



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE İLAÇ DİRENCİNİN
ÖNLENMESİNDE RUTİN VE NARİNGİN FLAVONOİDLERİNİN
ROLÜ

LİVANUR ALTAN

DANIŞMAN

DOÇ. DR. YAVUZ ERDEN

BARTIN-2025



T.C.
BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE İLAÇ DİRENCİNİN ÖNLENMESİNDE
RUTİN VE NARİNGİN FLAVONOİDLERİNİN ROLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Livanur ALTAN

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman :

Üye :

Üye : -

BARTIN-2025

KABUL VE ONAY

Livanur ALTAN tarafından hazırlanan “KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE İLAÇ DİRENCİNİN ÖNLENMESİNDE RUTİN VE NARİNGİN FLAVONOİDLERİNİN ROLÜ” başlıklı bu çalışma, 14.08.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../2025 tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer CEYLAN

Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Yavuz ERDEN danışmanlığında hazırlamış olduğum “KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE İLAÇ DİRENCİNİN ÖNLENMESİNDE RUTİN VE NARİNGİN FLAVONOİDLERİNİN ROLÜ” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

14.08.2025

Livanur ALTAN

ÖN SÖZ

Yüksek lisans sürecim boyunca akademik bilgisi, deneyimi ve çözüm odaklı yaklaşımıyla bana yol gösteren; laboratuvar ortamında hata yaptığımda yeniden deneme cesareti göstererek hatalarımı telafi edebilme özgürlüğünü sunan, bilimin disiplinini, araştırmanın inceliklerini ve araştırmacı olmanın sorumluluğunu öğreten, öğrencisi olmaktan onur duyduğum saygıdeğer hocam Doç. Dr. Yavuz Erden'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte değerli tecrübelerini benimle paylaşarak çalışmamı destekleyen Arş. Gör. Kübra Sena Baş Topcu'ya çok teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca fikir alışverişinde bulunduğum, kimi zaman beraber laboratuvarında deneyler yaptığımız kimi zaman bir kahve eşliğinde tecrübelerimizi paylaştığımız değerli arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, motivasyonumun temel taşı, yorulduğumda devam etme gücümü kendimde bulmamı sağlayan, beni koşulsuz şartsız destekleyen, bugünlere ulaşmamda büyük emekleri olan, başarabileceğime her zaman güvenen sevgili ailemden canım annem Neriman'a ve canım babam Hakan'a; bütün zorluklara rağmen öğrenme aşkımdan vazgeçmemesi sayesinde bana bu yolu açan, sabrını, fikirlerini ve yürüdüğü aydınlık yolunu her zaman örnek aldığım, aynı zamanda bir akademisyen olarak beni her zaman gerçeklerle yüzleştiren, zorluklarla karşılaştığımda bana güç ve kararlılık aşılayan canım ablam Dr. İrem'e; ayrıca desteğini her zaman hissettiren kıymetli eşi Dr. Ata Aksu'ya özel olarak teşekkür ediyorum.

Bilime verdiği değerle, gençliğe olan inancıyla bugün bile bizlere ışık tutmaya devam eden Ulu Önder Mustafa Kemal Atatürk'e saygı, minnet ve özlemle...

Livanur ALTAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE İLAÇ DİRENCİNİN ÖNLENMESİNDE RUTİN VE NARİNGİN FLAVONOİDLERİNİN ROLÜ

Livanur ALTAN

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yavuz ERDEN

Bartın-2025, sayfa: 70

Dünya genelinde önde gelen ölüm nedenlerinden biri olan kanser insan sağlığını tehdit eden büyük bir sorun olmaya devam etmektedir. 2020 yılında ülkemizde en sık görülen kanser türleri akciğer kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser, prostat kanseri ve tiroid kanseridir. Bu türler tüm kanserlerin %50'den fazlasıdır. Kolorektal adenokarsinoma, genellikle kalın bağırsağın epitel hücrelerinde ortaya çıkar. Kolon kanserinin tedavisinde aktif olarak standart bir kemoterapötik ilaç olan 5-Florourasil (5-FU) kullanılmaktadır. Fakat kemoterapinin ilerleyen süreçlerinde kanser hücreleri 5-FU'ya karşı direnç geliştirir ve ilaç etkinliğini kaybeder. İlaç direnci gelişen durumlarda kemoterapi tümör büyümesini, metastazı ve nüksü yeteri kadar inhibe edemez. Bu nedenle, çeşitli kemoterapi ajanları ile kombine tedaviler, genellikle sadece tedavi etkisinin artırılması için değil, aynı zamanda bu ilaçların toksisitesini azaltmak için de kullanılmaktadır.

Doğada bulunan bileşiklerle oluşturulan kombine tedavilerde hücrelerde ilaca karşı oluşan direncin inhibe edilmesi beklenmektedir. Ayrıca yüksek dozda genotoksik ve sitotoksik etki eden kemoterapötik ilaçların bileşiklerle kombine tedavisi sonucu düşük doz daha az yan etki ve hızlı sonuç alınması hedeflenmektedir. Flavonoidler doğada erişilebilir ve maliyeti düşük olduğundan son yıllarda birçok kanser araştırmasına konu olmuştur. Rutin ve naringin flavonoidlerinin ayrı ayrı anti kanser, anti proliferatif, anti oksidatif stres gibi yararlı etkileri

araştırılmıştır. Buna karşın rutin ve naringinin 5-FU ile kombine kullanımının kolon kanseri hücre hatlarında hücre ölümü ve DNA hasarı üzerinde oluşturacağı muhtemel etkiler bilinmemektedir. Bu çalışmada rutin ve naringin ile kombine edilen 5-FU'nun kolon kanseri hücre serileri HT-29 ve Caco-2  zerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma bahsedilen bileşiklerin kolon kanseri tedavisinde sinerjik etkisi hakkında ilk sonuçları elde etti.

Çalışmada kolon kanseri hücreleri üzerine rutin, naringin ve 5-FU bileşikleri ayrı ayrı ve kombine olarak 24, 48 ve 72 saat süresince uygulandı. Uygulamaların sonucunda hücre canlılığında meydana gelen değişimler sitotoksisite ve genotoksisite analizleriyle belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri yapıldı. Çalışmanın sonucunda her iki flavonoidin 5-FU ile sinerjik etkisi olduğu ve potansiyel kemoterapötik ajan olarak kullanılabileceği elde edildi.

Anahtar Kelimeler: İlaç direnci, kemoterapi, kolon kanseri, naringin, rutin, 5- Florourasil

Bilim Alanı Kodu: 401.02.00, 401.02.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

THE ROLE OF RUTIN AND NARINGIN FLAVONOIDS IN THE PREVENTION OF DRUG RESISTANCE IN COLON CANCER CELLS

Livanur ALTAN

Bartın University

Graduate School

Department of Molecular Biology and Genetic

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yavuz ERDEN

Bartın-2025, pp: 70

Cancer, one of the leading causes of death worldwide, continues to be a major health threat. The most common cancers in Turkey in 2020 were lung cancer, breast cancer, colorectal cancer, prostate cancer, and thyroid cancer. These cancers account for more than 50% of all cancers. Colorectal adenocarcinoma usually arises in the epithelial cells of the colon. 5-Fluorouracil (5-FU), a standard chemotherapeutic drug, is actively used in the treatment of colon cancer. However, as chemotherapy progresses, cancer cells develop resistance to 5-FU, and the drug loses its effectiveness. In cases where drug resistance develops, chemotherapy cannot sufficiently inhibit tumor growth, metastasis, and recurrence. Therefore, combination therapies with various chemotherapy agents are often used not only to enhance treatment efficacy but also to reduce the toxicity of these drugs.

In combination treatments with compounds found in nature, it is expected to inhibit drug resistance in cells. In addition, as a result of the combined treatment of high doses of genotoxic and cytotoxic chemotherapeutic drugs with compounds, it is aimed to obtain low-dose less side effects and rapid results. Since flavonoids are available in nature and cost-effective, they have been the subject of many cancer researches in recent years. The flavonoids rutin and naringin have been investigated individually for their beneficial effects, including anticancer, antiproliferative, and antioxidative stress. However, the potential effects of combined administration of rutin and naringin with 5-FU on cell death and DNA

damage in colon cancer cell lines are unknown. This study investigated the effects of 5-FU combined with rutin and naringin on the colon cancer cell lines HT-29 and Caco-2. This study yielded the first results regarding the synergistic effects of these compounds in the treatment of colon cancer.

In the study, rutin, naringin, and 5-FU were applied to colon cancer cells individually and in combination for 24, 48, and 72 hours. Cytotoxicity and genotoxicity analyses were used to determine changes in cell viability following the treatments. Statistical analyses were performed on the obtained data. As a result of the study, it was obtained that both flavonoids had a synergistic effect with 5-FU and could be used as potential chemotherapeutic agents.

Keywords: Chemotherapy, colon cancer, drug resistance, naringin, rutin, 5- Fluorouracil

Scientific Field Code: 401.02.00, 401.02.01

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
BEYANNAME	iii
ÖN SÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Kanser.....	1
1.1.1 Kanserin Epidemiyolojisi.....	2
1.1.2 Hücre Döngüsü	5
1.2 Kanser Gelişimi.....	7
1.2.1 Kanser Hücresinin Özellikleri	7
1.2.2 Kolon Kanseri	9
1.2.3 Caco-2 Hücre Serisi	12
1.2.4 HT-29 Hücre Serisi	12
1.3 Kanser Tedavisi.....	14
1.3.1 Kemoterapide Kullanılan İlaçlar	16
1.3.1.1 5-Fluorourasil.....	17
1.4 Flavonoidler	19
1.4.1 Rutin	22
1.4.2 Naringin.....	23
2. LİTERATÜR ÖZETİ	25
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1 Çalışmada Kullanılan Hücre Serileri ve Kültür Ortamları	29
3.1.1 Caco-2 Hücre Serisi (ATCC HTB-37).....	29
3.1.2 HT-29 Hücre Serisi (ATCC HTB-38).....	30
3.2 Kültür Şartları	30
3.2.1 Hücrelerin Açılması.....	30
3.2.2 Hücrelerin Alt Kültüre Alınması.....	31

3.2.3 Hücrelerin Stoklanması	31
3.3 Bileşiklerin Hazırlanması	32
3.4 Sitotoksosite Analizi	32
3.4.1 MTT Solüsyonunun Hazırlanması.....	32
3.4.2 Hücrelerin Ekimi	33
3.4.3 Bileşikler ile Hücrelerin Muamelesi.....	33
3.5 MTT Analizi	33
3.6 Genotoksosite Analizi	34
3.6.1 Deneyde kullanılan malzeme ve solüsyonların hazırlanması	35
3.7 Comet Analizlerinin Yapılması.....	37
3.8 İstatistiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR	39
4.1 MTT Analiz Sonuçları.....	39
4.1.1 Rutin Bileşiğinin Caco-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri.....	39
4.1.2 Naringin Bileşiğinin Caco-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri	40
4.1.3 5- Fluorourasil Bileşiğinin Caco-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri.....	41
4.1.4 Rutin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının Caco-2 Hücre Canlılığına Etkisi.....	42
4.1.5 Naringin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının Caco-2 Hücre Canlılığına Etkisi.....	43
4.1.6 Rutin Bileşiğinin HT-29 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri	44
4.1.7 Naringin Bileşiğinin HT-29 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri	45
4.1.8 5- Fluorourasil Bileşiğinin HT-29 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri	46
4.1.9 Rutin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının HT-29 Hücre Canlılığına Etkisi	47
4.1.10 Naringin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının HT-29 Hücre Canlılığına Etkisi.....	48
4.2 Comet Analiz Sonuçları	49
4.2.1 Caco-2 Comet Analiz Sonuçları.....	50
4.2.2 HT-29 24 saatlik Analiz Sonuçları.....	51
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
1.1: Küresel kanser istatistikleri raporuna göre 2022 yılı kanser mortalite değerleri	3
1.2: Küresel kanser istatistikleri raporuna göre 2022 yılı kanser insidans verileri	4
1.3: Hücre döngüsünün şematik gösterimi	6
1.4: Kanser hücresinin özellikleri ve potansiyel tedavi stratejileri	9
1.5: Kolon kanserine sebep olan faktörler ve kolon kanserinin metastaz yaptığı organlar.	10
1.6: Kanser hastalığında kullanılan tedaviler ve tedavilerin sonucunda ortaya çıkan yan etkiler.....	16
1.7: 5-FU etki mekanizmasının şematik gösterimi.....	19
1.8: Flavonoid ve türlerinin kimyasal yapılarının gösterimi	21
1.9: Rutin flavonölünün kimyasal yapısı.....	23
1.10: Naringin flavononunun kimyasal yapısı	24
3.1: MTT analizi sonrasında çekilen 96 plaka	34
3.2: Comet analiz basamakları	38
4.1: Rutin uygulamasından sonra Caco-2 hücrelerinde oluşan canlılık düzeyi değişimi (%)	40
4.2: Naringin bileşiğinin uygulanmasından sonra Caco-2 hücrelerinde oluşan canlılık düzeyi değişimi (%)	41
4.3: 5-FU uygulamasının ardından Caco-2 hücrelerinde meydana gelen canlılık düzeylerinin değişimi (%)	42
4.4: Rutin ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine uygulamalarının Caco-2 hücreleri üzerinde gösterdiği canlılık grafikleri (%).....	43
4.5: Naringin ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine uygulamalarının Caco-2 hücreleri üzerinde gösterdiği canlılık değişimi grafikleri (%).....	44
4.6: Rutin uygulamasının ardından HT-29 kolon kanseri hücrelerinde meydana gelen canlılık düzeyindeki değişimler (%).....	45
4.7: Naringin uygulamasından sonra HT-29 hücreleri üzerinde meydana gelen canlılık değişimleri (%)	46
4.8: 5-FU uygulamasının ardından HT-29 hücrelerinde meydana gelen hücre canlılık düzeyi değişimleri (%)	47
4.9: Rutin ve 5-FU bileşiklerinin HT-29 hücreleri üzerinde tek başına ve kombine kullanımının hücre canlılığı üzerine etkisi (%)	48

4.10: Naringin ve 5-FU bileşiklerinin kombine ve tekli uygulamalarının 24 saat sonra HT-29 hücre canlılığına etkisi (%).....	49
4.11: Caco-2 hücrelerinin rutin, naringin, 5-FU ve kombine uygulamasından 24 saat sonraki DNA hasar düzeyleri	51



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
No	No
3.1: Caco-2 hücre medyum içeriği	29
3.2: HT-29 hücreleri için medyum içeriği	30
3.3: Lizis çözeltisi için miktar tablosu.....	36
3.4: Alkali elektroforez solüsyonu için miktar tablosu	36
4.1: Caco-2 hücre hattı comet analizi sonuçları.	50
4.2: HT-29 hücre hattı comet analiz sonuçları.....	52



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

g	: Gram
mA	: Miliamper
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
p	: Korelasyon katsayısı
μ L	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar

KISALTMALAR

5-FdUMP	: 5-florodeoksiüridin Monofosfat
5-FdUTP	: 5-florodeoksiuridin Trifosfat
5-FUTP	: 5-florouridin Trifosfat
5-FU	: 5-florourasil
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADCs	: Antikor İlaç Konjugatları
APC	: Adenomatöz Polipozis Coli
C	: Karbon
Caco-2	: Cancer Coli-2
CIMP	: CpG Ada Metilatör Fenotipi
DCC	: Kolorektal Kanserde Silinen Bölge
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DOX	: Doksorubisin
DPD	: Dihidropirimidin Dehidrogenaz
FBS	: Fetal Sığır Serum
G0	: Dinlenme Fazı
G1	: Senteze Hazırlık Fazı
G2	: Hazırlık Fazı
KK	: Kolorektal Kanseri

LMA	: Low Melting Agaro
LV	: Leucovorin
M	: Mitoz
MSI	: Mikrosatellit İnstabilitesi
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5 Difeniltetrazolyum Bromür
MTX	: Metotreksat
N	: Azot
NMA	: Normal Melting Agaro
O	: Oksijen
P	: Fosfor
PBS	: Steril Fosfat Tamponu
RB	: Retinoblastoma
RNA	: Ribonükleik Asit
S	: DNA Sentez Fazı
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TNBC	: Üçlü Negatif Meme Kanseri
TS	: Timidilat Sentaz
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole
VCR	: Vinkristin

1. GİRİŞ

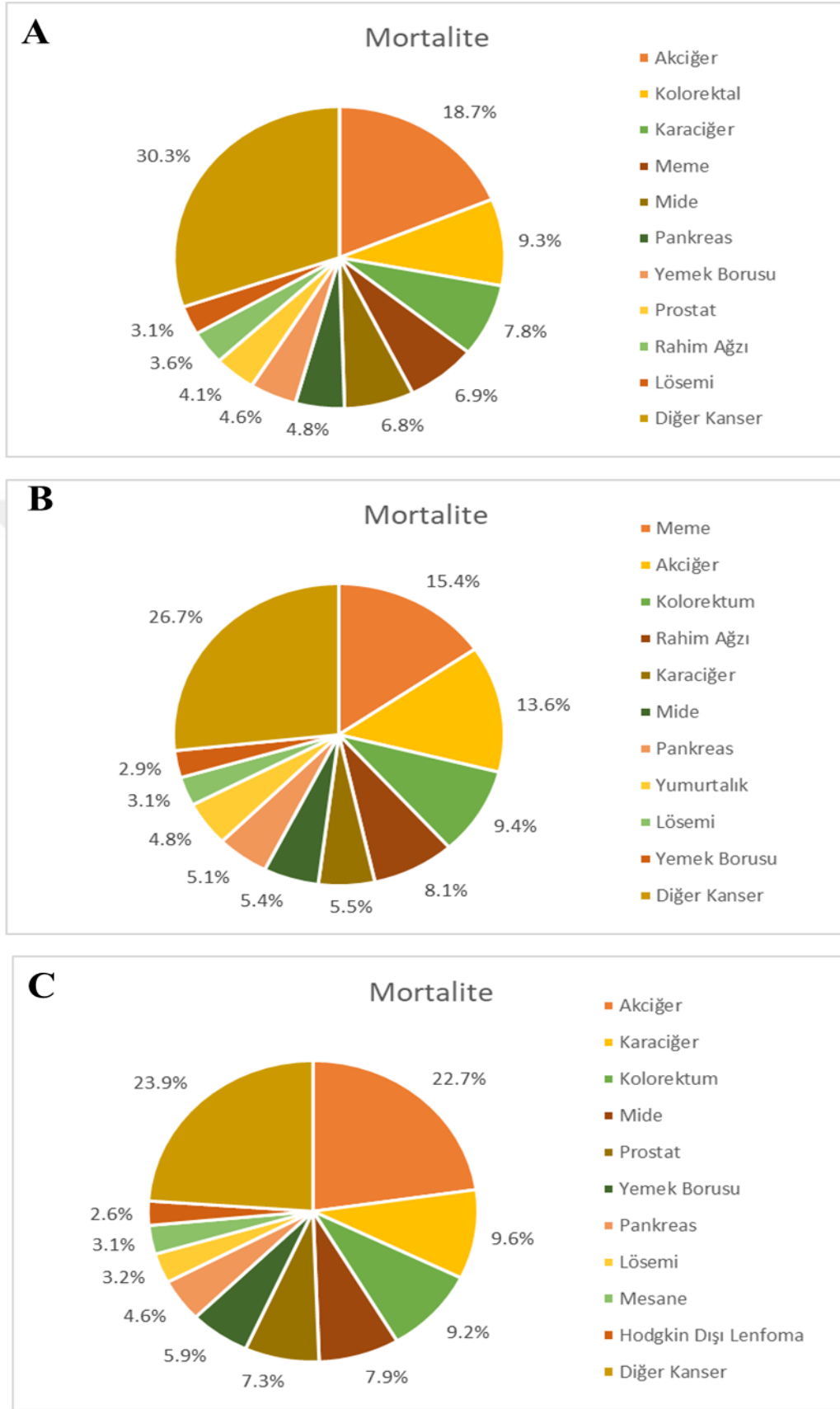
Kanser günümüzde hala tam anlamıyla tedavisi bulunabilmiş bir hastalık değildir. Tedavide kullanılan yöntemlerin arasında kemoterapi yani ilaç tedavisi bulunmaktadır. İlaç tedavisi tek başına yeteri kadar etkili olmamakla birlikte kullanılan ilaçlar kişinin yaşam kalitesini düşürebilmekte, kişi ilaca karşı direnç gösterebilmektedir. Kemoterapide karşılaşılan bu gibi sorunları çözmek için ilaç direncinin önlenmesini veya daha az toksik bir ilaç bulmak için doğada var olan bileşikler ile öncelikle in vitro ortamda deneyler gerçekleştirilerek alternatif tedaviler araştırılmaktadır. Bu araştırmada geçmişten beri insanların mücadele ettiği kanser hastalığının tabiatta doğal olarak bulunan meyve ve sebzelerdeki flavonoid içerikleri ile kanser tedavisine yeni bir bakış açısı kazandırmak amaçlanmıştır.

1.1 Kanser

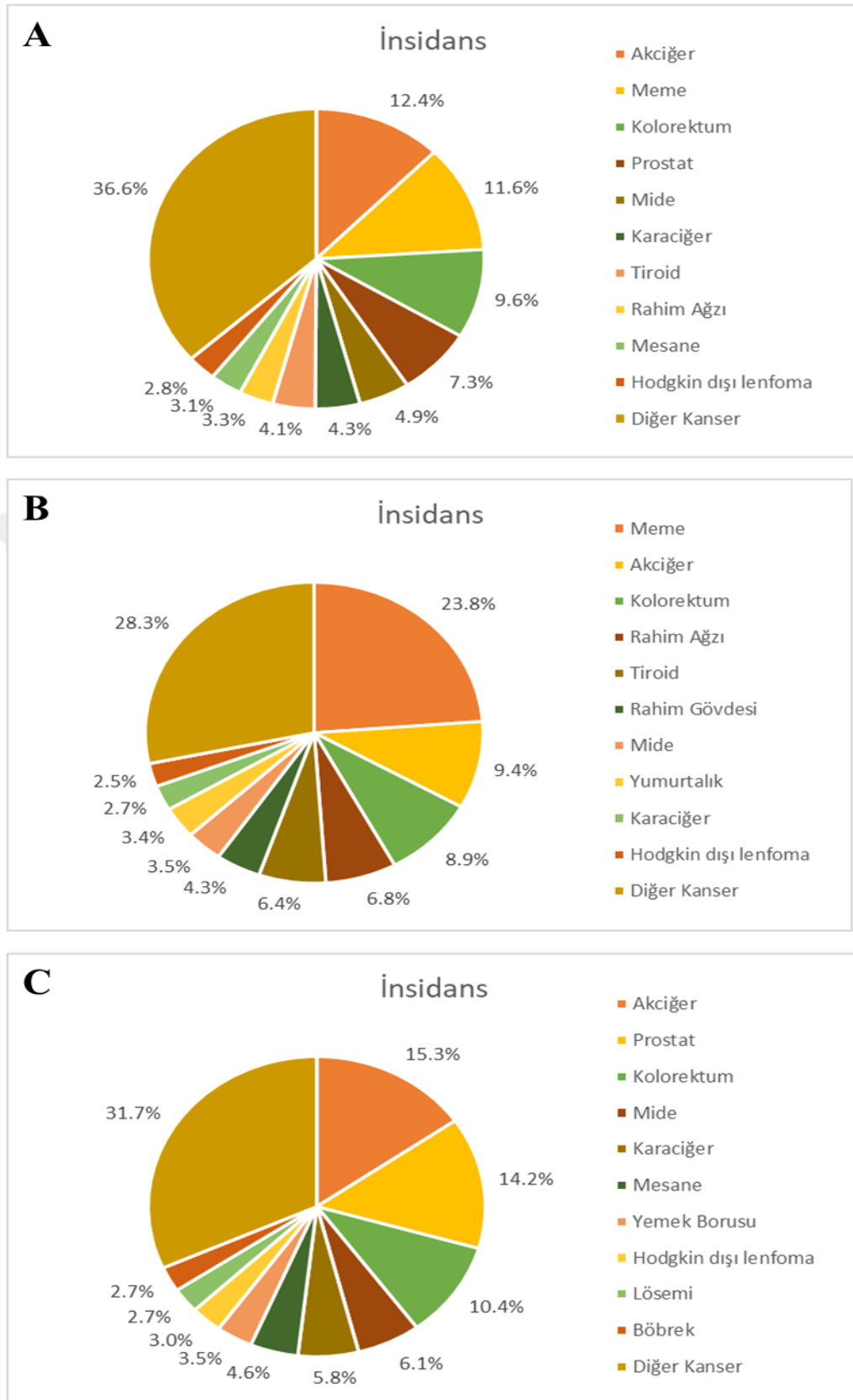
Kanser hastalığı için kullanılan terminoloji asıl olarak *karkinos* kelimesinden yani Yunanca dilinde yengeç anlamındaki kelimeden gelir. Milattan Önce beşinci yüzyılın sonlarında ve dördüncü yüzyılın başlarında doktorlar tarafından vücudun çeşitli bölgelerindeki genellikle ölümcül tümörleri tanımlamak için bu kelime kullanılmıştır. Yengeç kelimesinin bu hastalığa isminin verilmesi hakkında çeşitli bilgiler bulunur. Yengeç hayvanının karakteristik özelliklerinde agresiflik ve inatçılık olduğundan ya da yengecin fiziksel özelliklerinde tümör gelişimi görülen kısımdaki damarların yengecin bacaklarına benzediği için bu isimle adlandırıldığı söylenmektedir (Panegyres, 2024). Günümüze kadar bu hastalığa dair pek çok bilgi edinilmiş olsa da hala üzerine birçok çalışma yapılmaya devam etmektedir. Şu anda kanser, vücutta herhangi bir bölgede görülebilen, olağan sınırlarının ötesinde büyüyerek vücudun bitişik kısımlarını istila edebilen ve diğer organlara yayılabilen anormal hücrelerin hızla ortaya çıktığı bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (World Health Organization, 2025). Bulunduğu bölgede hasar oluşturan, sürekli yayılma özelliği gösteren ve tekrarlanma olasılığı yüksek bir hastalıktır. Tümör hücrelerinin karmaşık özellikleri ve kullanılan ilaçların kişiden kişiye değişen yanıtları sebebiyle hala kanser hastalığının bir tedavisi olduğu söylenememektedir. Güncel çalışmalar kişiye özel tedavi yönünde, bilinen kemoterapötik ilaçların etkilerini arttırmak veya erken evrede hastalığın tespit edilmesinin sağlanması yönünde devam etmektedir.

1.1.1 Kanserin Epidemiyolojisi

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının (International Agency For Research on Cancer) 2022 yılında küresel kanser istatistiklerini yayınladığı raporuna göre sadece yayınladığı tarihte yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası ve kanser kaynaklı yaklaşık 10 milyon ölüm bildirildi. Aynı rapora göre 2050 yılına kadar yeni kanser vakası sayılarının %77 artış ile 35 milyona ulaşacağı öngörülüyor. En sık teşhis edilen kanser türü sekiz kanserden biri olarak akciğer kanseriyken; bunu meme ve kolorektum kanserleri izlemektedir. Rapora göre her iki cinsiyet için kanser türlerine göre ölüm oranlarına bakıldığında ilk sırada akciğer (%18.7), ikinci sırada kolorektum (%9.3), üçüncü sırada karaciğer (%7.8) kanserleri yer almaktadır. Bunları sırasıyla meme (%6.8), mide (%6.8), pankreas (%4.8), gırtlak (%4.6), prostat (%4.1) rahim ağzı (%3.6), lösemi (%3.1) olarak belirtilmiş ayrıca diğer kanser türlerinin oranı %30.3 olarak raporlanmıştır (Ferlay vd., 2024). Cinsiyet bazında değerlendirildiğinde kadınlar için kanser türlerine göre ölüm oranlarına bakıldığında ilk sırada meme (%15.4), ikinci sırada akciğer (%13.6), üçüncü sırada kolorektum (%9.4) kanserleri yer alırken bunları sırasıyla rahim ağzı (%8.1), karaciğer (%5.5), mide (%5.4), pankreas (%5.1), yumurtalık (%4.8), lösemi (%3.1), gırtlak (%2.9) kanseri ve diğer kanser türleri (%26.7) olarak devam ettiği bildirilmiştir. Erkekler için kanser türlerine göre ölüm oranları incelendiğinde ise sırasıyla akciğer (%22.7), karaciğer (%9.6), kolorektum (%9.2), mide (%7.9), prostat (%7.3), gırtlak (%5.9), pankreas (%4.6), lösemi (%3.2), mesane (%3.1), hodgkin dışı lenfoma (%2.6) ve diğer kanser türleri (%23.9) olarak raporlanmıştır. İnsidans değerlerine göre cinsiyet farkı olmaksızın ilk üç kanser türü akciğer (%12,4), meme (%11,6) ve kolorektum (%9.6) kanseridir (Bray vd., 2024). Hem insidans hem de mortalite oranları incelendiğinde kolorektum kanserinin her iki cinsiyet için de üçüncü sırada yer aldığı görülmektedir. Aynı raporun verilerine göre Şekil 1.1’de mortalite oranları, Şekil 1.2’de insidans oranları grafik olarak verilmiştir.



Şekil 1.1: Küresel kanser istatistikleri raporuna göre 2022 yılı kanser mortalite değerleri (A: Her iki cinsiyet için, B: Kadınlar için, C: Erkekler için) (Bray vd., 2024)



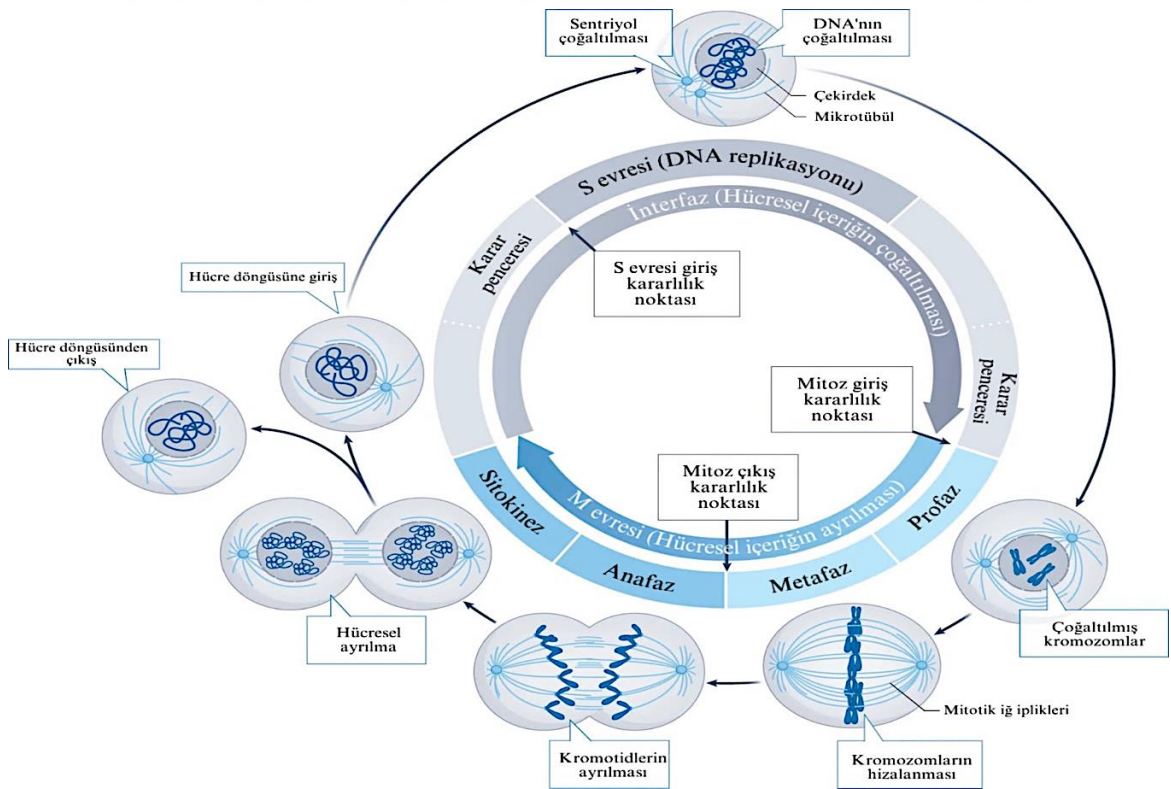
Şekil 1.2: Küresel kanser istatistikleri raporuna göre 2022 yılı kanser insidans verileri (A: Her iki cinsiyet için, B: Kadınlar için, C: Erkekler için) (Bray vd., 2024)

2025 yılında Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) tarafından yayınlanan ölüm ve ölüm nedeni istatistikleri raporunda Türkiye’deki nedenlere göre ölüm oranı grafiğinde ikinci sırada iyi ve kötü huylu tümörler bulunmaktadır. Bu tümörlerin alt ölüm nedenleri incelendiğinde ölümlerin %29.1’inin gırtlak ve soluk borusu- bronş/akciğerde yer alan kötü huylu tümörden %8.0’ının da kolondaki kötü huylu tümörlerden kaynaklı olduğu görülmektedir (Türkiye İstatistik Kurumu, 2025). Türkiye Cumhuriyeti (T.C.) Sağlık Bakanlığının yayınladığı 2020 yılı kanser istatistiklerine göre ise tüm yaş gruplarında cinsiyete göre en sık görülen kanserlerin yüzde dağılımları şu şekildedir: kadınlarda %28.3 meme, %9.1 kolorektal, %8.7 tiroid, %6.9 akciğer, %6.0 uterus korpusu; erkeklerde %23.9 akciğer, %12.8 prostat, %11.2 kolorektal, %8.8 mesane, %5.9 mide kanseri olarak sıralanmaktadır (Şentürk vd., 2025).

1.1.2 Hücre Döngüsü

Homeostatik denge, optimal düzeyde yaşam bulgularının sabitliğini ifade eder. İnsan vücudu, doğumdan ölüme kadar homeostatik denge içerisinde yaşamaya çalışır. Hücreler bu süreçte kendilerini etkileyen faktörlerin etkisiyle bölünerek yenilenir, büyür ve nihayetinde canlılığını yitirir. Bu süreç hücre bölünmesini içerir. Bölünebilme yeteneği kas ve sinir hücreleri haricinde vücuttaki sağlıklı hücrelerin her birinde bulunur. Bu yetenek, sağlıklı hücreler tarafından vücudun onarım ve yenilenmesinde kullanılır. Bölünerek büyüyen bu sağlıklı hücreler insan hayatının başlangıcında bu döngüyü daha hızlı tamamlayabiliyorken hayatın ilerleyen dönemlerinde bu hız düşüş gösterir. Hücrelerin bölünme süreci, normal şartlarda şöyle ilerler: Hücreler proliferatif uyarana göre bölünme döngüsünü başlatır. Bu döngü dinlenme ve bölünme dönemi olarak adlandırılmakla birlikte, kendi içerisinde dört ana aşamadan oluşur. Bunlar, dinlenme fazı (G₀), ana fazlar olarak ise; senteze hazırlık fazı (G₁), Deoksiribo nükleik asit (DNA) sentezi fazı (S), hücrenin kendini bölünmeye hazırladığı faz (G₂), kromozomların ayrılarak bölünmenin gerçekleştiği faz mitoz fazı (M) olarak gruplandırılır. Hücre döngüsünün şematik gösterimi Şekil 1.3’te sunulmuştur. Dinlenme fazı, mitoz bölünme için S fazındaki DNA’nın çoğaltılması ve replikasyonunun sağlanması için gereken olağan koşulların sağlandığı fazdır. Bu fazda hücre büyümesi duraklar, yetişkin dokudaki hücrelerde görülür (Güneş, 1999). G₀ fazında bulunan hücre, yeniden bölünme sinyali aldığı anda döngüye G₁ fazından katılır. G₁ fazı, hücrenin tekrar hücre bölünmesine girmeden evvel sentez fazına hazırlandığı, kromozom için gerekli enzim, nükleotid ve histon sentezinin ayrıca DNA zincirinin yapıldığı evredir. S fazı dört ile yirmi dört saat arasında gerçekleşir. Bu sürede ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezi,

kromozomların homolog hale getirilmesi ve DNA replikasyonu gerçekleştirilir. G2 fazı ortalama iki saat sürmektedir. DNA replikasyonu gerçekleşmez ancak RNA ve protein sentezlenmeye devam etmektedir. M fazında ortalama bir saatlik süre içerisinde, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri tamamlanarak mitoz bölünme ve ardından sitokinez gerçekleşir (Onar, 2022; İbişoğlu, 2023). Hücre döngüsünün hatasız bir şekilde tamamlanabilmesi için birçok farklı protein tarafından kontrol edilen kontrol noktaları bulunmaktadır. Kontrol noktaları çoğunlukla hücre döngüsünün dört aşamasında meydana gelir: Senteze hazırlık fazı, bu fazdan DNA sentezi fazına geçiş, hücrenin bölünmeye hazırlandığı fazdan mitoz fazına geçiş ve mitoz bölünmenin aşamalarından olan metafazdan anafaza geçiş noktası. Kontrol noktalarının temel amacı, DNA replikasyonu için genetik bilginin hücre bölünmesi sırasında kayba uğramamasını sağlamaktır. Hücre döngüsündeki kontrol noktalarının her birinde bulunan ilgili proteinler hücre döngüsünün ilerlemesi veya durması yönünde karar verirler (Matthews vd., 2022). Sağlıklı hücreler, genetik kodunda kodlanmış olan bölünebilme sayısına eriştiğinde, canlılığını sonlandırması gerektiğini bilir. Bu duruma apoptoz yani hücrenin programlı ölümü adı verilir. Apoptoz, hastalıklı hücrelerin ortadan kaldırılması amacıyla programlanmış bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Hücre içindeki DNA'nın parçalanması ve hücrenin büzülmesi apoptoz belirtilerindendir.



Şekil 1.3: Hücre döngüsünün şematik gösterimi (Matthews vd., 2022)

1.2 Kanser Gelişimi

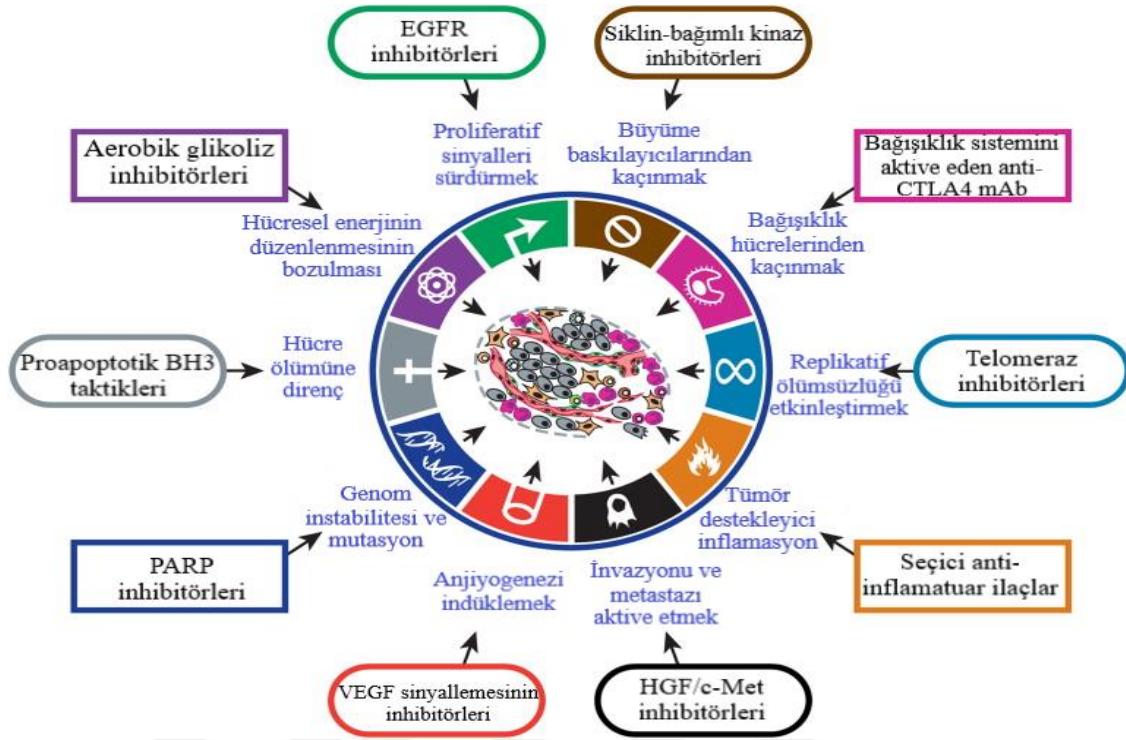
Vücudun normal homeostasisinde halihazırda DNA'sı bozulmuş hücreler görülebilir. Vücut doğrudan bu hücreleri bağışıklık sistemi veya DNA onarım mekanizmasıyla düzeltebilmektedir (Bütüner Bilge ve Kantarcı, 2006). Kanserin oluşumunda asıl sebep vücuttaki bağışıklık hücrelerinin kanser hücresinin henüz çoğalmamışken onu yok edememesidir (Hanahan ve Weinberg, 2011). Kanserli hücrelerde, hücre döngüsünde genetik bozulmalar gerçekleşir. Bu bozulmalar hücre döngüsünün kontrol noktalarının herhangi birinin bozulmasına sebebiyet veren genetik mutasyonlardan kaynaklanır ve bu sebeple herhangi bir tür kanser gelişebilir (Vermeulen vd., 2003). Bu mutasyonlar sonucunda kanserli hücre normal hücrelerdeki kontrollü büyüme özelliğini kaybederek kontrolsüz ve bağımsız olarak büyümeye başlayabilir. Nihayetinde, kanserli hücrede, hücre döngüsünde hasar olduğu söylenebilir. Kanser hücresi, hücre döngüsünde dikkatle kontrol edilen, enerjiye bağımlı hücre ölüm mekanizması olarak da tanımlanabilen apoptozu indükleyebilir. İyi huylu olmayan bu hücreler, vücudun gönderdiği durma sinyalini görmezden gelerek doku ve organlarda tümör oluşturmak amacıyla artarak büyümeye devam eder.

1.2.1 Kanser Hücresinin Özellikleri

Kanser hücreleri, programlanmış hücre ölümünden kurtulmak için aşırı bölünmeyi baskılayan sistemleri önleyecek şekilde hareket etmelidir. Bu sistemlerden retinoblastoma (RB) ve TP53 genleri sorumludur. RB proteini, hücre içi ve dışı sinyalleri birleştirerek hücrenin büyüme ve bölünme kararını almasında rol oynar (Burkhart ve Sage, 2008). RB, büyüme inhibisyonunda kilit rol oynarken, TP53 proteinleri hücrel stres ve anormalliklere yanıt verir. TP53 genomdaki ciddi hasar olduğunda veya büyüme sinyalleri, oksijen ya da glikoz seviyeleri yetersiz kaldığında hücre döngüsünü durdurarak koşulların yeniden normale dönmesini bekler. Onarılamaz bir hasar olduğunda apoptozu başlatır. Bu genlerde ortaya çıkan mutasyonlar sebebiyle kanser hücreleri apoptozdan kaçmayı başararak kontrolsüz ve bağımsız çoğalmayla birlikte tümör dokusu oluşturmaya başlarlar. Bağımsız olarak kontrolsüz çoğalma, büyümeyi ve çoğalmayı baskılayan sinyallere rağmen büyüyen ve sınırsız çoğalabilme potansiyeli olan kanser hücreleri primer damarlardan dallanarak kendilerine yeni damar da oluşturabilirler. Bu süreç anjiyogenez olarak isimlendirilir. Kontrolsüz çoğalan hücreler lenfler aracılığıyla kendi lokasyonları dışına taşınarak vücudun

başka konumlarında büyüyebilirler. Metastaz olarak isimlendirilen bu durum, yaşamsal fonksiyonları tehdit eden duruma ulaşabilir (Hanahan ve Weinberg, 2011).

Kanserin varlığından söz edebilmek için, hücredeki bağımsız çoğalma, anjiyogenez, metastaz, kontrolsüz çoğalma, apoptozis baskılanması, invazyon süreçlerinden (Akbulut ve Akbulut, 2005) biri ya da bazıları gözlemlenmelidir. Kanseri hücrelerinde gözlemlenen özellikler ve potansiyel tedavileri Şekil 1.4’te gösterilmiştir. Bu fonksiyonel değişikliklere genetik materyalde meydana gelen değişiklikler neden olur. Bu sebeple hücrelerin karsinogenez sürecinde genetik materyallerinde çevresel ve/veya genetik kaynaklı değişikliklerin de izlenmesi gereklidir. Bu değişiklikler arasında kromozom kaybı, insan kromozomlarının lokusuna yabancı DNA dizisinin yerleşmesi, genomik dayanıksızlık, genomik dengesizlik gibi durumlar belirtilebilir (Willis vd., 2015). Çevresel kaynaklı faktörler arasında, ultraviyole (UV), radyasyona maruziyetinin sıklığı, kimyasal ajanlara maruz kalma durumu, yetersiz fiziksel aktivite seviyesi, beslenmedeki sağlıksız alışkanlıklar ile obezite varlığı, alkol ve tütün kullanımı, hava kirliliği gibi etkenlerin yer aldığı belirtilmektedir (Pulliero vd., 2015; Obeagu ve Obeagu, 2024). Sağlıklı hücrelerin, bu gibi çevresel faktörlere maruz kalma süresi ve sıklığı arttıkça kötü huylu hücrelere dönüşerek kanser hastalığının ortaya çıkma olasılığı artar. Sonuç olarak, kanserin ortaya çıkması için; çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucunda oluşacak karmaşık basamaklara sahip bir sürecin varlığından söz etmek doğru olacaktır.



Şekil 1.4: Kanser hücresinin özellikleri ve potansiyel tedavi stratejileri (Hanahan ve Weinberg, 2011).

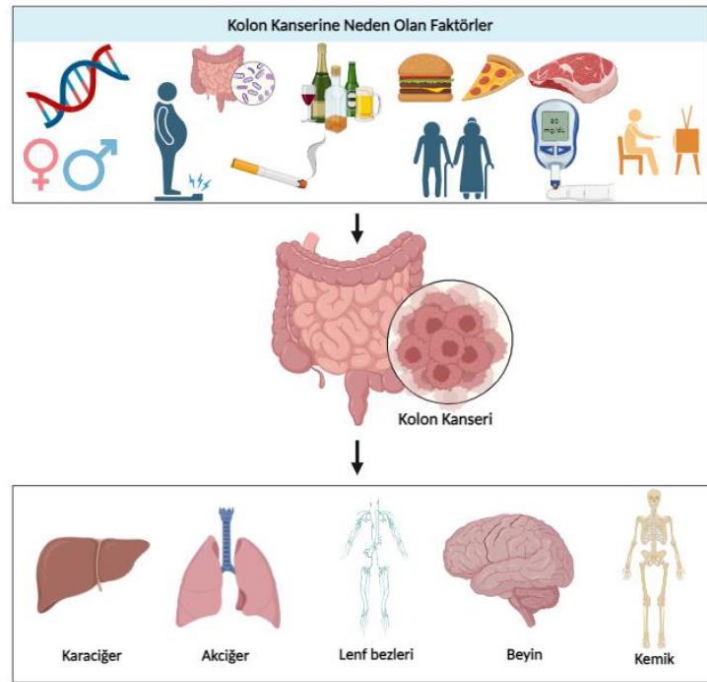
1.2.2 Kolon Kanseri

Kolon kanseri, kalın bağırsakta bulunan bir tümördür. Rektum kanseri kalın bağırsağın sonunda başlayan bir kolon kanseri türüdür. Kolorektal kanser (KK) terimi kolon ve rektum kanseri için kullanılır. Kolonun anatomisi incelendiğinde, kalın bağırsağın ortalama 6,3 cm çaplı 1,5 metre uzunluğunda ileumla anüs arasında yer aldığı söylenebilir. Kolonun vücuttaki görevi sindirilemeyen vitamin, mineral ve suyun dışarı atılmasını sağlamaktır (Koçak Büyüksütçü, 2021).

2022 verilerine göre hem erkek hem de kadınlarda kolon kanseri insidans oranlarında yaklaşık 10 kat değişiklik olduğu bildirilmektedir. Avrupa Avustralya/Yeni Zelanda ve Kuzey Amerika en yüksek değişiklik oranına sahip ülkelerdir (Arnold vd., 2017; Arnold vd., 2020). Bunun yanında Danimarka’da erkekler Norveç’te kadınlar insidans oranında ilk sırada yer almaktadır. Her yıl birçok yüksek gelirli ülkede genç yetişkinlerde kolorektal kanser insidans oranının %1-4 arasında artmakta olduğu bildirilmiştir (Siegel vd., 2019; Chambers vd., 2020). Bu artışın temel açıklayıcı faktörleri olarak sosyoekonomik gelişimi noktasında büyük bir dönüşüm geçiren ülkelerdeki insanların (Bray, 2014; Fidler vd., 2016)

davranışsal ve diyet değişiklikleri, nispeten daha fazla hayvansal kaynaklı gıda tüketimi ve sedanter yaşam tarzının artması gösterilmektedir. Bunların yanında obezitenin görülme sıklığındaki artış, alkol, sigara, kırmızı/işlenmiş et tüketiminin artması, bağırsak mikrobiyomunu etkileyen antibiyotiklerin kullanımındaki artış (Spaander vd., 2023) da kolon kanseri riskini arttırabilmektedir (Bray vd., 2024). Kolon kanserine sebep olan faktörler ve kanserin metastaz yaptığı organların görseli Şekil 1.5’te sunulmuştur.

Kolon kanserin oluşma riskinin azaltılması için kalsiyum takviyeleri, tam tahıllı gıdalar, lif ve süt ürünleri tüketimi yanında fiziksel aktivitenin koruyucu etkisinden bahsedilmektedir (World Cancer Research Fund, 2018). Yapılan çalışmalarla birlikte beslenmenin kolon kanserinde önemli bir yeri olduğu gösterilmiştir. Bu kanser türünde beslenmeye yapılacak müdahale ile kolon kanserinin %70 önlenilebileceği öngörülmektedir (Stewart ve Kleihus, 2003). Bununla birlikte gıdalardan alınan toplam lif miktarının iki katına çıkarılmasının kolon kanseri riskini %40’a kadar azaltabileceği kanıtlanmıştır (Labianca vd., 2004).



Şekil 1.5: Kolon kanserine sebep olan faktörler ve kolon kanserinin metastaz yaptığı organlar(Çanak, 2024)

Kalıtsal yatkınlık kolon kanseri hastalarının %10’undan azında görülmektedir. Görülen vakaların çoğunda genetik yatkınlık ve aile öyküsü bulunmaz yani sporadiktir (Stewart ve Kleihus, 2003; Labianca vd., 2004; Al-Sohaily vd., 2012; Bogaert ve Prenen, 2014).

Sporadik kolon kanseri vakalarında mevcut olan adenom gelişimi kromozomal kararsızlığın bir sonucudur ve kalıtsal kolorektal kanserin %80'i sporadik kolon kanserinin %20'sinde adenomatöz polipozis coli (APC) %60, p53 %70, DCC %70 (kolorektal kanserde silinen bölge) ve BAX %50 (BCL-2 ile ilişkili X) oranında kromozomal hatalar mevcuttur (Granados-Romero vd., 2017).

Kolorektal kanserin moleküler mekanizmalarının bilinmesi ve araştırılması tedaviye yanıt ve hastalığın ilerleme sürecinde önemli yer tutmaktadır. Kolorektal kanser, genellikle rektal kanama, karın ağrısı ve anemi şikayetiyle başvuran hastalara yapılan tanısal kolonoskopide saptanan bir hastalıktır (Koçak Büyüksütçü, 2021). KK patogenezi, adenomatöz poliplerin yaklaşık 10-15 yıl içinde kansere dönüşmesi ile gerçekleşmektedir. Bu dönüşüm sürecinde APC, KRAS, TP53, BRAF genlerinde mutasyonlar ve mikrosatellit instabilitesi (MSI), CpG ada metilatör fenotipi (CIMP) gibi moleküler mekanizmalar yer almaktadır (Güler, 2019; Leowattana vd., 2023). Özellikle KRAS ve BRAF mutasyonları hastalığın prognozunu ve tedaviye yanıtını önemli ölçüde etkilemektedir (Leowattana vd., 2023). Kolorektal kanserin tedavisi ve yönetimi hastalığın teşhis edilmesinin ardından, tümörün hangi evrede olduğu, nerede bulunduğu ve hastanın özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Bu kanser türünde çoğunlukla kullanılan esas tedavi cerrahi olmakla birlikte tek başına yeterli olmamaktadır. Bu sebeple cerrahi tedavi ve kemoterapi tedavisi birlikte kullanılır. Kanser tanısı koyulduktan sonra tümörün bulunduğu evre, yani tedaviye başlanan evre, sağkalımı etkileyen önemli bir faktördür. Hastalık tanısı ileri evrelerde koyulan hastalarda sağkalım oranı %6'ya kadar düşmektedir (Edge ve Compton, 2010). Erken evrede hastalığın teşhisinde kolonoskopi uygulamasının yaygın olmaması ve kolorektal kanserin spesifik semptomlarının eksik olması önemli sorunlardır. İlerlemiş kanser vakalarında kemoterapötik ajanlar cerrahi müdahaleden önce (neoadjuvan) ve sonrasında (adjuvan) tümörün yeniden nüksetmesinin önüne geçebilmek adına kullanılmaktadır (Benson vd., 2018). Kemoterapötik ajanlardan 5-Flourasil (5-FU) keşfinden beri sıklıkla kolon kanserinin tedavisinde neoadjuvan ve adjuvan olarak kullanılmaktadır (Skibber vd., 2001). Metastatik kolorektal kanserde 5-FU ve kapesitabin gibi antimetabolit floropirimidinler, gelişmiş yanıt oranı ve hücre sağkalımındaki avantajları nedeniyle irinotekran, oksaliptatin gibi sitotoksik ajanlarla kombine uygulanır (Labianca vd., 2013). 5-FU, Lökovorin ve Oksaliptatin kombinasyonu: FOLFOX ya da 5-FU, Lökovorin ve İrinotekan kombinasyonu: FOLFİRİ metastatik kolorektal kanserde kullanılmaktadır (Zuckerman ve Clark, 2008).

1.2.3 Caco-2 Hücre Serisi

Cancer coli-2 (Caco-2) Jorgen Fogh tarafından Sloan-Kettering Kanser Araştırma Enstitüsü'nde bir insan kolorektal adenokarsinomundan elde edilmiştir (Fogh vd., 1977). Hücre hattı üzerine yapılan ilk çalışmalar ince bağırsaktaki enterositlerin çeşitli morfolojik ve fonksiyonel özelliklerini ifade ettiği bulunmuştur. Birbirlerine teması bulunan hücreler arasında sıkı bağlantılar oluşmasıyla enterositlere spesifik enzim aktivitelerini örneğin laktaz, aminopeptidaz N, sukraz-izomaltaz ifade ederler (Engle vd., 1998). Uzun yıllardır birçok farklı laboratuvarında birçok farklı kültür koşulları ile çoğaltılan Caco-2 hücreleri genellikle farklı özellikler kazanmıştır. Bu sebeple enterositlere spesifik aktivitelerin ifadesi artan sayıda pasaj ile değişir (Artursson vd., 2001). Caco-2 hücre hattı normal kullanımında, bağırsak mukozasındaki gıdaların metabolizmaları veya ilaç geliştirmek için kullanılan bileşiklerin toksik etkilerinin incelenmesinde (Tang vd., 1993), bağırsak epitelinde P-glikoprotein gibi ilaç direnci proteinlerinin moleküler ayrıntılarını çözümlmek ve önemlerinin belirlenmesinde (Burton vd., 1996), bağırsak epiteli boyunca taşıma sırasındaki aktif moleküllerin etkileşimleri hakkında bilgi edinmekte (Wacher vd., 2001), pasif ve taşıyıcı aracılı mekanizmaların aydınlatılması (Knipp vd., 1997) gibi birçok uygulama için kullanılmaya devam etmektedir. Kolon adenokarsinomdan elde edilmiş Caco-2 hücre hattı, kültür ortamında enterosit benzeri hücreler dönüşürken 17-21 gün gibi bir süreçten geçer. Bu süreç deney planlaması yapılırken dikkate alınmalıdır çünkü bu farklılaşma sürecindeki hücreler heterojen bir popülasyon oluşturabilirler. Bu heterojen oluşum sonuçlarda tutarsızlık yaratabilir. Bu duruma ek olarak Caco-2 hücreleri ile çalışılırken normal bağırsak epitelinde enterositler dışında hücrelerin olduğu da unutulmamalıdır (Lea, 2015).

1.2.4 HT-29 Hücre Serisi

1964 yılında Fogh ve Trempe tarafından insan kolon adenokarsinoma hücre hattı HT-29, 44 yaşındaki kadın hastanın primer tümöründen izole edildi. İn vitro ortamda kalın bağırsak (kolon) kanserini incelemek için kullanılan HT-29 hücre hattı, bağırsak yüzeyini kaplayan epitelyal benzeri hücrelerdir. Standart koşullarda yüksek glikoz ortamında ve %10 serum varlığında büyütülmektedir. Bununla beraber HT-29 hücreleri her zaman olgun bağırsak hücreleri gibi davranmazlar. Bu durum aslında HT-29 hücrelerindeki farklılaşmadır. Yani hücreler bazı özel maddelerle muamele edildiğinde enterosit benzeri veya goblet hücresi benzeri forma geçebilirler. Özel maddelerden sodyum bütirat gen ifadesini değiştirip

hücrelerde farklılaşmayı tetiklerken, kültür ortamında düşük glikoz kullanmak hücreleri enerji stresine sokarak olgunluğa erişmelerini zorunlu bırakır. Herhangi özel bir madde ile muamele edilmeden uzun süre kültür ortamında kalan HT-29 hücreleri de bazı farklılaşma özellikleri gösterebilir. Kültür ortamında yapılan bu değişiklikler ile HT-29 hücreleri ilaç ve besin emilimi çalışmaları, bağırsak bağışıklık yanıtı ve mikrobiyaya etkileşimleri gibi kanser araştırmaları dışındaki alanlarda da kullanılabilir. Kültür aşamasında HT-29 hücrelerinin besinlerin emiliminde rol oynayan enterosit hücrelerine dönüşümünü komşu hücrelerle sıkı bağlantılar kurmasından ve mikrovillus geliştirmesinden anlaşılmaktadır. HT-29 MTX alt hücre hattı olan metotreksat (MTX) ile seçilmiş türü mukus salgılar. Bu salgıdan HT-29 hücrelerinin goblet benzeri forma geçtiği anlaşılmaktadır. Bu fenotipteki hücre hattı, bağırsaktaki mukus salgısını etkileyebilecek gıda bileşiklerini ya da bakterilerini deneyerek sonuç almak için önemli bir modeldir. Bununla birlikte HT-29 hücrelerinde bazı mutasyonlar görülür. Bu mutasyonlardan biri MAPK yolunda bulunan BRAF V600E mutasyonudur (Roma vd., 2016). Somatik bir mutasyon olan V600E mutasyonu sonucunda hücrede kontrolsüz çoğalma görülerek hücre kanserleşmeye yatkın hale gelir. Genomun koruyucusu olarak adlandırılan p53 geninin 273. kodonundaki nokta mutasyonu p53 proteininin DNA'ya bağlanmasını engeller (Zhang vd., 2020). Bu nokta mutasyonu HT-29 hücrelerinde sıklıkla R273H şeklinde görülür (Song vd., 2023). Bu mutasyon sonucunda arginin amino asidi yerine histidin kodlanması mutant p53 oluşumuna sebep olur. Mutant p53 DNA hasarını fark edemez, hücre döngüsünü durduramaz ve bu durum hücrelerin sürekli çoğalmasıyla kanser oluşumuna zemin hazırlar. HT-29 hücreleri kültür şartlarındaki değişikliklerle birlikte farklılaşma süreci yaklaşık 30 gün sürmektedir. Yapılacak çalışmaya göre bu sürecin dikkate alınması ve hücrelerin morfolojik farklılıklarının gözlemlenmesi önem sarf etmektedir.

Her ikisi de kolon kanserinde kullanılan bu hücre hatları aynı kanser türünde olsa da farklı farklılaşma özellikleri göstererek farklı çalışma alanlarında kullanılabilirler. HT-29 hücre hattında belirgin mutasyonlar rapor edilirken, Caco-2 hücrelerinde böyle bir bulguya rastlanmamaktadır. Gen susturma, mutasyonları geri çevirme, kanserde kullanılan ilaçların direnci amacıyla yapılacak çalışmalarda HT-29 hücre hattı kullanılması sahip olduğu mutasyonlar nedeniyle tercih edilebilir. Caco-2 hücre hattı ise bağırsak hücrelerine daha benzer bir yapı gösterdiğinden ilaç emiliminde ve besin taşınımı çalışmalarında daha çok tercih edilebilir. Örneğin 5-FU ilacıyla yapılan bir çalışmada Caco-2 hücrelerinde büyüme faktörü ile uyarıldığında ilaca duyarlılık artarken, HT-29 hücre hattında uzun süreli 5-FU maruziyeti ilaca direnç geliştirmesine yol açabilir. Enzim aktivite seviyeleri Caco-2

hücrelerinde daha yüksek görülmektedir ve HT-29 hücrelerinin yalnızca %40-50'si sükröz-izomaltaz eksprese eder (Zweibaum, 1986; Zweibaum vd., 2011). Aralarındaki bu farklılık sükröz-izomaltaz kompleksinin vücutta ince bağırsakta görülen mikrovillus yapılarında bulunmasındandır. HT-29 hücrelerinde bu mikrovillus benzeri yapılar görülmediğinden enzim aktivitesine bakılacak bir çalışmada Caco-2 hücreleri tercih edilebilir. Bununla birlikte HT-29 hücrelerinin yüksek bir seviyede müsin üretebilmesi de Caco-2 hücre hattı ile arasındaki farklardan biridir (Huet vd., 1987; Maoret vd., 1989).

1.3 Kanser Tedavisi

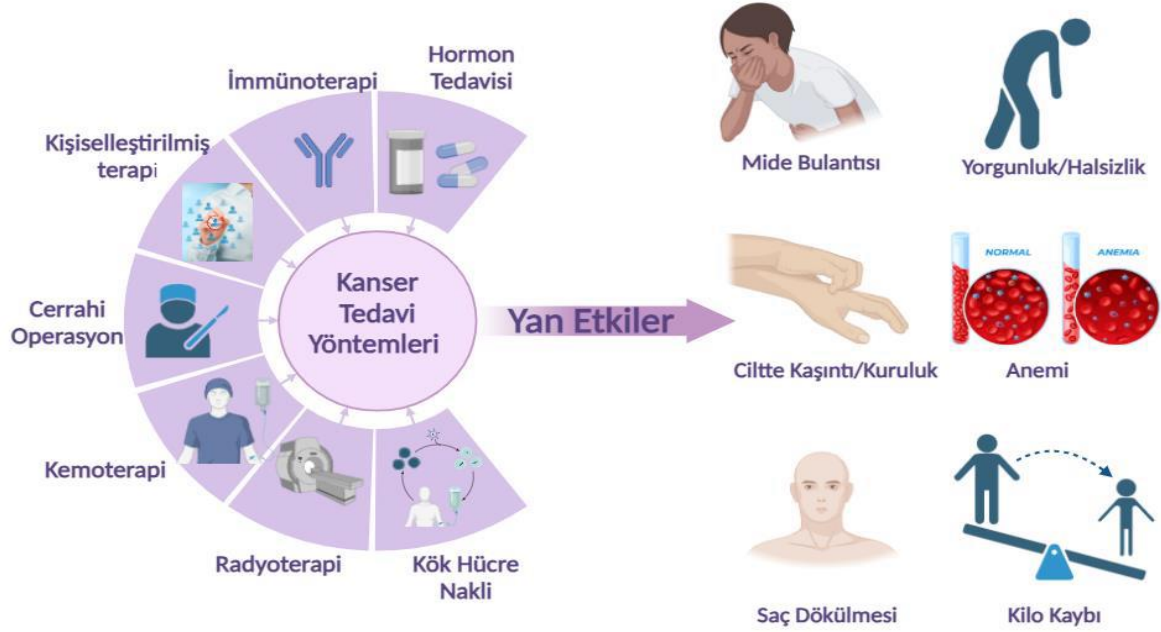
Kanser günümüzde hala tam anlamıyla tedavisi bulunabilmiş bir hastalık değildir. Bu durumun sebeplerinin en önemlisi kanserin gelişim sürecinin oldukça karmaşık olması ve in vitro ortamda yapılan deney sonuçlarının in vivo ortamda beklenen cevabı vermemesi olarak söylenebilir. Bu sebeple kanser üzerinde hala araştırmalar yapılan ve aydınlatılması gereken noktaları olan bir hastalıktır. Kanserin tedavisinde mortaliteyi azaltmak oldukça önemliyken bunun beraberinde sağkalımı artırmak için de çalışmalar sürdürülür.

Cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve bu tedavilere kıyasla daha yeni bir alan olan immünoterapi kanser hastalığının tedavisinde başlıca kullanılan yöntemler olarak belirtilmektedir. Cerrahi tedavi kanser tedavisindeki en eski ve hala oldukça fazla kanser türünde kullanılan yöntemlerden birisidir. Basitçe kanserli dokuyu vücuttan fiziksel olarak çıkartmak olarak tanımlanabilmektedir. Bu yöntem genellikle tümörün vücutta bulunduğu yere, boyutuna ve hastanın genel sağlık durumuna bağlı olarak planlanır. Erken evrede farkına varılan kanser türlerinde yüksek başarı sağlayan bir tedavi türüdür. Kanser hastalığının tespit edildiği evre tedavi için oldukça önemlidir. Geç teşhis edilen kanser türlerinde erken evrede teşhis edilen kansere göre tedavi başarısı düşmektedir. Örneğin erken evrede tanı koyulan meme kanseri tedavisinde %90 başarı elde edilmiştir (Saadatmand vd., 2015).

Cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapi yöntemleriyle birlikte kullanıldığında tedavinin başarısı artmaktadır. Radyoterapi tedavisinde kanser hücrelerini ortadan kaldırmak veya büyümelerini durdurmak amacıyla yüksek enerjili ışınlar kullanılır. Bu yöntem cerrahi müdahalenin ardından kanser nüksü ihtimalini azaltmak ve dokuda kalan veya kalabilecek kanserli hücreleri yok etmek için kullanılır. Cerrahi müdahaleden önce verilen radyasyon

tedavisi ise kanserli dokunun küçültülmesi amacıyla kullanılır. Bulantı, saç dökülmesi, yorgunluk, cilt iritasyonu gibi yan etkileri bulunmaktadır. İmmünoterapi tedavisi vücuttaki bağışıklık sistemi hücrelerinin güçlendirilerek kötü huylu hücreleri tanımasını ve onlarla savaşmasını amaçlayan bir tedavidir (Patel, 2024).

Kanser aşıları, monoklonal antikorlar (belirli antijenleri hedef alarak, yüksek maliyet düşük yan etki) ve CAR-T hücre tedavisi gibi çeşitli tedavi yöntemleri de bulunmaktadır. İmmünoterapinin başarılı olması hastanın bağışıklık sisteminin durumuna, kullanılan tedavinin türüne ve kanser hastalığının özelliklerine bağlıdır. Kemoterapi tedavisinde ilaç kullanımı kanserin yok edilmesi, belirtilerinin azaltılması veya ortadan kaldırılması, yayılımını önlemek ve kanserin sebebiyet verdiği ağrıyı hafifletmek amaçlarıyla kullanılan bir yöntemdir. Cerrahi tedavinin ardından verilen ilaç tedavisi koruyucu (adjuvan), cerrahi işleminden önce tümörü küçültmek için ilaç tedavisi (neoadjuvan) palyatif yani kemoterapiye destek amaçlı olarak kullanılabilir. Kemoterapi tedavisindeki önemli sorunlardan bir tanesi tümör hücrelerine zarar verirken sağlıklı hücrelere de zarar vermesidir. Bu durum kemoterapide uzun zamandır süregelen yan etkilere sebep olur. Kemoterapide kullanılan ilaçların etkinliğini sınırlayan temel sorunlardan birisi de ilaç direnci oluşumudur. Tedavide karşılaşılan bu durumlar bildiğimiz tedavilere ek olarak, tümör hücrelerinde oluşan değişikliklere dayanabilen yeni, etkili ve hedefe yönelik tedavi yöntemleri keşfedilmesinin önünü açmaktadır. Bu tedavi yöntemlerinden bazıları; küçük moleküllerin belirli proteinleri inhibe ederek hastalığın ilerlemesini durdurmayı, kanser hücresi üzerindeki belirli reseptörleri hedef alan peptid ilaçları, monoklonal antikorlar ile beraber sitotoksik ilaçların kanser hücrelerini hedef almasıyla yan etkileri azaltmayı hedefleyen antikor ilaç konjugatları (ADCs) tedavi yöntemleridir (Karati ve Kumar, 2023). Kanser hastalığının tedavisi için kullanılan yöntemler ve sonucunda oluşabilecek yan etkilerin görseli Şekil 1.6’da verilmiştir.



Şekil 1.6: Kanser hastalığında kullanılan tedaviler ve tedavilerin sonucunda ortaya çıkan yan etkiler (Çanak, 2024)

1.3.1 Kemoterapide Kullanılan İlaçlar

Kanser tedavisinde kemoterapi hala kullanılan yaygın bir yöntemdir. Bu amaçla kemoterapide kullanılan ilaçlara kemoterapötikler adı verilir. Bitki (Lichota ve Gwozdinski, 2018; Kikuchi vd., 2019) veya sentetik kaynaklı (Marchi ve O'Connor, 2012; Peng vd., 2020) olarak iki alanda incelenirken, etki mekanizmalarına bağlı olarak; antimetabolitler, topoizomeras inhibitörleri, mitotik iğ inhibitörleri, alkilleyici ajanlar ve diğerleri olarak ayrılabilirler (Luqmani, 2005; Nussbaumer vd., 2011). Bunların içerisinde antimetabolit grubu kendi içinde pürin ve pirimidin antagonistleri, pürin analogları, antifolatlar ve ribonükleotid redüktaz inhibitörleri olarak ayrılırlar. Bu grup içerisinde bulunan antikanser ilaçlar DNA/RNA sentezini bozabilir, belirli enzimlerin inhibisyonunu sağlayabilir veya yanlış yapısal pürin/pirimidin analoglarını DNA'ya ekleyerek zincir kırılmalarına sebebiyet verir. 5-FU, gemsitabin, sitarbin, pirimidin antagonistlerinden, fludarabin pürin antagonistlerinden, azatioprin, kladribin, pürin analoglarından, pralatreksat ve pemetreksed antifolat grubu ilaçlara örnek olarak verilebilir (Nussbaumer vd., 2011; Marchi ve O'Connor, 2012; Lea, 2015).

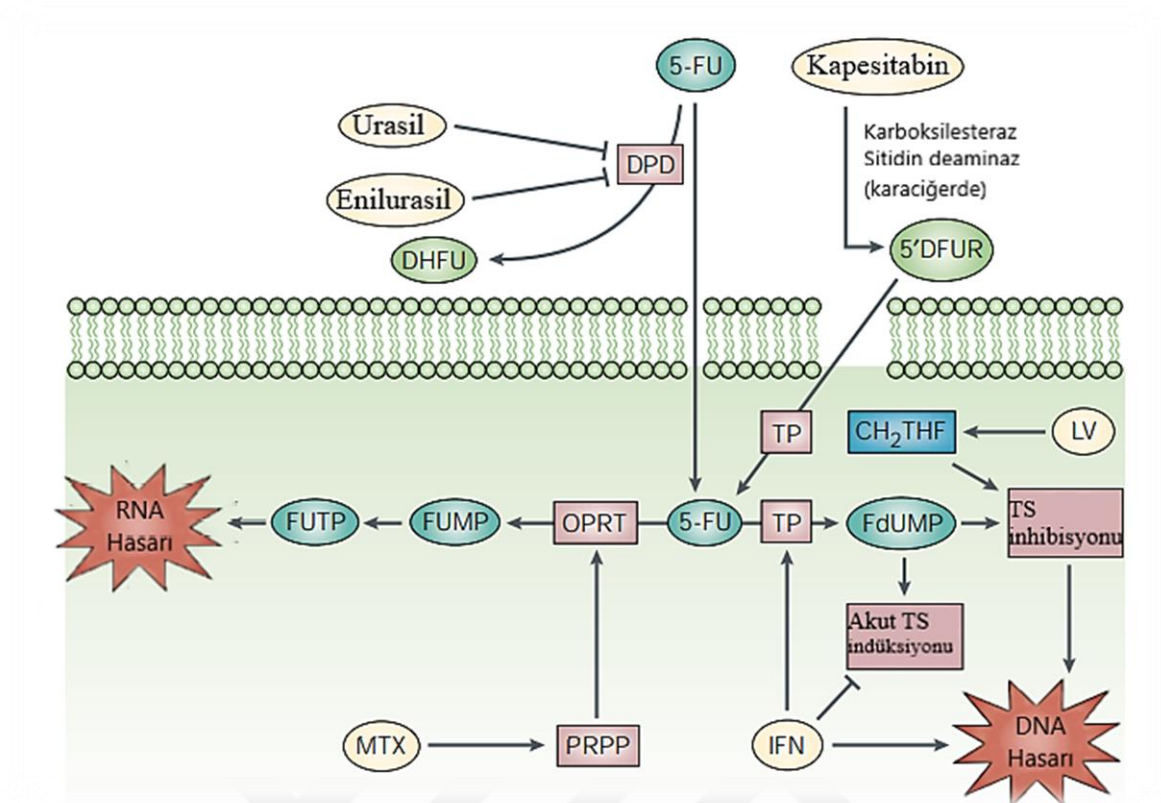
Alkilleyici ajanlar hücre döngüsünün özellikle G1 ve S fazında etkili olan ilaçlardır. DNA'ya alkil grubu ekleyerek yapısını bozar ve hücre bölünmesini durdurur. Alkil grubu ekleme DNA bazlarından guanin bazı üzerinde gerçekleşir ve sonucunda çapraz bağlanmalar, baz eşleşme hataları veya zincirde kırılmalar meydana getirir. Oksazafosforinler içerisinde azot (N), oksijen (O) ve fosfor (P) elementleri bulunan halkalı yapıya sahip bileşik grubu olmakla beraber siklofosfamid ve ifosfamid ilaçları bu gruba dahildir. Platin bazlı ajanlar için sisplatin ve oksaliplatin ilaçları örnek verilebilir (Nussbaumer vd., 2011; Lea, 2015). DNA replikasyonunda yer alan topoizomerez aktivitelerinin inhibisyonu ile DNA ipliğinin kırılması topoizomerez I ve topoizomerez II inhibitörlerinin etki mekanizmalarıdır. İrinotekan ve topotekan ilk gruba, doksorubisin (DOX), idarubisin ise ikinci gruba örnek olarak verilebilir (Infante Lara vd., 2018; Bax vd., 2019). Hücre bölünmesinin mitoz basamağının metafaz evresinde görülen iğ mikrotübüllerinin işlevini değiştirerek hücre ölümüne sebebiyet veren taksanlar ve vinca alkaloidleri gibi iğ inhibitörleridir. Dosetaksel ve paklitaksel taksan grubu iğ inhibitörü grubu ilaçlarına, vinkristin (VCR) ve vinblastin vinca grubu iğ inhibitörü ilaçlarına örnek verilebilir (Nussbaumer vd., 2011; Lea, 2015).

1.3.1.1 5-Fluorourasil

DNA ve RNA sentezindeki yapı taşlarını taklit ederek hücre bölünmesini durdurup hücre ölümüne sebep olan anti metabolitlerden 5-FU, kolorektal kanser başta olmak üzere birçok kanser tedavisinde kullanılmaktadır. 5-FU neredeyse 70 yıl önce ilk olarak anti-kanser aktiviteye sahip olduğu bildirilen, tümörlerin artan urasil tüketimini azaltmak için sentezlenmiştir (Heidelberger vd., 1957). 5-FU'nun DNA'daki pirimidin bazlarından olan urasil ile tek farkı C-5 pozisyonundaki hidrojenin yerine florinin bulundurmasıdır. DNA'daki timin yerine geçen urasil yerine adenin ve 5-FU'dan oluşan baz çiftleri oluşur (Vodenkova vd., 2020). 5-FU hücre içine girdiğinde üç aktif metabolit formu bulunmaktadır. Her formunda hücreyi farklı yollarla öldüren 5-FU'nun Timidilat Sentaz'ı (TS) inhibe eden formu 5-florodeoksiüridin monofosfat (5-FdUMP), RNA'ya yanlış yerleşen formu 5-florouridin trifosfat (5-FUTP) ve DNA'ya yanlış yerleşen 5-florodeoksiuridin trifosfat (5-FdUTP) formu bulunmaktadır. Normalde TS, DNA'da timin bazının yapıtaşı olan dTMP'yi sentezler. 5-FU'nun aktif formu olan FdUMP hücreye girdiğinde TS'ye bağlanarak bu sentezin gerçekleşmesine engel olur. Bu durumda dTMP sentezlenmez, DNA replikasyonu durur, hücre bölünemez ve sonunda hücre ölür. RNA sentezine katılan FUTP formu yanlış yerleşmesi sonucunda hücredeki protein üretimi sürecini bozulmasına sebep olur. Bununla

beraber hücredeki yaşamsal fonksiyonlar bozulur ve hücre ölür. Bir diğer aktif formu olan FdUTP ise DNA'ya yanlış bağlanmasıyla DNA hasarına sebep olur. DNA onarım mekanizmaları hasarı düzeltmek için sentezlense de sürekli hata-düzeltilme döngüsü sonucunda DNA'da kırıklar meydana gelir. Bu hasar hücrenin ölümüne sebebiyet verir (Longley vd., 2003).

Kanser hücrelerine uzun süre boyunca uygulanan ilaca karşı gelişen direnç birçok farklı mekanizmayı içerir. Uzun süre boyunca uygulanan ilacın tedavide yetersiz kalması gibi durumlarda kombine tedavilerle sürecin desteklenmesi kemoterapide kullanılan başka bir yoldur. Kombine tedavide kullanılan ilaçlara karşı tümör hücreleri tarafından çoklu direnç mekanizmaları gelişebilir. BCRP, HRP ve p-glikoprotein gibi enzimlerin üretimi arttığında tedavisi uygulanan ilaç hücre içinde kalmaz ve dışarı atılır. TS enziminin çok fazla üretilmesi de ilacın yetersiz kalmasına ve hücrede direnç oluşmasına sebep olabilir. Bununla beraber 5-FU ilacı için karaciğerde çok fazla dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) üretimi de ilacın birçoğunun parçalanması sonucu hücreyi etkileyememesiyle direnç gelişimine sebep olabilir. DPD üretimini engelleyen ilaçlarla 5-FU'nun biyoyararlanımı artırılabilir fakat bunun sonucunda da hücrede çoklu ilaç direnci gelişimi görülebilir. Metotreksat ve interferonlar da 5-FU etkinliğini artırmak için tedavide kullanılır. Özellikle kolon kanserinin ileri evrelerindeki tedavisinde kullanılan 5-FU'nun etkinliğini artırmak için, oluşan yan etkileri engelleyebilecek kemoprotektan olan Leucovorin (LV, Folinik Asit) ile kullanılır. LV, FdUMP-TS etkileşimini arttıran CH₂THF kofaktörünü arttırır. Böylece 5-FU etkinliği arttırılır. Bu kombine kullanımın sağkalımda ve tümör yanıt oranında iyileşme sağladığı görülmüştür (Thirion vd., 2004). 5-FU ve LV kombine kullanımına ek olarak oksaliplatin ve irinotektan ilaçlarıyla beraber kullanımı da hastanın yaşam kalitesinde olumlu sonuçlar göstermiştir. Oksaliplatin tek başına etkin bir ilaç olmakla birlikte DNA zinciri arasında çapraz bağlar oluşturarak replikasyonu durdurur böylece hücre ölümünü sağlayan platin bazlı bir ajandır. İrinotekan ise DNA replikasyonu sırasında kırıklar oluşturarak hücreyi öldürür. Bu kombinasyonlar sayesinde hücre farklı mekanizmalarla aynı anda hasar alır. Bu durumda tümörde tek başına kullanılan ilaca direnç geliştirip kurtulma olasılığı azalır. Böylece tedavide yanıt oranları yükselir (Longley vd., 2003). 5-FU'nun etki mekanizmasının şematik gösterimi Şekil 1.7'de gösterilmiştir.



Şekil 1.7: 5-FU etki mekanizmasının şematik gösterimi (Longley vd., 2003)

1.4 Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunan, bitkilerin renkleri ve kokuları gibi özelliklerini belirleyen fitokimyasallardan polifenol grubunun bir alt türüdür. Flavonoidlerin moleküler yapıları üç elemanlı halka yapısına sahip, iki aromatik halka ve bu halkaları bağlayan üç karbonlu bir yapıdan oluşmaktadır (Sultana ve Anwar, 2008). Ana iskeletleri $C_6C_3C_6$ şeklinde (Miean ve Mohamed, 2001) 15 karbonlu moleküllerdir. Halkaları A, B ve C olarak isimlendirilir. İki benzen halkası A ve B halkası ve bu halkaları birbirine bağlayan piran halkası C ile oluşur (Erlund, 2004) ve flavonoidlerin tüm alt gruplarında bu yapı ortaktır. Bu yapı özellikleri sayesinde güçlü antioksidan kapasiteleri bulunmaktadır ve serbest radikallerin temizlenmesinde, hücre hasarının önlenmesinde yardımcı olmaktadır (Kumar ve Pandey, 2013a; Szulc vd., 2024).

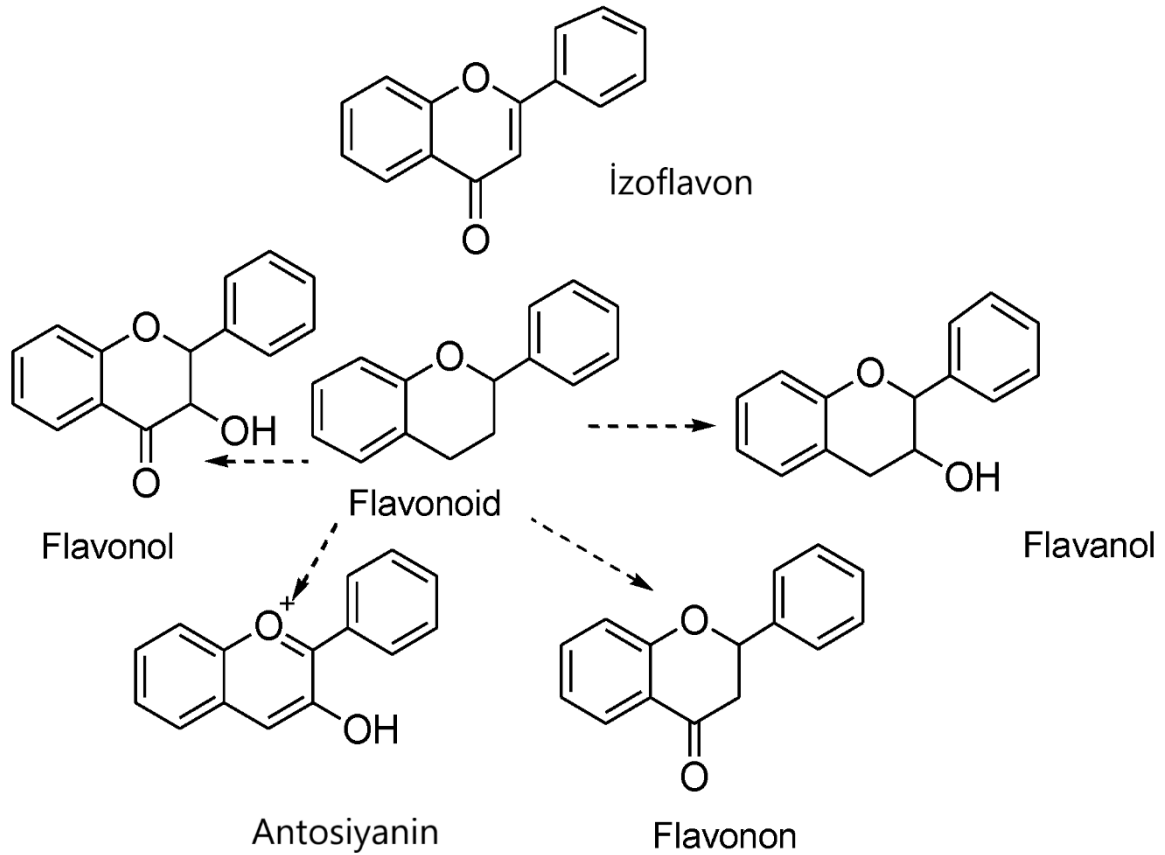
Flavonoidlerin antioksidan özellikleri yanında anti-inflamatuar, immünomodülatör ve antikanser aktiviteler gösterdiği çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmiştir (Batra ve Sharma, 2013; Panche vd., 2016). Özellikle kanser hücreleri üzerinde yapılan

araştırmalarda, hücre proliferasyonunu inhibe ettikleri ve apoptotik mekanizmaları aktive ettikleri rapor edilmiştir (Zhang vd., 2018; Li vd., 2023). Bu bileşikler, faz I metabolize edici enzimlerin (CYP450 izoenzimleri gibi) aktivitesini inhibe ederek kanserojenlerin biyotransformasyonunu azaltmakta, faz II enzimlerin aktivasyonunu artırarak toksinlerin vücuttan uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır (Le Marchand vd., 2000).

Özellikle kolon kanseri hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarda, apigenin ve kuersetagetin gibi flavonoidlerin anti-proliferatif etkiler sergilediği gösterilmiştir. Bu flavonoidler, Bax/Bcl-2 oranını ve kaspaz-3 aktivasyonunu artırarak hücrelerde apoptotik süreçleri teşvik etmektedir. (T rktekin, 2009; Chidambara Murthy vd., 2012). Ayrıca, flavonoidlerin NF- B inhibisyonu yoluyla inflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltarak inflamasyonu baskıladığı da belirtilmiştir (Sharma vd., 2018).

Flavonoidler farklı biyoaktiviteleri olan doğal olarak oluşan fenolik bileşiklerdir (Cook ve Samman, 1996).  oğunluğu meyve, sebze ve bitkilerden 4000'e yakın flavonoidin varlığından söz etmek mümkündür. Flavonoidler kimyasal yapıları, renkleri ve pH'ya tepkileri olarak antosiyaninler ve antoksantrinler olarak iki gruba ayrılır. Antosiyaninler çoğunlukla koyu renkli meyve ve sebzelerde bulunur ve belirgin pigment özellikleri sayesinde gıdalarda renk verici olarak kullanılır. Gıdalardaki flavonoidler genellikle renk, tat, yağ oksidasyonunun önlenmesinden ve vitamin ve enzimlerin korunmasından sorumludur (Yao vd., 2004). Antoksantrinler daha açık renkli bitkilerde bulunmakla beraber genellikle sağlık alanında oluşturabilecek katkıları açısından incelenir. Flavonoidlerin antoksantrin ve antosiyanin olarak kendi içinde ikiye ayrılmasıyla birlikte antoksantrinler de molekül yapıları olarak çeşitli kimyasal sınıflara ayrılır (Sultana ve Anwar, 2008). Flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanoller ve izoflavonlar olmak üzere 5 alt gruba ayrılır. Bu flavonoid gruplarının kimyasal yapıları şekil 1.8'de gösterilmiştir. Bir heterosiklik halka olan karbon (C) halkasının doğunluğu flavon ve flavonol  birbirinden ayırır. Flavonol grubu bitkilerde en yaygın bulunan sınıftır (Cassidy ve Kay, 2013). Elma,  ay soğan gibi meyve sebzelerde bulunan flavonoller kuersetin, rutin, mirisetin ve kamferol bileşiklerini içerir (Crozier vd., 2009). Flavonlar C halkasının 3. C pozisyonunda hidroksil grubu bulundurmamasıyla flavonollerden ayrılır. Flavon grubu maydanoz, kereviz, zeytinde bulunan ve apigenin, luteolin bileşiklerini içerir. Flavonlar C2 ve C3 karbonları arasındaki çift bağı içerirken flavanonda ise flavonda bulunan çift bağa hidrojen dahil edilerek bağ teke indirgenir yani flavonların dihidro türevleri flavanonlardır. Dihidro türev olan flavanonlar

kimyasal özellikleri sebebiyle daha az renkli ve daha stabil renklere bulunurlar (Giusti vd., 2023). Genellikle greyfurt ve portakal gibi turuncu renkli meyvelerde bol miktarda bulunurlar. Naringin ve hesperidin en önemli bileşiklerindendir (Kumar ve Pandey, 2013a). En önemli bileşikleri kateşin ve epikateşin olan flavanol grubu flavonların indirgenmiş türevleridir. Yeşil çay, üzüm ve kakaoda yüksek konsantrasyonda bu bileşikler mevcuttur (Rice-Evans vd., 1996). Aynı moleküler formüle sahip fakat atomların farklı düzenlenmesi sonucu oluşan bileşikler olarak tanımlanabilen izomerler arasında flavonların izomeri izoflavonlar da bulunmaktadır. Baklagillerde ve özellikle soya fasülyesinde bulunurlar (Rice-Evans vd., 1995). Genistein ve daidzein en çok bilinen izoflavon bileşikleridir.



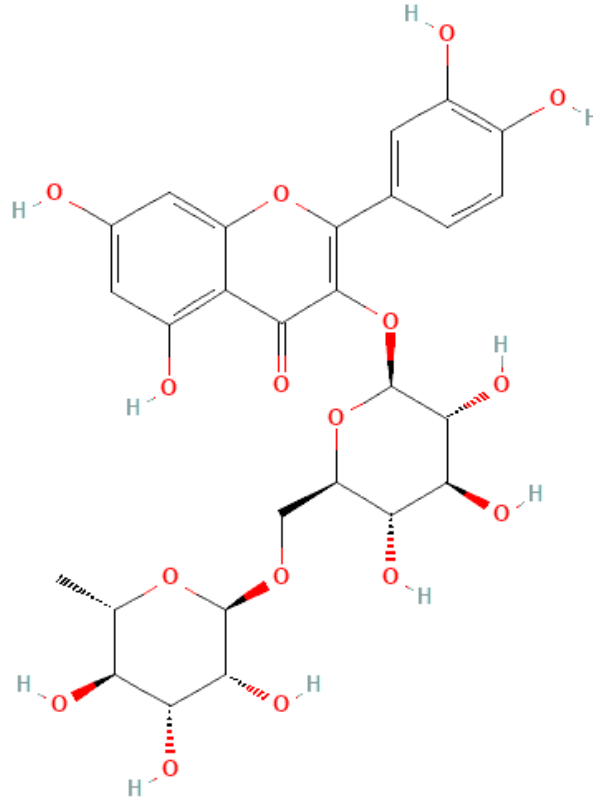
Şekil 1.8: Flavonoid ve türlerinin kimyasal yapılarının gösterimi (Ullah vd., 2020)

Sonuç olarak flavonoidler, antioksidan, anti-inflamatuar ve antikanser etkileri sayesinde potansiyel kemopreventif ajanlar olarak değerlendirilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle flavonoidler, sağlık bilimlerinde ve ilaç geliştirme çalışmalarında büyük ilgi görmektedir ve çeşitli hastalıkların tedavisi için umut vadetmektedir.

1.4.1 Rutin

Rutin, 1930'da ilk olarak portakaldan izole edilmiştir. Başlangıçta bir vitamin (vitamin P) olduğu düşünülmüştür. Şu anda ise bu maddenin flavonoid sınıfından flavonol olduğu bilinmektedir (Middleton, 1998). Rutin $C_{27}H_{30}O_{16}$ kimyasal yapıda, sarı-yeşil renk kristal yapıda ve moleküler ağırlığı 610.53 g/mol olan bir flavonoldür (Patel ve Patel, 2019). Rutin flavonoidinin kimyasal yapısı Şekil 1.9'da verilmiştir. Rutin karabuğday, elma, çay, soğan, kuşburnu gibi bitkilerde bol miktarda bulunur (Harborne, 1986; Kreft vd., 1999) Rutin flavonolünün farmakolojik ve terapötik etkileri oldukça çeşitlidir. Antioksidan özelliği sayesinde serbest radikallerin hücrelere zarar vermesini engelleyebilir. Ayrıca damarlardaki geçirgenliği azaltarak damar sağlığını koruyabilir. Vücutta yağların oksidasyonunu önlemeye de yardımcı olur. Yapılan çalışmalarla antioksidan, antiinflamatuvar, anti-kanser, hücre, damar, karaciğer ve böbrek koruyucu, kardiyoprotektif, nöroprotektif, hepatoprotektif ve antihipertansif özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (La Casa vd., 2000; Janbaz vd., 2002; Palmer vd., 2002; Schwedhelm vd., 2003; Fotini vd., 2006; Trumbeckaite vd., 2006; Nassiri-Asl vd., 2010; Richetti vd., 2011; Javed vd., 2012).

Rutin flavonolünün özellikle antikanser etkileri çok sayıda in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir. Meme (Ghasemzadeh vd., 2014), prostat (Satari vd., 2019), pankreas (Saleh vd., 2019) ve kolon (Nasri Nasrabadi vd., 2019) gibi kanser hücre hatlarında proliferasyonu inhibe ettiği, apoptozu tetiklediği (Nafees vd., 2018), otofajiyi indüklediği (Park vd., 2016), anjiyogenezi baskıladığı (Chuang vd., 2010) ve metastazı engellediği (Ghasemzadeh vd., 2014) raporlanmıştır. Bu etkiler; hücre döngüsünü düzenleyen proteinler, kinazlar, transkripsiyon faktörleri ve inflamatuvar sitokinler üzerindeki düzenleyici rolü ile ilişkilidir. Bunun yanı sıra, rutin düşük biyoyararlanım problemi ile de dikkat çeker. Emilim sonrasında rutinin biyolojik etkilerinin çoğu, metaboliti olan kuersetin aracılığıyla meydana gelir. Bu durum, rutinin sindirim sonrası parçalanması ile ortaya çıkan aglikon formunun biyolojik aktivitelerindeki önemini vurgulamaktadır (Bok vd., 2002). Sonuç olarak rutin, sahip olduğu çok yönlü biyolojik etkiler nedeniyle özellikle antioksidan ve antikanser ajan olarak bilimsel ilgiyi artıran doğal bir bileşiktir. Gerek gıda takviyesi olarak gerekse farmakolojik ajanlarla kombine terapilerde kullanılma potansiyeli taşımaktadır.

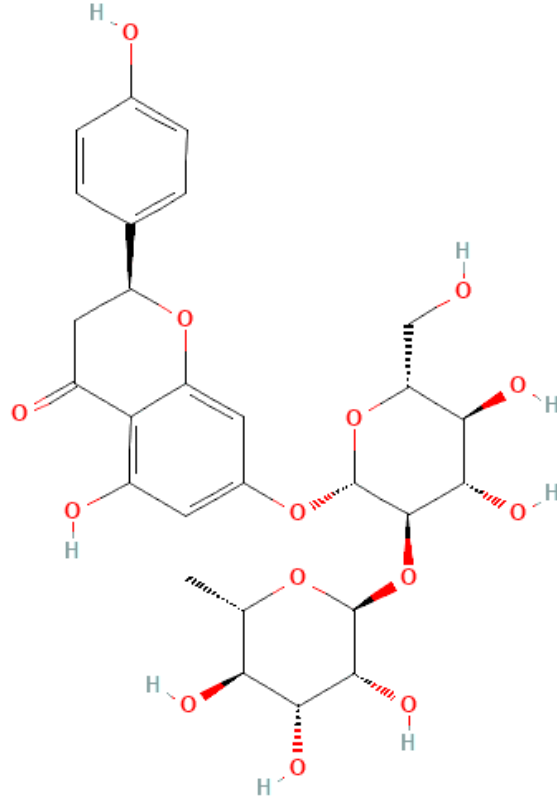


Şekil 1.9: Rutin flavonölünün kimyasal yapısı

1.4.2 Naringin

Naringin, moleküler ağırlığı 580,4g/mmol olan, moleküler formülü $C_{27}H_{32}O_{14}$ olan bir flavonon glikozidi olarak tanımlanır (Alam vd., 2014). Naringin flavonoidinin kimyasal yapısı Şekil 1.10'da verilmiştir. Naringin, vitaminler, mineraller, flavonoidler açısından zengin olan narenciye meyvelerinde (greyfurt, limon, portakal, mandalina), çeşitli turunçgillerde (Alam vd., 2014) sıkça yer alan bir flavonoiddir (Stabrauskiene vd., 2025). Tat olarak acımsıdır ve bu meyvelerin tadını büyük ölçüde etkiler (Alam vd., 2014). Flavonoidlerin meyve ve sebzelerde bulunduğu yerler değişiklik gösterebilir. Örneğin limon çekirdeğinde hesperidin ile erioctrin yoğunken limon kabuklarında ise neoeriocitrin, neohesperidin ve naringine daha yoğun rastlanır (Joshi vd., 2018). Naringin insan vücudunda bağırsak mikroflorası tarafından bağırsaktaki aglycon naringenine parçalar daha sonra bağırsaktan emilir (Choudhury vd., 1999). Naringin, düşük toksisite, serbest radikalleri nötralize edebilme potansiyeli sayesinde oksidatif stresin ortaya çıkardığı hücresel hasarı azaltabilme etkinliğine sahiptir (Stabrauskiene vd., 2025). Ayrıca naringin güçlü bir anti-enflamatuvar (Xue vd., 2019), antikanser (Erdogan vd., 2018; Zhao vd., 2019) etkiler gösterdiği kanıtlanmıştır. Naringin bu etkilerine ek olarak kemik hücrelerinin çoğalmasını

ve farklılaşmasını teşvik ederek osteoporoz gibi kemik hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterir ve osteoklast oluşumunu baskılayarak kemik yıkımını azaltabilir (Yu vd., 2020). Naringinin bu çeşitli biyolojik ve farmakolojik özellikleri, onu potansiyel bir terapötik ajan olarak ön plana çıkarmaktadır.



Şekil 1.10: Naringin flavononunun kimyasal yapısı

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Flavonoidler; antioksidatif, anti-enflamatuvar ve anti-kanserojen etkileri ile doğal gıdalarda bulunan biyoaktif bileşiklerdir. Bu özellikleri sayesinde nörodejeneratif hastalıklar, obezite ve kanser hastalıkları üzerinde olumlu etkileri vardır. Flavonoidler ile yapılan çalışmalarda olumlu etkilerin görülmesi için uygun doz ve uygulama süresi kritik öneme sahiptir (Li vd., 2023). Son yıllarda flavonoidler ile birçok alanda çalışmalar yapılmıştır. Kanser hastalığının türleri üzerinde rutin ve naringin bileşikleri ile yapılan çalışmalar önemli bir yer edinmiştir.

Gatasheh tarafından 2024 yılında yayınlanan makalede rutin flavonoidinin kolorektal kanser (HT-29) hücrelerine karşı etkileri moleküler düzeyde incelenerek bu etkilerin hangi genler üzerinden gerçekleştiği belirlenmiştir. Rutin için yapılan biyoinformatik analizler sonucunda laboratuvar deneyleri gerçekleştirilmiş ve rutin hücre büyümesini G1 fazında durdurarak hücre ölümüne yol açtığı kanıtlanmıştır. TP53, PCNA, CCNEB1, CDKN1A ve LDHA genleri rutin ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde RT-PCR yöntemi kullanılarak ekspresyon seviyelerinde düşüş görüldüğü kanıtlandı (Gatasheh, 2024).

Chang vd. tarafından 2025 yılında yayınlanan makalede üçlü negatif meme kanseri (TNBC), rutin ile tedavi edilen MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde hücre canlılığı için kolorimetrik CCK-8 testi, apoptoz için PI/Annexin V kullanıldı. Biyoinformatik teknikler kullanılarak EGFR, IL6, TNF ve INS birincil hedefler olarak seçildi. Bu hedefler qPCR ve Western blot deneyleri ile desteklendi. Yapılan çalışmalar sonucunda rutin üçlü negatif meme kanseri hücre hattının büyümesini inhibe ederek hücre ölümüne neden oldu. IL6, TNF, INS ve EGFR ifadelerini azalttı. Bu gen ifadelerindeki azalma rutin anti kanser aktivitesinin birkaç hedef ve birçok sinyal yolunun karışımından kaynaklandığı kanıtlandı (Chang vd., 2025).

Suman vd. tarafından 2025 yılında yayınlanan makalede rutin ve kuersetin flavonoidleri tek başlarına ve kemoterapi ilaçlarıyla birlikte kolon kanseri hücreleri olan HCT116 üzerinde sitotoksik ve kemoterapiye duyarlılık etkilerini araştırmıştır. Çalışmada hücre canlılığı XTT testi ile ölçülürken, Western blot ve immüno Floresan teknikleriyle apoptoz, otofaji ve oksidatif stres gibi süreçler değerlendirilmiştir. Kuersetin tek başına rutine kıyasla daha yüksek hücre ölümü sergiledi. Kemoterapi ilaçlarıyla birlikte kullanıldıklarında rutin flavonoidinin 5-FU için, kuersetinin de doxorubicin için etkili birer kemoterapi duyarlılığını artırıcı olduğu bulunmuştur. Sonuçta flavonoidlerin yapısal özelliklerinin farklı olması

hangi ilaçla nasıl etkileşime girdiğini değiştirir ve bu konuda yapılacak kombinasyonlar kemoterapötik ilaçların dozajını azaltmak, ilaç direncine duyarlılığı azaltmak gibi tedavide karşılaşılan zorluklarda yardımcı olabilir (Suman vd., 2025).

Huang vd. 2024 yılında yayınladığı çalışmada rutinin mide kanseri üzerinde tedavisi ölçülmüştür. Mide kanserine olan etkilerini iki farklı hücre hattı ile değerlendirilmiş olup bunlar AGS ve MGC803'tür. Hücrelere uygulanan farklı dozlarda rutinın ardından hücre canlılık testi için MTT, hücre ölümünün nasıl gerçekleştiğini görebilmek amacıyla akış sitometrisi, hücrelerin dokudaki hareketlerini ve doku benzeri yapıları aşma becerisini ölçmek için yara iyileştirme ve Transwell testi kullanılmıştır. Bu testlerin sonucunda rutin, mide kanseri hücrelerinde canlılığı apoptoza bağlı azalttı. Göç ve invazyon testlerinde de rutin tedavisi olumlu sonuçlar verdi. Moleküler düzeyde yapılan incelemeler RT-PCR ve Western Blot kullanılarak yapılmıştır. Deneylerin sonucunda epitel-mezankimal geçiş sürecinin baskılandığını ve bu sonucun Wnt- β -catenin sinyal yolunun inhibisyonu ile olduğu açıklanmıştır. Sonuç olarak rutinin mide kanseri hücrelerinde potansiyel bir doğal ajan olarak değerlendirilebileceği kanıtlanmıştır (Huang vd., 2024).

Betts vd. 2023 yılında yaptığı deneysel çalışmada rutin prostat kanseri üzerinde denenmiştir. Bu çalışmada rutin flavonoidinin PC-3 hücre hattı üzerindeki apoptotik ve epitelyal-mezankimal geçiş etkileri incelenmiştir. 24 ve 48 saat farklı dozlarda rutin ile tedavi edilen PC-3 prostat kanseri hücrelerinde doza ve zamana bağımlı olarak hücre canlılığında azalma görülmüştür. Bu WST-1 testi ile yapılırken apoptoz seviyesindeki artış için Annexin V ELISA yöntemi kullanılmıştır. Moleküler düzeyde RT-PCR ile mRNA ekspresyonu incelenmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçları doğrultusunda rutin prostat kanseri hücreleri üzerinde apoptozu indükleyici ve epitelyal-mezankimal geçişi engelleyen etkileri olduğunu kanıtlar niteliktedir (Betts Z. vd., 2023).

Vincer vd. tarafından 2024 yılında yayınlanan naringin flavonoidinin oral kanseri hücre hattında sitotoksik ve antikanser etkileri incelenmiştir. KB-1 hücre hattı kullanılan çalışmada 24 saatlik tedavi sonucunda hücre canlılığı MTT testi kullanılarak ölçüldü ve doza bağımlı azalma gözlemlendi. Etidyum bromür ile boyanan hücrelerin çekirdek yapısı ve apoptotik değişiklikleri faz-kontrast mikroskop ile incelendi. Hücrelerdeki morfolojik yapının bozulduğu, büzülme ve çekirdekteki kromatinlerde yoğunlaşma görüldü. Naringinin hücre göçü faaliyetlerin etkisinin ölçülmesi için yara iyileştirme deneyi yapıldı ve kontrole kıyasla

önemli ölçüde azalma görüldü. Apoptotik etkilerin belirlenmesi için gerçek zamanlı PCR ile gen ekspresyonları ölçüldü. Bcl-2 ifadesinde azalma, BAD, BAX ve Caspase-3 ifadelerinde anlamlı bir artış, TGF- β , SMAD2, TNF α ve NF κ B ifadelerinin baskılandığı görüldü. Yapılan çalışmada tüm sonuçlar incelendiğinde naringin oral kanseri tedavisinde umut verici bir anti kanser ajan olabileceği kanıtlanmıştır (Vincer vd., 2024).

Tharamelvelyil Rajendran vd. tarafından 2024 yılında yayınlanan çalışmada naringin flavonoidi glioblastoma hücreleri üzerindeki anti kanser etkisi incelenmiştir. İn silico ve in vitro yaklaşım ile yürütülen çalışmada öncelikle naringinin bağlanması olası proteinler bulunmuştur. Glioblastoma hastalarındaki genler ile bu proteinler karşılaştırılarak ortak 129 hedef gen bulunmuştur. Bu genlerin içerisinde PARP1 ve ABL1 genleri ile naringin güçlü bir bağlantı sergilemiştir. Bununla beraber naringinin genlerle olan bağlantısı zaman içerisinde stabil kalmıştır. İn vitrodaki deneylerde C6 sıçan glioma hücreleri ve U87-mg insan glioblastom hücreleri kullanılmıştır. MTT analizi ile hücre canlılıkları ölçüldüğünde insan glioblastoma hücrelerine karşı naringinin daha güçlü etkisi olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda naringinin glioblastomaya karşı PARP1 ve ABL1 inhibisyonu ile apoptoz, hücre döngüsünü durdurma ve antimetastatik etkiler gösterebileceği vurgulanmıştır (Tharamelvelyil Rajendran vd., 2024).

Wang vd. tarafından 2024 yılında naringin flavonoidinin yumurtalık kanseri hücrelerinde cisplatine direncin nasıl gerçekleştiği ve otofaji mekanizmasını nasıl etkilediği araştırılmıştır. Cisplatin dirençli ve normal SKOV3, A2780 hücre hatları deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. MTT deneyi ile hücre canlılığı, flow sitometri ile apoptoz ölçülmüştür. Western blot deneyi ile otofaji belirteçleri ve TGF- β 2/smad2 yolundaki etkiler incelendi. Naringin, cisplatin dirençli hücrelerde duyarlılığı arttırdı ve apoptozu destekledi. Otofaji belirteçleri sonuçlarında p62 proteininde artış, LC3de azalma görüldü. Bu sonuçlar otofajinin baskılandığını göstermiştir. TGF- β 2 ve smad2'yi baskılayarak otofaji aracılığıyla cisplatin direncini kırmıştır. İn vitro ortamda alınan sonuçlar doğrultusunda in vivo koşullarda da deney yapılmıştır. Deney farelerinde cisplatin+naringin kombinasyonu tek başlarına cisplatine göre tümör büyümesini daha etkili şekilde yavaşlatmıştır. Yapılan deneyler sonucunda cisplatin dirençli yumurtalık kanseri hücrelerinde naringin otofajiyi baskılayarak ilaç hassasiyetini arttırdı. Bu mekanizmanın TGF- β 2/smad2 sinyal yolunun baskılanması ile gerçekleştiği kanıtlanmıştır (Wang vd., 2024).

Bisht vd. 2024 yılında yayınladığı araştırma makalesinde naringin flavonoidinin glioblastoma hücrelerine temozolomid ile tek başlarına ve kombine kullanımlarının ilaç direncine nasıl etki edeceği araştırılmıştır. Bunun için in vitro ortamdaki deneylerde U87-MG (insan glioblastoma) ve T98-G (temozolomid dirençli) hücre hatları kullanıldı. MTT, ELISA, Western blot gibi sitotoksik ve genotoksik deneyler yapılmıştır. Hücre canlılık düzeyi, apoptoz, protein düzeyleri ve oluşan metabolik değişikliklerin incelendiği bu makalenin sonucunda özellikle T98-G hücre hattı üzerinde verilen kombine tedavinin kemoterapi etkinliğini arttırdığı kanıtlanmıştır (Bisht vd., 2024).

Pravin vd. tarafından 2024 yılında yayınlanan araştırma makalesinde rutin ve naringin flavonoidleri meme kanseri hücresi (MDA-MB-231) ve sağlıklı fibroblast hücreleri (2DD ve QFC) üzerinde DNA hasar yanıtı üzerindeki etkisini araştırmıştır. PARP-1, ATM, ATR, CHK1 ve WEE1 proteinleri ile moleküler bağlanma yöntemi kullanılarak rutin ve naringin etkileşimleri hesaplanmıştır. Naringin ATM, ATR CHK1 ve WEE1 ile güçlü bir bağlanma, rutin PARP-1, ATM ve ATR proteinleri ile güçlü bir bağlanma sergilemiştir. Bu sonuçlar göz önüne alınarak kanserli ve sağlıklı hücrelerde MTT, Comet ve DPPH testleri yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda sağlıklı hücrelere kıyasla kanser hücrelerinde canlılık düşmüş, DNA hasarı artmıştır. Her iki bileşik için oksidatif stresin azaltılmasında bir rol oynadığı kanıtlanmıştır böylece antikanser etkileri artmıştır. Rutin ve naringin DNA hasar yanıtını düzenleyen proteinlerle güçlü yakınlık sergilediği ve kanser hücrelerinde tamir proteinlerine olan bağımlılık nedeniyle bu flavonoidler DNA hasar yanıtını modüle etmek için potansiyel ilaç olarak değerlendirilebilir (Pravin vd., 2024).

3. MATERYAL VE METOD

Bu bölümde araştırmanın materyal ve metodu üzerine bilgiler verilecektir. Bu çalışma, Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Hücre Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1 Çalışmada Kullanılan Hücre Serileri ve Kültür Ortamları

In vitro çalışmaların özellikle kanser araştırmalarında en önemli yapı taşı olan hücre serileri, laboratuvar çalışmalarında birçok alanda kullanılmaktadır. Kanser tedavisi araştırmalarında başlangıç olarak kullanılmak üzere birçok kanser türünün hücre hattı bulunmaktadır. Bu çalışmada insan kolon kanseri hücre serisi (Caco-2) ve insan kolorektal kanseri hücre serisi (HT-29) kullanıldı.

3.1.1 Caco-2 Hücre Serisi (ATCC HTB-37)

Kolon kanseri modeli olarak kullanılan Caco-2 hücreleri için besleme medyumunu aşağıda verilen Tablo 3.1'e göre hazırlandı. Daha sonra hazırlanan besleme medyumunu 0.22 µm por çapına sahip vakum filtrasyon sisteminden (Katalog No: 343001; NEST Biotechnology, Çin) süzüldü ve Caco-2 hücreleri için bütün deneysel basamaklarda kullanıldı.

Tablo 3.1: Caco-2 hücre medyum içeriği

Besiyeri/Katkılar	Firma	Miktar (mL)
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) Yüksek Glukoz	Gibco, KN: 41966-029, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)	500
Fetal Sığır Serum (FBS)	Serox, KN: S181G-500, Almanya	50
Penisilin-Streptomisin Solüsyonu	Biological Industries, KN: 03-031-1B, İsrail	5
MEM Esansiyel Olmayan Amino Asit Çözeltisi (100X)	Pan Biotech, KN: P08-32100, İsrail	5

3.1.2 HT-29 Hücre Serisi (ATCC HTB-38)

Kolorektal adenakarsinoma kanser modeli olarak kullanılan HT-29 hücreleri için besleme medyumunu aşağıda belirtilen Tablo 3.2'ye göre hazırlandı. Sonrasında hazırlanan besleme medyumunu 0.22 µm por çapına sahip vakum filtrasyon sisteminden (Katalog No: 343001; NEST Biotechnology, Çin) süzüldü ve HT-29 hücreleri için bütün deneysel basamaklarda kullanıldı.

Tablo 3.2: HT-29 hücreleri için medyum içeriği

Besiyeri/Katkılar	Firma	Miktar (mL)
RPMI-1640	Gibco, KN: 21875-034, ABD	500
Fetal Sığır Serum (FBS)	Serox, KN: S181G-500, Almanya	50
Penisilin-Streptomisin Solüsyonu	Biological Industries, KN: 03-031-1B, İsrail	5
MEM Esansiyel Olmayan Amino Asit Çözeltisi (100X)	Pan Biotech, KN: P08-32100, İsrail	5

3.2 Kültür Şartları

Çalışmada kullanılmak üzere hazırlanan tüm hücre serileri inkübatörde (Thermo Forma II CO₂ İnkübatör, ABD) 37°C sıcaklıkta %5 CO₂ içeren ortamda kültüre edildi. Her koşulda steril şartların korunması amacıyla biyolojik emniyet kabini (Model No: BIF2000; Bilser, Türkiye) içerisinde çalışmalar gerçekleştirildi.

3.2.1 Hücrelerin Açılması

-196 °C'lik sıvı azot tankı içerisinde tutulan hücre vialleri, önceden 37 °C ısıtılmış olan su banyosunda hızlıca çözüldü. Çözünen hücre viallerinin dış kısmı %70 alkol ile dezenfekte edilerek biyolojik emniyet kabini içerisine alındı. Viallerin içerisindeki hücreler yavaşça pipetaj yapılarak öncesinde içerisine 37°C'ye getirilen besleme medyumundan 5 ml

konulmuş olan 15 ml'lik falkon tüplerin içerisine alındı. Bu tüpler 8 dakika 1500 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldığında tüpün içerisindeki pellet, yani hücreler, üzerlerine bir miktar medyum eklenerek hücrelerin ayrıştırılmasının ardından 25 cm² kültür flasklarına ekildi ve inkübatöre alındı. Hücreler her gün mikroskop altında ve dışarıdan göz ile kontrol edildi. Hücrelerin besi ortamları haftada iki kez olacak şekilde değiştirildi.

3.2.2 Hücrelerin Alt Kültüre Alınması

Mikroskop altında incelenen hücreler flask tabanını en az %80 doldurduğunda pasaj işlemi yapıldı. Bu işlemde önce flastaktaki atık medyum aspire edildi ve ardından flask tabanı olası kirlilikten korunmak için bir defa 5 ml fosfat tamponu (PBS; Katalog No: L0615-500; Biowest, Fransa) ile yıkandı. Hücrelerin üzerine 3-5 ml Tripsin EDTA solüsyonu (Katalog No: 325-043-EL, Wisent Inc., Kanada) eklendi ve flastklar 3-5 dakika inkübatöre bırakıldı. Konfluent halde olan hücreler solüsyon yardımıyla flask tabanından ayrıldığında üzerine 1:1 oranında besleme medyumunu eklendi ve hücreler 15 ml'lik falkon tüp içerisinde toplandı. 8 dakika 1500 rpm'de santrifüjün ardından üst faz aspihlendi. Hücre pelleti bir miktar besleme medyumunu ile yeniden süspanse edildi. Süspanse edilen hücre pelletinden 20 µl alındı steril bir tüpe koyulup üzerine 20 µl tripan mavisi eklendi. Pipetaj yapıldıktan sonra 20 µl alınıp neuber lamı ile inverted mikroskop (Optec BSD400, Çin) altında hücre sayımı gerçekleştirildi. Sayımı yapılan hücreler 75 cm² kültür flastklarına ekildi (yaklaşık 2x10⁶ hücre) ve inkübatöre alındı. Hücreler düzenli olarak her gün izlendi ve haftada iki defa besi ortamları değiştirildi.

3.2.3 Hücrelerin Stoklanması

Hücre kültürü çalışmalarında oluşabilecek olası kontaminasyon riskine karşılık hücreler dondurularak stoklama işlemi gerçekleştirildi. Stoklama yapılırken pasaj işleminde sayılan hücreler (yaklaşık 2x10⁶ hücre), 900 µl besleme medyumunu + 100 µl DMSO (toplam 1ml dondurma medyumunu) içerisinde süspanse edildi ve cryoviale alındı. Vial içerisindeki hücreler daha sağlıklı bir dondurma işlemi için içerisinde 2-propanol bulunan hücre dondurma kabında -80°C'de bir gece bekletildi. Sonrasında -80°C'de bulunan vialler sıvı azot tankına alınarak stoklama işlemi tamamlandı.

3.3 Bileşiklerin Hazırlanması

Çalışmada Rutin (Ambed, Katalog No: A125100, ABD)'in ve Naringin (Sigma-Aldrich Katalog No: 71162, Almanya)'in 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 μ M ve standart kemoterapötik ilaç olan 5-Fluorourasil (5-FU; Katalog No: F6627-1G; Sigma-Aldrich, Almanya)'in 1, 5, 25, 50 ve 100 μ M'lık konsantrasyonları kullanıldı. Her bileşik için öncelikle en yüksek konsantrasyonlar (Rutin 1000 μ M, Naringin 1000 μ M ve 5-FU 100 μ M) Dimetil Sülfoksit (DMSO) içerisinde hazırlandı. DMSO'nun oluşturabileceği olası sitotoksik etkisini en aza indirmek için stok çözeltiler hazırlanırken uygulanan konsantrasyonlar 1 μ L çözücü hacmi olacak şekilde gerçekleştirildi. Bu sayede çözücünün muhtemel sitotoksik etkisi ortadan kaldırıldı (Chen ve Thibeault, 2013). En yüksek konsantrasyonlardan seyreltilerek en düşük konsantrasyona kadar dozlar hazırlandı. Hazırlanan dozlar vorteks kullanılarak kullanıma hazır hale getirildi.

3.4 Sitotoksite Analizi

Deneyde kullanılacak olan bileşiklerin hücreler üzerinde oluşturacağı muhtemel sitotoksik etkinin belirlenmesi için, bu amaçla oldukça yaygın kullanılan bir yöntem olan 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5 Difeniltetrazolyum bromür (MTT) analizleri ile gerçekleştirildi (Mosmann, 1983). MTT analizi, hücrelerin canlılık durumu, çoğalma kapasitesi ve sitotoksite seviyesini değerlendirmek için kullanılan güvenilir ve yaygın bir yöntemdir. Bu analiz, hücresel metabolik aktiviteyi ölçerek, metabolik olarak aktif hücrelerin sarı renkli tetrazolyum tuzu (MTT) molekülünü mor renkli formazan kristallerine dönüştürme yeteneğine dayanır. Bu dönüşüm, hücrelerde bulunan NAD(P)H'ye bağlı oksidoredüktaz enzimleri aracılığıyla gerçekleşir (Berridge ve Tan, 1993). Analiz sırasında oluşan formazan kristalleri, uygun bir çözündürme solüsyonu kullanılarak çözülür ve ardından spektrofotometre ile optik yoğunluk ölçümü yapılır. Böylece elde edilen veriler, hücrelerin canlılık düzeyini ölçme imkânı sunar.

3.4.1 MTT Solüsyonunun Hazırlanması

MTT solüsyonu 0,5 mg/ml konsantrasyonda (Katalog No: M2128; Sigma-Aldrich, Almanya) steril fosfat tamponu içerisinde 10 ml olacak şekilde hazırlandı. Hassas terazide 0.005 gr tartılan toz halindeki MTT solüsyonu üzerine 10 ml FBS eklendi. Vorteks

kullanılarak MTT'nin çözünmesi sağlandı. Falkon tüp içerisinde çözünen solüsyon %70'lik alkol ile dezenfekte edilip kabin içerisine alındı. Kabinde solüsyonun steril olması için filtreden geçirildi. Sonrasında 15 ml'lik falkon tüpe her tüpe 1 ml MTT solüsyonu üzerine 9 ml taze medyum eklenerek çalışmada kullanılmak üzere son hacmi 10 ml olan toplam 10 adet MTT solüsyonu elde edildi. Hazırlanan tüplerin içerisindeki MTT solüsyonları karanlık ortamda +4°C'de muhafaza edildi. Solüsyon deneyden önce hazırlandı ve taze kullanıldı.

3.4.2 Hücrelerin Ekimi

Flask tabanında konfluent hale gelmiş hücreler, tripsin-EDTA solüsyonu ile flask tabanından ayrıldı. Tripan mavisi ile boyanarak hücre sayımı gerçekleştirildi. Her bir bileşik için 24, 48 ve 72 saat olacak şekilde toplam 9 tane 96 kuyucuklu plakaya her bir kuyucuğa yaklaşık 10×10^3 hücre olacak şekilde ekimi gerçekleştirildi. Hücreler 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Bu işlem hem Caco-2 hem de HT-29 hücreleri için ayrı zamanlarda ve daha sonrasında yapılacak kombine uygulama için de aynı şekilde tekrarlandı.

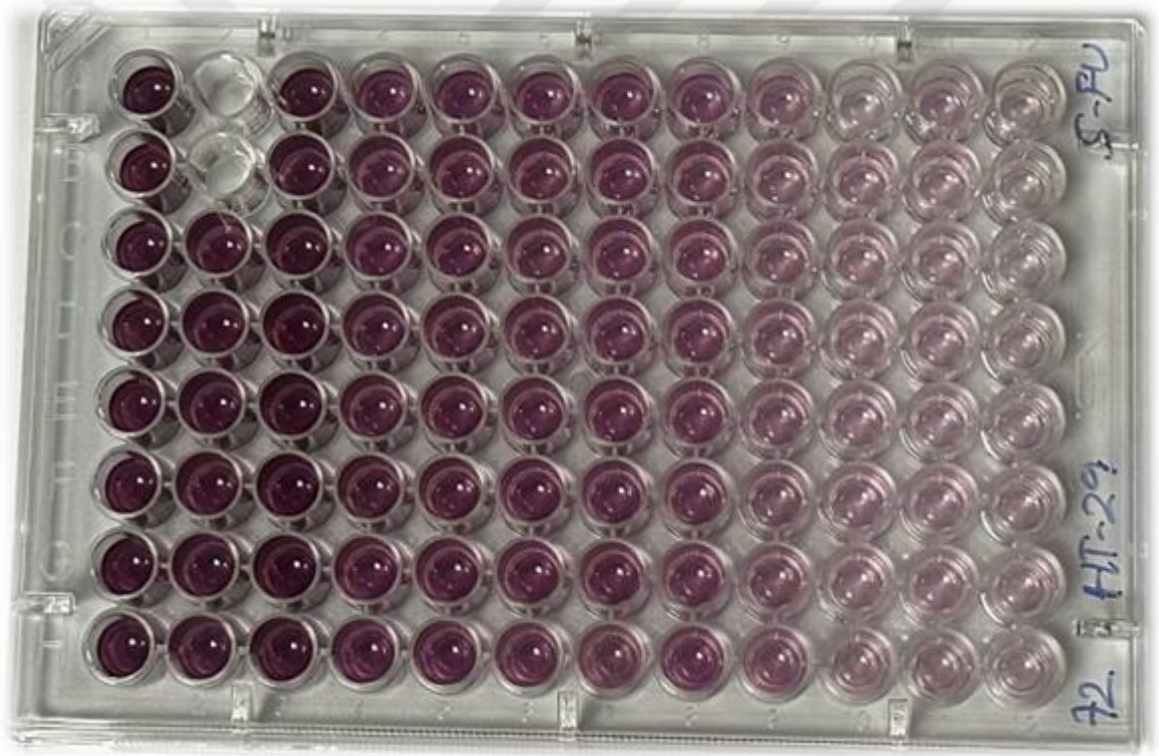
3.4.3 Bileşikler ile Hücrelerin Muamelesi

Çalışmada Rutin ve naringinin 100,200,300,400,500,600,700,800,900,1000 μM ayrıca 5-FU'nin 1, 5, 25, 50 ve 100 μM 'lık konsantrasyonları 96 kuyucuklu plakalara ekimi yapılan hücrelerin üzerine her bir kuyucuğa 1 μl olacak şekilde eklendi. Bileşikler ile muamelelerini gösteren 24, 48 ve 72 saat olarak plakalara etiketlemesi yapılan hücreler 37 °C sıcaklıkta %5 CO_2 'li inkübatörde muamele edildi. Muamele süreleri bittikten sonra hücre canlılığına olan etkilerinin ölçülmesi için MTT yöntemi kullanıldı.

3.5 MTT Analizi

Muamele süresi biten her plaka için bu işlemler sırasıyla uygulandı. Kullanılacak miktar kadar MTT solüsyonu önceden karanlık ortamda 37 °C sıcaklıkta ısıtıldı. MTT uygulaması için 96 kuyucuklu plakaların her bir kuyucuğundaki medyum uzaklaştırılarak her bir kuyucuğa 50 μL MTT solüsyonundan eklendi. MTT solüsyonu eklenen plakalar 3 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin ardından solüsyon kuyucuklardan uzaklaştırıldı ve çözünme işlemi için DMSO kullanıldı. 100 μL DMSO her bir kuyucuğa eklendi. Gerçekleştirilen her adımda plaka direkt ışıktan korundu. Kuyucuktaki hücrelerin optik

densisiteeri ELISA plaka okuyucuda (Thermo MultiskanGo, ABD) 570 nm dalga boyunda okundu (Mosmann, 1983). Kontrol kuyucukları (sadece medyum bulunan kuyucuklar) okutularak, elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı ve bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. Bileşik uygulaması yapılan kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri kontrol absorbans değerlerine göre oranlandı ve sonucunda yüzde canlılık değeri elde edildi. Bu uygulamaların sonuçları elde edildikten sonra canlılığı etkilemeyen en yüksek dozlar kullanılarak 24, 48 ve 72 saat olmak üzere kombine uygulamalar yapıldı ve aynı koşullarda inkübatörde muamele edildi. Kombine uygulamanın hücre canlılığına olan etkilerinin ölçülmesi için aynı işlemler tekrarlandı. MTT analizi sonrasında çekilen 96 kuyucuklu plaka görseli Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: MTT analizi sonrasında çekilen 96 plaka

3.6 Genotoksisite Analizi

Ökaryotik canlılarda DNA hasarını belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan tek hücre jel elektroforezi olarak da bilinen “Comet Assay”, temelinde agaroz jele gömülü hücrelerin lizis çözeltisi ile muamelesi sonucunda hücre zarlarını, sitoplazmayı ve nükleoplazmayı parçalar (Collins, 2004). Ardından alkali elektroforez solüsyonu ile muamele edilen hücreler DNA üzerindeki iç veya dış faktörler sonucu oluşabilecek kırılmaları elektroforez sırasında

akıma maruz kalan hücrelerin anoda doğru göç etmesiyle analiz edilir. Göç sırasında hücrelerin kuyruklu yıldız benzer bir görünüm oluşturmaları ile başa göre yoğunluk ölçümü DNA kırılmalarının düzeyinin ölçülmesini sağlar (Nandhakumar vd., 2011). Deneysel süreçte yapılan çalışmalar aşağıda detaylandırıldı.

3.6.1 Deneyde kullanılan malzeme ve solüsyonların hazırlanması

Comet analizlerinde kullanılan solüsyon, boya ve preparatların hazırlanma süreçleri aşağıda verilmiştir.

a) Mikroskop lamalarının normal melting agaroz (NMA) ile kaplanması

1,5 gr NMA (Katalog No: 2267.4; Carl Roth GmbH, Almanya) tartıldı ve bir beher içerisine alınıp üzerine 150 ml saf su eklendi. %1 konsantrasyonda hazırlanan NMA mikrodalga cihazında eritildi ve yeniden donmaması için ısı problu bir manyetik karıştırıcı üzerinde 85 °C sıcaklıkta işlemlere devam edildi. Mikroskop lamaları NMA içerisine 3-5 saniye süreyle daldırıldı ve lamaların alt tarafında NMA kalmaması için bir peçete yardımıyla silindi. Kaplanan lamalar düz bir zeminde karanlık bir ortamda kurutuldu. Kuruyan lamalar 4 °C’de kullanıma hazır halde bekletildi.

b) Low melting agaroz (LMA) çözeltisinin hazırlanması

%1’lik LMA (Katalog No: BP165-25; Fisher BioReagents, Belçika) PBS içerisinde eritildi. 1ml’lik ependorf tüplere paylaştırıldı ve kullanılıncaya kadar 4 °C’de saklandı. 4 °C’de donan LMA çalışma yapılmadan önce blok ısıtıcıya alındı ve 65 °C’de eritildi. Blok ısıtıcı üzerinde eriyen LMA çözeltisi 35 °C’de kullanıldı.

c) Lizis çözeltisinin hazırlanması

Tablo 3.3’de verilen miktarlara göre tartılan bileşikler tek tek eklenerek mezür içerisinde 80 ml saf su ile çözüldü. pH:10’a ayarlandıktan sonra 1 ml Triton-X ilave edildi ve toplam hacim 100 ml’ye tamamlandı.

Tablo 3.3: Lizis çözeltisi için miktar tablosu

Çözelti	Miktar (g)
NaCl	14,61
EDTA	3,72
Tris-Base	0,121

d) Alkali elektroforez solüsyonunun hazırlanması

Tablo 3.4’te verilen miktarlara göre tartımı yapılan bileşiklerden NaOH 500 ml dH₂O’da EDTA 200 ml dH₂O’da çözüldü. Hazırlanan her iki çözelti de oda sıcaklığında yaklaşık 2 hafta saklanabilir. Her elektroforez çalışmasından önce taze yapılan 1X tampon için 30 mL NaOH ve 5 mL EDTA alınır. Toplam hacim 1000 mL olacak şekilde dH₂O eklenir.

Tablo 3.4: Alkali elektroforez solüsyonu için miktar tablosu

Çözelti	Miktar (g)
NaOH	200
EDTA	14,89

e) Nötralizasyon solüsyonunun hazırlanması

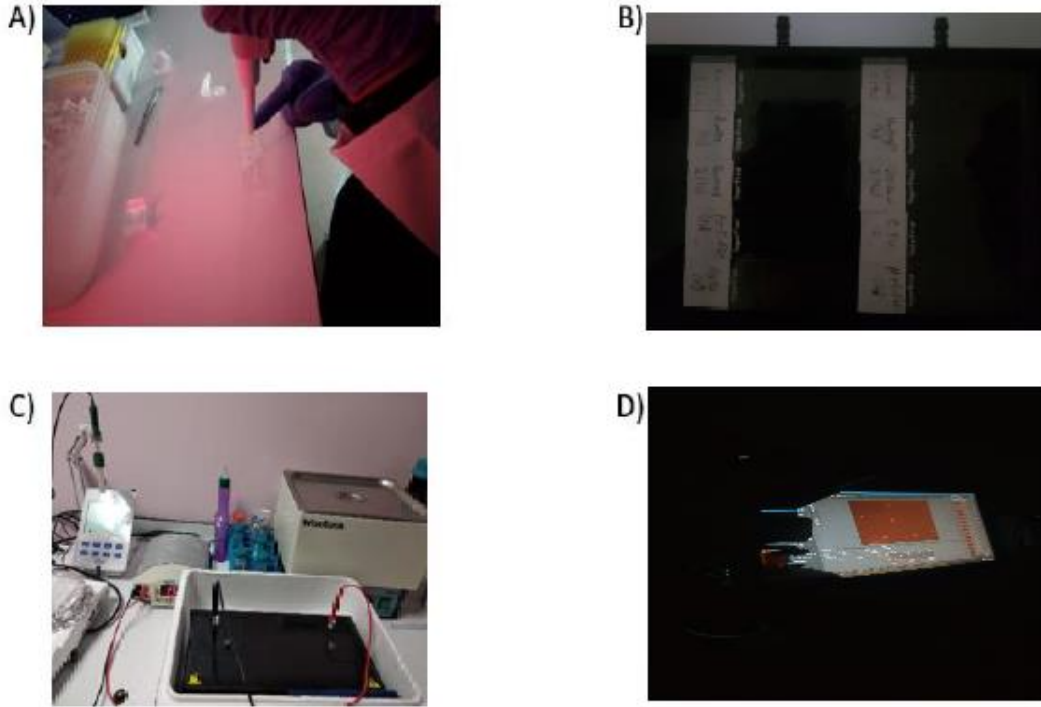
Tris-Base bileşiğinden 48,5 gram tartıldı. 600 ml saf su ile çözdürüldü. pH:7.5’e ayarlandı ve son hacim saf su ile 1000 ml’ye tamamlandı.

f) Etidyum bromür solüsyonunun hazırlanması (10X)

Etidyum bromür bileşiğinden 10 mg tartılır ardından 50 ml saf suda çözdürülür. Çalışma yapılacağına hazırlanan stok solüsyondan 1 ml alınır ve üzerine 9 ml saf su eklenir. Böylece 1X etidyum bromür solüsyonu hazırlanır.

3.7 Comet Analizlerinin Yapılması

6 kuyucuklu plakalara (Katalog No: 92006; TPP, İsviçre) Caco-2 hücrelerinin ekimi gerçekleştirildi. MTT analizi sonuçlarına göre seçilen bileşik dozları ile hücrelerin 24 saatlik muamelesinin bitmesinin ardından kuyucuklardaki medyum uzaklaştırıldı ve iki kez 37 °C sıcaklıktaki PBS ile kuyucuklar yıkandı. Ardından 1 ml soğuk PBS eklenen kuyucuklardaki hücreler kazıyıcı ile santrifüj tüpleri içerisine alındı. 1500 rpm 5 dakika santrifüj edilen hücrelerin üzerindeki atık medyum uzaklaştırıldı. PBS ile hücreler çözdürüldü ve yaklaşık 20 µl hücreden alınıp üzerine 80 µl %1'lik LMA eklendi. Bu karışım NMA ile kaplı lamaların üzerine iki tarafına 45 µl-45 µl eklenerek üzerleri lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar 4 °C'de 15 dakika bekletildi ve bu sayede LMA'nın donması sağlandı. Sürenin bitmesiyle lameller dikkatlice lamlardan sıyrıldı ve lamalar sırt sırta verilerek dikey bir şale içerisine yerleştirildi. Hazırlanan soğuk lizis solüsyonu şale içerisine eklendi ve 4 °C'de 1 saat lizis işlemi gerçekleştirildi. Ardından lamalar yatay elektroforez tankına (Cleaver Scientific, İngiltere) her biri aynı yönde olacak şekilde yerleştirildi. Lamaların üzerine gelecek şekilde soğuk alkali elektroforez solüsyonu tanka eklendi ve 4°C'de yarım saat bekletildi. Sürenin bitmesiyle güç kaynağı bağlanarak 25 volt en fazla 300 mA 30 dakika elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında lamalar şaleye alındı ve nötralizasyon tamponu ile 3 kez 5 dakika yıkama işlemi gerçekleştirildi. Lamaların kuruması ile her biri 20 dakika etidyum bromür ile boyandı. Boyama işlemi bittiğinde preparatlardaki arka planın netliğini arttırmak ve fazla boyayı uzaklaştırmak amacıyla soğuk su içerisine batırılıp çıkarılarak kısa bir yıkama işlemi gerçekleştirildi. Lamalar kurumaya bırakıldı. Hücre DNA'sında meydana gelen hasar floresan mikroskop (Zeiss Axioscope A1, Almanya) altında incelendi. Yapılan çalışmanın basamakları Şekil 3.2'de gösterilmiştir. TriTek Comet Score programı kullanılarak skorlama işlemi gerçekleştirildi. Her lamda bulunan alanlardan rastgele en az 50 hücre sayıldı, sayılan hücrelerdeki Tail DNA (%) parametreleri belirlendi. Belirlenen parametrede meydana gelen değişimler DNA hasarının varlığını ve istatistiksel analiz ile DNA hasarının oranını ortaya çıkarılmasını sağladı. Çalışmadaki bütün adımlar karanlık ortamda gerçekleştirildi. HT-29 hücreleri için de aynı adımlar gerçekleştirildi.



Şekil 3.2: Comet analiz basamakları (A: Hücre+LMA süspansiyonlarının NMA kaplı lamlara aktarılması B: Lamların elektroforez tankına alkali elektroforez solüsyonu içerisinde yerleştirildi C: Elektroforez aşaması D: Comet görüntülenme aşaması)

3.8 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler GrapPad Prism 8 programı kullanılarak yapıldı. Nicel veriler ortalama±standart hata, nitel veriler ise sayı (yüzde) ile özetlendi. İncelenen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmalarında tek yönlü varyans analizinin ile yapılabilmesi için, normal dağılıma uygunluk ve varyansların homojenlik kontrolü yapıldı. Bu varsayımların sağlandığı durumlarda, ilgili değişkenler için grup ortalamaları arası farklılık, tek yönlü varyans analizi (One-Way Anova) ve çoklu karşılaştırmalar ise Benferroni testleri ile gerçekleştirildi. Normallik varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda ise Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda ise Dunn testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalar da bağımsız örneklem t testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

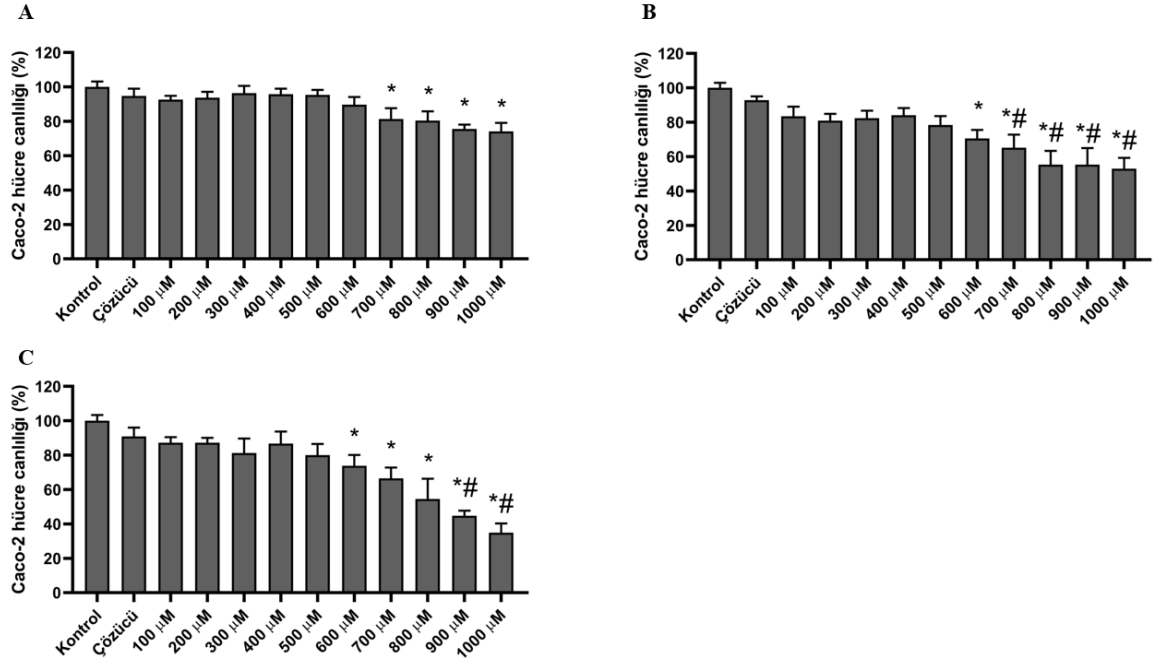
Bileşiklerin 24, 48 ve 72 saat uygulamaları sonrasında hücre canlılık düzeyleri ve DNA hasarına etkileri yapılan analizlerle belirlendi. Elde edilen sonuçlar her bir analizi ve hücre serisi için aşağıda detaylandırılarak sunuldu.

4.1 MTT Analiz Sonuçları

Rutin, naringin ve 5-FU uygulamalarından sonra hücre canlılık düzeyleri yapılan MTT analizleri sonrasında belirlendi. Sonuçlar kontrol grubuna göre % canlılık değişimi olarak hesaplandı ve sonuçlar yapılan istatistiksel analiz sonrası bar grafikler hazırlanarak sunuldu.

4.1.1 Rutin Bileşiğinin Caco-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

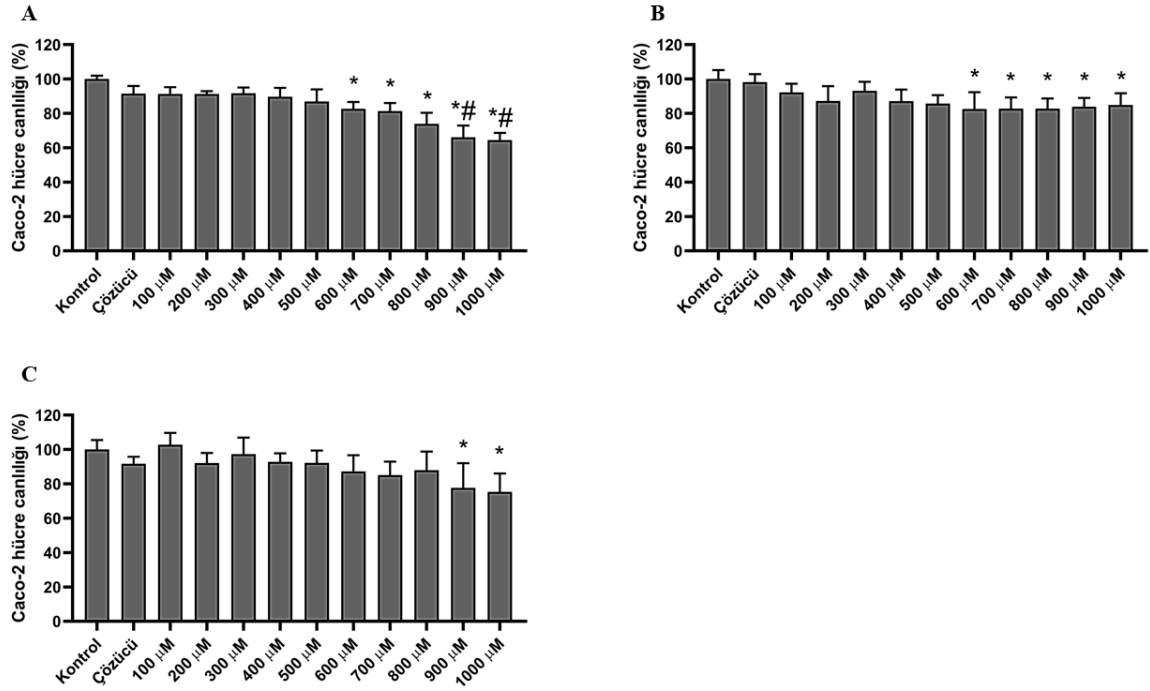
Rutin bileşiğinin Caco-2 kolon kanseri hücrelerine uygulanmasından sonra belirlenen canlılık değişimleri Şekil 4.1’de gösterildi. Rutin bileşiğinin 24, 48 ve 72 saatlik uygulamalarında 24 saatte kontrole kıyasla 700 μ M ve üstü dozlarında anlamlı bir azalma, 48 saatlik uygulamalarında kontrol ve çözücüye kıyasla 700 μ M ve üstünde anlamlı bir azalma, 72 saatlik uygulama sonucunda kontrole göre 600 μ M ve üstünde çözücüye göre ise 900 μ M ve üstünde hücre canlılığında önemli düzeyde bir azalma görülmüştür.



Şekil 4.1: Rutin uygulamasından sonra Caco-2 hücrelerinde oluşan canlılık düzeyi değişimi (%) (A: 24 saat sonra; B: 48 saat sonra; C: 72 saat sonra hücre canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. *p<0.05 kontrol grubuna kıyasla; #p<0.05 çözücüye kıyasla)

4.1.2 Naringin Bileşiğinin Caco-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

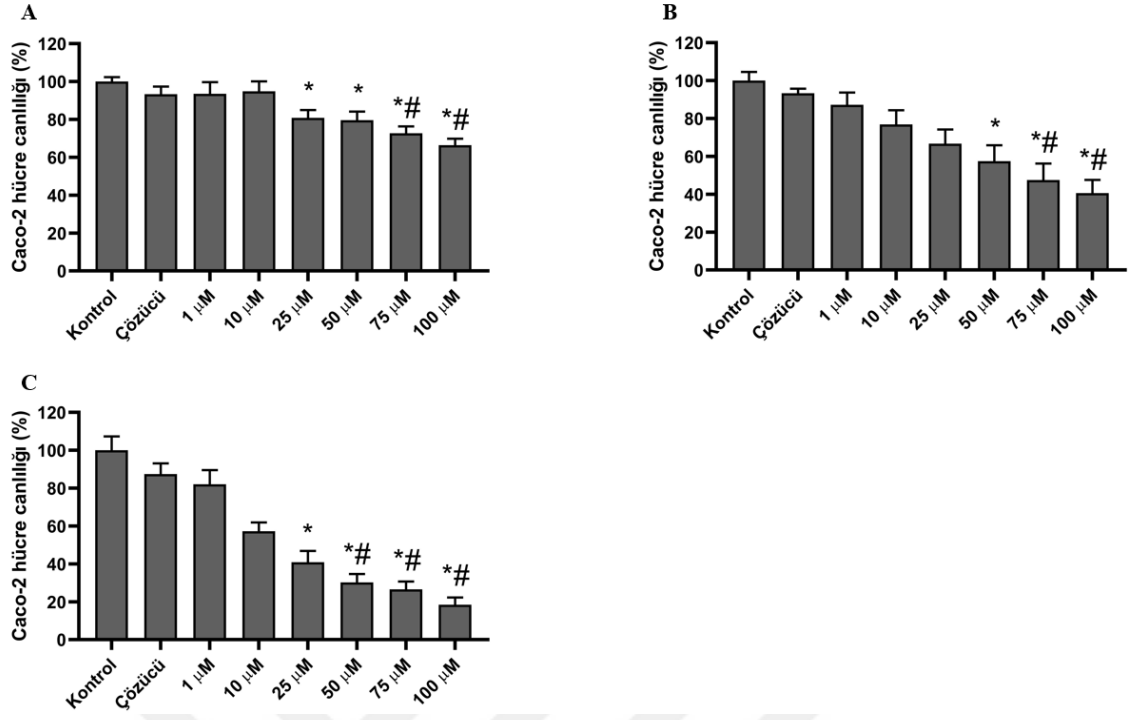
Naringin bileşiğinin Caco-2 kolon kanseri hücrelerine uygulanmasından sonra belirlenen canlılık değişimleri Şekil 4.2’de gösterildi. Naringin bileşiğinin 24 saatlik uygulamasında 600 µM ve üstü dozlarında kontrole göre anlamlı bir azalma, 900 µM ve 1000 µM’lık dozlarında ek olarak çözücüye göre anlamlı bir azalma görüldü. 48 saatlik naringin uygulamasında 600 µM ve üstü dozlarda kontrole göre anlamlı bir azalma görüldü. 72 saatlik uygulamada ise yalnızca 900 ve 1000 µM dozlarında kontrole göre anlamlı bir azalma görüldü.



Şekil 4.2: Naringin bileşiğinin uygulanmasından sonra Caco-2 hücrelerinde oluşan canlılık düzeyi değişimi (%) (A: 24 saat sonra; B: 48 saat sonra; C: 72 saat sonra hücre canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. *p<0.05 kontrol grubuna kıyasla; #p<0.05 çözücüye kıyasla)

4.1.3 5- Fluorourasil Bileşiğinin Caco-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

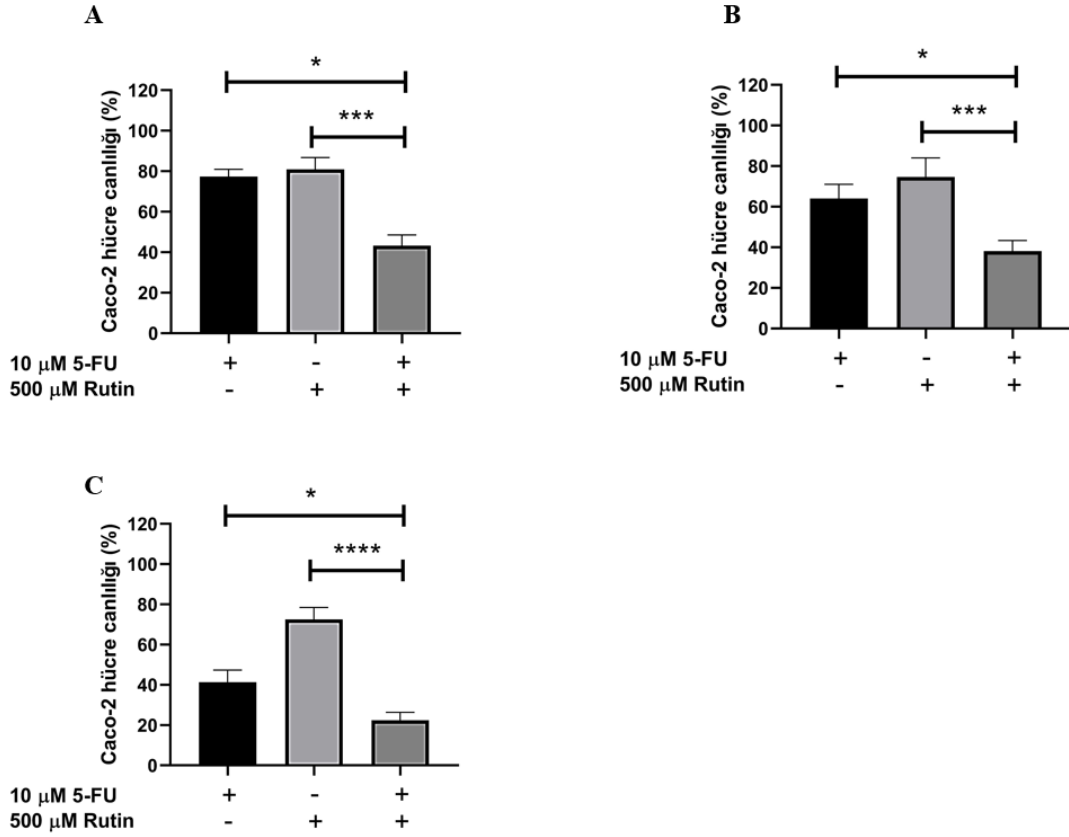
Caco-2 hücrelerine 5-FU uygulamasından sonra belirlenen hücrelerdeki canlılık düzeyleri Şekil 4.3'te gösterilmiştir. 5-FU'nun 24 ve 72 saatlik uygulamasının sonucunda 25 µM ve üstü dozlarında hücre canlılığında kontrole göre anlamlı bir azalma görüldü. 48 saatlik uygulamada hücre canlılığındaki bu azalma 50 µM ve üstü dozlarda görüldü. 24 ve 48 saatlik uygulamada kontrole göre azalmaya ek olarak 75 µM ve üstü dozlarında çözücüye göre de anlamlı bir düşüş gözlemlendi. 72 saatlik uygulamada ise bu durum 50 µM ve üstü dozlarda etki etti.



Şekil 4.3: 5-FU uygulamasının ardından Caco-2 hücrelerinde meydana gelen canlılık düzeylerinin değişimi (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra hücrelerdeki canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. *p<0.05 kontrol grubuna kıyasla; #p<0.05 çözücüye kıyasla)

4.1.4 Rutin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının Caco-2 Hücre Canlılığına Etkisi

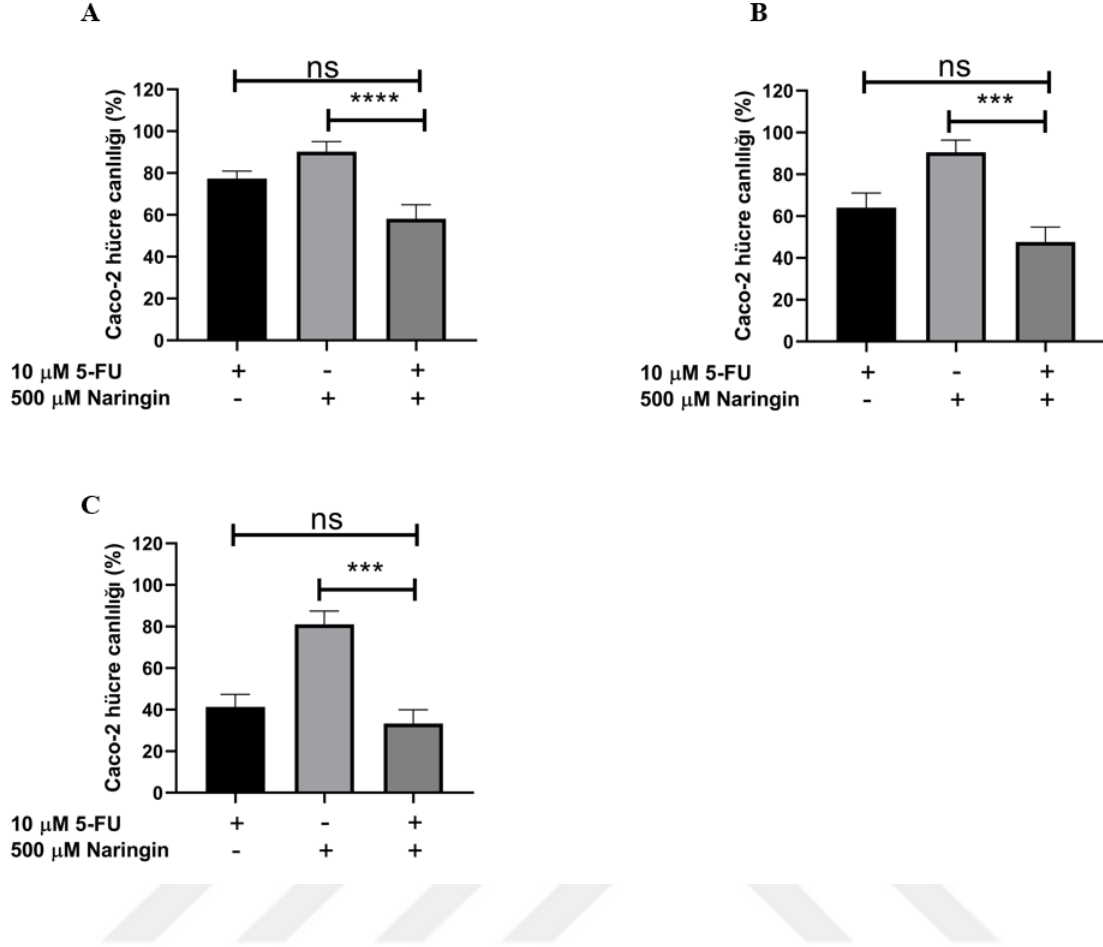
Her iki bileşiğin canlılığı etkilemeyen en yüksek dozları kullanılarak yapılan kombine çalışmasının hücre canlılık düzeyindeki değişimleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Grafikler incelendiğinde her saatte bileşiklerin kombine kullanımının tekli kullanımlarına göre daha etkili olduğu görüldü. Özellikle 24 saatlik kullanımda rutin ve 5-FU bileşiklerinin hücre canlılığını azaltmasında büyük bir fark gözlemlenmezken, kombine kullanımda hücre canlılığı yarı yarıya azaldı. Bu grafikler rutin ve 5-FU bileşiklerinin sinerjik etkisini gösterdi.



Şekil 4.4: Rutin ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine uygulamalarının Caco-2 hücreleri üzerinde gösterdiği canlılık grafikleri (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra Caco-2 hücrelerinde oluşan canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. *p<0.05, ***p<0.001, ****p<0.0001)

4.1.5 Naringin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının Caco-2 Hücre Canlılığına Etkisi

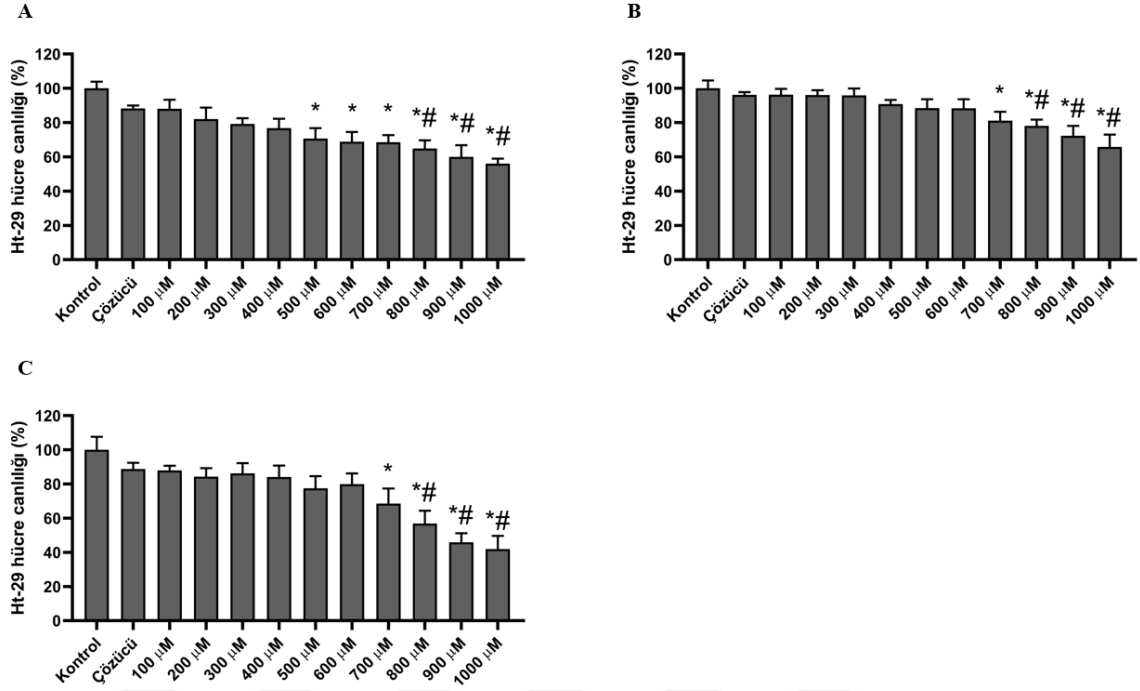
Her iki bileşik için de canlılığı etkilemeyen en yüksek dozları kullanılarak yapılan kombine çalışmasının Caco-2 hücreleri üzerindeki canlılık değişimleri Şekil 4.5’de verilmiştir. Grafikler incelendiğinde her saat için 5-FU bileşiğinin tek başına kullanımı kombine kullanımına göre anlamlı bir sonuç vermezken, naringin bileşiğinin tek başına kullanımı ve kombine kullanım arasında hücre canlılığında önemli miktarda azalma görüldü.



Şekil 4.5: Naringin ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine uygulamalarının Caco-2 hücreleri üzerinde gösterdiği canlılık değişimi grafikleri (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra Caco-2 hücrelerindeki canlılık değişimleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. ns: Anlam görülmedi, ***p<0.001, ****p<0.0001)

4.1.6 Rutin Bileşiğinin HT-29 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

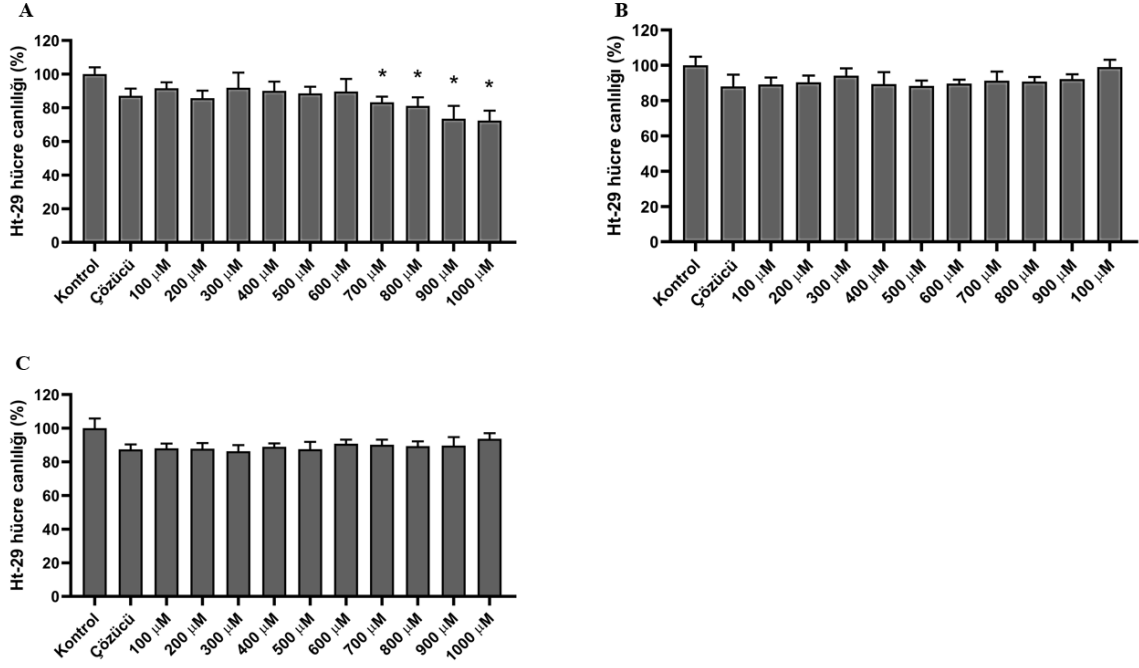
HT-29 hücrelerinde rutin bileşiğinin oluşturduğu canlılık değişimleri Şekil 4.6'da verildi. 24 saatlik bileşik uygulamasında 500 μ M ve üstü dozlarda, 48 ve 72 saatlik uygulamada 700 μ M ve üstü dozlarda kontrole göre anlamlı bir azalma görüldü. Çözücüye göre anlam her saat için 800 μ M ve üstü dozlarda görüldü. 72 saatlik rutin uygulamasının yüksek dozlarda hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı görüldü.



Şekil 4.6: Rutin uygulamasının ardından HT-29 kolon kanseri hücrelerinde meydana gelen canlılık düzeyindeki değişimler (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra hücre canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla; # $p < 0.05$ çözücüye kıyasla)

4.1.7 Naringin Bileşiğinin HT-29 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

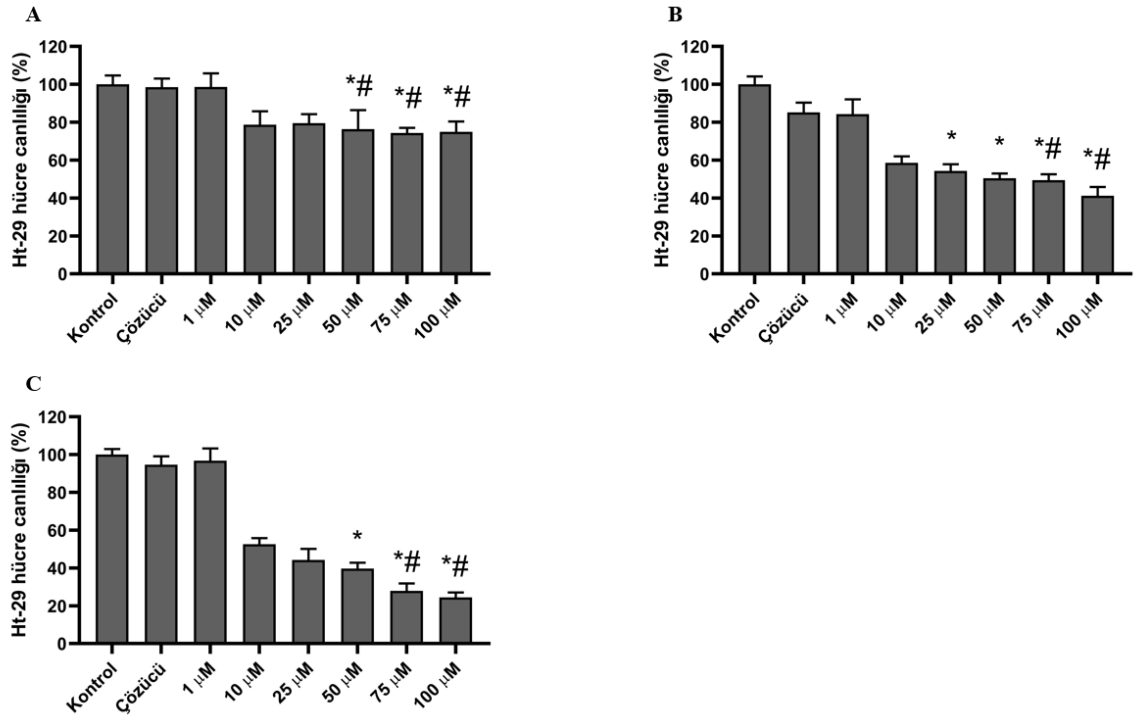
Naringin uygulamasından 24, 48 ve 72 saat uygulamalarının ardından HT-29 hücrelerinde meydana gelen canlılık değişimleri Şekil 4.7’de verilmiştir. Naringin bileşiği yalnızca 24 saatlik uygulamasında 700 μ M ve üstü dozlarda kontrole göre anlamlı bir azalma gösterdi. 48 ve 72 saatlik uygulamalarda ise herhangi bir anlama rastlanmadı.



Şekil 4.7: Naringin uygulamasından sonra HT-29 hücreleri üzerinde meydana gelen canlılık değişimleri (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra hücre canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. *p<0.05 kontrol grubuna kıyasla)

4.1.8 5- Fluorourasil Bileşiğinin HT-29 Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

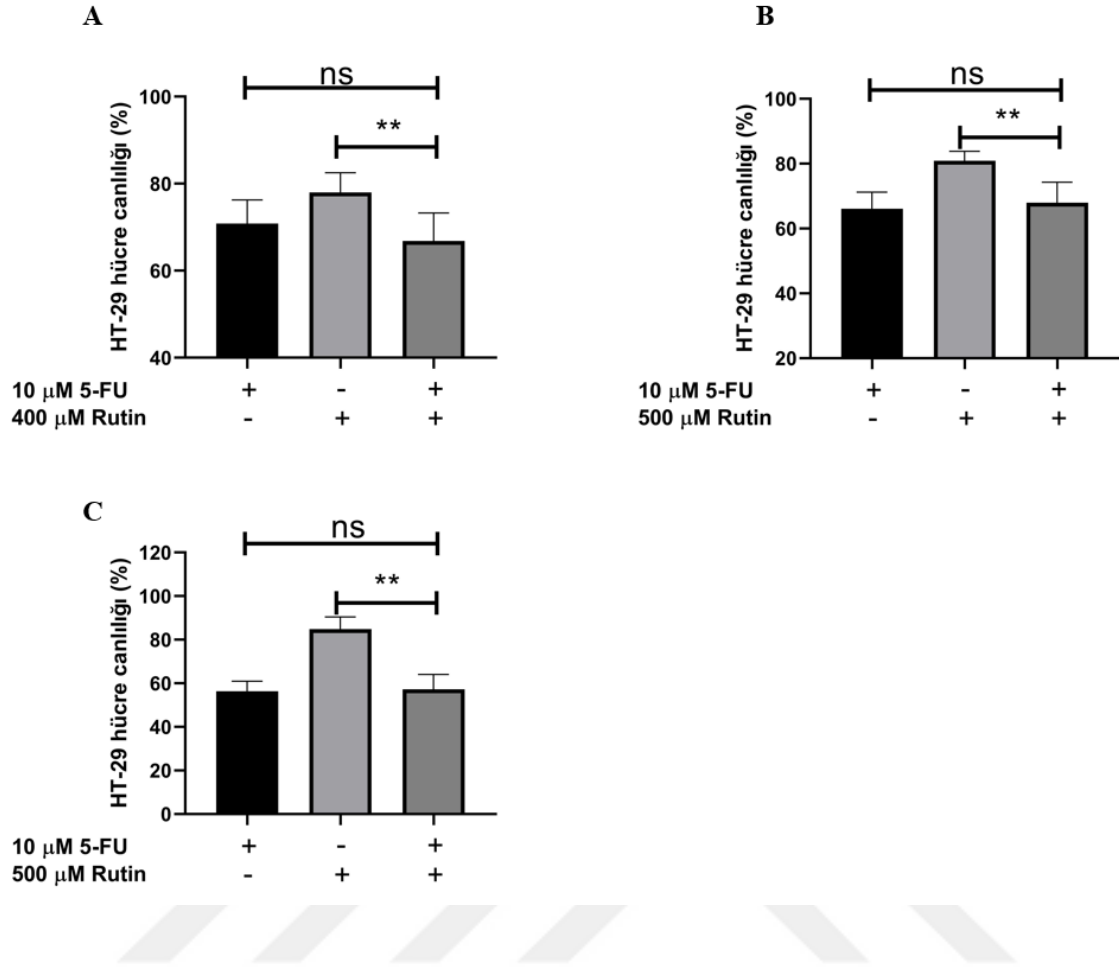
5-FU uygulamasının 24, 48 ve 72 saat sonrasında HT-29 hücre canlılığı düzeyi değişimi Şekil 4.8’de gösterildi (%). Her zaman diliminde 50 µM ve üstü dozlarda kontrole göre anlamlı bir düşüş gözlemlendi. İstatistiksel olarak 48 saatte 25 µM dozunda anlamlı bir azalma bulunmasıyla beraber 72 saatlik 25 µM dozunda hücre canlılığı yarıdan fazla düşmesine rağmen anlam görülmedi. Çözücüye göre anlam ise 48 ve 72 saatlik uygulamalarda 75 µM ve 100 µM dozlarında, 24 saatlik uygulamada ise bu dozlara ek olarak 50 µM’lık dozda da anlam görüldü.



Şekil 4.8: 5-FU uygulamasının ardından HT-29 hücrelerinde meydana gelen hücre canlılık düzeyi değişimleri (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra meydana gelen hücre canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla; # $p < 0.05$ çözücüye kıyasla)

4.1.9 Rutin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının HT-29 Hücre Canlılığına Etkisi

Her iki bileşiğin zamana göre canlılığı etkilemeyen en yüksek dozları kullanılarak yapılan kombine çalışmanın HT-29 hücreleri üzerindeki etkisi Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Grafikler incelendiğinde bileşiklerin kombine kullanımının hücre canlılığını 5-FU’ya göre anlamlı bir şekilde azaltmadığını fakat yalnızca rutin bileşiğinin kullanımı ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında anlamlı bir düşüş görülmüştür.

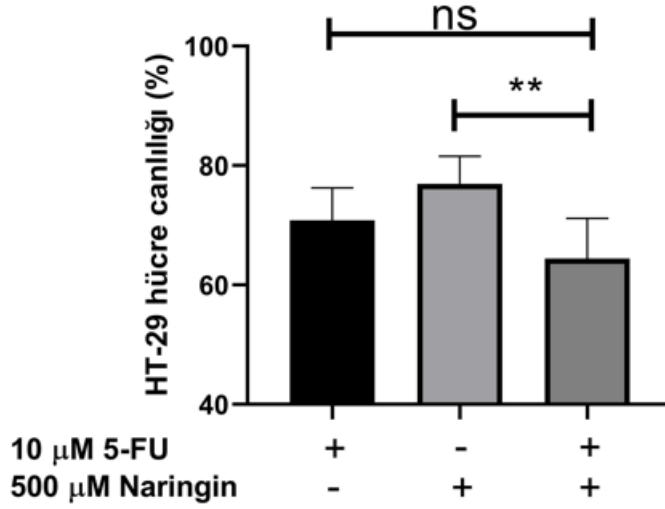


Şekil 4.9: Rutin ve 5-FU bileşiklerinin HT-29 hücreleri üzerinde tek başına ve kombine kullanımının hücre canlılığı üzerine etkisi (%) (A: 24 saat sonra, B: 48 saat sonra, C: 72 saat sonra hücre canlılık düzeyleri. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. ns: Anlam görülmedi, **p<0.01)

4.1.10 Naringin ve 5- Fluorourasil Bileşiklerinin Kombine Kullanımının HT-29 Hücre Canlılığına Etkisi

Naringin bileşiği tek başına HT-29 hücreleri üzerinde kullanıldığında yalnızca 24 saatlik muamelede anlamlı sonuç verdi. Bu sonuç doğrultusunda yapılan çalışmada 5-FU ile kombine kullanımının hücre canlılığı üzerine etkisi Şekil 4.10'da verilmiştir.

A



Şekil 4.10: Naringin ve 5-FU bileşiklerinin kombine ve tekli uygulamalarının 24 saat sonra HT-29 hücre canlılığına etkisi (%) (Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. ns: Anlam görülmedi, **p<0.01)

MTT analizlerinden elde edilen sonuçlar incelendiğinde, Caco-2 hücrelerinde her iki bileşik için 5-FU ile kombine kullanımlarında hücre canlılığında zamana bağlı bir azalma görülmektedir. HT-29 hücrelerinde ise bu durum her iki bileşik için 5-FU ile kombine kullanımlarında yalnızca 24 saatlik kombine kullanımında hücre canlılığında azalma göstermiştir. Bu sonuçlar dikkate alınarak yapılan Comet çalışması 24 saat süreyle yapılmıştır.

4.2 Comet Analiz Sonuçları

Caco-2 ve HT-29 hücre serileri üzerine yapılan çalışma sonuçları incelenerek etkin zaman 24 saat olarak belirlendi. Rutin, naringin ve 5-FU bileşiklerinin etkin doz seviyeleri de belirlendikten sonra tek hücre jel elektroforezi yöntemi kullanılarak DNA hasarına etkileri ölçüldü. Bu ölçüm yapılırken Tail DNA (%) parametresi DNA'daki hasarı belirlemek için kullanıldı. Bu tez çalışması kapsamında yapılan Comet analizi sonuçları aşağıda sunuldu.

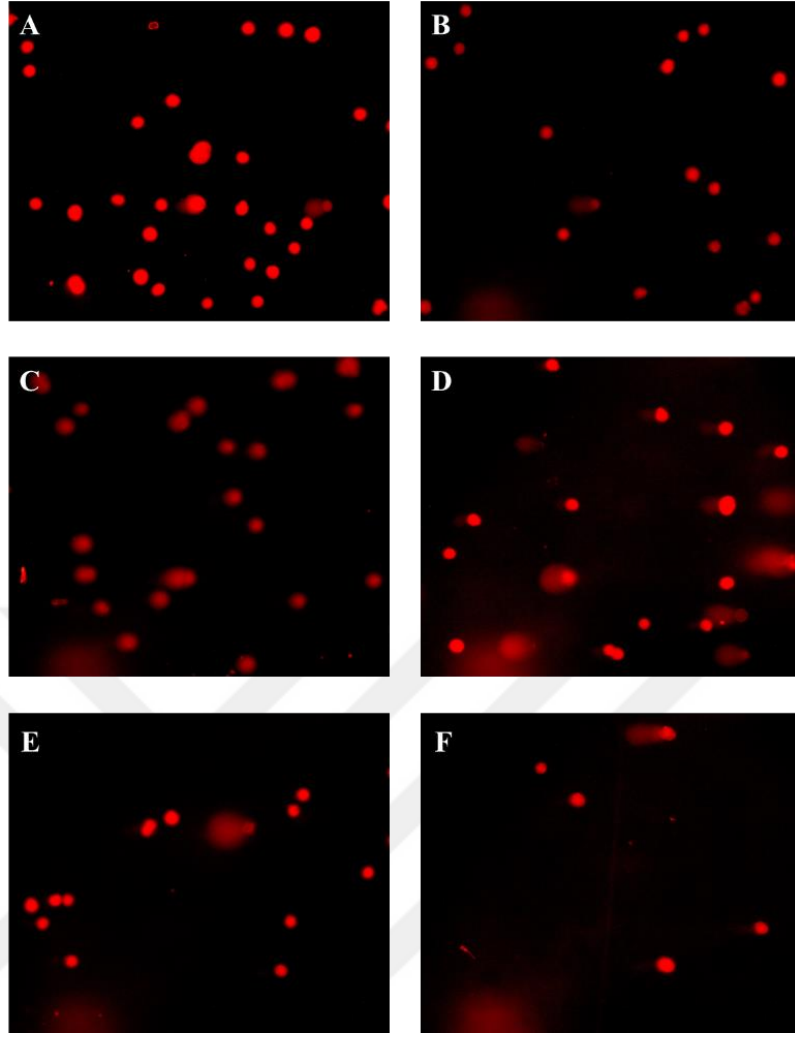
4.2.1 Caco-2 Comet Analiz Sonuçları

Caco-2 hücrelerine 24 saat uygulanan rutin, naringin, 5-FU ve kombine kullanımlarının DNA hasarına etkileri Tablo 4.1’de, analize ait örnek görseller Şekil 4.11’de gösterildi. Uygulama sonrasında kontrol grubuna kıyasla referans ilacın DNA’ya anlamlı bir hasar verdiği görülmektedir. Rutin bileşiği kontrol grubuna kıyasla DNA’ya daha az hasar verdi fakat bu hasarın istatistiksel olarak anlamlı görülmesi 5-FU’ya kıyaslandığında gerçekleşti. Kombine kullanımında da rutin 5-FU’nun genotoksik etkisini azalttı. Bu sonuçlar rutin DNA’yı koruyarak hücre ölümüne sebebiyet verdiğini göstermektedir. Naringin bileşiğinde ise bu durum tam tersi etki göstermiştir. Kontrol grubuna kıyasla hem naringin hem de kombine kullanımda DNA hasarı anlamlı derecede artmıştır.

Tablo 4.1: Caco-2 hücre hattı comet analizi sonuçları.

Caco-2 24 saat	Çözücü	5-FU (10 µM)	Rutin (500 µM)	5-FU+Rutin (10 µM + 500 µM)	Naringin (500 µM)	5-FU+Naringin (10 µM + 500 µM)
Tail DNA (%)	4.33(2. 85- 7.74)	6.62(3.56- 27.58)*	3.61(2.36- 5.55)#	4.13(2.83- 12.38)#	14.88(6.01- 25.32)*	12.99(3.73- 23.10)*

Sonuçlar Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. İkili karşılaştırmalar için Dunn testi kullanıldı. Değerler ortanca (%25-%75) olarak verildi. * $p<0.05$ çözücüye kıyasla, # $p<0.05$ 5-FU grubuna göre



Şekil 4.11: Caco-2 hücrelerinin rutin, naringin, 5-FU ve kombine uygulamasından 24 saat sonraki DNA hasar düzeyleri (A: Kontrol hücreler, B: Rutin uygulaması, C: Naringin uygulaması, D: 5-FU uygulaması, E: Rutin+5-FU kombine uygulaması, F: Naringin+5-FU uygulaması sonrası. X100)

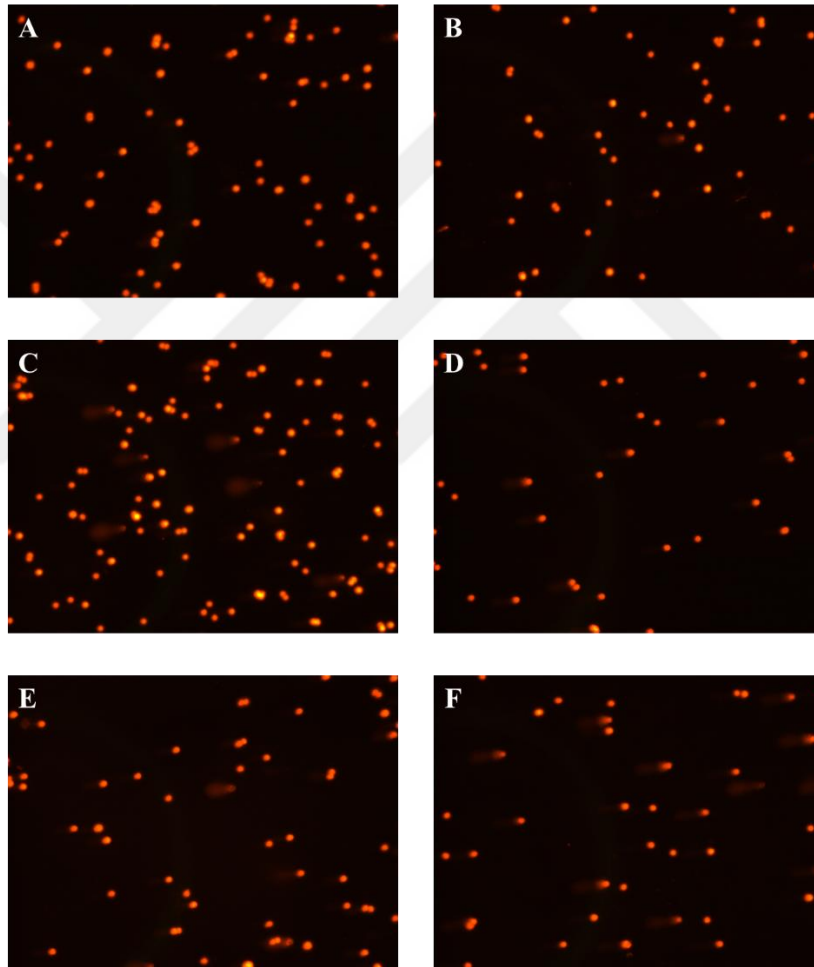
4.2.2 HT-29 24 saatlik Analiz Sonuçları

Ht-29 hücrelerine 24 saat uygulanan rutin, naringin, 5-FU ve kombine uygulamalarının DNA hasarına etkileri Tablo 4.2’de, analize ait örnek görseller Şekil 4.12’de verilmiştir. Uygulama sonrasında kontrol grubuna kıyasla rutin ve naringin anlamlı bir artış göstermedi. Referans ilaç olan 5-FU, kontrol grubuna kıyasla DNA hasarını oldukça arttırdı. 5-FU’nun rutin ve naringinle kombine kullanımları incelendiğinde rutinin DNA’daki hasarı az da olsa azalttığını fakat bu etkinin kontrol grubuna göre yetersiz kaldığını ve yine de anlamlı bir artış gösterdiğini, naringin ile kombine kullanımdaysa bu etkinin tam zıttı görüldü hatta tüm gruplara kıyasla DNA hasarının anlamlı şekilde arttığı görülmektedir.

Tablo 4.2: HT-29 hücre hattı comet analiz sonuçları

HT-29 24 saat	Çözücü	5-FU (10 μ M)	Rutin (500 μ M)	5-FU+Rutin (10 μ M + 500 μ M)	Naringin (500 μ M)	5-FU+Naringin (10 μ M + 500 μ M)
Tail DNA (%)	5.07(3.13- 8.92)	16.56(5.02- 22.48)*	4.73(3.22- 8.91)#	12.9(4.72- 21.72)*¥	4.32(2.88- 6.58)#	22.58(13.19- 34.65)*#¥κ

Sonuçlar Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. İkili karşılaştırmalar için Dunn testi kullanıldı. Değerler ortanca (%25-%75) olarak verildi. * $p < 0.05$ çözücüye kıyasla, # $p < 0.05$ 5-FU grubuna göre, ¥ $p < 0.05$ rutin grubuna kıyasla, κ $p < 0.05$ naringine kıyasla



Şekil 4.12: HT-29 hücrelerinin rutin, naringin, 5-FU ve kombine uygulamasından 24 saat sonraki DNA hasar düzeyleri (A: Kontrol hücreler, B: Rutin uygulaması, C: Naringin uygulaması, D: 5-FU uygulaması, E: Rutin+5-FU kombine uygulaması, F: Naringin+5-FU uygulaması sonrası. X100)

5. TARTIŞMA

Flavonoidler, bir dizi sağlık teşvik edici özelliğe sahip ve hem önleyici hem de terapötik etkilere sahip bir grup ikincil metabolittir. Bitkilerde oldukça sık rastlanan flavonoidler çeşitli meyve sebzelerde ve diğer bitkisel bazlı gıdalarda bulunur. Flavonoidler, yapraklar, çiçekler, meyveler, tohumlar, gövdeler ve kökler dahil bitkilerde bol miktarda bulunur. Birçok flavonoid çiçeklerin ve meyvelerin canlı renklerine katkıda bulunur. Flavonoid bileşikler, heterosiklik halkanın oksidasyon durumuna ve benzen halkası üzerindeki hidroksil veya metil gruplarının sayısına bağlı olarak glikozilasyon, asilasyon ve moleküler polimerizasyon gibi çok sayıda modifikasyona uğrar (Chen vd., 2023). Bu modifikasyonlar, orijinal flavonoid bileşiklerinin kimyasal özelliklerini ve biyolojik aktivitelerini önemli ölçüde değiştirerek, beslenme, ilaç ve kozmetik dahil olmak üzere çeşitli uygulamalarda kullanılan çok çeşitli türevlere yol açar (Zhuang vd., 2023). Altı alt sınıfı bulunan flavonoidler kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle potansiyel sağlık etkilerine katkıda bulunur.

Kanser araştırmalarında da oldukça sık kullanılan flavonoidler, tedavide ve kanserin önlenmesinde çok yönlü bir yaklaşım sunarak farklı mekanizmalar yoluyla hastalıkta oluşan semptomları hafifletmiştir. Hücre büyümesi ve bölünmesinde rol oynayan çeşitli sinyal yollarına müdahale ederek kanser hücrelerinin temel bir özelliği olan hücre çoğalmasını inhibe ettikleri gösterilmiştir. Flavonoidler ayrıca, tipik olarak G2 / M veya G1 / S kontrol noktalarında hücre döngüsü durmasına neden olarak kanser hücrelerinin replikasyon döngülerini tamamlamasını önleyebilir. Ayrıca, bu bileşikler, kanser hücrelerinde sıklıkla düzensiz olan programlanmış hücre ölüm yolu olan apoptozun güçlü indükleyicileridir (Kopustinskiene vd., 2020; Pei vd., 2020). Flavonoidlerin kanserli hücrelerdeki olumlu etkilerinin yanı sıra kanser hücreleri üzerine yapılan araştırmalarda flavonoid alımı ile kanser riski arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığı bulunmuştur (Sergiel, 2024).

Çalışmada rutin ve naringin uygulamasının HT-29 ve Caco-2 hücrelerinde hücre canlılık düzeyi üzerine etkileri belirlendi. Flavonoidlerin, 5-FU'nun ve kombine uygulamaları sonrasında MTT analizleri yapıldı ve kanserli hücrelerdeki canlılık düzeyine etkileri ortaya konuldu. Sonrasında hücre ölümünün nasıl gerçekleştiğini açıklayabilmek için genotoksisite analizi yapıldı. Genotoksisite testlerinden Comet yöntemi kullanıldı ve rutin, naringin, 5-FU ve kombine kullanımlarının DNA hasarı ölçüldü.

Sonuçlarımız rutin bileşiğinin Caco-2 kolon kanseri hücreleri üzerinde zamana ve doza bağımlı sitotoksik etkisini göstermiştir. Aynı hücre hattı üzerinde naringin bileşiğiye 24 saatte 48 ve 72 saate göre daha toksik bir etki göstermiştir. 5-FU, zamana ve doza bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Rutin ve 5-FU'nun kombine kullanımında bileşikler sinerjik bir etki göstererek hücre canlılığını tüm zaman dilimlerinde anlamlı derecede azaltmıştır. Naringin ve 5-FU'nun kombine kullanımında hücre canlılığı naringine göre anlamlı düzeyde azalmıştır fakat 5-FU ile karşılaştırıldığında anlam görülmemiştir.

HT-29 hücrelerinde rutin bileşiği zamana ve doza bağlı sitotoksik etki göstermiştir. 72. saatte yüksek dozlarda canlı hücrelerin büyük bir kısmını öldürmüştür. Naringin bileşiği ise yalnızca 24 saatlik uygulamada hücre canlılığında anlamlı bir etki göstermiştir. Kolon kanserinde zaten kullanılmakta olan 5-FU, zamana ve doza bağımlı olarak hücre canlılığını azaltmış özellikle 72 saatlik uygulamada 10 μ M ve üstü dozlarda canlılık oldukça düşmüştür. Rutin ve 5-FU'nun kombine kullanımında her saat uygulaması incelendiğinde yalnızca rutine göre anlamlı bir azalma görülmüştür. Naringin ile yapılan kombine çalışmasında sadece 24 saatlik uygulama yapılmış ve sonucunda naringine göre anlamlı bir azalma görülmüştür.

Comet sonuçlarına bakıldığında Caco-2 hücrelerinde rutin ve 5-FU'nun kombine kullanımı 5-FU'nun DNA'da oluşturduğu hasarın neredeyse tamamını indirgemmiştir. HT-29 hücrelerinde de 5-FU'nun oluşturduğu hasar indirgenmiştir fakat bu etki Caco-2 hücrelerindeki etkiyle kıyaslandığında oldukça azdır. Her ikisi de kolon kanseri hücreleri olmasına rağmen görülen bu farkın HT-29 hücrelerindeki mutasyonlardan kaynaklanabileceği ihtimallidir ancak daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Literatürde rutin ile yapılan çalışmalarda da bu çalışma arasında benzerlikler bulunmaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada HT-29 kolon kanseri hücrelerine rutin bileşiği uygulanmış ve sonrasında hücre canlılığı ile DNA hasar düzeyleri belirlenmiştir. Sonuçlar artan doza ve uygulama zamanına bağlı olarak rutin hücre ölümünü arttırdığını göstermektedir. Çalışma sonuçları en belirgin etkinin 72 saat sonra gerçekleştiğini göstermektedir. Bileşiğin DNA hasarına olan etkisi Comet analizleriyle araştırılmıştır. Sonuçlar rutin uygulamasının 24 saat sonra DNA hasarını arttırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca araştırmacılar rutin apoptotik

hücre ölümünü de arttırdığını bildirmektedir. Bu sonuçlar rutin bileşiğinin kanser tedavisi için önemli bir bileşen olduğunu göstermektedir (Vijay vd., 2016).

Meme kanseri hücreleri üzerinde etkisi araştırılan rutin bu çalışmada ek olarak in vivo koşullarda da denenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre in vitro ortamda MCF-7 ve MDA-MB-231 hücreleri üzerinde rutinin göç, invazyon ve yapışma kapasitelerini doz bağımlı olarak anlamlı şekilde azalttığı belirtilmiştir. HEK-293T sağlıklı hücrede ise belirgin bir etkisi bulunmamıştır. Ayrıca rutin EGFR sinyal yolunu baskılamış ve bu yolaktaki protein düzeylerinde de azalma sağlamıştır. İn vivo deneylerde ise MDA-MB-231 hücreleriyle oluşturulan tümör modellerinde, rutin 10 mg/kg dozunda uygulandığında tümör gelişimini anlamlı ölçüde engellemiş; bazı deneklerde hiç tümör oluşmamıştır. Tedavi edilen gruplarda tümör hacmi belirgin şekilde küçülme göstermiş, deneklerin vücut ağırlıklarında toksik etkiyi düşündürecek herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Ayrıca, tümör dokularında da EGFR ve ilişkili proteinlerin fosforile formlarında anlamlı azalma tespit edilmiştir. Tüm bu veriler, rutin EGFR sinyal yolunu hedef alarak hem hücresel düzeyde metastatik süreçleri baskıladığını hem de canlı organizmalarda tümör gelişimini engelleyici etkiler gösterdiğini ortaya koymakta, dolayısıyla onun potansiyel bir antikanser ajan olabileceğini göstermektedir (Lee vd., 2023).

Yapılan başka bir araştırmada naringinin kemoterapi ilacı olan doksorubisin kaynaklı böbrek hasarına karşı koruyucu etkilerini ve sinerjik antikanser etkilerine odaklanılmıştır. Fareler üzerinde yapılan çalışmada naringin böbrek hasarını ve işlev bozukluğunu önemli ölçüde düzelmiştir. Hücre kültüründe gırtlak ve kolon kanseri üzerinde yapılan deneylerde kombine kullanılan bileşikler sinerjik etki göstererek antikanser etki göstermiştir. MTT yöntemi kullanılarak elde edilen hücre canlılığı sonuçları naringinin tek başına doksorubisin kullanımına kıyasla kanser hücrelerindeki büyümeyi daha etkili bir şekilde baskıladığını kanıtlamıştır. Bu sonuçlar naringin bileşiğinin kanser tedavisinde terapötik etkinliği arttırabileceğini göstermektedir (Gad vd., 2025).

HT-29 kolon kanseri hücre hattında yapılan bir araştırmada naringin, tünikamisin ve BAY 11-7082 ile birleştirilerek, bu kombinasyonun HT29 hücrelerinin çoğalmasında doza bağlı olarak bastırdığını ve spesifik olarak apoptotik ölümü tetiklediğini gözlemlemişlerdir. En önemlisi, bu tedavinin sağlıklı vasküler düz kas hücreleri (VSMC'ler) üzerinde minimal etkisi olmuştur. Çalışma, kombinasyon tedavisinin HT29 hücrelerinde yetersiz antioksidan

savunmaya, bozulmuş ısı şoku yanıtına ve aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine yol açtığını bulmuştur. Daha ileri analizler, ilaç kombinasyonunun ROS aracılı PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP yoluyla mitokondriyal apoptozu aktive ettiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, bu kombinasyon tedavisinin kolon kanseri tedavisi için yeni ve etkili bir strateji olabileceği ve sağlıklı hücreler üzerindeki yan etkileri azaltılmış hedeflenmiş bir yaklaşım sunabileceği sonucuna varmışlardır (Albayrak vd., 2021).

Rutin ve naringin flavonoidleri dışında da birçok flavonoid kanser araştırmalarına konu olmuştur. Son yıllarda yapılan bu çalışmalar oldukça artmış ve flavonoidlerle kullanılabilir referans ilaçlarla kombine çalışmalar yapılmıştır (Kumar ve Pandey, 2013b; Cai vd., 2024).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmalar rutin ve naringin flavonoidlerinin kolon kanseri hücrelerinde genotoksik ve sitotoksik etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur. Flavonoidler birçok gıdada bulunan erişilebilir, çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunan ve düşük toksisite gösteren bir doğal bileşik sınıfıdır (Wang vd., 2025). Flavonoidlerin farklı kanser türleri üzerindeki etkileri araştırılmakta ve tedavi için faydalı olabilecek sonuçları olduğu birçok farklı çalışmada bildirilmektedir (Jomova vd., 2025). Bu çalışmada rutin flavonoidinin kolon kanseri hücre hatlarında hem tek başına hem de 5-FU ile kullanımında DNA'da meydana gelen hasarı azaltarak DNA'yı koruyan bir rol üstlendi. Bu durumda rutin kemoterapi sırasında sağlıklı hücrelerin zarar görmesini önlemek amacıyla koruyucu bir ajan olabileceğini sunuyoruz. Naringin flavonoidinde ise tek başına düşük sitotoksikite gösterdiğini, kombine kullanımda ise sinerjik etki göstererek genotoksik bir hal aldığını görmekteyiz. Sonuç olarak her iki flavonoidin kemoterapide referans ilaç ile kullanımında sinerjik etki gösterdiğini ve bunu naringinin DNA'ya hasar vererek rutin ise DNA'yı koruyarak yaptığını her iki flavonoidin de potansiyel kemoterapötik ajan olabileceğini düşünüyoruz. Rutin flavonoidinin 5-FU referans ilacıyla kombine kullanımında PCR, Western Blot, ELISA gibi tekniklerle incelenmesi çalışmanın daha detaylı olmasını ve kanser hücreleri üzerinde oluşturduğu sitotoksik etkinin daha net biçimde anlaşılmasını sağlayacaktır. Ardından sağlıklı hücreler üzerinde yalnızca flavonoidlerin ve kombine kullanımlarının deneylerinin yapılması ve referans ilaç ile sitotoksik etkinin karşılaştırılması kemoterapide yeni bir bakış açısı kazandırabilir.

KAYNAKLAR

- Akbulut, H. ve Akbulut, K. G. (2005). *Tıbbi Onkoloji Kitabı*. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antip Yayınları.
- Al-Sohaily, S., Biankin, A., Leong, R., Kohonen-Corish, M. ve Warusavitarne, J. (2012). Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 27(9): 1423-1431.
- Alam, M. A., Subhan, N., Rahman, M. M., Uddin, S. J., Reza, H. M. ve Sarker, S. D. (2014). Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of Action. *Advances in Nutrition*, 5(4): 404-417.
- Albayrak, D., Doğanlar, O., Erdoğan, S., Meraklı, M., Doğan, A., Turker, P., Bostancı, A. ve Doğanlar, Z. B. (2021). Naringin Combined with NF- κ B Inhibition and Endoplasmic Reticulum Stress Induces Apoptotic Cell Death via Oxidative Stress and the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP Axis in HT29 Colon Cancer Cells. *Biochemical Genetics*, 59(1): 159-184.
- Arnold, M., Abnet, C. C., Neale, R. E., Vignat, J., Giovannucci, E. L., McGlynn, K. A. ve Bray, F. (2020). Global Burden of 5 Major Types of Gastrointestinal Cancer. *Gastroenterology*, 159(1): 335-349 e315.
- Arnold, M., Sierra, M. S., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. ve Bray, F. (2017). Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*, 66(4): 683-691.
- Artursson, P., Palm, K. ve Luthman, K. (2001). Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3): 27-43.
- Batra, P. ve Sharma, A. K. (2013). Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech*, 3(6): 439-459.
- Bax, B. D., Murshudov, G., Maxwell, A. ve Germe, T. (2019). DNA Topoisomerase Inhibitors: Trapping a DNA-Cleaving Machine in Motion. *Journal of Molecular Biology*, 431(18): 3427-3449.
- Benson, A. B., Venook, A. P., Al-Hawary, M. M., Cederquist, L., Chen, Y. J., Ciombor, K. K., Cohen, S., Cooper, H. S., Deming, D., Engstrom, P. F., Garrido-Laguna, I., Grem, J. L., Grothey, A., Hochster, H. S., Hoffe, S., Hunt, S., Kamel, A., Kirilcuk, N., Krishnamurthi, S., Messersmith, W. A., Meyerhardt, J., Miller, E. D., Mulcahy, M. F., Murphy, J. D., Nurkin, S., Saltz, L., Sharma, S., Shibata, D., Skibber, J. M., Sofocleous, C. T., Stoffel, E. M., Stotsky-Himelfarb, E., Willett, C. G., Wuthrick, E., Gregory, K. M. ve Freedman-Cass, D. A. (2018). NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 16(4): 359-369.

- Berridge, M. V. ve Tan, A. S. (1993). Characterization of the cellular reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 303(2): 474-482.
- Betts Z., E., B. ve A., D. Ö. (2023). Determination Of The Effect Of Rutin On Epithelial And Mesenchimal Transition In Prostate Cancer Cells. *Acta Medica Nicomedia*, 6(1): 131-136.
- Bisht, P., Prasad, S. R., Choudhary, K., Pandey, R., Aishwarya, D., Aravind, V., Ramalingam, P., Velayutham, R. ve Kumar, N. (2024). Naringin and temozolomide combination suppressed the growth of glioblastoma cells by promoting cell apoptosis: network pharmacology, in-vitro assays and metabolomics based study. *Frontiers in pharmacology*, 15: 1431085.
- Bogaert, J. ve Prenen, H. (2014). Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of Gastroenterol*, 27(1): 9-14.
- Bok, S.-H., Jeon, S., Lee, S.-J., Jeong, T. ve Choi, M.-S. (2002). Effect of rutin and tannic acid supplements on cholesterol metabolism in rats¹. *Nutrition Research*, 22: 283-295.
- Bray, F. (2014). *Transition in human development and the global cancer burden*. World Cancer Report 2014. 54-68.
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I. ve Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*, 74(3): 229-263.
- Burkhart, D. L. ve Sage, J. (2008). Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nature Reviewes Cancer*, 8(9): 671-682.
- Burton, P. S., Conradi, R. A., Ho, N. F., Hilgers, A. R. ve Borchardt, R. T. (1996). How structural features influence the biomembrane permeability of peptides. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(12): 1336-1340.
- Bütüner Bilge, D. ve Kantarcı, G. (2006). Mutasyon, Dna Hasarı ,Onarım Mekanizmaları ve Kanslerle İlişkisi. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 35(2): 149-170.
- Cai, J., Tan, X., Hu, Q., Pan, H., Zhao, M., Guo, C., Zeng, J., Ma, X. ve Zhao, Y. (2024). Flavonoids and Gastric Cancer Therapy: From Signaling Pathway to Therapeutic Significance. *Drug Design, Development and Therapy*, 18: 3233-3253.
- Cassidy, A. ve Kay, C. (2013). *Phytochemicals: Classification and Occurrence*. Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition). B. Caballero. Waltham: Academic Press: 39-46.

- Chambers, A. C., Dixon, S. W., White, P., Williams, A. C., Thomas, M. G. ve Messenger, D. E. (2020). Demographic trends in the incidence of young-onset colorectal cancer: a population-based study. *The British Journal of Surgery*, 107(5): 595-605.
- Chang, C., Jia, R., Fang, B., Miao, Y. ve Zhang, L. (2025). Network pharmacological analysis and in vitro testing of the rutin effects on triple-negative breast cancer. *Open Medicine*, 20(1): 20241079.
- Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H. ve Chen, X. (2023). A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. *Molecules*, 28(13): 4982.
- Chen, X. ve Thibeault, S. (2013). Effect of DMSO concentration, cell density and needle gauge on the viability of cryopreserved cells in three dimensional hyaluronan hydrogel. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2013: 6228-6231.
- Chidambara Murthy, K. N., Kim, J., Vikram, A. ve Patil, B. S. (2012). Differential inhibition of human colon cancer cells by structurally similar flavonoids of citrus. *Food Chemistry*, 132(1): 27-34.
- Choudhury, R., Chowrimootoo, G., Srai, K., Debnam, E. ve Rice-Evans, C. A. (1999). Interactions of the flavonoid naringenin in the gastrointestinal tract and the influence of glycosylation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 265(2): 410-415.
- Chuang, C. H., Huang, C. S. ve Hu, M. L. (2010). Vitamin E and rutin synergistically inhibit expression of vascular endothelial growth factor through down-regulation of binding activity of activator protein-1 in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. *Chemico-Biological Interactions*, 183(3): 434-441.
- Collins, A. R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology*, 26(3): 249-261.
- Cook, N. C. ve Samman, S. (1996). Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2): 66-76.
- Crozier, A., Jaganath, I. B. ve Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8): 1001-1043.
- Çanak, H., N. (2024). *Zehirden İlaca: Mesobuthus Eupeus Zehirinin İnsan Kolorektal Karsinomunun Proliferasyonuna Karşı Terapötik Etkisinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Konya: Selçuk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Edge, S. B. ve Compton, C. C. (2010). The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of Surgical Oncology*, 17(6): 1471-1474.

- Engle, M. J., Goetz, G. S. ve Alpers, D. H. (1998). Caco-2 cells express a combination of colonocyte and enterocyte phenotypes. *Journal of Cellular Physiology*, 174(3): 362-369.
- Erdogan, S., Doganlar, O., Doganlar, Z. B. ve Turkekul, K. (2018). Naringin sensitizes human prostate cancer cells to paclitaxel therapy. *Prostate International*, 6(4): 126-135.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24: 851-874.
- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Laversanne, M., Colombet M, Mery, L., Piñeros, M., Znaor, A., Soerjomataram, I. ve Bray, F. (2024). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*.
- Fidler, M. M., Soerjomataram, I. ve Bray, F. (2016). A global view on cancer incidence and national levels of the human development index. *International Journal of Cancer*, 139(11): 2436-2446.
- Fogh, J., Wright, W. C. ve Loveless, J. D. (1977). Absence of HeLa cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors. *Journal of National Cancer Institute*, 58(2): 209-214.
- Fotini, M., Loutrari, H., Stamatis, H., Roussos, C. ve Kolisis, F. (2006). Enzymatic esterification of flavonoids with unsaturated fatty acids: Effect of the novel esters on vascular endothelial growth factor release from K562 cells. *Process Biochemistry*, 41: 2029-2034.
- Gad, N. S., Shabana, S. M., Amer, M. E., Othman, A. I. ve El-Missiry, M. A. (2025). Naringin mitigated doxorubicin-induced kidney injury by the reduction of oxidative stress and inflammation with a synergistic anticancer effect. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 26(1): 121.
- Gatasheh, M. K. (2024). Identifying key genes against rutin on human colorectal cancer cells via ROS pathway by integrated bioinformatic analysis and experimental validation. *Computational Biology and Chemistry*, 112: 108178.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Rahmat, A. ve Devarajan, T. (2014). Evaluation of Bioactive Compounds, Pharmaceutical Quality, and Anticancer Activity of Curry Leaf (*Murraya koenigii* L.). *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014: 873803.
- Giusti, M. M., Miyagusuku-Cruzado, G. ve Wallace, T. C. (2023). *Flavonoids as Natural Pigments*. Handbook of Natural Colorants: 371-390.
- Granados-Romero, J. J., Valderrama-Treviño, A. I., Contreras-Flores, E. H., Barrera-Mera, B., Herrera Enríquez, M., Uriarte-Ruíz, K., Ceballos-Villalba, J. C., Estrada-Mata, A. G., Alvarado Rodríguez, C. ve Arauz-Peña, G. (2017). Colorectal cancer: a review. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 5(11): 44667-44676.

- Güler, E. M. (2019). *Kolon Kanseri Hücreleri Üzerine Timokinon ve 5-Fluorourasilin Terapotik Etkisinin In Vitro ve In Vivo Araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. İstanbul: Bezmialem Vakıf Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Güneş, H. (1999). Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Turkish Journal of Biology*, 23(3): 283-292.
- Hanahan, D. ve Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5): 646-674.
- Harborne, J. B. (1986). Nature, distribution and function of plant flavonoids. *Progress in Clinical and Biological Research*, 213: 15-24.
- Heidelberger, C., Chaudhuri, N. K., Danneberg, P., Mooren, D., Griesbach, L., Duschinsky, R., Schnitzer, R. J., Plevin, E. ve Scheiner, J. (1957). Fluorinated Pyrimidines, A New Class of Tumour-Inhibitory Compounds. *Nature*, 179(4561): 663-666.
- Huang, H., Shi, J., Chen, W. ve Liu, L. (2024). Rutin suppresses the malignant biological behavior of gastric cancer cells through the Wnt/ β -catenin pathway. *Discover Oncology*, 15(1): 407.
- Huet, C., Sahuquillo-Merino, C., Coudrier, E. ve Louvard, D. (1987). Absorptive and mucus-secreting subclones isolated from a multipotent intestinal cell line (HT-29) provide new models for cell polarity and terminal differentiation. *The Journal of Cell Biology*, 105(1): 345-357.
- İbişoğlu, T. (2023). *Rutin, Kersetin ve Viteksinin Farklı Kansere Hücreleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Anadolu Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Infante Lara, L., Fenner, S., Ratcliffe, S., Isidro-Llobet, A., Hann, M., Bax, B. ve Osheroff, N. (2018). Coupling the core of the anticancer drug etoposide to an oligonucleotide induces topoisomerase II-mediated cleavage at specific DNA sequences. *Nucleic Acids Research*, 46(5): 2218-2233.
- Janbaz, K. H., Saeed, S. A. ve Gilani, A. H. (2002). Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia*, 73(7-8): 557-563.
- Javed, H., Khan, M. M., Ahmad, A., Vaibhav, K., Ahmad, M. E., Khan, A., Ashafaq, M., Islam, F., Siddiqui, M. S., Safhi, M. M. ve Islam, F. (2012). Rutin prevents cognitive impairments by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type. *Neuroscience*, 210: 340-352.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Valko, R., Liska, J., Nepovimova, E., Kuca, K. ve Valko, M. (2025). Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. *Chemico-Biological Interactions*, 413: 111489.
- Joshi, R., Kulkarni, Y. A. ve Wairkar, S. (2018). Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. *Life Sciences*, 215: 43-56.

- Karati, D. ve Kumar, D. (2023). A Comprehensive Review on Targeted Cancer Therapy: New Face of Treatment Approach. *Current Pharmaceutical Design*, 29(41): 3282-3294.
- Kikuchi, H., Yuan, B., Hu, X. ve Okazaki, M. (2019). Chemopreventive and anticancer activity of flavonoids and its possibility for clinical use by combining with conventional chemotherapeutic agents. *American Journal of Cancer Research*, 9(8): 1517-1535.
- Knipp, G. T., Ho, N. F., Barsuhn, C. L. ve Borchardt, R. T. (1997). Paracellular diffusion in Caco-2 cell monolayers: effect of perturbation on the transport of hydrophilic compounds that vary in charge and size. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86(10): 1105-1110.
- Koçak Büyüksütçü, G. (2021). *Adjuvan Tedavi Alan Meme Ve Kolon Kanseri Hastalarında İlaç-İlaç Etkileşimlerinin Değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi, Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi.Tıp Fakültesi.
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A. ve Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, 12(2): 457.
- Kreft, S., Knapp, M. ve Kreft, I. (1999). Extraction of rutin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds and determination by capillary electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11): 4649-4652.
- Kumar, S. ve Pandey, A. K. (2013a). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013(1): 162750.
- Kumar, S. ve Pandey, A. K. (2013b). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013: 162750.
- La Casa, C., Villegas, I., Alarcón de la Lastra, C., Motilva, V. ve Martín Calero, M. J. (2000). Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1-2): 45-53.
- Labianca, R., Beretta, G., Gatta, G., de Braud, F. ve Wils, J. (2004). Colon cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 51(2): 145-170.
- Labianca, R., Nordlinger, B., Beretta, G. D., Mosconi, S., Mandalà, M., Cervantes, A. ve Arnold, D. (2013). Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology: Official journal of the European Society for Medical Oncology*, 24 Suppl 6: vi64-72.
- Le Marchand, L. c., Murphy, S. P., Hankin, J. H., Wilkens, L. R. ve Kolonel, L. N. (2000). Intake of Flavonoids and Lung Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(2): 154-160.
- Lea, T. (2015). Caco-2 Cell Line. *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models*. K. Verhoeckx, P. Cotter, I. Lopez-Exposito et al. Cham (CH): 103-111.

- Lee, J., Lee, J., Sim, W., Kim, J. H., Choi, C. ve Jeon, J. (2023). Discovering the anti-cancer phytochemical rutin against breast cancer through the methodical platform based on traditional medicinal knowledge. *BMB Reports*, 56(11): 594-599.
- Leowattana, W., Leowattana, P. ve Leowattana, T. (2023). Systemic treatment for metastatic colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 29(10): 1569-1588.
- Li, M., Qian, M., Jiang, Q., Tan, B., Yin, Y. ve Han, X. (2023). Evidence of Flavonoids on Disease Prevention. *Antioxidants*, 12(2): 527.
- Lichota, A. ve Gwozdziński, K. (2018). Anticancer Activity of Natural Compounds from Plant and Marine Environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11).
- Longley, D. B., Harkin, D. P. ve Johnston, P. G. (2003). 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*, 3(5): 330-338.
- Luqmani, Y. A. (2005). Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Medical Principles and Practice*, 14 Suppl 1: 35-48.
- Maoret, J. J., Font, J., Augeron, C., Codogno, P., Bauvy, C., Aubery, M. ve Laboisse, C. L. (1989). A mucus-secreting human colonic cancer cell line. Purification and partial characterization of the secreted mucins. *Biochemical Journal*, 258(3): 793-799.
- Marchi, E. ve O'Connor, O. A. (2012). Safety and efficacy of pralatrexate in the treatment of patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Therapeutic Advances in Hematology*, 3(4): 227-235.
- Matthews, H. K., Bertoli, C. ve de Bruin, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(1): 74-88.
- Middleton, E., Jr. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 439: 175-182.
- Miean, K. H. ve Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6): 3106-3112.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2): 55-63.
- Nafees, S., Mehdi, S. H., Zafaryab, M., Zeya, B., Sarwar, T. ve Rizvi, M. A. (2018). Synergistic Interaction of Rutin and Silibinin on Human Colon Cancer Cell Line. *Archives of Medical Research*, 49(4): 226-234.
- Nandhakumar, S., Parasuraman, S., Shanmugam, M. M., Rao, K. R., Chand, P. ve Bhat, B. V. (2011). Evaluation of DNA damage using single-cell gel electrophoresis (Comet Assay). *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 2(2): 107-111.

- Nasri Nasrabadi, P., Zareian, S., Nayeri, Z., Salmanipour, R., Parsafar, S., Gharib, E., Asadzadeh Aghdaei, H. ve Zali, M. R. (2019). A detailed image of rutin underlying intracellular signaling pathways in human SW480 colorectal cancer cells based on miRNAs-lncRNAs-mRNAs-TFs interactions. *Journal of Cellular Physiology*, 234(9): 15570-15580.
- Nassiri-Asl, M., Mortazavi, S. R., Samiee-Rad, F., Zangivand, A. A., Safdari, F., Saroukhani, S. ve Abbasi, E. (2010). The effects of rutin on the development of pentylene-tetrazole kindling and memory retrieval in rats. *Epilepsy and Behavior*, 18(1-2): 50-53.
- Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J. L. ve Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: a review. *Talanta*, 85(5): 2265-2289.
- Obeagu, E. I. ve Obeagu, G. U. (2024). Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. *Medicine (Baltimore)*, 103(3): e36905.
- Onar, O. (2022). *İnsan Kolon Kanseri Hücrelerinde Clitocybe nebularis 'in Hücre Döngüsü Üzerine Etkisi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi.Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Palmer, H., Ohta, M., Watanabe, M. ve Suzuki, T. (2002). Oxidative stress-induced cellular damage caused by UV and methyl viologen in *Euglena gracilis* and its suppression with rutin. *Journal of photochemistry and photobiology. Biology*, 67(2): 116-129.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. ve Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5: 47.
- Panegyres, K. (2024). The story of how cancer got its name. *Cancer*, 130(20): 3401-3403.
- Park, M. H., Kim, S., Song, Y.-r., Kim, S., Kim, H.-J., na, H. ve Chung, J. (2016). Rutin induces autophagy in cancer cells. *International Journal of Oral Biology*, 41: 45-51.
- Patel, A. A. (2024). Recent advances in immunotherapy in cancer treatment. *Cellular and molecular biology*, 70(5): 89-99.
- Patel, K. ve Patel, D. K. (2019). *The Beneficial Role of Rutin, A Naturally Occurring Flavonoid in Health Promotion and Disease Prevention: A Systematic Review and Update*. Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases (Second Edition). Academic Press: 457-479.
- Pei, R., Liu, X. ve Bolling, B. (2020). Flavonoids and gut health. *Current Opinion in Biotechnology*, 61: 153-159.
- Peng, X., Li, L., Ren, Y., Xue, H., Liu, J., Wen, S. ve Chen, J. (2020). Synthesis of N-Carbonyl Acridanes as Highly Potent Inhibitors of Tubulin Polymerization via One-Pot Copper-Catalyzed Dual Arylation of Nitriles with Cyclic Diphenyl Iodoniums. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 362(10): 2030-2038.
- Pravin, B., Nanaware, V., Ashwini, B., Wondmie, G. F., Jordan, Y. A. B. ve Bourhia, M. (2024). Assessing the antioxidant properties of Naringin and Rutin and investigating

- their oxidative DNA damage effects in breast cancer. *Scientific Reports*, 14(1): 15314.
- Pulliero, A., Godschalk, R., Andreassi, M. G., Curfs, D., Van Schooten, F. J. ve Izzotti, A. (2015). Environmental carcinogens and mutational pathways in atherosclerosis. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(3): 293-312.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. ve Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4): 375-383.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. ve Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7): 933-956.
- Richetti, S. K., Blank, M., Capiotti, K. M., Piatto, A. L., Bogo, M. R., Vianna, M. R. ve Bonan, C. D. (2011). Quercetin and rutin prevent scopolamine-induced memory impairment in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 217(1): 10-15.
- Roma, C., Rachiglio, A. M., Pasquale, R., Fenizia, F., Iannaccone, A., Tatangelo, F., Antinolfi, G., Parrella, P., Graziano, P., Sabatino, L., Colantuoni, V., Botti, G., Maiello, E. ve Normanno, N. (2016). BRAF V600E mutation in metastatic colorectal cancer: Methods of detection and correlation with clinical and pathologic features. *Cancer Biology and Therapy*, 17(8): 840-848.
- Saadatmand, S., Bretveld, R., Siesling, S. ve Tilanus-Linthorst, M. M. (2015). Influence of tumour stage at breast cancer detection on survival in modern times: population based study in 173,797 patients. *BMJ*, 351: h4901.
- Saleh, A., El Fayoumi, H. M., Youns, M. ve Barakat, W. (2019). Rutin and orlistat produce antitumor effects via antioxidant and apoptotic actions. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 392(2): 165-175.
- Satari, A., Amini, S. A., Raeisi, E., Lemoigne, Y. ve Heidarian, E. (2019). Synergetic Impact of Combined 5-Fluorouracil and Rutin on Apoptosis in PC3 Cancer Cells through the Modulation of P53 Gene Expression. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(3): 462-469.
- Schwedhelm, E., Maas, R., Troost, R. ve Böger, R. H. (2003). Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress. *Clinical Pharmacokinetics*, 42(5): 437-459.
- Sergiel, I. (2024). Flavonoids – natural compounds with antiviral and anticancer potential. *Postepy Biochemical*, 70(4): 474-482.
- Sharma, A., Dharambir, K., Katrin, S., Singh, T. H. ve and Sharma, A. K. (2018). Therapeutic Charm of Quercetin and Its Derivatives: a Review of Research and Patents. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 7(1): 15-32.

- Siegel, R. L., Torre, L. A., Soerjomataram, I., Hayes, R. B., Bray, F., Weber, T. K. ve Jemal, A. (2019). Global patterns and trends in colorectal cancer incidence in young adults. *Gut*, 68(12): 2179-2185.
- Skibber, J. M., Minsky, B. D. ve Hoff, P. M. (2001). Cancer of the Colon. Devita, T. V., Hellman S. ve Rosenberg, S. A. (Ed.) *Cancer Principles & Practice of Oncology*. (879-918). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers.
- Song, B., Wang, J., Ren, Y., Su, Y., Geng, X., Yang, F., Wang, H. ve Zhang, J. (2023). Butein inhibits cancer cell growth by rescuing the wild-type thermal stability of mutant p53. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 163: 114773.
- Spaander, M. C. W., Zauber, A. G., Syngal, S., Blaser, M. J., Sung, J. J., You, Y. N. ve Kuipers, E. J. (2023). Young-onset colorectal cancer. *Nature reviews. Disease primers*, 9(1): 21.
- Stabrauskiene, J., Sadauskiene, I., Liekis, A., Mikniene, Z. ve Bernatoniene, J. (2025). Naringin vs. Citrus x paradisi L. Peel Extract: An In Vivo Journey into Oxidative Stress Modulation. *Antioxidants*, 14(2): 157.
- Stewart, B. W. ve Kleihus, P. 2003. *World Cancer Report*. Lyon, France: IARC Press.
- Sultana, B. ve Anwar, F. (2008). Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*, 108(3): 879-884.
- Suman, I., Jezidžić, A., Dobrić, D. ve Domitrović, R. (2025). Differential Effects of Rutin and Its Aglycone Quercetin on Cytotoxicity and Chemosensitization of HCT 116 Colon Cancer Cells to Anticancer Drugs 5-Fluorouracil and Doxorubicin. *Biology (Basel)*, 14(5).
- Szulc, A., Wiśniewska, K., Żabińska, M., Gaffke, L., Szota, M., Olendzka, Z., Węgrzyn, G. ve Pierzynowska, K. (2024). Effectiveness of Flavonoid-Rich Diet in Alleviating Symptoms of Neurodegenerative Diseases. *Foods*, 13(12): 1931.
- Şentürk, B., Ünlü, F., Dündar, S., Kavak Ergün, A., Sevinç, A. ve Tütüncü, S. (2025). *Türkiye Kanseri İstatistikleri*. Ankara, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü.
- Tang, A. S., Chikhale, P. J., Shah, P. K. ve Borchardt, R. T. (1993). Utilization of a human intestinal epithelial cell culture system (Caco-2) for evaluating cytoprotective agents. *Pharmaceutical Research*, 10(11): 1620-1626.
- Tharamelvelyil Rajendran, A., Dheeraj Rajesh, G., Ashtekar, H., Sairam, A., Kumar, P. ve Vadakkepuphakath, A. N. (2024). Uncovering naringin's anticancer mechanisms in glioblastoma via molecular docking and network pharmacology approaches. *Scientific Reports*, 14(1): 21486.
- Thirion, P., Michiels, S., Pignon, J. P., Buyse, M., Braud, A. C., Carlson, R. W., O'Connell, M., Sargent, P. ve Piedbois, P. (2004). Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*, 22(18): 3766-3775.

- Trumbeckaite, S., Bernatoniene, J., Majiene, D., Jakštas, V., Savickas, A. ve Toleikis, A. (2006). The effect of flavonoids on rat heart mitochondrial function. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(5): 245-248.
- Türkiye İstatistik Kurumu (2025). *Ölüm ve Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2024*. Türkiye İstatistik Kurumu. Ankara.
- Türktekin, M. (2009). *Kolon Kanseri Hücre Hattında Apigenin Flavonoidinin Apoptoz Yolak Gen İfade Edilmesine Olan Etkilerinin Araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H. ve Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 25(22): 5243.
- Vermeulen, K., Berneman, Z. N. ve Van Bockstaele, D. R. (2003). Cell cycle and apoptosis. *Cell Proliferation*, 36(3): 165-175.
- Vijay, M., Sivagami, G., Thayalan, K. ve Nalini, N. (2016). Radiosensitizing potential of rutin against human colon adenocarcinoma HT-29 cells. *Bratislavske Lekarske Listy*, 117(3): 171-178.
- Vincer, B., Sindya, J., Rajanathadurai, J. ve Perumal, E. (2024). Exploring the Cytotoxic and Anticancer Potential of Naringin on Oral Cancer Cell Line. *Cureus*, 16(7): e64739.
- Vodenkova, S., Buchler, T., Cervena, K., Veskrnova, V., Vodicka, P. ve Vymetalkova, V. (2020). 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacology & Therapeutics*, 206: 107447.
- Wacher, V. J., Salphati, L. ve Benet, L. Z. (2001). Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3): 89-102.
- Wang, Y., Huang, M., Zhou, X., Li, H., Ma, X. ve Sun, C. (2025). Potential of natural flavonoids to target breast cancer angiogenesis (review). *British Journal of Pharmacology*, 182(10): 2235-2258.
- Wang, Y., Wang, Y., Yuan, C., Wang, N. ve Zhang, T. (2024). Naringin inhibits cisplatin resistance of ovarian cancer cells by inhibiting autophagy mediated by the TGF- β /smad2 pathway. *Translational Cancer Research*, 13(6): 2618-2628.
- Willis, N. A., Rass, E. ve Scully, R. (2015). Deciphering the Code of the Cancer Genome: Mechanisms of Chromosome Rearrangement. *Trends Cancer*, 1(4): 217-230.
- World Cancer Research Fund (2018). *Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective*. Continious Update Project Expert Report 2018, American Institute for Cancer Research.

- World Health Organization. (2025). Cancer, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (01.08.2025).
- Xue, N., Wu, X., Wu, L., Li, L. ve Wang, F. (2019). Antinociceptive and anti-inflammatory effect of Naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models. *Life Sciences*, 217: 148-154.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R. ve Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(3): 113-122.
- Yu, K. E., Alder, K. D., Morris, M. T., Munger, A. M., Lee, I., Cahill, S. V., Kwon, H.-K., Back, J. ve Lee, F. Y. (2020). Re-appraising the potential of naringin for natural, novel orthopedic biotherapies. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 12: 1759720X20966135.
- Zhang, C., Liu, J., Xu, D., Zhang, T., Hu, W. ve Feng, Z. (2020). Gain-of-function mutant p53 in cancer progression and therapy. *Journal of Molecular Cell Biology*, 12(9): 674-687.
- Zhang, H.-W., Hu, J.-J., Fu, R.-Q., Liu, X., Zhang, Y.-H., Li, J., Liu, L., Li, Y.-N., Deng, Q., Luo, Q.-S., Ouyang, Q. ve Gao, N. (2018). Flavonoids inhibit cell proliferation and induce apoptosis and autophagy through downregulation of PI3K γ mediated PI3K/AKT/mTOR/p70S6K/ULK signaling pathway in human breast cancer cells. *Scientific Reports*, 8(1): 11255.
- Zhao, Z., Jin, G., Ge, Y. ve Guo, Z. (2019). Naringenin inhibits migration of breast cancer cells via inflammatory and apoptosis cell signaling pathways. *Inflammopharmacology*, 27(5): 1021-1036.
- Zhuang, W.-B., Li, Y.-H., Shu, X.-C., Pu, Y.-T., Wang, X.-J., Wang, T. ve Wang, Z. (2023). The classification, molecular structure and biological biosynthesis of flavonoids, and their roles in biotic and abiotic stresses. *Molecules*, 28(8): 3599.
- Zuckerman, D. S. ve Clark, J. W. (2008). Systemic therapy for metastatic colorectal cancer: current questions. *Cancer*, 112(9): 1879-1891.
- Zweibaum, A. (1986). Enterocytic differentiation of cultured human colon cancer cell lines: negative modulation by d-glucose. F. Alvarado. (Ed). *Ion gradient-coupled transport*. Elsevier, Amsterdam 1986, 345-353. Amsterdam, Elsevier: 345-353.
- Zweibaum, A., Laburthe, M., Grasset, E. ve Louvard, D. (2011). *Use of Cultured Cell Lines in Studies of Intestinal Cell Differentiation and Function*. Comprehensive Physiology: 223-255.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Livanur Altan

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi :

Yüksek Lisans Öğrenimi : Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Bilimsel Faaliyet/Yayınlar :

İş Deneyimi

Projeler ve Kurs Belgeleri :

İletişim

E-Posta Adresi :

Tarih : 14/08/2025 (Tez Savunma Tarihi)