

## Liver Tissue Adenosine Deaminase Enzyme Activity in *Hypericum Perforatum* Applied Ehrlich Acid Solid Tumor Bearing Mice

Saadet Nur MUTLU<sup>1</sup>, Burcu Menekşe BALKAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Health Science, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TURKEY

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TURKEY

### ABSTRACT

Drugs used in cancer treatment have serious side effects in patients. For this reason, studies are being carried out on the development of herbal based drugs that can be used in the treatment of cancer without side effects. It has been reported that there is an important relationship between carcinogenic process and activation of some enzymes in breast cancer and ADA activity may increase or decrease in cancer tissues and cells. The aim of this study is to investigate the effects of aqueous extract of *H. perforatum* on liver tissue ADA enzyme activities in breast cancer-induced mice. In the study, mice divided into five groups; healthy control group (Group 1, n = 8), cancer control group (Group 2, n = 9), low-dose *H. Perforatum* (group 3, n = 8), high-dose *H. Perforatum* (group 4, n = 11) and doxorubicin (Group 5, n = 12). Liver tissue ADA activity increased in Group 2 compared to Group 4 (P <0.05).

**Key words:** Adenosine deaminase, Cancer, *Hypericum perforatum*, Mice.

## *Hypericum Perforatum* Uygulanan Ehrlich Asit Solid Tümör Oluşturulmuş Farelerde Karaciğer Dokusu Adenozin Deaminaz Enzim Aktivitesi

### ÖZET

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar hastalarda ciddi yan etkiler meydana getirmektedir. Bu sebeple kanseri tedavisinde kullanılabilecek, yan etkileri olmayan bitkisel kaynaklı ilaçların geliştirilmesi konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Meme kanserinde karsinojenik süreç ve bazı enzimlerin aktivasyonu arasında önemli bir ilişki olduğu, kanser doku ve hücrelerinde ise ADA aktivitesinin artabileceği ya da azalabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada kanser tedavisinde kullanımları antioksidan etkileri bilinen *H. Perforatum*'un sulu ekstratının meme kanseri oluşturulan farelerde, karaciğer dokusu ADA enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada deney hayvanları, sağlıklı kontrol grubu (Grup 1, n=8), kanserli kontrol grubu (Grup 2, n=9), düşük doz *H. Perforatum* (grup 3, n=8), yüksek doz *H. Perforatum* (grup 4, n=11) ve Doksorubisin (Grup 5, n=12) uygulanan gruplar olmak üzere beş gruba ayrıldı. ADA aktivitesi, Grup 2'de Grup 4'e göre arttığı (P<0.05) tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Adenozin Deaminaz, Fare, *Hypericum perforatum*, Kanser.

## GİRİŞ

Memekanseri tedavisinde kullanılan ilaçlar hastalarda ciddiyan etkiler meydana getirmektedir (Guo-Shiou Liao ve ark. 2013). Bu sebeple meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek, yan etkileri olmayan birçok tıbbi bitkinin etkileri araştırılmaktadır. Bu sebeple mevcut farmakolojik çalışmalar moleküler hedeflere yönelik anti-kanser ilaçların geliştirilmesi üzerinde durmaktadır. Üretilen ilaçların yaklaşık %20'si geleneksel tıbbi bitkiler kullanılarak hazırlanmaktadır. Bu bitkilerden çok fazla sayıda bileşik izole edilmiştir. Bu bileşikler başta kanser olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların hazırlanmasında etken madde olarak kullanılmaktadır (Robinson ve Zhang 2011; Rogers 2005).

Dünyada 465 tür içeren *Hypericum L. (Guttiferae / Clusiaceae / Hypericaceae)* türü, potansiyel tıbbi değere sahip geniş bir bitki familyasıdır (Nogueira ve ark. 2008). *Hypericum perforatum*, ağırlıklı olarak depresyon tedavisinde kullanımından dolayı içindeki etken maddeler araştırılmıştır. Yaygın olarak St. John's wort, sarı kantaron, binbirdelik otu olarak bilinir (Robson 1977).

Kimyasal araştırmalarda *Hypericum Perforatum*'da yapısında, naftodiantronlar, floglolüsünoller ve flavonoidler (fenilpropanlar, flavonol glikozitler ve biflavonlar gibi) ve uçucu yağlar bulunur. Bu bileşenlerden iki ana aktif bileşen belirlenmiştir. Bunlar; hiperisin (bir naftodianthrone) ve hiperforin (bir floroglukinol)'dir. Hiperforin ve hiperisin antikanser özellikleri açısından incelendiğinde, hiperforinin in vitro tümör hücre büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Hiperisin ayrıca gliom, nöroblastoma, adenom, mezotelyoma, melanom, karsinoma, sarkom ve lösemi gibi çeşitli neoplastik dokularda hücrelerin büyümesini engellemiştir (Fox ve ark. 1998). Tümör hücrelerinde hiperisinle birlikte lazer uygulamaları, insan prostat kanseri hücrelerinde (Colasanti ve ark. 2000), insan mesane karsinom hücrelerinde (Kamuhabva ve ark. 2000) ve pankreatik kanser hücrelerinde (Liu ve ark. 2000) toksik etkilere neden olduğu bildirilmektedir.

Kanser oluşumu incelendiğinde pürin ve pirimidin metabolizması büyük önem taşımaktadır. Pürin ve pirimidin metabolizmasında ve bu metabolizmalarda yer alan enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikler kanser çalışmalarında incelenmektedir. Genel görüş kanserli hücrede pürin-

pirimidin metabolizmasında de-novo sentaz ve salvaj ara yolunda görev alan enzim aktivitelerinin arttığı, yıkım yolu enzim aktivitelerinin ise azaldığı yönündedir (Camici ve ark. 1990; Sufirin ve ark. 1978)

Kanser hücrelerinde DNA turn-over'inin çok yüksek olması, salvaj ara yoluna gerekli olan substratların çok fazla miktarda oluşmasına yol açar. Gerçekten kanser hücresinde metabolik yolda görev alan enzimlerin aktivitelerinin de büyük oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu ara yolda görev alan enzimlerin en önemlilerinden biri Adenozin deaminaz (ADA)'dır (Durak ve ark. 1994; Durak ve ark. 1996).

ADA pürin bazların yıkımıyla ilgili olan ve adenozinin amin molekülünü kopararak inozine dönüşmesini sağlayan bir enzimdir. ADA özellikle adenozin yıkımında rol aldığı ve salvaj yoluna substrat sağladığı için bazı yazarlar tarafından pürin salvaj yolu enzimi olarak düşünülmüştür. Özellikle hücre siklusu hızlanmış olan kanser hücresinin DNA sentezi için normal hücreye göre daha fazla nükleotide ihtiyaç vardır. Pürin nükleotidlerinin yeniden elde edilmesinde ise en avantajlı yol pürinlerin salvaj yoludur. Kanser hücrelerinde bu yolu kontrol eden esas enzimlerden olan hipoksantin-guanin fosforibosil transferaz enziminin yanı sıra 5'nükleotidaz ve ADA'nın aktivitesinin normale göre arttığı birçok araştırmada gösterilmiştir. Buna karşılık bazı araştırmacılar ise ADA'yı yıkım yolunun bir enzimi olarak değerlendirmektedir. Kanser hücrelerinde pürin yıkım yolunun baskılanıp salvaj yolunun arttırılması çok karakteristik davranıştır. Değişik kanser türlerinde ADA aktivitesini düşük olarak bulan araştırmacılar ise bu durumu yıkım yolunun baskılanması çabasına bir örnek olarak değerlendirmişlerdir (Durak ve ark. 1993).

Antioksidanların kanserden koruyucu etkinliği birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada ise antioksidan etkileri bilinen *Hypericum perforatum*'un sulu ekstratının meme kanseri oluşturulan farelerde, karaciğer ADA enzim aktivitesi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

## MATERYAL VE METOT

Deney hayvan çalışmaları 19.01.2018 tarihli ve 18 nolu Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu kararına uygun olarak yapılmıştır.

Çalışmada Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney

Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen, toplam 48 adet, 12-16 haftalık, ağırlıkları 25-40 g arasında değişen Balb-c dişi fare kullanıldı. Fareler, özel poliprotilen kafeslerde her bir grupta 8-11 adet fare, her bir kafeste yaklaşık 4-6 fare olacak şekilde, kontrollü şartlarda (12 saat karanlık/12 saat aydınlık), standart fare yemi ve normal musluk suyu ile ad libitum olarak beslendi.

Çalışmada meme tümör modeli oluşturmak amacıyla Ehrlich asit tümör hücreleri kullanıldı. Hücreler, daha önce intraperitoneal enjeksiyon yolu ile tümör geliştirilmiş olan donör farenin asit sıvısından sağlandı. Enjektör yardımıyla donör farenin periton boşluğundan, Ehrlich asit tümör hücrelerinin bulunduğu asit sıvısı alınarak Thoma lamında hücre sayımı yapıldı. Uygun hücre sayısı hesaplanarak Grup 1 (sağlıklı kontrol grubu) dışında, diğer gruplardaki farelere katı tümör oluşturmak üzere  $2.5 \times 10^6$  EAC hücre içeren asit sıvısı sırt bölgesine subkutan yolla enjekte edildi. Grup 1'deki farelere ise subkutan yolla % 0.9'luk NaCl uygulandı. EAC hücreleri uygulandıktan sonra fareler tartıldı ve rastgele olarak gruplara ayrıldı.

Grup 3 ve 4'teki farelere farklı dozlarda hazırlanan *Hypericum perforatum* sulu ekstraktı, diğer gruplarda bulunan hayvanlara ise içme suyu (normal beslenmeye ek olarak) 14 gün boyunca gün aşırı olarak gavaj ile uygulandı.

Tümör uygulamasından sonraki 2. 7. ve 12. günlerde grup 5'de bulunan farelere Doxorubicin (3 mg/kg), diğer gruplardaki farelere ise % 0,9'luk NaCl toplam 3 kez intraperitoneal olarak uygulandı.

H. perforatum standartize ( 300mg St John's Wort, 0,5 mg -% 0,3 - hiperisin) *Hypericum perforatum* (St. John's Wort *Hypericum perforatum* SOLGAR®) ekstraktı kullanılarak uygun dozlarda %0,9'luk NaCl içerisinde hazırlandı.

Tümör uygulamasından sonraki 15. günde hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifikasyon için yüksek dozda ksilazin (Rampun®) ve ketamin (ketasol®) kas içine uygulandı. Alınan karaciğer örnekleri % 0,9'luk NaCl ile yıkandıktan sonra kurutma kâğıdında kurulandı ve alınan karaciğer doku örnekleri çalışma yapılıncaya kadar derin dondurucuda (-20oC'de) saklandı. Dokular fosfat tampon (pH 6.5) ile 1/10 oranında sulandırılarak buz üzerinde homojenize (Wisetis homojenizatör, 50kHz/15sn) edildi.

#### Adenozin Deaminaz Ölçüm Metodu

ADA enzim aktivitesi Guisti(1974) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü. ADA, adenozinden inozin oluşumunu katalize eder. Bu reaksiyon sonucunda amonyak açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan amonyak, sodyum nitroprussid ve alkali ortamda fenol çözeltisiyle mavi renkli indofenol bileşiğine dönüşmektedir. Bu reaksiyonda sodyum nitroprussid katalizör olarak görev yapmaktadır. Amonyak konsantrasyonu oluşan indofenol ile doğru orantılıdır.

Örneklerin protein içerikleri Lowry yöntemine göre tayin edildi (Lowry ve ark. 1951).

#### BULGULAR

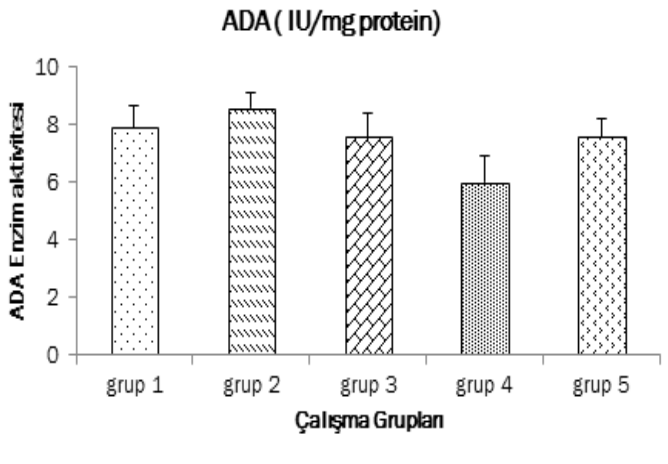
Karaciğer dokularındaki ADA aktivitesi, en yüksek, kanserli kontrol grubunda (Grup 2), en düşük ise yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan farelerde (Grup 4) bulunmuştur. Düşük doz *Hypericum perforatum* uygulanan grupta ADA aktivitesi, yüksek doz *Hypericum perforatum* uygulanan gruba göre daha yüksek, herhangi bir uygulama yapılmayan gruba göre ise daha az bulunmuştur. Düşük doz *Hypericum perforatum* uygulanan grup (grup 2), sağlıklı grup (Grup 1) ve doksorubisin uygulana gruplarda (Grup 5) ise benzer düzeyler ölçülmüştür. Bu değişimlerden Grup 2 ve grup-4 arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunurken ( $P < 0.05$ ), diğer gruplar arasındaki fark anlamlı değildir.

**Tablo 1.** Deneysel gruplarında ADA Enzim Aktiviteleri

Gruplar	ADA Enzim Aktivitesi
Grup 1	7.90±0.77 <sup>ab</sup>
Grup 2	8.59±0.54 <sup>a</sup>
Grup 3	7.6±0.82 <sup>ab</sup>
Grup 4	6.02±0.91 <sup>b</sup>
Grup 5	7.58±0.62 <sup>ab</sup>

<sup>a,b</sup> Farklı harflerle belirtilen değerler arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir ( $p < 0.05$ )

Bu çalışmada, karaciğer dokusu ADA enzim aktivitesi sağlıklı kontrol grubuna kıyaslandığında, meme tümörü oluşturulan kontrol grubunda artmış; yüksek doz (900 mg/kg) *Hypericum perforatum* uygulanan grupta azalmıştır.



**Şekil 1.** Farklı dozlarda *Hypericum perforatum* uygulanan, EAC oluşturulmuş farelerin karaciğer dokularında ADA enzim aktivitesi

Düşük doz (300 mg/kg) *Hypericum perforatum* ve doksorubisin uygulanan gruplarda ise azalma olmakla birlikte, anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

### TARTIŞMA

Aghaei ve ark. (2005), meme kanserinde serum ve tümör dokularında ADA aktivitesinin artmış olduğunu bildirmişlerdir. Canbolat ve ark. (1996) ise meme kanserinde tümör dokusundaki ADA aktivitesini sağlıklı dokulardan yüksek bulmuşlardır. Bir başka çalışmada, meme kanserli hastalarda serum ADA aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Walia ve ark. 1995). Artmış ADA aktivitesinin, tümörün evlendirilmesi, tümör büyüklüğü, lenf nod tutulumu ve yaş ile ilişkili olduğu; bu sebeple, artmış ADA aktivitesinin tümör dokusundan farklı kaynaklara bağlı olabileceği bildirilmiştir (Aghaeia ve ark. 2005).

Avcı ve ark. (2005), antioksidan (allium-sativum ve trifolium-pratense) ekstraktlarının takviyesinin kanserli ve kanserli olmayan karaciğer dokularında ADA aktivitesini incelemişlerdir. Kullanılan antioksidan ekstrakt her iki grupta da ADA aktivitesini belirgin olarak inhibe etmiştir.

ADA aktivitesinin araştırıldığı kanser doku ve hücrelerinde çok farklı sonuçlar vardır. Kiozomi ve ark. (1985) cilt kanserlerinde yüksek ADA aktivitesini rapor etmişlerdir. Yine Sufirin ve ark. (1978) safra kesesi kanseri olan hastaların kanser dokularında tespit ettikleri yüksek ADA aktivitelerini bildirmişlerdir. Ancak Durak ve ark. (1993) insan larenks kanserlerinde

ADA aktivitesini komşu sağlam dokuya göre düşük tespit etmişlerdir. Daha önce de belirtildiği gibi malign hücredeki gen yapısının yeniden düzenlenmesi sonucu normal hücredeki enzim profili değişime uğramaktadır. Kanserli hücrelerdeki enzim aktivitelerinin ölçülmesi, değişime uğrayan malign hücredeki yeni düzenlemeler hakkında bizlere bilgi vermektedir. Bu enzim aktivitelerinin artışı veya azalışı, kanser hücresindeki yeniden programlanmış genetik bilginin bir göstergesi olması açısından önemlidir (Dolanmaz 1998).

Benign ovarian tümörlere kıyasla, yumurtalık kanseri olan hastalarda serum ve peritoneal sıvı ADA düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır ( $p = 0.001$ ). Buna ek olarak, yumurtalık kanserlerinin histopatolojik alt tipleri ve derecesine göre ADA düzeyleri önemli ölçüde farklı bulunurken, iyi huylu ve düşük dereceli habis tümörler arasındaki ADA düzeyleri bakımından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Aynı çalışmada peritoneal sıvı ile serum ADA düzeyleri arasında önemli bir ilişki olduğu, malign over tümörlerinde serum ve peritoneal sıvı ADA düzeyleri daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hatta bu bulgularla ADA'nın, yumurtalık tümörlerinin tanı ve tedavisinde yararlı bir biyobelirteç olabileceği öne sürülmüştür (Urunsak ve ark. 2012).

Meme kanserli hastalarda yapılan çalışmada ADA aktivitesi hasta grubunda Evre-1, Evre-2 ve Evre-3' de yüksek saptanmış ( $p < 0.001$ ) ve ADA aktiviteleri hasta grubu evrelerinde sırasıyla, Evre-1 ile Evre-2 ve Evre-1 ile Evre-3 arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık yokken, Evre-2 ile Evre-3 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) (Demir 2017).

Canbolat ve ark. (1996) meme kanseri tümörlerinde ADA aktivitesinin normal dokudan daha yüksek olduğunu gösterirken, Walia ve ark. (1995) da, meme kanserli hastaların serumunda artmış toplam ADA aktivitesi tespit etmişlerdir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, postmenopozal yaş ile ilgili olarak hem toplam ADA hem de ADA2 izoenzimi aktivitelerinin meme kanserli hastaların serumunda arttığını ortaya koymaktadır (Aghaeia ve ark. 2005).

Serum ADA seviyelerinin çeşitli kanser türlerinde yaklaşık bir ila üç kat arttığı gösterilmiştir. Mevcut çalışmadaki veriler, baş-boyun kanserli hastalarda serum ADA düzeylerinin kontrollere kıyasla yaklaşık %150 oranında arttığını

göstermektedir. Malignitede serum ADA aktivitesinde artış, artmış adenozin metabolizmasını akla getirmektedir (Mishra ve ark. 2000).

Ishii ve Green (1973) adenozinin, kültürlenmiş memeli hücreleri için toksik olduğunu ve pirimidin biyosentezine müdahale ettiğini bildirmiştir. Mishra ve ark. (2000), ise yaptıkları çalışma sonucunda ADA aktivitesindeki artışın doğrudan kanser evresi ile ilişkili ve artışın primer tümör kitlesi ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Sufrin ve ark. (1978), mesane geçiş hücreli karsinomali hastalarda lenfosit ADA aktivitesindeki artış ile tümör evresi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Bazı araştırmacılar, ameliyattan sonra akciğer karsinomali hastalarda serum ADA düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir (Nishihara ve ark. 1970; Sufrin ve ark. 1978). Nishihara ve ark. (1970), radyoterapiye tabi tutulmuş hastaların serum ADA aktivitesinde düşüş gösterdiklerini bildirmiştir. Radyoterapi tamamlandıktan sonra, ADA aktivitesinde yaklaşık %85 azalma görüldüğünü bildirmişlerdir.

ADA, özellikle T hücreleri başta olmak üzere lenf hücrelerinin farklılaşması için gerekli ve monositlerin makrofajlara dönüşmesinde önemli rol oynamaktadır (Shore ve ark. 1981). İntraselüler enfeksiyon ve yangısal hastalıklarda oluşan monosit/makrofaj aktivasyonu, ADA'nın salınımının artmasına ve serum düzeyinin yükselmesine neden olur. Yangısal hastalıklarda, dokularda meydana gelen yangı ve aktive olan makrofajlardan salınan serbest radikallerin oksidatif strese neden olabileceği bildirilmiştir (Wiid ve ark. 2004).

Yapılan çalışmada, karaciğer dokusu ADA enzim aktivitesi sağlıklı kontrol grubuna kıyaslandığında, meme tümörü oluşturulan kontrol grubunda artmış; yüksek doz (900 mg/kg) *Hypericum perforatum* uygulanan grupta azalmıştır. Düşük doz (300 mg/kg) *Hypericum perforatum* ve doksorubisin uygulanan gruplarda ise azalma olmakla birlikte, anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Tez çalışmasında kanserli kontrol grubunda elde edilen veriler Aghaei ve ark. (2005) ve Canbolat ve ark. (1996) ile benzer bulunmuştur.

Durak ve ark. 1994, ise meme kanserli ve mesane kanserli hastalarda kanser dokusunda ADA aktivitesinin artmış, larenks kanserli hastaların kanserli dokularında bu enzim

aktivitesin düştüğünü bildirmişlerdir (Durak ve ark. 1994).

Yine aynı şekilde Avcı ve ark. (2005)'nin antioksidan olan (*allium-sativum* ve *trifolium-pratense*) ekstraktlarının takviyesinin kanserli ve kanserli olmayan karaciğer dokularında ADA aktivitesini inceledikleri çalışmada, tez çalışmasıyla benzer olarak, kullanılan antioksidan ekstraktın her iki grupta da ADA aktivitesini belirgin olarak inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

## SONUÇ

Hızlı büyümekte olan kanser hücrelerinde artmış ADA aktivitesi beklenen bir sonuçtur. ADA aktivitesinin bu hücrelerde düşürülmesi, kanser hücrelerinin hızlı büyümesinin baskılanmasıyla ilgili olabilir.

Düşük doz *H.perforatum* uygulanan grupta ise yüksek doz uygulanan gruba göre ADA enzim aktivitesinde meydana gelen farklılık uygulanan dozun kanserli dokularda enzim aktivitesini farklı derecelerde etkilemesinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

## TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kordinatörlüğü (0528-YL-18) tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Aghaeia M, Karami-Tehrani F, Salamia S, Atrib M. (2005). Adenosine Deaminase Activity in the Serum and Malignant Tumors of Breast Cancer: The Assessment of Isoenzyme ADA1 and ADA2 Activities. *Clin Biochem*, 38: 887-891.
- Avcı A, Kaçmaz M, Kavutcu M, Göçmen E, Durak I. (2005). Effects of on Antioxidant Extract on Adenosine Deaminase Activities in Cancerous Human Liver Tissues. *International Journal of Cancer Research*, 1(1-2): 53-56.
- Camici M, Tozzi MG, Allegrini S. (1990). Purine Salvage Enzyme Activities in Normal And Neoplastic Human Tissues. *Can Biochem Biophys*, 2: 201-9
- Canbolat O, Durak I, Cetin R, Kavutcu M, Demirci S, Ozturk S. (1996). Activities of adenosine deaminase, 5V-nucleotidase, guanase and cytidin deaminase enzymes in cancerous and noncancerous human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 37: 189-93.
- Colasanti A, Kisslinger A, Liuzzi R, Quarto M, Riccio P,

- Roberti G, Tramantano D, Villani F. (2000). Hypericin photosensitization of tumor and metastatic cell lines of human prostate. *J Photochem Photobiol*, 54: 103-7.
- Demir H, Keskin S, Demir C, Gökyer H. (2017). Meme Kanseri Teşhisi ve Evrelerini Belirlemede Bazı Enzimlerin Tanısal Performansını ROC (Receiver Operating Characteristics) Eğrisi ile Değerlendirilmesi, [http://medikalfizik.org/uploads/files/15\\_mfd\\_kongre/17mayis\\_30\\_halitdemir.pdf](http://medikalfizik.org/uploads/files/15_mfd_kongre/17mayis_30_halitdemir.pdf) Erişim Tarihi: 15.11.2017.
- Dolanmaz D (1998). Kanseroz Ve Non- Kanseroz Bas-Boyun Bölgesi Dokularında Adenozin Deaminaz Enzim Aktivitesinin İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara
- Durak I, Işık ACÜ, Canbolat O, Akyol Ö, Kavukçu M. (1993). Adenosine Deaminase, 5' Nucleotidase, Xanthine Oxidase, Superoxide Dismutase And Catalase Activities İn Cancerous And Non- Cancerous Human Laryngeal Tissues. *Free Radical Bio Med*, 15(6): 681-684.
- Durak I, Işık AU, Canbolat O, Akyol O, Kavutçu M. (1994). Adenosine deaminase, 5V-nucleotidase, xanthine oxidase, superoxid dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human bladder tissues. *Free Radical Biol Med*, 16: 825- 31.
- Durak I, Çetin R, Canbolat O, Çetin D, Yurtaslanı Z, Ünal A. (1996). Adenosine Deaminase, 5' Nucleotidase, Guanase And Cytidine Deaminase İn Gastric Tissues From Patients With Gastric Cancer. *Cancer Lett*, 84(2): 199- 202.
- Fox FE, Niu Z, Tobia A, Rook AH. (1998). Photoactivated hypericin is an anti- proliferative agent that induces a high rate of apoptotic death of normal, transformed, and malignant T lymphocytes: Complications for the treatment of cutaneous lympho- proliferative and inflammatory disorders. *J Invest Dermatol*, 111(2): 327-32
- Giusti, G. (1974) Adenosine Deaminase. In: Bergmeyer, H.U., Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd Edition, Academic Press, New York, 1092-1099.
- Guo-Shiou Liao GS, Apaya MK, Shyur LF. (2013). Review Article Herbal Medicine and Acupuncture for Breast Cancer Palliative Care and Adjuvant Therapy. *Evid.-Based Complementary Altern. Med.* Article ID 437948, 17.
- Ishii A. And Green H. (1973). Lethality Of Adenosine For Cultured Mammalian Cells By Interference With Pyrimidine Biosynthesis. *J. Cell Sci.*, 13: 419-439.
- Kamuhabwa AR, Agostinis P, D'Hallewin MA, Kasran A, De Witte PA. (2000). Photodynamic activity of hypericin in human urinary bladder carcinoma cells. *Anticancer Res*, 220: 2579-84
- Koizumi H, Lizuka H, Aoyagi T, Miura Y. (1983). Adenosine Deaminase İn Epidermis From Healty And Psoriatic Subjects. *Arch Dermatol Res*, 275: 310-4
- Liu CD, Kwan D, Saxton RE, McFadden DW. (2000). Hypericin and photodynamic therapy decreases human pancreatic cancer in vitro and vivo. *J Surg Res*, 93: 137-43
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biochem.*, 193: 265-275.
- Mishra R, Agarwal MK, Chansuria JPN. (2000). Serum Adenosine Deaminase Levels As An Index Of Tumor Growth İn Head And Neck Malignancy. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 52(4): 360-363.
- Nishihara H, Akedo H, Okada H. (1970). Multienzyme Patterns Of Serum Adenosine Deaminase By Agar Gel Electrophoresis: An Evaluation Of The Diagnostic Value İn Lung Cancer. *Clin Chim Acta*, 30: 251-8
- Nogueira T, Marcelo-Curto MJ, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Rubiolo P, Bicchi C (2008). Chemotaxonomy of *Hypericum* genus from Portugal: Geographical distribution and essential oils composition of *Hypericum perforatum*, *Hypericum humifusum*, *Hypericum linariifolium* and *Hypericum pulchrum*. *Biochem Syst Ecol.* 36(1): 40-50.
- Robinson MM, Zhang X. (2011). *The World Medicines Situation 2011. Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges*. Geneva: World Health Organization.
- Robson NKB. (1977). *Studies in the genus Hypericum L. (Guttiferae). I. Infrageneric classification.* 5: 293.
- Rogers G. (2005). *Herb Consumers' Attitudes, Preferences Profiled in New Market Study*. *HerbalGram American Botanical Council*, 65: 60-61.
- Shore A, Dosch HM, Gelfand EW. (1981). Role of adenosine deaminase in the early stages of precursor T cell maturation. *Clin Exp Immunol.* 44: 152-155.
- Sufrin G, Tritsch GL, Mittelman A, Murphr GP. (1978). Adenosine Deaminase Activity İn Patients With Carcinoma of Bladder.

J Urol, 119: 343-6.

Urunsak IF, Küçükgöz-Güleç U, Paydaş S, Seydaoğlu G, Güzel A B, Vardar MA. (2012). Adenosine Deaminase Activity in Patients With Ovarian Neoplasms. Arch Gynecol Obstet, 286: 155-159.

Walia M, Mahajan M, Singh K. (1995). Serum adenosine deaminase, 5nucleotidase and alkaline phosphates in breast cancer patients. Indian J Med Res. 101: 247-9.

Wiid I, Seaman T, Hoal EG, Benade AJ, Van Helden PD. (2004). Total antioxidant levels are low during active TB and rise with antituberculosis therapy. IUBMB Life. 56: 101-106.