fosfataz PTEN, homeodomain transkripsiyon faktörü NKX3.1 ve transkripsiyon faktörü TSG101'de sıklıkla mutasyonlar görülür (Li et al. 1997; Sun et al. 1997; Bhatia-Gaur et al. 1999).



Şekil 1.1. İnsan prostat kanser oluşum yolağı (Shen and Shen 2019)

### 1.2.3. Prostat Kanseri Güncel Tedavi Yöntemleri

Prostat kanserinin kesin tanısını koymak için total prostat spesifik antijen (PSA) düzeyine bakılmakla beraber, rektal muayene ve biyopsi yapılmaktadır. Klinik olarak prostat kanseri, lokal prostat kanseri, lokal ileri evre prostat kanseri ve metastatik prostat kanseri olmak üzere üç gruba ayrılır (Kozacıoğlu ve Günlüsoy 2012). Tedavi yöntem ve seçenekleri hastalığın risk faktörlerine göre değişmektedir. Düşük riskli hastalarda aktif izlem, radikal prostatektomi, eksternal radyoterapi veya brakiterapi ve bekle gör; orta ve yüksek riskli ve lokal ileri evre hastalarda, radikal prostatektomi ile birlikte pelvik lenf nodu diseksiyonu veya eksternal radyoterapi ile birlikte adjuvant hormonal tedavi uygulanmaktadır. Metastatik prostat kanser tedavisinde ise, androjen baskılama tedavisi, LHRH agonistleri, LHRH antagonistleri veya antiandrojenler uygulanmaktadır (Sağlık Bakanlığı prostat kanseri klinik protokolü 2017).

### 1.3. Kanserde Hücresel ve Moleküler Düzeyde Apoptoz Mekanizması

Organizmada hücre ölümünün iki tipi vardır: Bunlar nekroz ve apoptozdur (Thompson 1995; Ameisen 1996). Nekroz, hücre şişmesi ve hızlı dejenerasyon olarak tanımlanır. Nekroz mekanizmasında dışarıdan fiziksel ve kimyasal uyarılar (ısı, yanma, toksik maddeler) sonucu hücrenin iyon dengesi bozulur ve DNA tamirinden sorumlu nükleer enzim olan PARP (Poli ADP-riboz polimeraz) enzimi NAD kaybına neden olur. Bu durumda gerçekleşen ATP eksikliği, iyon pompası yetersizliğine yol açar. Böylece hücre sıvı alır ve organeller şişer. Bunun sonucunda ise plazma membran bütünlüğü bozulur ve osmotik basınç nedeni ile hücre patlar. Hücre ölümünü takiben hücre içeriğinin hücreler arası boşluğa salınması yangı (inflamasyon, iltihaplanma) olayına sebep olur. Bu olayın karakteristik özelliği makrofaj ve nötrofillerin nekrotik dokuya göç etmesidir. Göç eden bu hücreler nekrotik dokuyu fagosite eder. Bu nedenle enflamasyon nekrozun önemli bir işareti olarak görülmektedir (Golstein and Kroemer 2007; Nicotera et al. 2004).

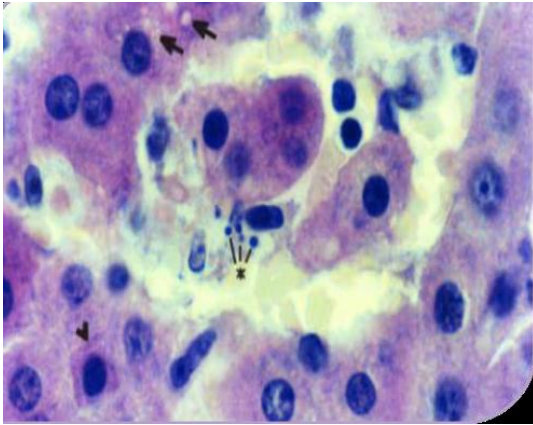
Apoptoz terimi ise ilk olarak Kerr et al. (1972) tarafından fizyolojik hücre ölümü olarak tanımlanmıştır (Kandaş 2004). Apoptoz mekanizması, normal gelişim sırasında ve olgun organizmadaki çeşitli hücre tiplerinin tahribi esnasında spesifik hücrelerin kaybindan sorumludur. Apoptotik hücre sayısı kişinin ya da organizmanın sağlıklı ya da hasta oluşunu belirlediği için apoptozun mekanizmaları hücrede denge unsuru olmaktadır (Kwon et al. 2006). Çok hücreli organizmalarda, hücredeki genetik hasarın bloke edilmesi ya da hücrenin tamamen yok edilmesi apoptoz ile gerçekleşir. Hasarın yayılması ve tümör oluşumu gibi olasılıklar engellenmiş olur. Apoptoz ani gerçekleşen hızlı bir olaydır. Apoptotik bir uyarı sonrasında önce hücre zarında değişimler meydana gelir ve bunun sonucunda hücre zarı degradasyona uğrayarak zamanla küçülür ve apoptotik cisimcikler oluşur (Altunkaynak ve Özbek 2008).



Şekil 1.2. Apoptozu maruz kalan bir hücrede hücre ölümünün aşamaları [Anonim 2008]

Apoptotik cismin oluşumuna kadar bütün apoptotik olaylar zinciri birkaç dakika sürer. Bununla birlikte apoptotik hücrelerin fagositozu için daha uzun bir zaman gerekir (Altunkaynak ve Özbek 2008).

Erken evre apoptozda hücreler yüzey organellerini kaybeder ve birbirleri ile olan birleşme bölgelerinden ayrılırlar. Birkaç dakika gibi çok kısa bir sürede hacimlerinin 1/3'ünü kaybederek büzülürler (Wyllie 1986). Sitoplazma membranında tomurcuklanma le birlikte hücre, apoptotik cisimciklere parçalanır (Öktem vd. 2001). Apoptotik cisimcikler çekirdekte bulunan kromatinin yoğunlaşp, DNA küçük parçalara ayrılması ve bu parçaların hücre zarı ile kaplanmasıyla oluşur (Kültürsay ve Kayıkcıoğlu 2002). Apoptotik hücrelerin plazma membranındaki değişiklikler ile fagositik hücreler uyarılır ve makrofajlar tarafından fagosite edilirler (Öktem vd. 2001; Karalezli ve Aladag 2016).



Şekil 1.3. Hücrede gerçekleşen apoptozun ardından oluşan apoptotik cisimlerin ışık mikroskopik görünümü. Oklar; hücre içerisinde görülen lipid damlacıklarını, ok başı; heterokromatik ve koyu eozinofil sitoplazmalı bir hücreyi, yıldız; apoptotik cisimleri işaret etmektedir (Özbek ve Özbek 2003).

Apoptozu düzenleyen proteinler iki sınıfa ayrılmıştır; anti-apoptotik olanlar (Bcl-2 ile ilgili proteinler; Bcl-xL, Bcl-w ve Ras, CED-9, p35, Mcl-1, c-Abl, Rb) ve pro-apoptotik olanlar (Bcl-2 ile ilgili proteinler; Bax, Bad, Bak, Bcl-xS ve p53, c-myc) (Karalezli ve Aladag 2016; Kaya vd. 2012).

Bcl-2 ile ilişkili protein ailesi büyük bölümü anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-xl) küçük bir kısmı ise pro-apoptotik (Bax, Bad, Bim) karakterdedir. Anti-apoptotik olanlar apoptozu

önlemeye çalışırlar (Gültekin vd. 2008). Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo ve hetero-dimerler oluştururlar ve pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerinin rölatif oranı hücrenin apoptoza girip girmeyeceğini belirlemede önemli rol oynar. Bcl-2/Bax oranının artması ya da azalması apoptozisin inhibisyonu veya aktivasyonu ile sonuçlanır (Kelten 2005).

Kaspazlar, zaman içerisinde oldukça korunmuş olup insanlardan böceklerle, nematodlardan hidralara kadar yaygın olarak bulunurlar (Budihardjo et al. 1999; Cikala et al. 1999). Geniş bir protein ailesi olup birbirlerine homoloji gösteren sistein proteazlardır, ölüm proteazları olarak da bilinirler (Alnemri 1996). İnsanlarda 15 farklı kaspaz tespit edilmiştir, bunlardan üçte ikisinin apoptozda görev aldığı düşünülmektedir (Thornberry and Lazebnik 1998; Earnshaw et al. 1999; Kaya vd. 2012). Substrat seçimlerine göre alt familyalara ayrılırlar. Tüm bilinen kaspazlar aktif bölgelerinde sistein taşırlar ve Asp-Xxx bağı koparırlar (Thornberry 1997). Kaspazlar öncelikle prokaspaz olarak sentezlenirler daha sonra kesilerek aktif enzim halini alırlar ve birbirlerini aktifleştirmek suretiyle proteolitik bir dalga yaratırlar (Öktem 2001; Karalezli ve Aladag 2016). Kaspazların substratları çok çeşitlidir ve 100'den fazla sayıda hedef proteini keserek apoptozda rol alırlar (Hengartner 2000). Kaspazlar işlevlerine göre üç alt gruba ayrılabilirler; başlatıcı (kaspaz 2, 8, 9, 10); efektör (kaspaz 3, 6, 7) ve inflamatuvar (kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) (Çoşkun ve Özgür 2011).

### **1.3.1. Apoptozda İntrensik ve Ekstrinsik Yolaklar**

Memeli hücrelerinde apoptoz, uyarıcıların orijinine bağlı olarak iç veya dış yolaklar ile sürdürülür (Riedl and Shi 2004). İntrensik yolak onkogen aktivitesi ve DNA'da meydana gelen hasar gibi hücre içerisinde meydana gelen uyaranlar aracılığı ile tetiklenir. İç yolaktaki inaktivasyon kanserin belirleyici özelliklerinden bir tanesidir (Hanahan and Weinberg 2000). İntriksik yolak mitokondri aracılığı ile gerçekleşir ve mitokondriden sitoplazmaya ilk aşamada sitokrom c, Smac/DIABLO (IAP inhibitörleri) ve OMI/HTRA-2 (kaspaz aktivatörü) salınır (Wang 2001; Riedl and Shi 2004). Bunlardan sitokrom c oldukça önemli bir protein olup sitoplazmada APAF1 (apoptotik proteaz aktive edici faktör) bağlanarak aktive eder. Bu bağlanma konformasyonel bir değişime sebep olur ve APAF1 ATP/dATP'ye bağlanır ve apoptozom oluşur ve kaspaz-9'in aktivasyonu sağlanır

(Li 1997; Rodriguez et al. 1999; Jiang and Wang 2000). İkinci aşamada mitokondriden AIF (apoptoz indükleyici faktör), EndoG (endonükleaz G), ve CAD (kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz) salınır. AIF ve EndoG kaspaz bağımsız hareket eder ve AIF çekirdek içerisindeki kromatinin yoğunlaşmasına DNA parçalanmasına neden olurken, EndoG oligonükleozomal DNA parçaları meydana getirmek üzere hareket eder (Boeddeker et al. 2015; Cao et al. 2015; Kartlamış et al. 2016). Normalde inaktif halde bulunan CAD mitokondriden salındıktan sonra kaspaz 3 tarafından kesilerek aktive edilir ve bir DNaz olduğu için çekirdeğe yönelerek çekirdek DNA'sını 180-200 baz çiftlik fragmanlara ayırır (Güleş ve Eren 2008).

Ekstrinsik yolak FasL, TNF- $\alpha$ , Apo3L ve Apo2L gibi ekstrasellüler ölüm ligandlarının FasR, TNFR1, DR3 ve DR4 gibi hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörlerine bağlanmaları ile başlar. Ölüm reseptörleri ligandları ile bağlandıkları zaman ölüm uyarısı alınmış olur ve bir seri protein etkileşimi başlar. TNF (tümör nekroz faktör) reseptör ailesi üyeleri 80 aminoasitlik ölüm alanı olarak bilinen bir domaine ve sisteinden zengin bir ekstrasellüler domaine sahiptir. Ölüm ligandların reseptörlerine bağlanmaları ile önce homotrimerik ligand-reseptör kompleks oluşur. Aktive olan reseptörlerin doğal olarak bulunan TRADD (TNFR-associated death domain) ile FADD (Fas associated death domain) birleşir ve 80 aminoasitlik bölgenin uyarılması ile oligomerik ölüm-indükleyici sinyal kompleksi DISC (death-inducing signaling complex) oluşur (Peter and Krammer 2003; Coşkun ve Özgür 2011). DISC oluşması ile birlikte prokaspaz 8'in otokatalitik aktivasyonu gerçekleşir ve kaspaz 8'in aktivasyonu tetiklenir. Böylece kaskad adı verilen kaspazların aktivasyonu ile kaspaz 3' de aktive olur ve apoptozun düzenlenme fazı başlar (Karalezli ve Aladag 2016).

### **1.3.2. Apoptozu Belirleme Yöntemleri**

Apoptozu belirlemede morfoloji esaslı metotlar, immünohistokimyasal metotlar, biyokimyasal metotlar, immünoloji esaslı metotlar ve moleküler biyoloji esaslı metotlar kullanılabilir (Güleş ve Eren 2008; Coşkun ve Özgür 2011; Ulukaya vd. 2011).

Bu metotlar şu şekilde listelenebilir;

1. Morfoloji esaslı metotlar;

1a. Işık mikroskobu; Hematoksilen-eozin boyama, Giemsa boyama

- 1b. Floresan mikroskopi; Propidium İyodür (PI), Hoechst Dye
- 1c. Elektronmikroskopi
- 1d. Faz kontrast mikroskopi
2. İmmunohistokimyasal metotlar;
  - 2a. Anneksin V-FITC analizi
  - 2b. TUNEL yöntemi
  - 2c. M30 antijen tayin yöntemi
  - 2d. Aktif kaspaz-3 yöntemi
3. Biyokimyasal metotlar;
  - 3a. Agaroz jel elektroforezi-DNA fragmentasyonu tayini
  - 3b. SDS PAGE ve Western Blotting
  - 3c. Flow Sitometri
4. İmmünoloji esaslı metotlar;
  - 4a. ELISA
  - 4b. Fluorimetrik yöntem
5. Moleküler biyoloji esaslı metotlar
  - 5a. DNA mikroarray-gen ekspresyonu tayini



### 1.3.3. Apoptoz ve Kanser

Doğru apoptotik sinyal mekanizması hücre ölümü ve hücre sağ kalımı ve genom bütünlüğünü korumak için oldukça önem arz eder (Plati et al. 2011). Apoptotik yollar transkripsiyonel, translasyonel ve post translasyonel olarak kanser hücreleri tarafından değişikliğe uğratılabilirler (Fulda 2010). Hücrede pro- ya da anti-apoptotik aktiviteye sebep olan farklı proteinler vardır. Bu pro- ve anti-apoptotik proteinlerin birbirine göre oranının hücre ölümlerinde önemli olduğu bilinmektedir. Pro- ve anti-apoptotik etkisi olan proteinlerin dengesinin bozulması örneğin Bcl-2 proteinlerinin orantısız dengesi malign hücrelerde apoptoz seviyesinin azalmasına sebep olur ve karsinogenez gelişir (Kang and Reynolds 2009). Pro- ve anti-apoptotik proteinler arasındaki orantının bozulması sırasıyla daha az ya da daha fazla ekspresyonu ile gerçekleşebilmektedir. Birçok insan kanser tiplerinde Bcl-2 ailesine ait birkaç pro-apoptotik üyesinde hem genetik hem de epigenetik değişimler olduğu bildirilmiştir (Galluzzi et al. 2010). Bunun yanı sıra kanser gelişiminde Bcl-2 ailesi üyelerinden anti-apoptotik etkili olanların miktarının arttığı gözlemlenmiştir (Fulda 2009). Anti-apoptotik protein seviyesinin yüksekliği kanser hücrelerinin stres sinyalleri ile başa çıkmasını sağlar ve bu hastalığın yinelenmesi, tedavide güçlük ve kanserin tedavisinde uygulanan tedavilere direnci birlikte getirir (Wuilleme-Toumi et al., 2005).

Genetik ve epigenetik değişimler dışında farklı insan kanser tiplerinde post-transkripsiyonel gen ekspresyonlarını düzenleyen ve bazı hedef mRNA'ların susturulmasını sağlayan özellikle Bcl-2 aile üyesi proteinlerin mRNA'ları hedefleyerek anti-apoptotik ya da pro-apoptotik etki gösterebilen MicroRNA'ların (miRNAs) düzenlenmesinde bozuklukların olduğu gösterilmiştir (Croce 2009; Garofalo et al. 2010; Chen et al. 2014).

Kaspazlar apoptozun başlaması ve sürdürülmesi için çok önemlidirler ve kaspaz fonksiyonunda meydana gelen bir bozulma ya da düşük miktarlarda bulunmaları apoptozun azalmasına bağlı olarak karsinogenezin gelişimine neden olur. Farklı tip kanserlerde farklı tip kaspazların düşük miktarda sentezlendiği görülmektedir. Örneğin; kolorektal kanserde kaspaz-9'un sentezinde düşme göze çarpar. Bunun yanı sıra, Devarajan et al. (2002); yaptıkları çalışmalarla, yumurtalık, meme ve rahim kanserlerinde

kaspaz-3'ün miktarında önemli seviyede düşüklük olduğu bildirilmiştir (Devarajan et al. 2002).

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Triazoller ve Biyolojik Etkileri

İlk olarak 1885’de Bladin tarafından karbon-azot halka sistemine ( $C_2N_3H_3$ ) isim verilmiştir (triazol) ve triazol türevleri olarak tanımlanmaktadır (Bladin, 1885; Singh ve Kandel; 2012). Andreocci da aynı yıllarda (1889) bilim dünyasına tanıtmakta rol oynamıştır (Andrecci 1889). 1961’de Potts tarafından bir “Derleme” (Potts 1961) ve 1981’de Temple tarafından “Triazols” adlı kitap yayınlanmıştır (Temple 1981).

Triazoller 1,2,3-triazol ve 1,2,4- triazol olmak üzere iki izomer şeklinde bulunurlar (Balabin 2009). Bir çok 1,2,4-triazol ve heterosiklik türevleri önemli yapısal fragmanlar taşırlar ve biyolojik aktif moleküllerdir. Son yıllarda 1,2,4- triazol ve türevlerine olan ilgi sentetik olmaları ve verimli biyolojik etkilerinden dolayı artmaktadır. Bugüne kadar yapılan çeşitli çalışmalarda antifungal, antikolsüvan, anti-tüberküloz, antioksidan, anti-enflamatuar, antikanser ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır (Taj et al. 2011; Hassan and Younus 2012; Abdullah vd. 2012; Atia and Al-Mufregey 2012; Pardeshi 2014; Bekircan vd. 2014). Aynı zamanda korozyon önleyici (Sripriyal et al. 2013), pestisit (Sengupta and Garg 1998), boya (Er vd. 2014), asit baz indikatörü (Bulut vd. 2010) ve diğer endüstriyel kimyasallar (Cassani et al. 2013) olarak kullanımları da mevcuttur.

Günümüzde azol grubu antimikrobiyal ilaç olarak sıkça kullanılan triazoller arasında flukonazol, itrakonazol, terkonazol, posakonazol ve vorikonazol sayılabilir (Banerjee 2013; Kisgen 2015). Bununla beraber diğer triazol ilaçlar arasında sayılabilecekler şu şekildedir; vorozole, letrozol ve anastrozol kanser tedavisinde non-steroidal ilaçlar olarak kullanılmaktadırlar; ribavirin bir nükleosit olmayan ters transkriptaz

inhibitörüdür ve çok etkili bir antiviral ajan olup DNA ve RNA virüslerinde çok ciddi etkiler gösterir; rizatriptan, antimigren ajanıdır, trazodon antidepresan olarak trapidil hipotansif; benatradin, diüretik ve etoperidon antidepresan olarak kullanılmaktadır (Banerjee 2013). Son derece önemli biyolojik uygulamaların yanı sıra merkaptio-1, 2, 4-triazoller preparatif organik kimyada da çok yararlı olmaktadır. Farklı reaktifler varlığında değişik tipte reaksiyonlara uğrayarak tiazolotriazoller, trizolotiadizoller, triazolotiazinler, triazolotiazepinler ve triazolotiadiazinler gibi diğer bazı heterosiklik bileşikler verirler (Banerjee 2013).

Subrahmanya Bhat et al. (2009); tarafından yapılan bir araştırmada 4-fluoro-3-phenoxyphenyl ve 2,4-dichloro-5-fluorophenyl içeren 1,2,4- triazol[3,4-b]thiadiazol ve 1,3,4-oxadiazol türevlerinden bazılarının, lösemi, kolon kanseri, akciğer kanseri, renal kanser, prostat kanseri ve göğüs kanseri hücre hatları üzerinde oldukça yüksek antikanser özellikleri olduğu yayınlanmıştır (Subrahmanya Bhat et al. 2009).

Al-Soud et al. (2003); çalışmasında, 1,2,4,- triazollerin türevleri sentezlenmiş ve 60 farklı insan kanser hücresi üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Özellikle lösemi, yumurtalık ve renal kanser hücre hatları üzerindeki etkilerine değinilmiştir (Al-Soud et al. 2003). Başka bir araştırmada bu tür türevlerden bazılarının MCF7, NCI-H460 ve CNS (SF-268) hücreleri üzerindeki antikanser özellikleri olduğu belirtilmiştir (Demirbaş vd. 2002). Yine, bazı 1,2,4- triazol türevlerinin antikanser özellikleri kolon adenokarsinoma hücre hattı (LS180) üzerinde çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır (Sztanke et al. 2008).

Günümüzde en çok ölümlerle sonuçlanan hastalıklardan biri olan kanserin tedavisi için de bugüne kadar değişik yöntemler geliştirilmiş ve bu bağlamda değişik yapılara sahip bileşikler tedavi edilme amaçlarıyla sentez edilmiştir. Yakın zamanlarda yapılan bir çalışmada, 1,2,4-triazol-5-on halkası içeren tipi arilidenhidrazidler, karşılık gelen hidrazidlerin uygun aldehitlerle reaksiyonundan elde edilmiş ve bu bileşiklerin meme kanserine karşı etkili oldukları belirlenmiştir (Ceylan, 2006).

Özellikle triazol bileşiklerinin suda çözünme özelliklerinin son derece düşük oluşu sebebiyle suda çözünabilir özellikte antimantar aktiviteye sahip triazol türevlerinin dizaynına yönelik çalışmalara hız vermiştir (Narayanan, 1993).

Son yıllarda, antibakteriyel, fungusit, tuberkulostatik ve bitki büyüme özellikleri gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri içeren bis-heterosiklik bileşiklerin sentezi oldukça önem kazanmıştır. Ayrıca, son raporlar bisheterosiklik bileşiklerin, mono-heterosiklik bileşiklerden daha iyi antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu gösterilmiştir (Reddy, 2010).

Daha önceki bir çalışmada ise, bu araştırmada kullanılacak olan bis-hidrazinkarbotiyoamid türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasından oluşan bis-1,2,4-triazol türevleri sentezlenmiş bu bileşiklerin *in-vitro* antioksidan aktiviteleri, serbest radikali giderme aktivitesi, indirgenme gücü, ABTS•+ giderme aktivitesi, metal şelatlama parametreleri ile tayin edilmiştir fakat hali hazırda antikanser ve antimikrobiyal özellikleri araştırılmamıştır (Karcı 2013).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3. 1. MATERYAL

##### 3.1.1. Cam ve Plastik Materyaller, Kimyasallar, Enzimler ve Kitler

Bu çalışmada kullanılan tüm cam ve plastik materyaller otoklavda 20 dk. boyunca 121°C’de sterilize edilerek kullanılmıştır. Kimyasallar, enzimler ve kitler ile sağlayıcıları Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kimyasallar, enzimler ve kitler ile sağlayıcıları

<b>Kimyasal, Enzim ve Kit</b>	<b>Sağlayıcı</b>
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)	Sigma
RPMI 1640	Sigma
tripsin-EDTA	Sigma
tripan blue 4%	Boster Bio
fetal kalf serumu	Sigma
ribonukleaz A	Sigma
WST-1 hücre canlılık kiti	Sigma
penisillin-streptomisin	Sigma
PBS (phosphate buffer saline)	Gündüz Kimya
DMSO	Acar Kimya
Müller Hinton Agar	Sigma
Apoptaz Caspase-3 Assay Kit[C]	Sigma
steril disk	Bioanalize

### 3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Manyetik karıştırıcı (Ika)
- Isıtmalı su banyosu (Wise Clean)
- Otomatik pipetler (Rainin)
- Dairesel sallayıcı (Gerhardt)
- Derin dondurucu (-86 °C, Nuair)
- Döner evaporatör (Ika RV06-ML)
- pH-metre (Hanna Instrument)
- Hassas terazi (Precisa/ Denver)
- İnkübatör (Elektro-Mag (0-300°C))
- Vorteks (Ika MS3 Basic)
- Saf su cihazı (GFL 2004)
- Dispenser (Isopenser),
- Santrifüj (Hettich Universal 320)
- Buzdolabı (4 °C, Arçelik)
- Otoklav (Hirayama)
- Etüv (Mettler 100-800)
- 5% CO<sub>2</sub> inkübatörü (Nuair)

### 3.1.3. Tampon Çözeltiler ve Solüsyonlar

#### 3.1.3.1. PC-3 Hücre Kültürü Büyüme Ortamı

PC-3 hücre kültürü büyüme ortamı hazırlamak için 89 mL RPMI 1640 ( % 1 L-glutamin, %1 sodyum pirüvat ve sodyum bikarbonat içeren), 10 mL fetal calf serumu ve 1 mL penisillin-streptomisin [penisilin (100 U/mL), streptomisin (100 µg/mL)] medium kabında karıştırıldı. Her kullanımdan önce taze hazırlanarak kullanıldı. Çoğalan hücreler yeni 25 ve 75 cm<sup>2</sup> lik flasklara pasajlanmış ve deneylerde kullanılmak üzere yeni hücre stokları hazırlanmıştır.

### 3.1.3.2. Bakteri Büyüme Ortamı

Antimikrobiyal testte kullanılacak bakteri kültürlerini hazırlamak için, 34 gr Müller Hinton agar distile su ile 1000 mL'ye tamamlandı. Magnetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Daha sonra otoklavda 120°C'de 15 dk boyunca steril hale getirilerek besiyeri steril petri kaplarına döküldü. Steril ortamda soğumaları beklendi ve +4°C'de saklandı.

### 3.1.4. Hücre Hatları

Hazırlanan maddelerin *in-vitro* antikanser aktivite potansiyellerini belirlemek amacıyla deneylerimizde prostat kanser hücre hattı olan PC-3 kullanıldı. PC-3 hücre hatları ODTÜ Biyoloji bölümünden temin edildi. Bingöl Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvar Hücre Kültürü Laboratuvarında sıvı nitrojende saklanmıştır. Hücrelerin devamlılığını sağlamak için, 2 haftada bir en az 1 defa pasajlama işlemi yapıldı.

### 3.1.5. Bakteri Suşları

Bu çalışmada kullanılan bakteri suşları Bingöl Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Doç. Dr. Fethi Ahmet Özdemir'den temin edilmiştir. Bakteri suşları Bingöl Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarında saklanmaktadır.

Antimikrobiyal testlerde kullanılan bakteri suşları listesi aşağıda verilmiştir;

- *Bacillus subtilis* ATCC 6337
- *Brevibacillus brevis*
- *Bacillus megaterium* DSM 32
- *Bacillus subtilis* IM 622
- *Bacillus cereus* EMC 19
- *Staphylococcus aureus* 6538P
- *Listeria monocytogenes* NCTC 5348
- *Salmonella typhimurium* NRRLE 4413

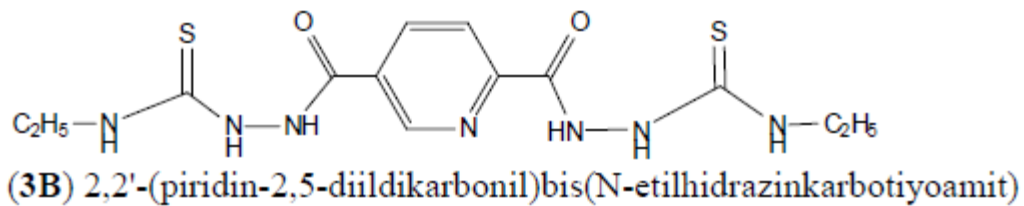
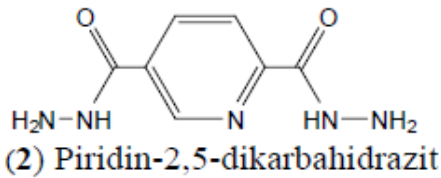


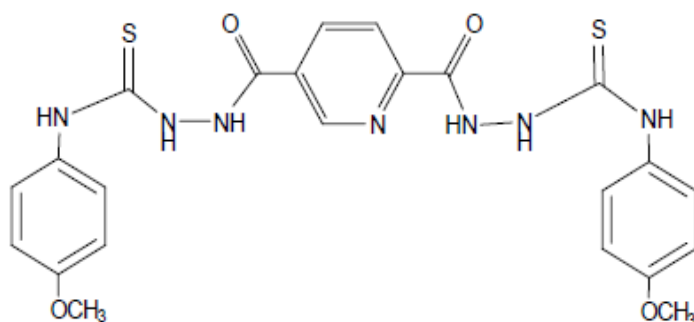
- *Pseudomonas fluorescens*
- *Enterobacter aerogenes* CCM 2531
- *Klebsiella pneumoniae* EMCS
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Proteus vulgaris* FMC II
- *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50070
- *Proteus vulgaris*
- *Salmonella enterica* ATTC 13311

### 3.1.6. 1,2,4-triazol Türevleri

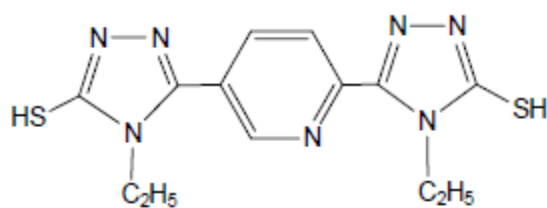
Bu çalışmada kullanılan 1,2,4-triazol türevleri Bingöl Üniversitesi Kimya Bölümü Prof. Dr. Ahmet Çetin tarafından temin edilmiştir. Oluşum şekilleri 2 numaralı çıkış bileşiğinin hidrazit uçları etil izotiyosiyanat grubu ile türevlendirilerek 3B bileşiği elde edilmiştir. Sonra bileşiğin her iki hidrazit ucuda p-metilizotiyosiyanat grubu ile türevlendirilerek 3C bileşiği elde edilmiştir. Daha sonra oluşanbu alkil (3B) ve ariltiyosinat (3C) grubu bileşikleri hidrolize edilerek 1,2,4-triazol-3-tiyolgruplarına halkalaşmaları sonucu 3B bileşiği 4B'ye, 3C bileşiği de 4C 'ye dönüşmüştür. Sonuç olarak 2 numaralı piridin -2,5 dikarbahidrazit bileşiğinin fonksiyonel uçları alkil ve aril grupları ile modifiye edilmiştir. Sonrasında bu modifiye bileşiklerin 1,2,-4 triazol halkasına dönüşümleri sağlanmıştır.

1,2,4-triazol türevleri isimleri ve kimyasal yapıları aşağıda verilmiştir;

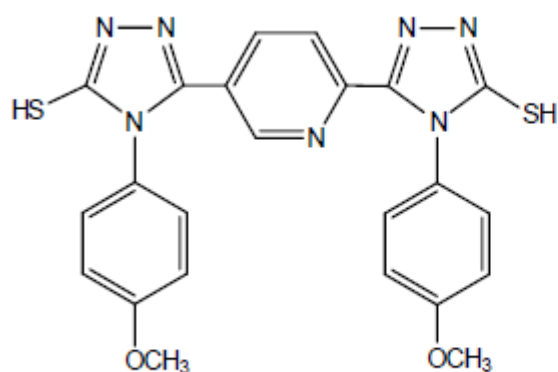




(3C) 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis[N-(p-metoksifenil)hidrazinkarbotiyoamit]



(4B) piridin-2,5-diilbis(4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol)



(4C) 5,5'-piridin-2,5-diilbis[4-(4-metoksifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol]

## **3.2. Metod**

### **3.2.1. WST-1 Hücre Canlılık Testi**

#### **3.2.1.1. Hücre Hatlarının Sıvı Azottan Açılması ve Pasajlanması**

PC-3 hücreleri sıvı azottan alındıktan sonra 37°C'lik su banyosunda çözüldü. 15 mL'lik santrifüj tüplerinde 10 mL besiyeri üzerine 1 mL çözülmüş hücre eklendi. 5 dakika 2500 rpm'de ve oda sıcaklığında santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Pelet 5 mL besiyerine aktarıldı. Tripan mavisi ile hücre sayımı yapıldı. 25 mL'lik flasklara ekildi 37°C ve %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatöre konularak 24 saat beklendi.

#### **3.2.1.2. Hücre Hatlarının Saklanması**

Artan hücreler santrifüj edilerek süpernatant atıldı. Daha sonra dondurma solüsyonu olarak medium ve mediumun %5 oranında DMSO eklenerek hazırlandı. Hücreler bu dondurma solüsyonuna eklenerek -80°C'deki derin dondurucuda saklandı.

#### **3.2.1.3. Madde Ekstraktlarının PC-3 İçeren Plaklara Ekilmesi**

PC-3 hücreleri %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 37°C'de 25 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür flasklarında yeterli sayıda çoğaltıldı, sonra her flasktan eski büyüme ortamı 5 mL'lik serolojik pipet kullanılarak otomatik pipetle tamamen çekilerek uzaklaştırıldı. Ölü hücreleri flasktan uzaklaştırabilmek için her flaska 1 mL PBS eklendi ve hücrelerin PBS ile tamamen yıkanması sağlandı. Eklenen PBS tekrar çekilerek uzaklaştırıldı.

Hücreleri kaldırmak için her flaska 1 mL tripsin-EDTA enzimi eklenerek %5 CO<sub>2</sub> atmosferli inkübatörde 3 dk inkübe edildi. Daha sonra her flaska 1 mL RPMI-1640 büyüme ortamı eklenerek tripsin enziminin etkisi giderildi. Her flasktaki tamamı otomatik pipetle çekilerek 15 mL falkon tüpüne aktarıldı.

Falkon tüpteki hücreler 500 rpm'de 2 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı uzaklaştırıldı. Hücrelerin üzerine 1 mL RPMI 1640 büyüme ortamı eklendi ve hücrelerin büyüme ortamıyla iyice karışması sağlandı. Hücre sayımı için falkon tüpten mikropipet kullanılarak 10 µL örnek alındı ve ependorf tüpe konulup üzerine 10 µL tripan blue eklendi ve iyice karışması sağlandı.

#### **3.2.1.4. Triazol Türevlerinin WST-1 Hücre Canlılık Testi**

Hücre canlılık testi WST-1 hücre canlılık kiti protokolüne göre yapıldı. Hemositometre ile yaşayan hücreler sayıldı. 96 kuyucuklu plakalara hücre ekimi yapılacağı için her kuyucukta yaklaşık  $2 \times 10^4$  hücre olacak şekilde kullanıldı. Hücre ve büyüme ortamı miktarı hesaplandı. Büyüme ortamı eklenerek 15 mL falkon tüp içinde hazırlandı. Her kuyucuğa 100 µL hücre konduktan sonra hücreler %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde çoğalmaları için 24 saat inkübe edildi.

Denenmek istenen örneklerden, 10, 25, 50, 100, 250, 500 µM tartıldı ve 1.5 mL ependorf tüp içerisinde 20 mL DMSO içinde çözünerek istenen konsantrasyon hazırlandı. Üzerine 1000 µM lara tamamlayacak kadar RPMI 1640 besiyeri eklendi ve 1000 µM stok çözelti hazırlandı. Hazırlanan konsantrasyon sonikatörle iyice karıştırıldı, karışan bu maddelerin besiyeri içerisinde homejen olarak dağılması sağlandı. Tüm kuyucuklardaki besiyeri hücrelere zarar vermeyecek şekilde mikro pipetle çekildi ve ortamdan uzaklaştırıldı. PC-3 hücreleri, 5-100 µg/mL olacak konsantrasyonlarda madde ekstraktına sahip olan besiyeri ile %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi ve örneklerin hücrelere etki etmesi beklendi. Kontrol grubu olarak kuyucuklara sadece 100 µM RPMI 1640 besiyeri ilave edildi.

24 saat inkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 15 µL WST-1 maddesi eklendi. Hücreler %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 37°C'de 4 saat inkübe edildi. 4 saat inkübasyondan sonra 96 gözlü plak ELISA reader cihazına yerleştirildi ve her bir kuyucuğun 450-630 nm deki absorbans değerleri alındı ve kaydedildi.

### 3.2.2. Apoptaz Caspase-3 Assay Kit[C]

Hücreler kültür ortamında çoğaltıldı. Üzerine 500 µM lik konsantrasyonlarda hazırlanan 4C, 4B, 3C, 3B, 2 maddelerinden her bir kuyucuğa 100 µM eklendi. 24 saat inkübe edildi. Her bir deneyde kullanacağımız 2X reaksiyon bufferden 50 µL alındı. Toplamda 750 µL 2X bufferdan 7,5 µL DDT den alındı ve karıştırıldı. Her bir kuyucuğa 50 µL Cell Lysis bufferdan konuldu. Hücreler 10 dakika boyunca buz üzerinde inkübe edildi. Her bir örneği mikrosantrifüjde [10.000 Xg] 1 dakika santrifüj edildi. Süpernatantı alındı ve direk buza konuldu. Her bir örnekten 50 µL alındı ve üzerine 50 µL 2X reaksiyon bufferdan ve 5 µL DEVP PNA' dan konuldu. 37 °C'de 1-2 saat bekletildi. 400-405 nm deki absorbans değerleri ölçüldü.

### 3.2.3 . Antimikrobiyal Etkinin İncelenmesi

Çalışmada maddelerin antimikrobiyal etkinlikleri disk diffüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi (Benedict and Brady 1972; Alsheik and Trappe 1983). Bir gece önceden sıvı besi ortamında inkübasyona bırakılan bakteri kültürlerinden steril ve tek kullanımlık petrilere içerisine McFarland standardına göre ayarlanan  $10^6$  hücre/mL bakteri süspansiyonu bırakıldı ve 15 mL'lik Müeller Hinton Agar üzerine ekildi. Drigalski çubuğu ile iyice yayıldı. DMSO içinde çözünerek hazırlanan 1000 µM lik 4C, 4B, 3B, 3C, 2 maddelerinden 20 µL madde alınarak disklere emdirildi. Diskler steril pens ile besiyerine yerleştirildi. 1 saat +4°C'deki buzdolabında bekletildi. Daha sonra 37°C'lik inkübatörde 24 saat inkübe edildi. Zon çapları ölçüldü (Biemer, 1973). Sonuçlar kaydedildi. Her deney 3 set halinde kontrol örnekle birlikte tekrarlandı.

### 3.3. İstatistiksel Analizler

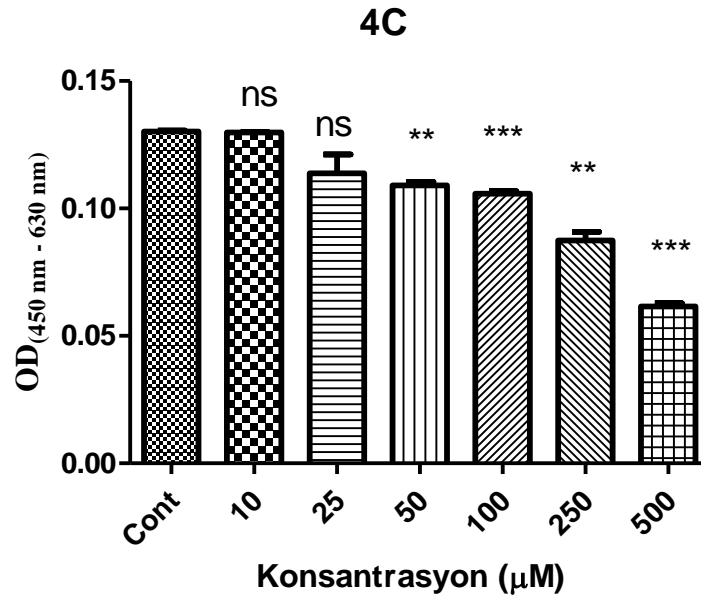
Tüm verilerin istatistiksel analizi Graphpad Prism 5.0 programı Student's two-tailed t-testine göre yapıldı. Tüm sonuçlar ortalama ve  $\pm$  standart sapma olarak verildi ve %95 güven aralığında 0,05'in altındaki p değerleri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **4. BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **4.1. PC-3 Hücre Hatları Üzerindeki Antikanser Etkilerinin Belirlenmesi**

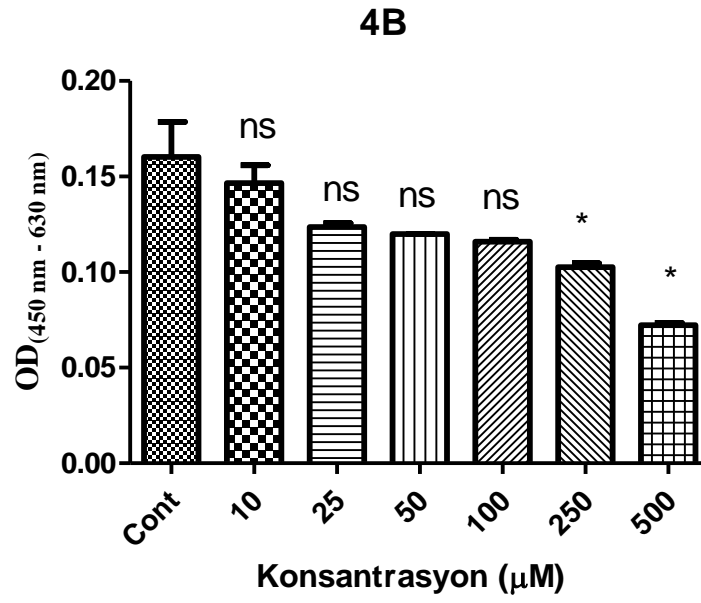
WST-1 bir tetrazolyum tuzudur. Spesifik olarak canlı hücrelerin mitokondrilerindeki süksinat dehidrogenaz enzimine bağlanır ve suda çözünmeyen formazan tuzları oluşturur. WST-1 yönteminde spektrofotometrik olarak ölçülen absorbans değeri canlı hücre sayısı ile ilişkili olan hücrelerin metabolik aktivitelerini gösterir. Hücre çoğalması arttıkça suda oluşan formazan tuzu da artar ve bunlara paralel olarak ölçülen absorbans değeri de yükselir (Carmicheal et al. 1987; Lian et al. 2003).

Çalışmamızda 5 farklı 1,2,4-triazol türevleri maddenin ön denemeler sonucunda belirlenen konsantrasyon değerlerine göre PC-3 hücre kültürlerinde WST-1 yöntemi kullanılarak sitotoksik aktivite değerleri ortaya konulmuştur. Sitotoksik etkileri araştırılan maddelerin farklı konsantrasyonlarının 24 saatlik inkübasyon sonrası ölçülen absorpsiyon değerleri aşağıda gösterilmektedir.



Şekil 4.1. PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 4C maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; \*\*\* P < 0,001, \*\* P < 0,01, <sup>ns</sup> P > 0,05 (Student's two-tailed t-test)

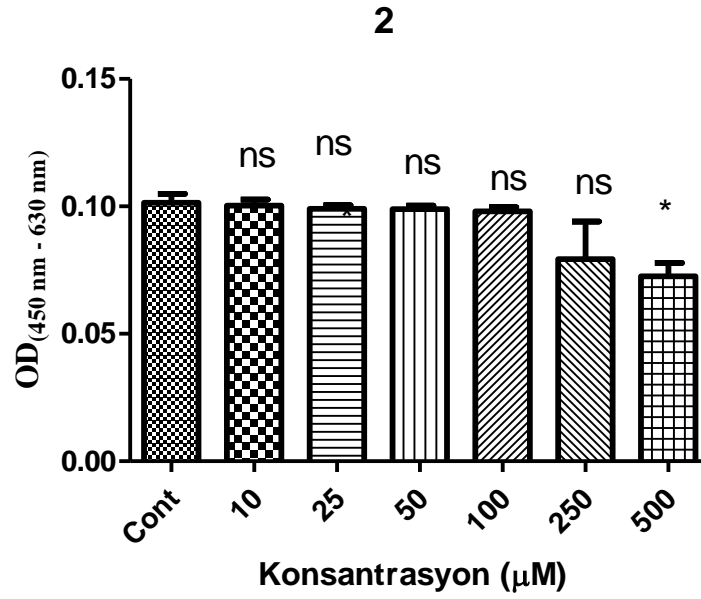
PC 3 hücre hattı ile 4C maddesinin değişik derişimleri 24 saat inkübe edilmiştir ve Şekil 4.1'deki grafikte görüldüğü gibi 4C maddesinin artan konsantrasyonuna bağlı olarak canlı kanser hücre sayısının giderek azaldığı görülmüştür (Şekil 4.1). 10 µM konsantrasyonda kontrol grubuna oranla hücre canlılığında azalma gözlenmemiştir. 25 µM, 50 µM, 100 µM, 250 µM ve 500 µM konsantrasyonlarda hücre canlılığında azalma belirlenmiştir. Hücre canlılığında en fazla azalmanın 500 µM konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir(Şekil 4.1).



Şekil 4.2. PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 4B maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrolle karşı; \*  $P < 0,05$ , <sup>ns</sup>  $P > 0,05$  (Student's two-tailed t-test)

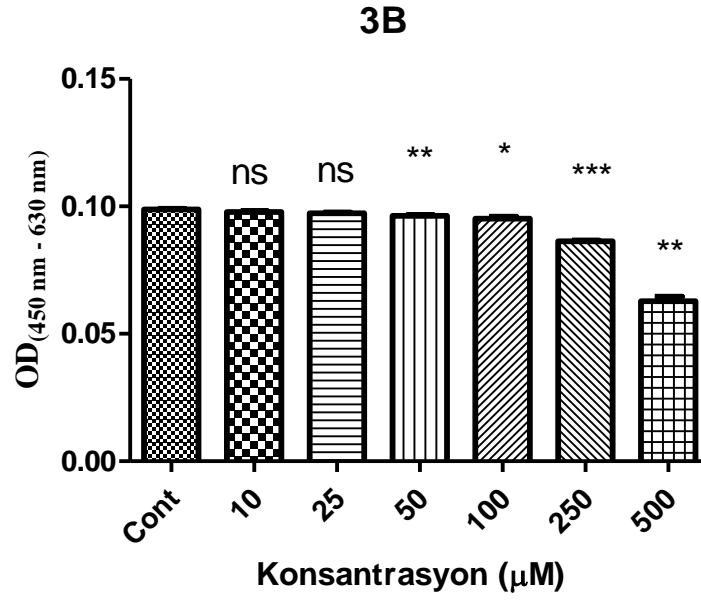
Yapılan çalışmada Şekil 4.2' deki grafikte görüldüğü gibi 4B maddesinin artan konsantrasyonuna bağlı olarak canlı kanser hücre sayısının giderek azaldığı görülmüştür. En iyi etkinin 500  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir(Şekil 4.2).





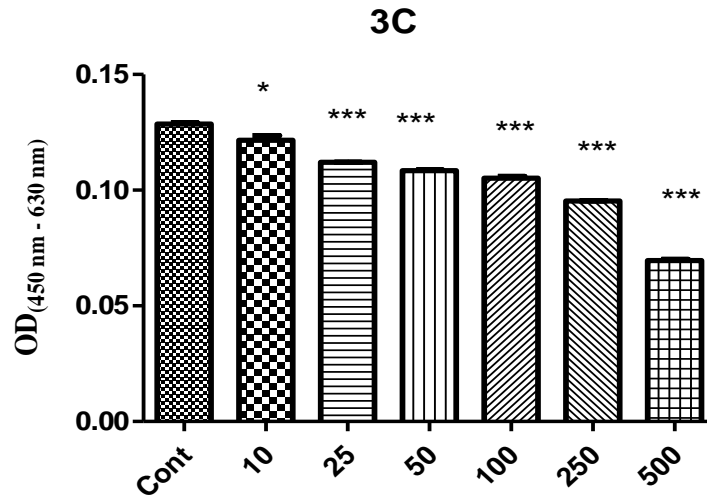
Şekil 4.3. PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 2 maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; \*  $P < 0,05$ , <sup>ns</sup>  $P > 0,05$  (Student's two-tailed t-test)

Araştırma sonuçlarına göre Şekil 4.3'de gösterildiği üzere 2 nolu madde artan konsantrasyona bağlı olarak PC-3 hücre sayısının 10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda kontrole yakın olduğu görülmüştür. 250  $\mu\text{M}$  de sayıda azalma görülmekle beraber en yüksek sitotoksik etkinin 500  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir(Şekil 4.3).



Şekil 4.4. PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 3B maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; \*\*\* P <0,001, \*\* P <0,01, \* P <0,05, <sup>ns</sup> P >0,05 (Student's two-tailed t-test)

Şekil 4.4'de görüldüğü gibi 3B maddesinin artan konsantrasyonuna bağlı olarak hücre sayısının 10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda kontrole yakın olduğu görülmüştür. 250  $\mu\text{M}$  de sayıda azalma görülmekle beraber en yüksek sitotoksik etkinin 500  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir(Şekil 4.4).



Şekil 4.5. PC-3 hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 3C maddesinin sitotoksik değerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrole karşı; \*\*\* P <0,001, \* P <0,05, <sup>ns</sup> P >0,05 (Student's two-tailed t-test)

Yapılan çalışmada Şekil 4.5'deki grafikte görüldüğü gibi 3C maddesinin artan konsantrasyonuna bağlı olarak canlı kanser hücre sayısının giderek azaldığı görülmüştür. En yüksek sitotoksik etkinin 500  $\mu$ M konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).

Daha önceki bir çalışmada ise, bu araştırmada kullanılacak olan bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasından oluşan bis-1,2,4-triazol türevleri sentezlenmiş bu bileşiklerin *in-vitro* antioksidan aktiviteleri, serbest radikali giderme aktivitesi, indirgenme gücü, ABTS•+ giderme aktivitesi, metal şelatlama parametreleri ile tayin edilmiştir (Karcı 2013). Fakat hali hazırda antikanser ve antimikrobiyal özellikleri araştırılmamıştır. İndirgenme gücü metoduyla antioksidan aktiviteleri incelenen bileşiklerin antioksidan aktivite sonuçlarında genel olarak 3A maddesinin maksimum absorbans gösterdiği, yani bu maddenin en yüksek antioksidan aktivite sahip olduğu, 2 no'lu maddenin 25  $\mu$ g/ $\mu$ l ve 50  $\mu$ g/ $\mu$ l konsantrasyonda minimum absorbans gösterdiği tesbit edilmiştir..

Bu sonuçlar doğrultusunda 4C, 4B, 2, 3B, 3C maddeleri karşılaştırıldığında artan konsantrasyonlara bağlı olarak canlı kanser hücre sayısının giderek azaldığı görülmüştür. En yüksek sitotoksik etkinin 500  $\mu$ M konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir.

## 4.2. Antimikrobiyal Etkinin İncelenmesi

Antibiyotikler günümüzde dünyada ve ülkemizde en fazla tüketilen ilaç grupları arasında yer almaktadır. Bilinçsiz ve rastgele antibiyotik kullanımı antibiyotik dirençliliği gelişimine neden olmaktadır. Mikrobiyal kaynaklı hastalıkların tedavisinde antibiyotik dirençliliği ciddi derecede büyük sorunlara yol açmaktadır (Davis 1994). Antibiyotik dirençliliğin yanısıra antibiyotik kullanımının yan etkileri nedeni ile pek çok insan hastaneye yatmakta ve buna bağlı morbitide oranlarında artış gözlenmektedir. Bu yan etkiler arasında, hipersensitivite reaksiyonu olan anafilaksi, kardiyotoksite, nefrotoksite, anemi, lökopeni, trombositopeni, koagülasyon bozuklukları, nörotoksite, hepatotoksite, iskelet-kas sistemi toksititesi, ateş, antibiyotik ile ilişkili ishal sayılabilmektedir (Vudalı vd. 2013). Bütün bu ortaya çıkan olumsuz etkiler araştırmacıları yan etkileri daha az olan ve dirençlilik gelişimine neden olmayan antimikrobiyal ajanların araştırılmasına yöneltmiştir.

Triazol türevlerinin daha önce yapılan bir çok çalışmada antimikrobiyal etkilerinin olduğu gösterilmiştir hatta bazı türevleri antifungal ilaç olarak bile kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında kullanılan maddelerin daha önce antimikrobiyal etkileri araştırılmamış olup antioksidant etki çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Karcı 2013).

Bu tez çalışmasında 1000  $\mu$ M lık hazırlanan 4C, 4B, 3C, 3B ve 2 no'lu maddelerinin Disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyal etki deneylerinin sonuçları aşağıda gösterilmiştir.

### 4.2.1. 4C no'lu Madde

Zon çapları incelenerek elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre 4C maddesinin genellikle gram pozitif test suşlarının, gram negatif test suşlarına oranla daha etkili olduğu görülmüştür (Tablo 4.1).

20  $\mu$ L alınarak uygulanan disk difüzyon yöntemi sonuçlarına göre 4C maddesi gram pozitifler üzerinde 6-8 mm arasında inhibisyon zonları oluşturarak antimikrobiyal aktivite

göstermiştir. Gram negatifler üzerinde ise 2-5 mm arasında inhibisyon zonları oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 4.1).

Bununla beraber fazla etki *Brevibacillus brevis*, *Bacillus megaterium DSM 32* ve *Listeria monocytogenes NCTC 5348* suşlarında olup zon çapları 8 mm olarak ölçülürken hepsi gram pozitif bakterilerdir. En az etki ise *Pseudomonas aeruginosa DSM 50070* suşunda olup zon çapı 2 mm olarak ölçülmüştür ve gram negatif bir bakteridir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. 4C Bileşiminin farklı bakteri türlerine karşı disk difüzyon duyarlılık testi sonuçları

Mikroorganizma	Gram (+)/(-)	Zon Çapı (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6337	Pozitif	7
<i>Brevibacillus brevis</i>	Pozitif	8
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	Pozitif	8
<i>Bacillus subtilis</i> IM 622	Pozitif	7
<i>Bacillus cereus</i> EMC 19	Pozitif	7
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	Pozitif	6
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 5348	Pozitif	8
<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4413	Negatif	4
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Negatif	5
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	Negatif	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	Negatif	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negatif	5
<i>Proteus vulgaris</i> FMC II	Negatif	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50070	Negatif	2
<i>Proteus vulgaris</i>	Negatif	3
<i>Salmonella enterica</i> ATTC 13311	Negatif	3
DMSO	Kontrol	0

#### 4.2.2. 4B no'lu Madde

4B maddesinin genellikle gram pozitif test suşlarına gram negatif test suşlarına oranla daha etkili olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.2).

En fazla etkinin *Brevibacillus brevis* ve *Staphylococcus aureus* 6538P suşlarında görülmüştür her ikisi de gram pozitif bakteridir ve inhibisyon zon çapları 10 mm olarak ölçülmüştür. En az etkinin ise *Enterobacter aerogenes* CCM 2531 ve *Proteus vulgaris* FMC II suşlarında görülmüştür, inhibisyon zon çapları 4 mm olarak ölçülmüştür ve her ikisi de gram negatif bakteridir. Ayrıca *Proteus vulgaris* suşu üzerinde herhangi bir inhibisyon etkisine rastlanmamıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. 4B Bileşiminin farklı bakteri türlerine karşı disk difüzyon duyarlılık testi sonuçları

Mikroorganizma	Gram (+)/(-)	Zon Çapı (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6337	Pozitif	9
<i>Brevibacillus brevis</i>	Pozitif	10
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	Pozitif	9
<i>Bacillus subtilis</i> IM 622	Pozitif	8
<i>Bacillus cereus</i> EMC 19	Pozitif	9
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	Pozitif	10
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 5348	Pozitif	9
<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4413	Negatif	5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Negatif	6
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	Negatif	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	Negatif	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negatif	6
<i>Proteus vulgaris</i> FMC II	Negatif	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50070	Negatif	5
<i>Proteus vulgaris</i>	Negatif	0
<i>Salmonella enterica</i> ATTC 13311	Negatif	6
DMSO	Kontrol	0

#### 4.2.3. 3B no'lu Madde

3B maddesinin genellikle gram pozitif test suşlarının, gram negatif test suşlarına oranla daha etkili olduğu tesbit edilmiştir (Tablo 4.3).

3B maddesi en fazla gram pozitif bir bakteri olan *Bacillus megaterium* DSM 32 suşu üzerinde etki göstermiştir ve inhibisyon çapı 20 mm olarak ölçülmüştür. En az inhibisyon çapı ise *Salmonella enterica* ATTC 13311 üzerinde 8 mm olarak ölçülmüştür.

Tablo 4.3. 3B Bileşiminin farklı bakteri türlerine karşı disk difüzyon duyarlılık testi sonuçları

Mikroorganizma	Gram (+)/(-)	Zon Çapı (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6337	Pozitif	13
<i>Brevibacillus brevis</i>	Pozitif	15
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	Pozitif	20
<i>Bacillus subtilis</i> IM 622	Pozitif	14
<i>Bacillus cereus</i> EMC 19	Pozitif	16
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	Pozitif	17
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 5348	Pozitif	14
<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4413	Negatif	12
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Negatif	9
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	Negatif	12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	Negatif	11
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negatif	11
<i>Proteus vulgaris</i> FMC II	Negatif	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50070	Negatif	9
<i>Proteus vulgaris</i>	Negatif	10
<i>Salmonella enterica</i> ATTC 13311	Negatif	8
DMSO	Kontrol	0

#### 4.2.4. 3C no'lu Madde

3C maddesinin genellikle gram pozitif test suşları üzerinde gram negatiflere oranla daha etkili olduğu görülmüştür (Tablo 4.4).

En fazla etkinin *Staphylococcus aureus* 6538P suşu üzerinde olduğu ölçülmüş olup inhibisyon çapı zon çapı 12 mm olarak belirlenmiştir. En az etki 4 mm inhibisyon çapı ile *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50070 suşu üzerinde ölçülmüştür.



Tablo 4.4. 3C Bileşiminin farklı bakteri türlerine karşı disk difüzyon duyarlılık testi sonuçları

<b>Mikroorganizma</b>	<b>Gram (+)/(-)</b>	<b>Zon Çapı (mm)</b>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6337	Pozitif	11
<i>Brevibacillus brevis</i>	Pozitif	12
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	Pozitif	11
<i>Bacillus subtilis</i> IM 622	Pozitif	9
<i>Bacillus cereus</i> EMC 19	Pozitif	10
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	Pozitif	13
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 5348	Pozitif	11
<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4413	Negatif	9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Negatif	8
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	Negatif	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	Negatif	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negatif	6
<i>Proteus vulgaris</i> FMC II	Negatif	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50070	Negatif	4
<i>Proteus vulgaris</i>	Negatif	6
<i>Salmonella enterica</i> ATTC 13311	Negatif	7
DMSO	Kontrol	0

#### 4.2.5. 2 no'lu Madde

2 maddesinin diğer tüm antimikrobiyal etkisi denen maddelerde olduğu gibi gram pozitif test suşları üzerindeki inhibisyon etkisi gram negatif test suşlarına oranla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.5).

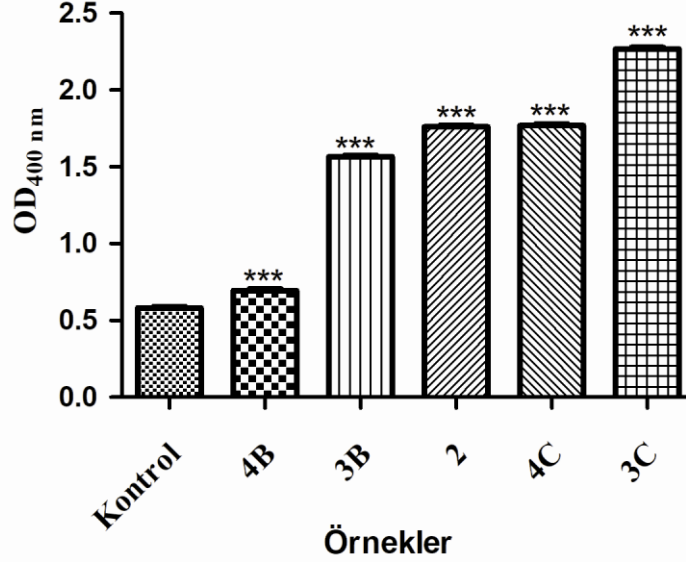
En fazla etkinin *Listeria monocytogenes* NCTC 5348 suşunda (zon çapı 9 mm) görüldüğü en az etkinin ise *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50070 ve *Proteus vulgaris* FMC II (zon çapı 1 mm) suşlarında görüldüğü tespit edilmiştir. *Proteus vulgaris* test suşunda ise herhangi bir antimikrobiyal etki kaydedilmemiştir.

Tablo 4.5. 2 Bileşğinin farklı bakteri türlerine karşı disk difuzyon duyarlılık testi sonuçları

<b>Mikroorganizma</b>	<b>Gram (+)/(-)</b>	<b>Zon Çapı (mm)</b>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6337	Pozitif	8
<i>Brevibacillus brevis</i>	Pozitif	6
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	Pozitif	8
<i>Bacillus subtilis</i> IM 622	Pozitif	7
<i>Bacillus cereus</i> EMC 19	Pozitif	6
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	Pozitif	7
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 5348	Pozitif	9
<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4413	Negatif	3
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Negatif	4
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	Negatif	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	Negatif	3
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negatif	2
<i>Proteus vulgaris</i> FMC II	Negatif	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50070	Negatif	1
<i>Proteus vulgaris</i>	Negatif	0
<i>Salmonella enterica</i> ATTC 13311	Negatif	2
DMSO	Kontrol	0

Bu sonuçlar doğrultusunda 4C, 4B, 3B,3C, 2 maddelerinin gram pozitif üzerinde daha fazla etkili olduğu görülmektedir. Bileşiklerin kendi aralarında inhibisyon etki yarattıkları bakteri türlerinin oldukça farklı olduğu göze çarpmaktadır. Bununla beraber *Proteus vulgaris* suşlarının 4B ve 2 nolu bileşiklere dirençli olduğu belirlenmiştir. *Bacillus megaterium* DSM32 suşunda en fazla 3B maddesi etkili olmakla beraber tüm bileşiklere duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Tüm kontrollerde zon çapı 0 mm olarak ölçülmüştür.

### 4.3. Apoptoz-Kaspaz-3 Analizi



Şekil 4.6. PC-3 hücre hattında 4B,4C,3B,3C,2 maddelerinin apoptotik etkilerinin belirlenmesi. Tüm veriler üç deneyin ortalaması ve  $\pm$  SEM olarak ifade edildi. Kontrolle karşı; \*\*\* P < 0,001, (Student's two-tailed t-test)

Günümüzde apoptozisin belirlenmesinde bir çok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bir tanesi de hücrede hem ekstrinsik hem de intrinsik yollarla aktive edilebilen kaspaz-3 enzimlerinin miktarını ölçme yöntemidir. Bu yöntem ile sadece apoptotik hücrelerde oluşan aktif kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama metoduyla belirlenebilir.

Kaspazlar olarak adlandırılan proteinler, programlanmış hücre ölümünün (apoptoz) en önemli kritik anahtarıdır. Kaspazlar arasında, kaspaz-3, apoptozda birçok önemli hücre proteininin özel bölgelerinden parçalanmasını kataliz eden, ve böylelikle hücre ölümü aktive eden bir ölüm proteazıdır. Bununla birlikte, apoptozdaki bu (veya başka herhangi bir) kaspazın spesifik gereklilikleri bugüne kadar büyük ölçüde bilinmemektedir. Kaspaz3 aktivasyonuna giden yollar, mitokondriyal sitokrom-c salımına ve kaspaz-9 fonksiyonuna bağlı veya bunlardan bağımsız olarak tanımlanmıştır. Kaspaz-3 normal beyin gelişimi için gereklidir ve dikkate değer bir doku, hücre tipi veya ölüm uyarıcısına özgü bir şekilde diğer apoptotik senaryolarda önemlidir. Kaspaz-3 ayrıca bazı tipik

apoptoz belirteçleri için de gereklidir ve incelenen tüm hücre tiplerinde apoptotik kromatin yoğunlaşması ve DNA fragmentasyonu için vazgeçilmezdir. Bu nedenle kaspaz-3, hücrenin sökülmesi ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile bağlantılı bazı işlemler için şarttır (Porter and Jänicke 1999)

Bu çalışmada PC-3 hücrelerine uygulanan ve sitotoksik etkisi daha önceden tespit edilen 5 farklı 1,2,4-triazol türevleri maddelerin 500  $\mu\text{M}$ 'lık konsantrasyonları ile oluşan kaspaz-3 miktarları kolorimetrik yöntemler ile ölçüldü ve sonuçlar apoptotik indeks oranlarına göre değerlendirildi. Buna göre Şekil 4.6'da görüldüğü üzere 4B, 4C, 3B, 2, ve 3C maddeleri arasında en düşük apoptotik indeks oranı 4B maddesi uygulandığında en yüksek apoptotik indeks oranı 3C maddesi uygulandığında tespit edilmiştir.

Günümüzde kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi, cerrahi ve hormon tedavilerinin yanısıra oluşan yan etkilerden dolayı hastada daha az yan etki bırakan ve daha etkili yeni tedavi yöntemleri üzerinde çalışmalar sürmektedir. Kişileştirilmiş ilaç ve kök hücre implantasyonu bu yeni yaklaşımlardan bazılarıdır (Aytaç 2015).

Triazol türevleri ile yapılan bazı çalışmalarda lösemi, kolon kanseri, akciğer kanseri, renal kanser, prostat kanseri ve göğüs kanseri hücre hatları üzerinde oldukça yüksek antikanser özellikleri olduğu belirtilmiştir (Al-Soud et al. 2003; Sztanke et al. 2008; Subrahmanya Bhat et al. 2009). Bizim yaptığımız çalışmada da 1,2-4 triazol türevlerinin PC-3 hücreleri üzerinde antikanser özellikleri olduğunu göstermektedir.

Günümüzde en çok ölümlerle sonuçlanan hastalıklardan biri olan kanserin tedavisi için de bugüne kadar değişik yöntemler geliştirilmiş ve bu bağlamda değişik yapılara sahip bileşikler tedavi edilme amaçlarıyla sentez edilmiştir. Yakın zamanlarda yapılan bir çalışmada, 1,2,4-triazol-5-on halkası içeren tipi arilidenhidrazidler, karşılık gelen hidrazidlerin uygun aldehitlerle reaksiyonundan elde edilmiş ve bu bileşiklerin meme kanserine karşı etkili oldukları belirlenmiştir (Ceylan, 2006). Bizim yaptığımız çalışmada da 1,2-4 triazol türevlerinin her iki hidrazit ucuda p-metilzotiyosiyanat grubu ile türevlendirilerek oluşturulan 3C maddesinin prostat kanserine karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Azol bileşikleri içinde S-süstitue triazolonyonlar da antitüberküloz ve antibakteriyel özelliklere sahip bileşikler olarak bilinmektedir (Reddy, 2010). Bizim yaptığımız çalışmada ise antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemiyle araştırılan 1,2-4 triazol türevlerinin antibakteriyel etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasındaki 4C, 4B, 3C, 3B ve 2 no'lu maddelerinin PC-3 hücre hattı üzerindeki sitotoksit etkileri WST-1 metoduna göre antimikrobiyal etkileri ise disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır ve sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu sonuçlar göstermektedir ki;çalışılan maddelere ait veriler değerlendirildiğinde PC-3 kanser hücre hattında hücreölümün kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede gerçekleştiğini WST-1 hücre canlılık testi ile belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda 4C, 4B, 2, 3B, 3C maddeleri karşılaştırıldığında artan konsantrasyonlara bağlı olarak canlı kanser hücre sayısının giderek azaldığı görülmüştür. En yüksek sitotoksit etkinin 500 µM konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Antibakteriyel çalışmada ise maddelerinin gram pozitif üzerinde daha fazla etkili olduğu görülmektedir. Bileşiklerin kendi aralarında inhibisyon etki yarattıkları bakteri türlerinin oldukça farklı olduğu gözle çarpılmaktadır. .Bununla beraber *Proteus vulgaris* suşlarının 4B ve 2 nolu bileşiklere dirençli olduğu belirlenmiştir. *Bacillus megaterium DSM32* suşunda en fazla 3B maddesi etkili olmakla beraber tüm bileşiklere duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Apoptotik indeks oranlarına bakıldığında ise en düşük apoptotik indeks oranı 4B maddesi uygulandığında en yüksek apoptotik indeks oranı 3C maddesi uygulandığında tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmanın hedefine ulaştığı anlaşılmaktadır. Bu çalışmada antikanser ve apoptotik etkileri belirlenen maddelerin ileride farklı kanser hücrelerinde ve *in- vivo* olarak deneysel hayvan çalışmalarında test edilmesi önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

Al Awadhi MA, Abulfateh NM, Abu-Hassan F, Fikree MA, Janahi E, Carlo R (2016) Cancer incidence and mortality in the Kingdom of Bahrain statistics and trends. Bahrain Medical Bulletin 38: 30–4

Abdullah HM, Jassim IK, Safi MN (2012) Synthesis and Characterization of New Heterocyclic Compounds with Studying Its Biological Activity. Kerbala Journal of Pharmaceutical Sciences 4: 119-135

Al Nakib T, Megan M J, Burke M L (1994) Synthesis of 1-[2-(Benzo[b]thiophen 3-yl)-2-benzyloxy-ethyl]-1H-imidazoles and 1-[2-(Benzo[b]thiophen 3-yl)-2-benzyloxy-ethyl]-1H-triazoles with Antifungal Activity. Journal of Chemical Research. 170-171

Alnemri ES (1996) Human ICE/CED-3 protease nomenclature. Cell 87, 171

Al-Soud YA, Al-Dweri MN, Al-Masoudi NA (2004) Synthesis, antitumor and antiviral properties of some 1,2,4-triazole derivatives. 59(10): 775-83

Altunkaynak BZ, Özbek E (2008) Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir? Tıp Araştırma Dergisi 6(2): 93 -104

Amling CL, Riffenburgh RH, Sun L, Moul JW, Lance RS, Kusuda L, Sexton WJ, Soderdahl DW, Donahue TF, Foley JP, Chung AK, McLeod DG (2004) Pathologic Variables and Recurrence Rates As Related to Obesity and Race in Men With Prostate Cancer Undergoing Radical Prostatectomy. Journal Of Clinical Oncology 22(3): 439-445

Andreocci A Ber 1889 22-737

Arıca S, Nazlıcan E, Özer C, Benk Şilfeler D, Arıca V, Özgür T, Özaydın Ü (2011) Hatay ilinde 2008 yılı kanser vakaları sıklığı ve dağılımı. The frequency and distribution of cancer cases in Hatay District in 2008 Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi 2(2): 192-195

Armstrong B, Doll R (1975) Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. International Journal of Cancer 15: 617–631

Atia AJ et al -Mufregeiy SS (2012) Synthesis and Antibacterial Activities of New 3-Amino-2-Methyl- Quinazolin-4(3H)-One Derivatives. American Journal of Chemistry 2 (3): 150-156

- Baade PD, Youlten DR, Cramb SM, Dunn J, Gardiner RA (2013) Epidemiology of prostate cancer in the Asia-Pacific region. *Prostate International* 1: 47–58
- Balabin RM (2009) Tautomeric Equilibrium and Hydrogen Shifts in Tetrazole and Triazoles: Focal-Point Analysis and ab-initio Limit. *The Journal of Chemical Physics* 131 (154307): 1- 8
- Baykara O (2016) Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar Current Modalities In Treatment Of Cancer. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*. 154-165
- Bekircan O, Menteşe E, Ülker S, Kucuk C (2014) Synthesis of Some New 1,2,4-Triazole Derivatives Starting from 3-(4-Chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazol with Anti-Lipase and Anti-Urease Activities. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci* 347: 387–397
- Berry R, Schroeder JJ, French AJ, McDonnell SK, Peterson BJ, Cunningham JM, Thibodeau SN, Schaid DJ (2007) Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on chromosome 20. *The American Journal of Human Genetics* 67: 82-91
- Berthon P (1998) Predisposing gene for early onset prostate cancer, localized on chromosome 1q42.2-2-4.3. *The American Journal of Human Genetics* 62:1416-1424
- Berthon P, Valeri A, Cohen-Akenine A, Drelon E, Paiss T, Wohr G, Latil A, Millasseau P, Mellah I, Cohen N, Blanche H, Bellane-Chantelot C, Demenais F, Teillac P, Le Duc A, de Petriconi R, Hautmann R, Chumakow I, Bachner L, Maitland NJ, Lidereau R, Bhatia-Gaur R, Donjacour AA, Sciavolino PJ, Kim M, Desai N, Young P, Norton CR, Gridley T, Cardiff RD, Cunha G.R (1999) Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Genes & Development* 13: 966–977
- Bhurgri Y, Kayani N, Pervez S (2009) Incidence and trends of prostate cancer in Karachi South, 1995–2002. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 10: 45–8
- Biemer JJ (1973) Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method. *Annals of Clinical Laboratory Science* 3(2); 135-140
- Bladin JA, Ber (1885) Foreign Compound Metabolism in Mammals. 18: 1544
- Boeddeker SJ, Baston-Buest DM, Fehm T, Kruessel J, Hess A (2015) Decidualization and syndecan-1 knock down sensitize endometrial stromal cells to apoptosis induced by embryonic stimuli. *PLoS One*. 10: 103-7
- Bonjean J, Schunanck W (1987) *Archive der Pharmazie* 320
- Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S, Ho SM, Landolph J, Morrison H, Sonawane B, Shifflett T, Waters DJ, Timms B (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer* 101(10): 2371-490
- Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X (1999) Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annual Review of Cell Development Biology* 15: 269–290



Bulut VN, Duran C, Gundogdu A, Soylak M, Yildirim N, Tufekci M (2010) A Triazole Derivatives as A New Acid-Base Indicator. *Bulletin of the Chemical Society Ethiopia* 24(3): 457-460

Cao J, Miao Q, Miao S, Bi L, Zhang S, Yang Q (2015) Tetramethylpyrazine (TMP) exerts antitumor effects by inducing apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma. *International Immunopharmacology* 26: 212-20

Carmicheal J, DeGrafit WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB (1987) Evaluation of tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Research* 47: 936-942

Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC (1992) Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 3367

Cassani S, Kovarich S, Roy PP, Van der Wal L, Gramatica P (2013) Daphnia and Fish Toxicity of (Benzo) triazoles: Validated QSAR Models, and Interspecies Quantitative Activity-Activity Modeling. *Journal of Hazardous Materials* 258-259: 50-60

Ceylan Ş (2006) 1,2,4-Triazol İçeren Bazı Karbotiyoamid Türevlerinin Sentezi Ve Reaksiyonlarının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Chen W, Zheng R, Baade PD (2016) Cancer statistics in China. *A Cancer Journal of Clinics* 66: 115-3

Chen Y, Gao DY, Huang L (2014) In vivo delivery of miRNAs for cancer therapy: Challenges and strategies. *Advance Drug Delivery Review* 81: 128-41

Cikala M, Wilm B, Hobmayer E, Bottger A, David CN (1999) Identification of caspases and apoptosis in the simple metazoan Hydra. *Current Biology* 9: 959-962

Croce CM (2009) Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nature Review Genetics* 10: 704-714

De Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al .(2012) Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology* 13: 607-615

Demirbas N, Ugurluoglu R, Demirbas A (2002) Synthesis of 3-Alkyl(Aryl)-4-alkylidenamino-4,5-dihydro- 1H-1,2,4-triazol-5-ones and 3-Alkyl-4-alkylamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones as Antitumor Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 10: 3717-3723

Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, (2002) Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: a possible mechanism for chemoresistance. *Oncogene* 21: 8843-51

DiVall SA (2013) The influence of endocrine disruptors on growth and development of children. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 20(1): 50-5

Doub L, Richardson LM, Bambas LL, Youmans GP, Youmans ASJ (1958) Journal of the American Chemical Society 80: 2205-2217

Dönmez vd. (2010) Gıda Beslenmesi ve Kanserle İlişkisi. Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu, Ekim 21-22

Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH (1999) Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. Annual Review of Biochemistry 68: 383-424

Er JC, Tang MK, Chia CG, Liew H, Vendrell M, Chang YT (2014) Megastokes BODIPY-triazoles as Environmentally Sensitive Turn-on Fluorescent Dyes. Journal of Chemical Sciences 4: 2168-2176

Euling SY, Kimmel CA (2001) Developmental stage sensitivity and mode of action information for androgen agonists and antagonists. Science of the Total Environment 274(1-3): 103-113

Fulda S (2009) Tumor resistance to apoptosis. International Journal of Cancer 124: 511-515

Fulda S (2010) Evasion of apoptosis as a cellular stress response in cancer. International Journal of Cell Biology 2010: 370835

Gall M, Mitarb, Hester JB, Rudzik AD, Lahti RA (1976) Synthesis and Pharmacology of Novel Anxiolytic Agents Derived from 2-[(Dialkylamino)methyl-4H- triazol-4-yl] benzophenones and Related Heterocyclic Benzophenones: Journal of Medicinal Chemistry 19: 1057

Galluzzi L, Morselli E, Kepp O (2010) Mitochondrial gateways to cancer. Molecular Aspects of Medicine 1: 1-20

Garofalo M, Condorelli GL, Croce CM, (2010) MicroRNAs as regulators of death receptors signaling. Cell Death Differentiation 17: 200-208

Gibbs M, Stanford JL, Jarvik GP, Janer M, Badzioch M, Peters MA, Goode EL, Kolb S, Chakrabarti L, Shook M, Basom R, Ostrander EA, Hood L (2000) A genomic scan of families with prostate cancer identifies multiple regions of interest. American Journal of Human Genetics 67: 100-109

Gibbs M, Stanford JL, McIndoe RA, Jarvik GP, Kolb S, Goode EL, Chakrabarti L, Schuster EF, Buckley VA, Miller EL, Brandzel S, Li S, Hood L, Ostrander EA (1999) A rare prostate cancer susceptibility locus mapped to the short arm of chromosome 1 (1p36). Proceed AACR 40: 772-773

Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC (2002) A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. Journal of the National Cancer Institute 94: 391-399

Golstein P, Kroemer G (2007) Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends in Biochemical Sciences* 32: 37-43

Gültekin N, Karaoğlu K, Küçükateş E (2008) Hücrede apoptoz ve sağkalım mekanizmalarının keşfedilmesi ve yeni potansiyel tedavi stratejileri Türk Kardiyoloji Derneği Araş. 36(2): 120-130

Han HH, Park JW, Na JC, Chung BH, Kim CS, Ko WJ (2015) Epidemiology of prostate cancer in South Korea. *Prostate International* 3: 99–102

Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100: 57–70

Hariharan K, Padmanabha V (2016) Demography and disease characteristics of prostate cancer in India. *Indian Journal of Urology* 32: 103–108

Hassan FA, Younus KW (2012) Biological Evaluation of Some Azole Derivatives in Cooling Fluids (Lubricant Oils). *Research Journal of Biological Sciences* 7(1): 48-51

Hayes RB, Ziegler RG, Gridley G (1999) Dietary factors and risks for prostate cancer among blacks and whites in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention* 8: 25–34

Heinonen OP, Albanes D, Virtamo J (1998) Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and betacarotene: incidence and mortality in a controlled trial. *Journal of the National Cancer Institute* 90: 440–446

<https://kpkesehatan.com> (erişim tarihi: 07/12/2016)

Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A et al. (2005) Cancer statistics. *CA: Cancer Journal for Clinicians* 55: 10-30

Jiang X, Wang X (2000) Cytochrome c promotes caspase-9 activation by inducing nucleotide binding to Apaf-1. *Journal of Biological Chemistry* 275: 31199–31203

Kai Qi Zhang, Sherry A, Salzman DJ, Reding, Brian K, Suarez, William J. Catalona M James K, Burmester (2003) Genetics of Prostate Cancer. *Clinical Medicine & Research* 1(1): 21-28

Kang MH, Reynolds CP (2009) Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy. *Clinical Cancer Research* 15: 1126-1132

Karalezli İ, Aladag MO (2016) Apoptozis. *International Journal of Scientific and Technological Research* 2(1): 32-36

Karcı H (2013) Yeni bis-1,2,4-triazol türevlerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi Yüksek Lisans Tezi

Kartlaşmış K, Kökbaşı U, Levent Kayrın L (2016) Apoptozis Biyokimyası *Biochemistry of Apoptosis. Archives Medical Review Journal* 25(1): 52-69

- Kathari PJ, Sigh SP, Parmar SS, Stenberg V (1980) Journal of Heterocyclic Chemistry 17
- Kaya C, Çalışkan Y, Yönden Z (2012) Mustafa Kemal Üniv. Tıp Derg, Cilt 3, Sayı 11
- Keller-Byrne JE, Khuder SA, Schaub EA (1997) Meta-analyses of prostate cancer and farming. American Journal of Industrial Medicine 31: 580–586
- Kelten E C (1996) İlk trimester spontan ve rekürren abortus materyallerinde ki-67, bcl-2, bax ekspresyonu ile proliferasyon ve apoptotik aktivitenin değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
- Kerr JF, Wylie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. British Journal of Cancer 26: 239-257
- Kimura T, Takahashi H, Okayasu M (2016) Time trends in histological features of latent prostate cancer in Japan. Journal of Urology 195: 1415–20
- Kisgen J, Wolters K, Hong K (2015) Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology 6th edition
- Kozacıoğlu Z, Günlüsoy B (2012) Lokal ileri evre prostat kanserinde güncel tedavi yaklaşımları: ürolog yaklaşımı Current surgical approaches in local invasive prostate cancer: urologist approach. Üroonkoloji Bülteni 11(2). 124-128
- Kumar B, Koul S, Khandrika L, Meacham RB, Koul HK (2008) Oxidative Stress is Inherent in Prostate Cancer Cells and is Required for Aggressive Phenotype. Cancer Research 68(6): 1777-1785
- Kültürsay H, Kayıkçioğlu M (2002) Apoptosis and cardiovascular disease. Anadolu Kardiyoloji Dergisi 2(4): 323-329
- Lewenstein MJ (1954) Lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). European Food Research lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). European Food Research U.S.P. 2,683.106 (C.A.48:13175b)
- Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Pue J, Miliarensis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. (1997) PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. Science 275: 1943-1947
- Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X (1997) Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. Cell 91: 479–489
- Lian Z, Niwa K, Gao J, Tagami K, Mori H, Tamaya T (2003) Association of cellular apoptosis with anti-tumor effects of the Chinese herbal complex in endocrine-resistant cancer cell line, Cancer Detection and Prevention, 27: 147-154

Lindsey AT, MSPH1; Freddie B; Rebecca L. Siegel, MPH3; Jacques F, Joannie LT,; Ahmedin J (2015) *Global Cancer Statistics*. 65: 87–108

Martin KR, Barrett JC (2002) Reactive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Hum Exp Toxicol* 21: 71–5

McCord JM (1995) Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 209: 112–117

Michael OH (2000) The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407 (6805): 770-776

Michaud DS, Augustsson K, Rimm EB, Stampfer MJ, Willet WC, Giovannucci EA (2001) prospective study on intake of animal products and risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control* 12: 557–567

Moradpour F, Fatemi Z (2013) Estimation of the projections of the incidence rates, mortality and prevalence due to common cancer site in Isfahan, Iran. *Asian Pacific Journal Cancer Prevention* 14: 3581–3585

Morganti G, Gianferrari L, Cresseri A, Arrigoni G, Glovati G (1956) Recherches clinico-statistiques et genetiques sur les neoplasies de la prostate. *Acta Genetica* 6: 304

Nagata S (1999) Fas ligand-induced apoptosis. *Annual Review of Genetics* 33: 29–55

Narayanan A, Chapman DR, Upadhyaya SP, Bauer L (1993) Conversation of 4-Amino-4H-1,2,4-triazole to 1,3-Bis (1H-azol-1-yl)-2-aryl-2-propanols and 1-phenacyl-4-[(benzoylor 4-toluenesulfonyl)-imino]-(1H-1,2,4-triazolium) Ylides [1], *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 301405–1412

Nicotera P, Bernassola F, Melino G (2004) Regulation of the apoptosis-necrosis switch. *Oncogene* 23: 2757-2765

Noble RL (1977) The development of prostatic adenocarcinoma in Nb rats following prolonged sex hormone administration. *Cancer Research* 37: 1929–1933

Öktem S, Özhan MH, Özol D (2001) Apoptozisin Önemi, *Toraks Dergisi* 2(1): 91-95

Özay G, Ülker E (2008) Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi 2: 73-78

Özgür H, Çoşkun G (2011) Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv* 20: 145 145

Pardeshi SP, Patil SV, Patil R, Bobade VD (2014) Synthesis and Antimicrobial Activities of Some 1,2,4- Triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles and 1,2,4-Triazolo [3,4-b][1,3,4]thiadiazines Bearing Bistrifluoromethyl phenyl Moiety. *Journal of Chemical Pharmaceutical Research* 6 (4): 675-681

- Pelicano H, Carney D, Huang P (2004) ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resistance Updates* 7: 97–110
- Peter ME, Krammer PH (2003) The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differentiation* 10: 26–35
- Pienta KJ, Goodson JA, Esper PS (1996) Epidemiology of prostate cancer: molecular and environmental clues. *Urology* 48: 676-683
- Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R (2011). Apoptotic cell signaling in cancer progression and therapy. *Integr Biol (Camb)* 3, 279-296
- Porter AG and Jänicke RU (1999) Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death And Differentiation* 6: 99-145
- Potts KT (1961) *Chemical Reviews* (60) 2: 87-127
- Reader SCJ, Carroll B, Robertson WR, Lambert (1987) *Biochem. Pharmacol* 36, 1825
- Richie JP (1995) Anti-androgens and other hormonal therapies for prostate cancer. *Urology* 54:15–18
- Reddy CS, Rao LS, Nagaraj A (2010) Synthesis and Evaluation of Novel Bis [1,2,4]-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles as Potent Antimicrobial Agents, *Acta Chim. Slov.* 57, 726-732
- Riedl SJ, Shi Y (2004) Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nature reviews | Molecular Cell Biology.* 5: 897-907
- Riley DE, Krieger JN (2001) Short tandem repeat polymorphism linkage to the androgen receptor gene in prostate carcinoma. *Cancer* 92: 2603-2608
- Rodriguez A (1999) Dark is a Drosophila homologue of Apaf-1/CED-4 and functions in an evolutionarily conserved death pathway. *Nature Cell Biology* 1: 272–279
- Ross RK, Paganini-Hill A, Henderson BE (1983) The etiology of prostate cancer: what does the epidemiology suggest? *Prostate.* 4: 333–344
- Rusinov VL, Ulomkii EN, Chupakhin ON, Zubairov MM, Kapustin AB, Mitin N, Zhiravetskii MI, Vinograd IA (1990) *Khim-Farm, Zh.* 24,41
- Sağlık Bakanlığı prostat kanseri klinik protokolü ( 2017)
- Sengupta AK, Garg M (1988) Studies on Potential Pesticides-Part XIV Synthesis and Biological Activities of Some New Thiosemicarbazide and Triazole Derivatives. *Definition of Science* 31(2): 91-96
- Severson RK, Grove JS, Nomura AM, Stemmermann GN (1988) Body mass and prostatic cancer: a prospective study. *BMJ.* 297:713–715

Shah MH, Mhasalkar MY, Patki UM, Deliwala CV, Sheth UK (1969) *Journal of Pharmaceutical Sciences* 58, 1398

Smith JR, Freije D, Carpten JD, Gronberg H, Xu J, Isaacs SD, Brownstein MJ, Bova GS, Guo H, Bujnovszky P, Nusskern DR, Damber JE, Bergh A, Emanuelsson M, Kallioniemi OP, Walker- Daniels J, Bailey-Wilson JE, Beaty TH, Meyers DA, Walsh PC, Collins FS, Trent JM, Isaacs WB 1999 Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by genome-wide search. *Science* 274: 1371-1374.

Sripriya S, Subha C, Selvaraj A (2013) The Inhibition Chemistry of 2-Amino, 5-Phenyl 1, 3, 4-Triazole for Aluminium in Hydrochloric Acid Solution. *IOSR- JAC* 6 (2), 25-29

Strom SS, Yamamura Y, Duphorne CM (1999) Phytoestrogen intake and prostate cancer: a case-control study using a new database. *Nutrition and Cancer* 33: 20 –25

Subhasis B, S Ganguly, Kalyan KS (2013) A Review on 1, 2, 4 – Triazoles. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research* 3(3): 102-115

Subrahmanya BK, Boja P, Jagadeesh PD, Prashantha N, Shivarama HB (2009) Synthesis and antitumor activity studies of some new fused 1,2,4-triazole derivatives carrying 2,4-dichloro-5-fluorophenyl moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44: 5066–5070

Sun Z, Pan J, Bublely G, Balk SP (1997) Frequent abnormalities of TSG101 transcripts in human prostate cancer. *Oncogene* 15: 3121-3125

Szatrowski TP, Nathan CF (1991) Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Research* 51: 794–798

Sztanke K, Tuzimski T, Rzymowska J, Pasternak K, Kandefor-Szerszen M (2008) Synthesis, determination of the lipophilicity, anticancer and antimicrobial properties of some fused 1,2,4-triazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 43: 404-409

Taj T, Kamble RR, Gireesh T, Badami BV (2011) An Expeditious Green Synthesis of Schiff Bases and Azetidines Derivatized with 1,2,4-Triazoles. *Journal of Chemical Sciences* 123(5): 657–666

Takahiro K, Shin E (2018) Epidemiology of prostate cancer in Asian countries *International Journal of Urology* 25: 524-531

Tantwy A, Barghash AEM, Alexandria (1988) *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2,50

Tarman GJ, Kane CJ, Moul JW (2000) Impact of socioeconomic status and race on clinical parameters of patients undergoing radical prostatectomy in an equal access health care system. *Urology* 56: 1016-1020

Tekin A, Kaya E, Özbek Yazıcı S (2012) Kanserle İlgili Alternatif Tıp İçerikli Web Sitelerinin İçerik Analizi Content Analysis of Websites Concerning Alternative Medicine with Cancer. Mehmet Akif Ersoy Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi. 6: 14-34

Temple C (1981) Montgomery J.A.:The Chemist of Heterocyclic Compounds, Triazoles-1,2,4-“John Wiley and Sons, New York, the United States and Japan: A second look. Cancer 67: 746-763

Thompson CB (1995) Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 267: 1456–1462

Thornberry NA, Rano TA, Peterson EP, Rasper DM, Timkey T, Garcia-Calvo M, Houtzager VM, Nordstrom PA, Roy S, Vaillancourt JP, Chapman KT, Nicholson DW (1997) A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. Journal of Biological Chemistry 272, 17907–17911

Thornberry NA, Lazebnik Y (1998) Caspases: enemies within. Science 281, 1312–1316

Tolbert PE, Eisen EA, Pothier LJ, Monson RR, Hallock MF, Smith TJ (1992) Mortality studies of machining-fluid exposure in the automobile industry. II. Risks associated with specific fluid types. Scand J Work Environ Health. 18: 351–360

Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H (1995) Persistent oxidative stress in cancer. FEBS Letters 358: 1–3

Umbas R, Safriadi F, Mochtar CA, Djatisoesanto W, Hamid AR (2015) Urologic cancer in Indonesia. Japanese Journal Clinical Oncology 45: 708–712

Van Dong H, Lee AH, Nga NH, Quang N, Le Chuyen V, Binns CW (2014) Epidemiology and prevention of prostate cancer in Vietnam. Asian Pacific Journal Cancer Prevention 15: 9747–9751

Vander Gulden JW (1997) Metal workers and repairmen at risk for prostate cancer: a review. Prostate. 30: 107–116

Vudalı EY, Kımıklı S, Cesur S (2014) Antibiyotiklerin Yan Etkileri. Turkish Journal of Clinical Laboratory 5(2): 18-27

Wang X (2001) The expanding role of mitochondria in apoptosis. Genes Development 15: 2922–2933

Wyllie AH (1987) Cite as Apoptosis: Cell Death Under Homeostatic Control Mechanisms and Models in Toxicology 3-10

Wynder EL, Fujita Y, Harris RE (1991) Comparative epidemiology of cancer between Wuilleme-Toumi S, Robillard N, Gomez P, et al. (2005). Mcl-1 is overexpressed in multiple myeloma and associated with relapse and shorter survival. Leukemia 19, 1248-1252



Xu J, Meyers D, Freije D, Isaacs S, Wiley K, Nuskern D, Ewing C, Wilkens E, Bujnovszky P, Bova GS, Walsh P, Isaacs W, Schleutker J, Matikainen M, Tammela T, Visakorpi T, Kallioniemi OP, Berry R, Schaid D, French A, McDonnell S, Schroeder J, Blute M, Thibodeau S, Trent J (1998) Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosomes. *Nature Genetics* 20: 175-179

Zorlu F, Zorlu R, Divrik RT, Eser S, Yorukoglu K (2014) Prostate cancer incidence in Turkey: an epidemiological study. *Asian Pacific Journal Cancer Prevention* 15: 9125–9130

## **ÖZGEÇMİŞ**

1982 yılında Bingöl'de doğdu. İlkokulu Karaelmas, ortaokulu ve liseyi Bingöl Lisesi'nde tamamladı. 2000 yılında Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2004 yılında Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2004-2011 yılları arasında Bingöl Milli Eğitim Müdürlüğünde ücretli öğretmenlik yaptı. 2011-2014 yılları arasında Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında Proje kapsamında Biyolog olarak görev yaptı.2017 yılında Karlıova Anadolu Lisesine Sözleşmeli Biyoloji Öğretmenliğine atandı ve halen çalışmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir.