



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

P53 MUTANT KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE 1,8-CİNEOLENİN
ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İPEK DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN

DANIŞMAN

DOÇ. DR. YAVUZ ERDEN

BARTIN-2025



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**P53 MUTANT KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE 1,8-CİNEOLENİN
ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İpek DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman :

Üye :

Üye :

BARTIN-2025

KABUL VE ONAY

İpek DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN tarafından hazırlanan “P53 MUTANT KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE 1,8-CİNEOLENİN ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, 15.08.2025 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 Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... 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 “P53 MUTANT KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE 1,8-CİNEOLENİN ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” 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.

31.07.2025

İpek DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN

ÖN SÖZ

Tez araştırmam boyunca akademik gelişime rehberlik eden ve her aşamada desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Yavuz ERDEN'e, Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda, moleküler biyoloji ve genetiğin temel prensiplerini öğreterek bu alana olan ilgimi ve sevgimi artıran tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Varlıklarıyla her zaman yanımda olan canım annem, canım babam ve canım kardeşime gönülden teşekkür ederim. Bana hep inandılar, güvendiler, gurur duydular ve koşulsuz destekleriyle hep arkamda durdular. Bu yolculukta attığım her adımda onların sevgisini ve desteğini hissetmek, bana güç verdi ve yolumu aydınlattı.

Ama en derin ve en özel teşekkürüm, hayatımın her anında yanımda olan, en büyük desteğim, yol arkadaşım, canım eşim Hüseyin YÜRÜTEN'e... Yıllar sonra içimde yeniden yeşeren yüksek lisans hayalime inandı. Bu zorlu sürecin başından sonuna dek her adımda sözleriyle, özverisiyle, sabrıyla, emeğiyle, güçlü varlığıyla yanımda oldu. Hayatımda olduğun için, hayallerime benimle birlikte yürüdüğün için sonsuz teşekkür ederim.

Sevgili oğullarım Demir Kaan YÜRÜTEN ve Doruk Kaan YÜRÜTEN... Bazen afacanlıklarınızla bizi epeyce zorlasanız da, neşeniz, masumiyetiniz ve sevginiz bu sürecin en kıymetli ilham kaynağıydı. Sizlerle büyümek, yıllar önce kurulan hayallerimi sizlerle paylaşmak ve tamamlamak tarifsiz bir mutluluktur. Küçük kalplerinizin neşesi, afacanlıklarınız ve bitmek bilmeyen enerjiniz bu sürecin unutulmaz parçalarıydı.

Bu tez, sadece benim değil, başta eşim ve evin en minik ama en hareketli üyeleri de dahil hepimizin emeğiyle tamamlandı.

Ve bu tez, yalnızca bir akademik çalışmanın değil; sevginin, sabrın, fedakârlığın, dayanışmanın ve birlikte büyümenin bir simgesi oldu. Bir gün büyüdüğünüzde bu satırları okurken birlikte geçirdiğimiz bu yoğun ama sevgi dolu günleri gülümseyerek hatırlamamız dileğiyle...

İpek DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

P53 MUTANT KOLON KANSERİ HÜCRELERİNDE 1,8-CİNEOLENİN ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İpek DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yavuz ERDEN

Bartın-2025, sayfa: 66

Kolon kanseri (KK), dünya genelinde en yaygın kanser türlerinden biri olup, hem erkekler hem de kadınlar arasında önemli bir sağlık sorununu teşkil etmektedir. Erken teşhis ve tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen, ileri evre kolon kanseri vakalarının tedavisinde günümüzde de zorluklar yaşanmaktadır. Bu zorlukların başında, kanser hücrelerinin kemoterapiye ve diğer tedavi yöntemlerine karşı geliştirdiği ilaç direnci gelmektedir. Kolon kanseri hücrelerinde gözlenen P53 mutasyonları hücreSEL ilaç direncinin gelişmesine aracılık eder ve buda kanser hücrelerinin apoptozdan kaçmasına ve artan metastaz yeteneğine neden olur. Bu olumsuzlukların aşılmasında kombine tedavi seçeneklerine ek olarak kanser ilaçlarının etkinliğini arttırıcı ve ilaç direncini azaltıcı doğal bileşiklerin tedavide kullanılması gün geçtikçe artan bir yaklaşımdır.

1,8-cineole, doğada çeşitli bitkilerde bulunan monoterpen sınıfı uçucu yağ bileşenidir. Bu bileşiğin antienflamatuar, antioksidan ve antikanser özellikler ortaya koyduğu rapor edilmektedir. Buna ek olarak yapılan çalışmalar kanser hücrelerinde 1,8-cineole'nin ilaç direncini azaltarak kemoterapik etkinliği arttırabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada P53 mutasyonlu kolon kanseri hücrelerine karşı 1,8-cineole'nin sitotoksik, genotoksik ve ilaç direnci genleri üzerine etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

Çalışmada HT-29 insan kolon kanseri hücreleri üzerine standart kemoterapotik ilaç 5-Fluorourasil (5-FU) ve 1,8-cineole'nin ayrı ayrı ve kombine uygulamaları sonrası hücre canlılık düzeyleri MTT analizleriyle belirlendi. Sonrasında bileşiklerin DNA hasarına etkileri tek hücre jel elektroforezi yöntemiyle analiz edildi. Çalışmada ayrıca 1,8-cineole'nin kanser hücrelerinde ilaç direncine neden olan ABCB1, ABCG2 ve ABCC2 genlerinin mRNA ifade düzeylerine etkileri de araştırıldı. Sonuçları uygun istatistiksel yöntemlerle analiz edildi.

Sonuçlarımız, 1,8-cineole'nin tek başına ve 5-FU ile kombinasyon halinde HT-29 kolon kanseri hücre canlılığını anlamlı düzeyde azalttığını gösterdi ($p<0.05$). 5-FU uygulanan gruplarda DNA hasar düzeyi kısmen artış gösterdi ($p<0.05$). Ancak 1,8 cineole uygulaması sonrasında hücrelerde genotoksik etki gözlenmedi. 1,8-cineole 5-FU uygulaması sadece 5-FU uygulanan gruba kıyasla ABCC2 gen ifadesinde azalmaya neden oldu. Elde edilen sonuçlar 1,8-cineole'nin 5-FU ile sinerjik etki gösterebileceğini işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: 1,8 cineole, İlaç direnci, Kemoterapi, Kolon Kanseri, 5- Florourasil

Bilim Alanı Kodu: 401.02.00, 401.02.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

INVESTIGATION OF ANTICANCER EFFECTS OF 1,8-CINEOLE IN P53 MUTANT COLON CANCER CELLS

İpek DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN

Bartın University

Graduate School

Department of Molecular Biology and Genetics

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yavuz ERDEN

Bartın-2025, pp: 66

Colon cancer (CC) is one of the most common cancers worldwide and poses a significant health problem for both men and women. Despite advances in early diagnosis and treatment, treatment of advanced-stage colon cancer remains challenging. Chief among these challenges is the drug resistance that cancer cells develop to chemotherapy and other treatment modalities. P53 mutations observed in colon cancer cells mediate the development of cellular drug resistance, leading to cancer cells evading apoptosis and increasing their ability to metastasize. In addition to combined treatment options, the use of natural compounds to enhance the effectiveness of cancer drugs and reduce drug resistance is an increasingly popular approach to overcoming these challenges.

1,8-cineole is a monoterpene essential oil component found in various plants. This compound is reported to exhibit anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer properties. Additionally, studies have shown that 1,8-cineole may enhance chemotherapeutic efficacy by reducing drug resistance in cancer cells. In this study, we aimed to investigate the effects of 1,8-cineole on cytotoxic, genotoxic, and drug resistance genes against colon cancer cells with P53 mutations. Cell viability was determined using MTT assays after separate and combined applications of the standard chemotherapeutic drug 5-Fluorouracil (5-FU) and 1,8-cineole on HT-29 human colon cancer cells. The effects of the compounds on DNA

damage were then analyzed using single-cell gel electrophoresis. The study also investigated the effects of 1,8-cineole on mRNA expression levels of ABCB1, ABCG2, and ABCC2 genes, which contribute to drug resistance in cancer cells. The results were analyzed using appropriate statistical methods.

Our results showed that 1,8-cineole, both alone and in combination with 5-FU, significantly reduced HT-29 colon cancer cell viability ($p < 0.05$). DNA damage levels were slightly increased in the 5-FU-treated groups ($p < 0.05$). However, no genotoxic effects were observed in the cells following 1,8-cineole application. Application of 1,8-cineole with 5-FU resulted in a decrease in ABCC2 gene expression compared to the group treated with 5-FU alone. The results indicate that 1,8-cineole may have a synergistic effect with 5-FU.

Keywords: 1,8 cineole, Drug resistance, Chemotherapy, Colon Cancer, 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.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kolonun Anatomisi ve Fizyolojik Fonksiyonları.....	3
1.2. Kolon Kanseri: Tanım, Epidemiyoloji ve Önemi	5
1.3. Kolon Kanserinin Gelişimi.....	9
1.4. Risk Faktörleri ve Önleme Yaklaşımları	11
1.4.1 Yaşam Tarzı ve Diyet.....	13
1.4.2 İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ve Beslenmenin Rolü	14
1.5. Kolorektal Kanserin Erken Tanı ve Önleme Yöntemleri ile İlgili Güncel Yaklaşımlar	14
1.6. Tedavi Seçenekleri.....	15
1.6.1 5-Fluorourasil ve Kanser	16
1.6.2 Alternatif Yaklaşımlarda Bitkisel Bileşiklerin Rolü	18
1.7. 1,8-Cineole	20
1.7.1 1,8-Cineole'nin Farmakolojik ve Terapötik Özellikleri	20
1.7.2 1,8-Cineole ve Kanser	21

1.7.3 1,8-Cineole'nin Antikanser Etki Mekanizması	21
1.8. Tedaviye Yanıt ve Direnç Problemleri.....	23
1.8.1 Çoklu İlaç Direnci.....	24
2. LİTERATÜR ÖZETİ	28
3. MATERYAL VE METOT.....	34
3.1. Bileşiklerin Hazırlanması.....	34
3.2. Hücre Kültürü ve Canlılık Testi	34
3.3. Genotoksisite Analizi	35
3.4. Real Time-PCR analizi.....	36
3.4.1 RNA İzolasyonu.....	36
3.4.2 Real Time PCR Protokolü.....	37
3.5. İstatiksel Analiz	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	40
4.1. Sitotoksisite Analizi.....	40
4.2. Genotoksisite Analizi	46
4.3. Gen İfadesi Analizleri	47
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
1.1. Kolon anatomisi.....	4
1.2. Seçilen popülasyonlarda kolon kanserinin toplam kanser insidansındaki oranı, 2022 yılı verileri	7
1.3. Seçilen bölgelerde kolon kanserinin toplam kanser insidansındaki payı ve ölüm oranları, 2022 yılı verileri	8
1.4. Yaşa göre standardize insidans oranları, erkeklerde 100.000 kişide Kolon Kanseri, 2022	12
1.5. Yaşa göre standardize insidans oranları, kadınlarda 100.000 kişide Kolon Kanseri, 2022	13
1.6. 1,8-cineole 3D görüntü	20
3.1. Comet analizi aşamalarından bir kesit.....	36
4.1. 1,8-cineole ve 5-FU uygulamalarından sonra HT-29 hücre canlılık düzeyindeki değişimler	41
4.2. HT-29 hücre hattı üzerinde 24 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri	43
4.3. HT-29 hücre hattı üzerinde 48 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri	44
4.4. HT-29 hücre hattı üzerinde 72 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri	46
4.5. Uygulamalar sonrası DNA hasar düzeyi	47
4.6. Uygulamalar sonrası HT-29 hücre hattındaki mRNA düzey değişimleri	48

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
<u>No</u>	<u>No</u>
3.1. Çalışmada kullanılan genlerin primer dizilimleri	38
3.2. Real Time PCR analizi için hazırlanan reaksiyon karışımı	38



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μL	: mikrolitre
μM	: mikromolar
mL	: mililitre
gr	: gram
mg	: miligram
mM	: milimolar
ng	: nanogram
r	: serbestlik derecesi

KISALTMALAR

5-FU	: 5-Florourasil
KRK	: Kolorektal kanser
KK	: Kolon Kanseri
HT-29	: İnsan Kolon Kanseri Hücreleri
MTT	: Metil Tiazolil Tetrazolyum
APC	: Adenomatous Polyposis Coli
MMR	: DNA Uyumlu Tamir
CIN	: Kromozomal İnstabilite
MPT	: fosfat tamponlu solüsyon
NF	: nükleaz free
PBS	: fetal sığır serumu
DPD	: Dihidropirimidin Dehidrogenaz
TS	: Timidilat Sentaz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
İBH	: İnflamatuvar bağırsak hastalıkları

1. GİRİŞ

Kanser, normal hücrelerin büyüme ve bölünme süreçlerindeki kontrolü kaybetmesiyle ortaya çıkan, oldukça karmaşık ve çok aşamalı biyolojik bir hastalıktır. Genetik mutasyonlar, epigenetik değişiklikler ve çevresel etmenler gibi çeşitli faktörler, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmasına, programlanmış hücre ölümü olan apoptozdan kaçınmasına ve çevre dokulara invazyon kabiliyeti kazanmasına neden olur (Sheng vd., 1998). Bu değişimler, zamanla kanser hücrelerinin metastatik potansiyel kazanılmasıyla daha ölümcül bir hal alır. Metastatik hücreler, kan veya lenf dolaşımı yoluyla vücudun farklı bölgelerine taşınarak ikincil tümör odakları oluşturur. Metastaz, kanserin en zorlu ve tedaviye dirençli evrelerinden biri olup hastalığın prognozunu ciddi şekilde olumsuz etkiler (Chaffer ve Weinberg, 2011; Lambert vd., 2017).

Kolorektal (kolon ve rektum) kanser (KRK), dünya genelinde en yaygın görülen malignitelerden biri olup, hem morbidite hem de mortalite açısından ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. 2022 verilerine göre yılda yaklaşık 1.9 milyon yeni kolorektal kanser vakası bildirilmiş ve bu kanser türü, kansere bağlı ölümler arasında ilk sıralarda yer almıştır (URL2, 2025). Özellikle genç yaş gruplarında tanının gecikmesi, hastalığın ilerlemiş evrelerde teşhis edilmesine neden olmakta ve tedavi başarısını zorlaştırmaktadır (Roshandel vd., 2024). Kolon kanseri yalnızca bireysel sağlığı değil, aynı zamanda iş gücü kaybı ve sağlık harcamaları gibi sosyoekonomik sonuçları nedeniyle toplum sağlığını da derinden etkilemektedir.

Kolon kanseri gelişiminde genetik yatkınlık, kronik inflamasyon, düşük lifli diyet, sedanter yaşam tarzı, alkol ve tütün kullanımı gibi birçok risk faktörü rol oynamaktadır. Bununla birlikte, bu risklerin büyük bir kısmı önlenabilir niteliktedir. Birincil koruma kapsamında sigara ve alkol kullanımından uzak durulması, ikincil koruma kapsamında ise düzenli fiziksel aktivite ve tarama programlarıyla erken tanı olanaklarının artırılması, kolon kanseri görülme sıklığını azaltmada önemli rol oynamaktadır (Thanikachalam ve Khan, 2019).

Kolorektal kanser tedavisi, hastalığın evresi, tümörün moleküler yapısı, genetik mutasyon profili ve hastanın genel sağlık durumu gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak belirlenmektedir. Erken evrelerde cerrahi müdahale (örneğin segmental rezeksiyon, lenf nodu diseksiyonu veya laparoskopik cerrahi) temel yaklaşım olarak uygulanırken, ileri evrelerde kemoterapi,

radoterapi, immünoterapi ve hedefe yönelik tedaviler ön plana çıkmaktadır. Evre II (yüksek riskli), evre III ve metastatik kolon kanseri vakalarında ise tümör hacmini küçültmek veya mikrometastazları ortadan kaldırmak amacıyla sistemik kemoterapiler yaygın şekilde kullanılmaktadır (Chabner ve Roberts, 2005).

Kolorektal kanser tedavisinde sıklıkla tercih edilen kemoterapötik ajanlardan biri olan 5-FU, pirimidin analogları sınıfında yer alan antimetabolit bir ilaçtır. DNA ve RNA sentezini inhibe ederek hücre döngüsünü durdurur ve apoptozu tetikler (Longley vd., 2003). 5-FU, aktif metabolitlere dönüşerek timidilat sentaz (TS) enziminin inhibisyonu ile DNA sentezini baskılar. Bu durum hücre bölünmesini engeller ve özellikle hızlı bölünen tümör hücrelerini hedef alır. Ancak 5-FU tedavisi sırasında karaciğer, böbrek, kalp ve gastrointestinal sistem gibi organlarda toksik etkiler görülebilmekte; saç dökülmesi, mide bulantısı, ishal, ağız yaraları, tat değişikliği gibi yaşam kalitesini düşüren yan etkiler de sıklıkla ortaya çıkmaktadır (Chabner ve Roberts, 2005). Ayrıca, birçok kanser türünde olduğu gibi kolorektal kanserde de zamanla kemoterapiye karşı direnç gelişebilmektedir. Direnç mekanizmaları, ilaç metabolizmasında yer alan enzimlerin regülasyonu, DNA onarım yollarının aktivasyonu veya ilaçların hücre dışına atılmasını sağlayan transporter proteinlerin (örneğin ABC taşıyıcıları) artışı ile ilişkili olabilir. Bu durum, tedavi başarısını azaltmakta ve hastalık yönetimini zorlaştırmaktadır.

Son yıllarda, kemoterapötik tedavilerin etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak amacıyla alternatif yaklaşımlar geliştirilmeye başlanmıştır. Bunlar arasında kombine tedavi protokolleri, fitokimyasallar, immün modülasyon, nanoteknolojiye dayalı ilaç taşıma sistemleri ve kişiye özel tedavi stratejileri yer almaktadır (Sethy ve Kundu, 2021). Özellikle fitokimyasallar, doğal kaynaklı bitkisel bileşikler olmaları nedeniyle daha az toksik profilleri ve çok yönlü etkileriyle dikkat çekmektedir. Bu bileşikler; apoptoz indüksiyonu, hücre döngüsü düzenlemesi, oksidatif stresin yönetimi ve DNA onarımı gibi birçok hücresel mekanizmayı hedef alabilmektedir.

1,8-cineole (okaliptol), çeşitli aromatik bitkilerin uçucu yağlarında bulunan bir monoterpen olup, antikanser, antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri ile dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalar, 1,8-cineole'nin kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indüklediğini ve hücre proliferasyonunu baskıladığını göstermektedir (Murata vd., 2013). Ayrıca bu bileşik, kemoterapötik ajanlarla kombine edildiğinde ilacın terapötik etkinliğini artırabilir, direnç

gelişimini azaltabilir ve gerekli ilaç dozunu düşürerek yan etkilerin hafifletilmesine katkı sağlayabilir. Bir diğer taraftan, 1,8-cineole'nin defne (*Laurus nobilis*) yapraklarında yüksek oranda bulunması ve bu bitkinin ülkemizde yaygın olarak yetişip kolayca erişilebilir olması, söz konusu bileşiğin hem bilimsel hem de ekonomik açıdan yerel kaynaklı bir terapötik aday olarak önemini artırmaktadır.

Çalışanın amacı, 1,8-cineole'nin, kolon kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajan 5-FU ile kombine kullanımının HT-29 kolon kanseri hücre hattı üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Bu bağlamda, 1,8-cineole ile 5-FU kombinasyonunun kanser hücrelerinde proliferasyonu baskılayıcı, apoptozu indükleyici ve ilaç direncini azaltıcı etkiler gösterip göstermediği incelenecek; ayrıca kombinasyonun hücresel yanıt mekanizmaları üzerindeki rolü, apoptoz ve hücre döngüsü düzenleyici genler ile ilaç direncinde görev alan taşıyıcı proteinlerin ekspresyon profilleri üzerinden değerlendirilecektir. Ayrıca çalışma, yalnızca moleküler düzeyde bilimsel katkılar sunmakla kalmayıp, aynı zamanda yerli bitki kaynaklı bileşiklerin kanser tedavisindeki potansiyelini de ortaya koyacaktır.

Elde edilecek bulguların, kolon kanseri tedavisinde doğal bileşiklerin kemoterapiyle birlikte kullanımının sağlayabileceği sinerjistik etkilerin anlaşılmasına katkı sunması ve gelecekte daha etkili, yan etkileri azaltılmış alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ışık tutması beklenmektedir.

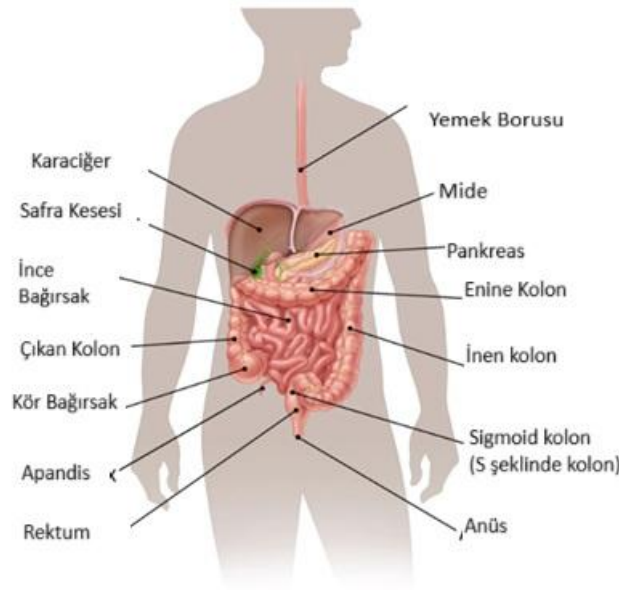
1.1. Kolonun Anatomisi ve Fizyolojik Fonksiyonları

Kolon, sindirim sisteminin önemli bir bölümünü oluşturan kalın bağırsağın ana kısmıdır. Bu yapı ince bağırsaktan sonra başlamakta olup, ortalama 1.5 metre uzunluğundadır ve dört ana bölümden oluşur.

İlk bölüm yükselen (çıkan) kolon olarak adlandırılan (ascending) ve sindirilmemiş yiyeceklerin ince bağırsaktan geldiği çekum adı verilen bir kese ile başlar, karnın (göbeğin) sağ tarafında yukarı doğru devam eder. İkinci bölüme enine (transverse) kolon denir ve vücudun sağından soluna doğru uzanır. Üçüncü bölüm sol taraftan aşağı doğru ilerlediği için inen (descending) kolon olarak adlandırılır. Dördüncü bölüm, "S" şeklinden dolayı sigmoid kolon olarak adlandırılır. Sigmoid kolon, daha sonra anüse bağlanan rektuma katılır.

Yükselen ve enine kesitler birlikte proksimal kolon olarak adlandırılır. İnen ve sigmoid kolon ise distal kolon olarak adlandırılır (Şekil 1.1).

Histolojik olarak kolon duvarı; mukozal epitel, submukozal bağ dokusu, kas tabakası ve serozadan oluşur. Kolon mukozası, su ve elektrolit Emilimi ile dışkı oluşumunda kritik rol oynarken, epitel hücreleri bariyer fonksiyonu ve bağışıklık düzenlemesinde görev alır. Ayrıca, kolonun içinde yer alan mikrobiyota, kısa zincirli yağ asitleri (örneğin bütirat) üretimi yoluyla bağışıklık hücrelerinin modülasyonu ve inflamasyonun kontrolünde önemli bir etkiye sahiptir. Bu etkileşimler kolon sağlığını korurken, bozulmaları kanser gibi patolojilerin gelişimine zemin hazırlayabilir (Gill vd., 2006; Thursby ve Juge, 2017). Kolon, aynı zamanda bağırsak hareketleri (motilite) ve otonom sinir sistemi kontrolüyle sindirim içeriğinin ilerlemesini sağlar. Ayrıca, bağırsakta bazı vitaminlerin (özellikle K vitamini ve bazı B vitaminleri) sentezinde rol oynar.



Şekil 1.1. Kolon anatomisi (URL1, 2025)

1.2. Kolon Kanseri: Tanım, Epidemiyoloji ve Önemi

Kolon kanseri, kalın bağırsak mukozasında bulunan glandüler epitel hücrelerinden köken alan malign tümörlerdir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, kolorektal kanser dünya genelinde en sık rastlanan üçüncü, kansere bağlı ölümler arasında ikinci sırada yer almaktadır (Wild vd., 2020). 2020 yılında dünya genelinde 1,9 milyondan fazla yeni kolorektal kanser vakası ve 930.000'den fazla kolorektal kanser nedeniyle ölüm gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Kolon kanseri insidansı ve mortalite oranlarında büyük coğrafi farklılıklar gözlenmiştir (Sung vd., 2021).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın (IARC) Global Cancer Observatory (GCO) platformunda 2024 yılında yayımlanan veriler, kolorektal kanserin dünya genelinde halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturduğunu bir kez daha ortaya koymaktadır. Yapılan analizlere göre, kolon kanseri vakaları toplam kanser olgularının kayda değer bir yüzdesini teşkil etmektedir. GCO 2022 verilerine göre kolorektal kanser dünya genelinde tüm yeni kanser olgularının yaklaşık %9,6'sını oluşturmaktadır. Bu oran, yaklaşık her 10 kanser tanısından birinin kolon kanseri olduğunu göstermekte ve hastalığın küresel yaygınlığına işaret etmektedir.

Bu yüksek prevalans, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde sağlık sistemlerine binen yükü artırmakta ve kolon kanserine yönelik koruyucu sağlık hizmetlerinin önemini daha da artırmaktadır. Erken tanı, kolonoskopi gibi tarama programlarının yaygınlaştırılması, toplumun yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarında yapılacak iyileştirmeler ile birlikte, kolon kanserine karşı etkili bir savunma hattı oluşturulabileceği değerlendirilmektedir. Gelişmiş ülkelerde bu tür önleme stratejileri yaygın bir şekilde uygulanırken, gelişmekte olan bölgelerde halen sınırlı düzeydedir. Bu nedenle, hastalığın bölgesel dağılımındaki farklılıklar, hem mevcut sağlık politikalarının etkililiğini sorgulamakta hem de gelecekteki kaynak planlamaları açısından önemli bir gösterge sunmaktadır.

Aşağıdaki grafikler, söz konusu bölgelerde kolon kanserinin toplam kanser vakaları içerisindeki dağılımını (Şekil 1.2) ve aynı zamanda bu kanser türünün neden olduğu ölüm oranlarını (Şekil 1.3) görsel olarak ortaya koymaktadır. Grafikler aracılığıyla, kolon kanserinin hem insidans (görülme sıklığı) hem de mortalite açısından bölgesel yoğunlukları daha somut biçimde analiz edilebilmekte ve böylece coğrafi risk profilleri

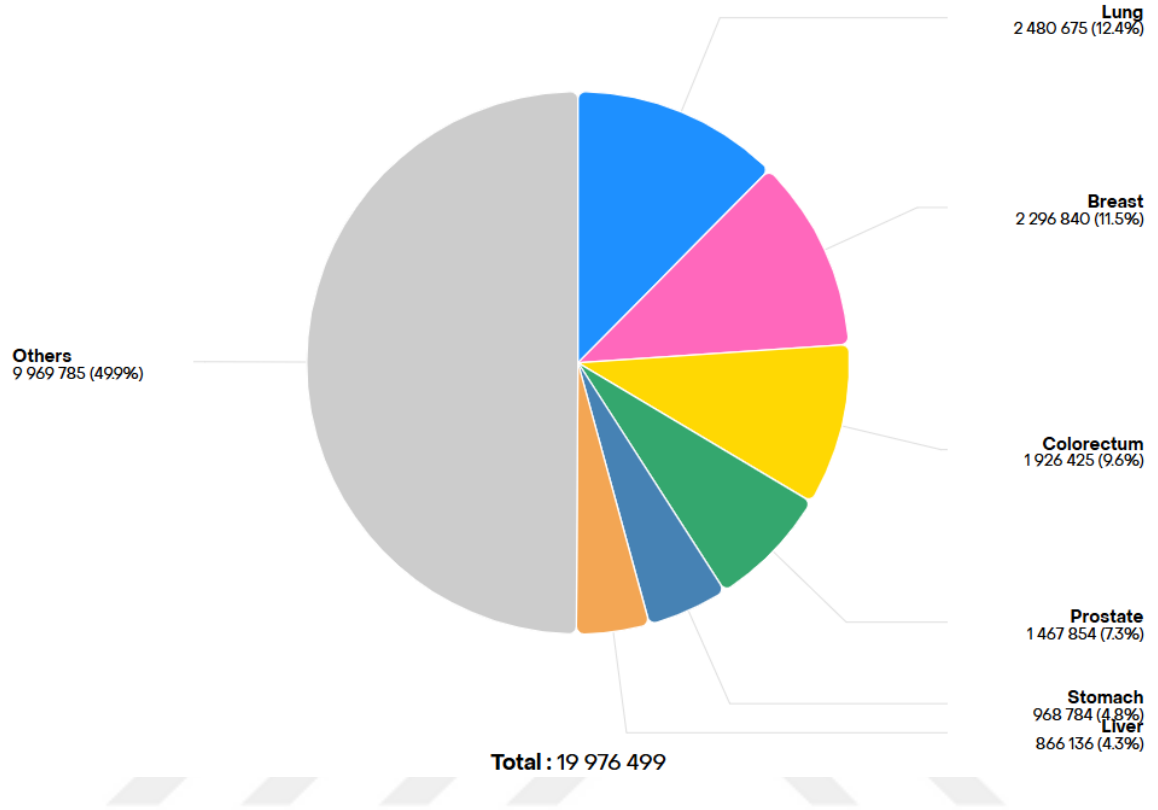
oluşturulabilmektedir. Bu tür veri görselleştirmeleri, sadece epidemiyolojik değerlendirme açısından değil, aynı zamanda ulusal ve uluslararası sağlık otoriteleri için stratejik planlamalara temel teşkil etmektedir.

Demografik değişimler de bu eğilimi pekiştirmektedir. Yaşlanan nüfus, kolon kanserinin görülme sıklığını doğrudan etkileyen temel faktörlerden biridir. Zira kolorektal kanserler, genellikle ileri yaşlarda daha sık ortaya çıkmakta ve yaşlı nüfusun artışı, hastalığın sağlık sistemleri üzerindeki yükünü belirgin biçimde artırmaktadır (Rawla vd., 2019).

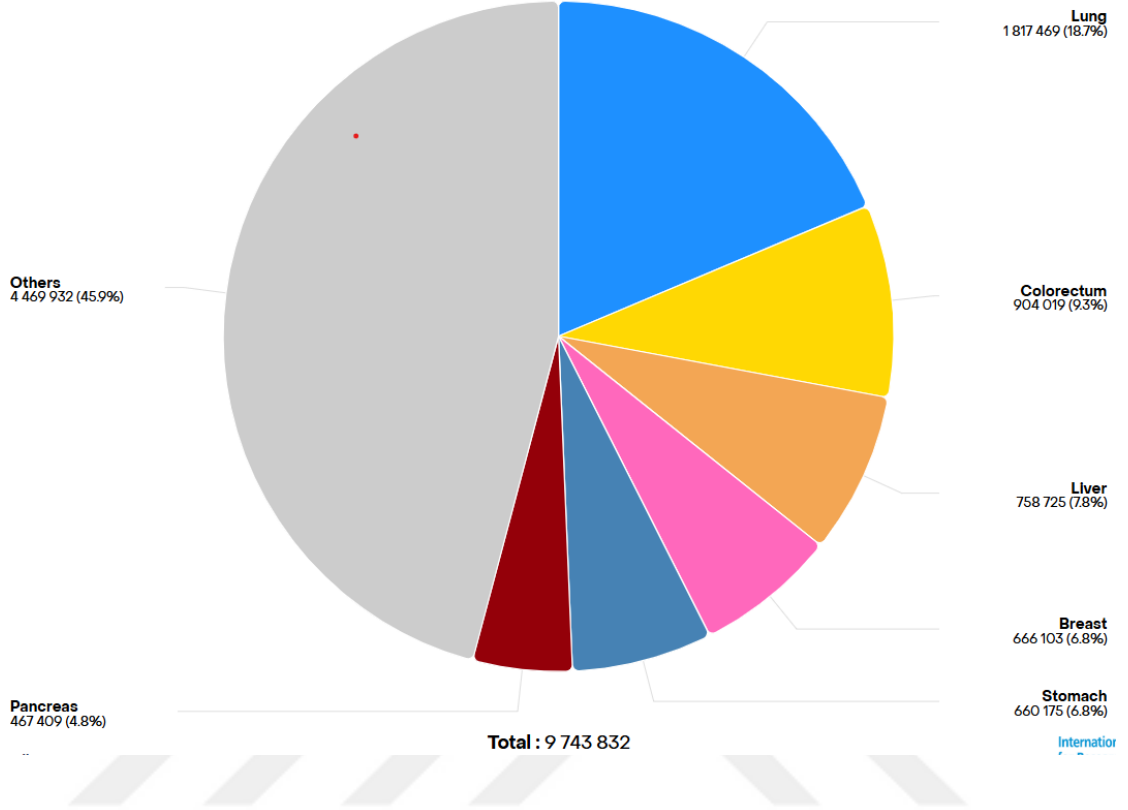
Güncel projeksiyonlar, bu küresel sağlık sorununun önümüzdeki yıllarda daha da ciddi bir boyuta ulaşacağını göstermektedir. Siegel ve arkadaşlarının (2023) tahminlerine göre, mevcut eğilimler devam ederse 2040 yılına kadar dünya genelinde kolorektal kanser vakalarının yıllık sayısının %63 artışla yaklaşık 3,2 milyona ulaşması beklenmektedir. Aynı dönemde hastalığa bağlı yıllık ölüm sayısının ise %73'lük bir artışla 1,6 milyona çıkacağı öngörülmektedir. Bu çarpıcı artış tahminleri, hem birincil koruma (önleyici stratejiler) hem de ikincil koruma (erken tanı ve tarama) yaklaşımlarının ne kadar kritik olduğunu göstermektedir (Siegel vd., 2023a).

Dolayısıyla, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde kolorektal kanserle mücadelede, yaşam tarzı değişikliklerinin teşvik edilmesi, toplumsal farkındalık kampanyalarının artırılması ve ulusal tarama programlarının yaygınlaştırılması büyük önem arz etmektedir.

Mutlak sayılar, Görölme sıklığı, Her iki cinsiyet, 2022
Kıtaları



Şekil 1.2. Seçilen popülasyonlarda kolon kanserinin toplam kanser insidansındaki oranı, 2022 yılı verileri. Mutlak vaka sayıları ve olay sıklığı, her iki cinsiyet için kıtalar bazında (URL2, 2025).



Şekil 1.3. Seçilen bölgelerde kolon kanserinin toplam kanser insidansındaki payı ve ölüm oranları, 2022 yılı verileri. Veriler her iki cinsiyeti kapsamaktadır. (URL3, 2025).

Kolorektal kanser, genellikle sinsi bir seyir izlediğinden, vakaların büyük bir kısmında tanı ileri evrelerde konulmaktadır. Hastalığın erken evrelerinde genellikle belirgin bir semptom gözlemlenmemesi, bireylerin sağlık kuruluşlarına başvurma sürecini geciktirmekte ve bu durum, tümörün ilerlemesine olanak tanımaktadır (Siegel vd., 2023a). Kolorektal kanserin başlangıç belirtileri genellikle halsizlik, karın rahatsızlığı, kilo kaybı ve dışkılama alışkanlıklarında değişiklik gibi spesifik olmayan semptomlarla sınırlı kalmakta, bu da hastalığın başka durumlarla karıştırılmasına ve tanı sürecinde gecikmelere yol açmaktadır (Vuik vd., 2019).

Hastalığın ileri evrelerde tanı alması, küratif tedavi şansını azaltmakta ve hastaların prognozunu olumsuz etkilemektedir. Yapılan çalışmalar, erken evrede tanı konan kolorektal kanser hastalarının beş yıllık sağkalım oranlarının %90'a kadar çıktığını, ancak geç evre tanılarda bu oranın %14'e kadar düştüğünü ortaya koymuştur (Jeri-Yabar vd., 2024). Bu

nedenle, toplum temelli tarama programlarının yaygınlaştırılması, özellikle 50 yaş üzeri bireylerde kolonoskopi, fleksibl sigmoidoskopi ve gaitada gizli kan testi gibi yöntemlerle erken evrede tanı konulabilmesi açısından büyük önem arz etmektedir (Wolf vd., 2018; Force vd., 2021).

Tarama programlarının etkili biçimde uygulanması, yalnızca mortaliteyi azaltmakla kalmamakta, aynı zamanda tedavi maliyetlerini düşürmekte ve yaşam kalitesini artırmaktadır. Bu bağlamda, yüksek riskli bireylerin düzenli olarak izlenmesi ve toplumun farkındalık düzeyinin artırılması, kolorektal kanserin kontrol altına alınmasında kilit stratejilerden biri olarak değerlendirilmektedir (Wolf vd., 2018).

Arnold ve arkadaşlarının (2017) gerçekleştirdiği kapsamlı analizde, dünya genelinde kolorektal kanser insidans ve mortalite oranlarının özellikle sosyoekonomik açıdan gelişmiş ülkelerde daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. Bu bulgular, gelişmiş toplumlarda hem çevresel hem de davranışsal risk faktörlerinin birikimli etkisinin altını çizmektedir. Öte yandan, sağlık sistemlerinin daha organize olması, bu ülkelerde erken tanı oranlarını da artırarak mortalitenin azaltılmasına katkıda bulunabilmektedir (Arnold vd., 2017).

1.3. Kolon Kanserinin Gelişimi

Kolorektal kanser, normal kolon epitelyumunun iyi huylu adenomlara ve oradan da malign tümörlere dönüşümünü içeren çok aşamalı bir süreçtir (Vogelstein vd., 1988). Bu evrimsel model, özellikle “adenom-karsinom sekansı” olarak adlandırılan yolak ile karakterize edilir ve kolorektal kanserin moleküler patogenezi en iyi tanımlayan model olarak kabul edilmektedir (Fearon ve Vogelstein, 1990).

Nguyen ve arkadaşları (2020), kolorektal tümörlerin gelişiminde üç ana moleküler mekanizmanın etkili olduğunu belirtmektedir; bunlar sırasıyla kromozomal instabilite (CIN), mikrosatellit instabilitesi (MSI) ve serrated (tırtıklı) yol olarak tanımlanmaktadır. Kolorektal kanserin gelişiminde en yaygın gözlenen yol, CIN olarak adlandırılan ve “adenom-karsinom sekansı” temelinde ilerleyen moleküler yoldur. Bu model, kolon mukozasındaki normal epitel hücrelerinden malign karsinomlara kadar uzanan çok aşamalı bir dönüşümü tarif eder. CIN yolunda ardışık genetik değişiklikler, hücre proliferasyonu,

farklılaşma, apoptoz ve DNA tamiri gibi temel hücresel süreçleri etkileyerek tümör oluşumunu tetikler (Fearon ve Vogelstein, 1990; Markowitz ve Bertagnolli, 2009).

Sürecin ilk adımı genellikle Adenomatous Polyposis Coli (APC) geninde meydana gelen inaktivasyonla başlar. APC, hücre proliferasyonunu baskılayan tümör supresör bir gendir ve Wnt/ β -katenin sinyal yolunun negatif düzenleyicisidir. APC kaybı, β -katenin birikimine neden olur; bu da hücre döngüsünü uyararak aşırı proliferasyona ve adenomatöz poliplerin oluşumuna zemin hazırlar (Clevers, 2006).

İlerleyen aşamalarda, hücre büyümesini ve proliferasyonu destekleyen KRAS proto-onkogeninde aktivasyon mutasyonları meydana gelir. Bu mutasyonlar, hücrelerin apoptozdan kaçınmasına ve malign transformasyona ilerlemesine katkıda bulunur (Markowitz ve Bertagnolli, 2009). Sonraki evrede, P53 gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, DNA hasarına yanıt mekanizmalarının ve hücresel kontrol noktalarının bozulmasına yol açar. Bu bozulmalar, genetik instabiliteyi artırarak kanserleşmeyi ileri seviyelere taşır. Ek olarak, TGF- β /SMAD sinyal yolundaki bozukluklar ve SMAD4 mutasyonları, tümör hücrelerinin invazif özellik kazanmasına ve metastatik kapasitenin artmasına neden olur (Zhao vd., 2018).

Bu moleküler değişikliklerin birikimi, genellikle 10 yıl veya daha uzun bir sürede kademeli olarak gerçekleşir. CIN yoluyla gelişen kolorektal kanserler, tüm olguların yaklaşık %65-70'ini oluşturur ve bu modelde erken evre adenomatöz lezyonların tarama ile tespit edilmesi, kanser gelişiminin önlenmesi açısından oldukça kritiktir (Nguyen vd., 2020).

Mikrosatellit instabilitesi (MSI) yolu, DNA uyumlu tamir (mismatch repair, MMR) sisteminde görev alan MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 gibi genlerin inaktivasyonu sonucunda ortaya çıkan genetik instabilite ile karakterizedir. Bu yol özellikle hereditör nonpolipozis kolorektal kanser ya da daha yaygın adıyla Lynch sendromu vakalarında belirgindir. MSI pozitif tümörler, yüksek mutasyon yüküne sahip olmaları nedeniyle tümör infiltratif lenfositler açısından zengindir ve bu durum, immünoterapilere karşı artmış duyarlılık ile ilişkilidir. Ayrıca bu tümörler, klasik CIN tipine sahip kolorektal tümörlere kıyasla genellikle daha düşük metastatik potansiyel gösterir ve prognozları daha iyi olarak kabul edilir (Boland ve Goel, 2010; Nguyen vd., 2020; Singh vd., 2021).

Serrated yol, kolorektal karsinogenezde daha yakın dönemde tanımlanmış alternatif bir patogeneze yoludur ve sıklıkla BRAF gen mutasyonu ile başlar. Bu yol, CpG adalarındaki DNA hipermetilasyonu ile karakterize edilen CIMP (CpG Island Methylator Phenotype) fenotipi ile ilişkilidir. CpG adacıklarının DNA hipermetilasyonu, tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına yol açarken; histon modifikasyonları da kromatin yapısının değişmesine ve gen ekspresyonunun düzensiz hale gelmesine neden olur (Issa, 2004; Esteller, 2007). Bu epigenetik değişikliklerin bir sonucu olarak, MLH1 promotor bölgesinin metilasyonu meydana gelebilir ve bu da mikrosatellit instabilitesi (MSI) ile ilişkili tümör varyantlarının gelişimine yol açabilir (De Palma vd., 2019; Aiderus vd., 2024). Serrated yol üzerinden gelişen kolorektal kanserler çoğunlukla sağ kolon yerleşimlidir ve daha hızlı ve agresif bir klinik seyir gösterebilir. Bu moleküler yol, günümüzde kolorektal kanserlerin moleküler düzeyde alt sınıflandırıldığı "Consensus Molecular Subtypes (CMS 1–4)" sisteminin anlaşılmasına da katkı sağlamıştır. Örneğin, CMS1 alt tipi, genellikle MSI-pozitif olup, immünoterapilere daha iyi yanıt verirken; CMS4 alt tipi, stromal komponenti yoğun, TGF- β aktivitesi yüksek ve prognozu en kötü olan gruptur (Guinney vd., 2015; Aiderus vd., 2024).

Tümör mikroçevresi de karsinogenezde önemli bir rol oynar. Kronik inflamasyonun hâkim olduğu bu ortamda IL-6, TNF- α ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi medyatörler aracılığıyla DNA hasarı oluşmakta; anjiyogenez, invazyon ve metastaz desteklenmektedir (Grivennikov vd., 2010). Bu nedenle inflamatuvar bağırsak hastalıkları (örneğin ülseratif kolit), kolorektal kanser için önemli bir risk faktörüdür.

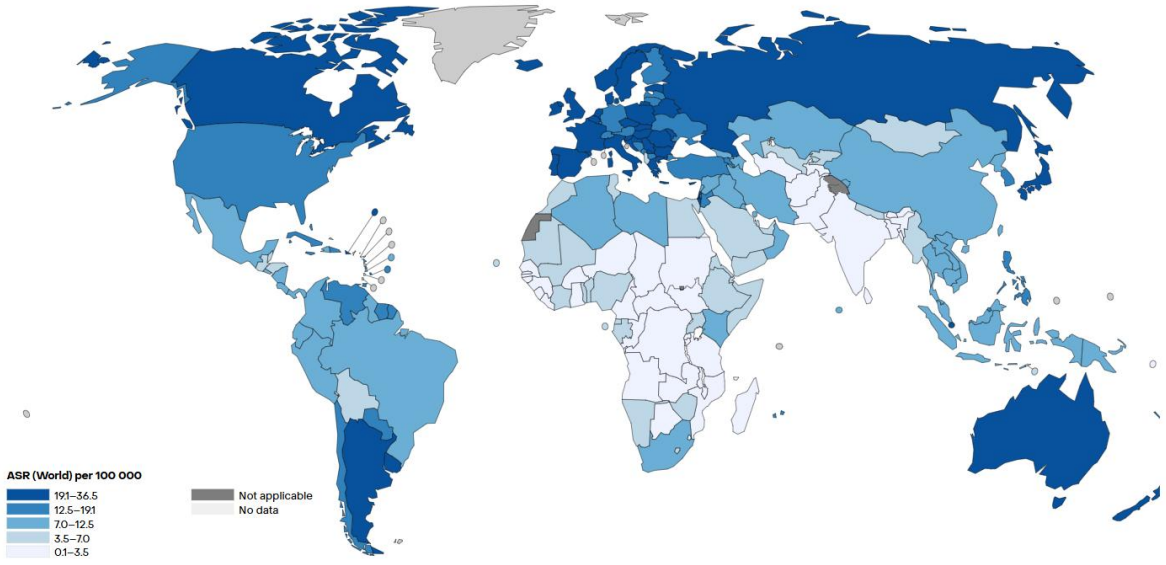
1.4. Risk Faktörleri ve Önleme Yaklaşımları

Kolorektal kanser, genetik yatkınlıkla birlikte çevresel ve yaşam tarzına bağlı faktörlerin etkileşimi sonucu gelişen kompleks ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından sunulan verilerine göre, kolorektal kanser, dünya genelinde hem erkeklerde hem de kadınlarda en sık görülen kanser türleri arasında yer almakta olup, erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre daha yüksektir (URL2, 2025). Şekil 1.4 ve Şekil 1.5, kolorektal kanserin cinsiyete göre dağılımını ve bölgesel insidans farklılıklarını görselleştirerek bu epidemiyolojik eğilimleri desteklemektedir. Bu veriler, hem primer korunma stratejilerinin hem de hedefe yönelik tarama programlarının geliştirilmesinde cinsiyet temelli farklılıkların göz önünde bulundurulmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu cinsiyete bağlı farkın temelinde,

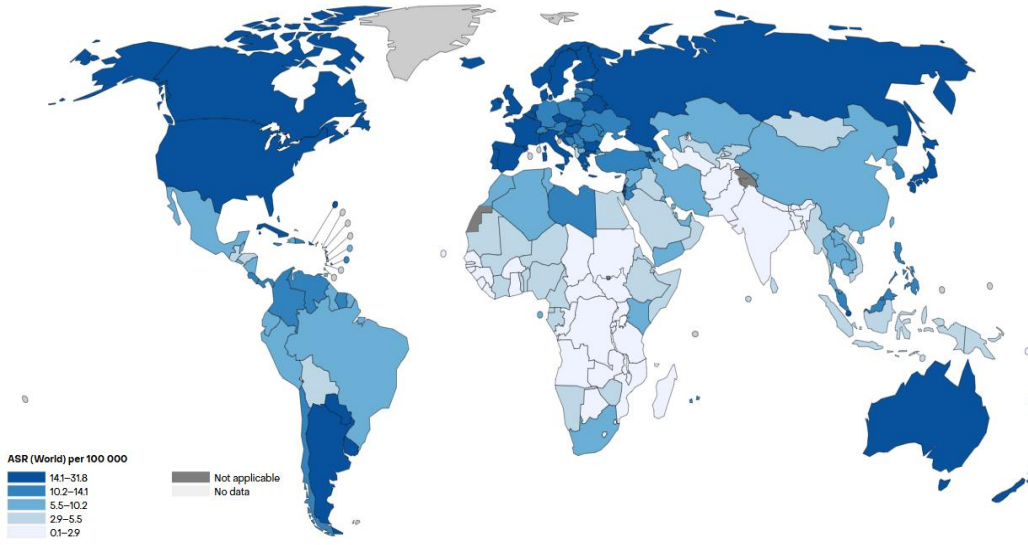
hormonal farklılıklar (özellikle östrojenin koruyucu etkisi), beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite düzeyleri, sigara ve alkol tüketim oranları gibi yaşam tarzı faktörlerinin yanı sıra genetik varyasyonlar da rol oynamaktadır (Arnold vd., 2017).

Özellikle sanayileşmiş ülkelerde, batı tipi diyet, düşük lif alımı ve fiziksel aktivite eksikliği kolorektal kanserin artışında belirleyici unsurlar arasında yer almaktadır (Rawla vd., 2019; Shams-White vd., 2019).

Yaş'a Göre Standardize Oran (Dünya) 100.000'de, insidans, Erkekler, 2022'de
Kolon



Şekil 1.4. Yaş'a göre standardize insidans oranları, erkeklerde 100.000 kişide Kolon Kanseri, 2022 (URL4, 2025)



Şekil 1.5. Yaş'a göre standardize insidans oranları, kadınlarda 100.000 kişide Kolon Kanseri, 2022 (URL5, 2025)

1.4.1 Yaşam Tarzı ve Diyet

Kolorektal kanserin gelişiminde yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları üzerinde yapılan çalışmalar, lif içeriği düşük, işlenmiş ve kırmızı et ağırlıklı, yüksek yağ oranına sahip diyetlerin kolorektal kanser riskini anlamlı şekilde artırdığını göstermektedir (Bouvard vd., 2015; Shams-White vd., 2019). Lif açısından zengin diyetlerin, bağırsak motilitesini artırarak ve kolonda karsinogenik maddelerin temas süresini azaltarak koruyucu etkiler sağladığı bilinmektedir. Öte yandan, işlenmiş etlerde bulunan nitritler ve heterosiklik aminler gibi bileşikler DNA hasarına yol açarak mutajenik etkiler gösterebilir (Bouvard vd., 2015). Ayrıca, obezite, fiziksel hareketsizlik, sigara içimi ve aşırı alkol tüketimi gibi çevresel faktörler de hastalık insidansını yükselten önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır (Johnson vd., 2013; Chen vd., 2016).

Bununla birlikte, son yıllarda benzer yaşam tarzı kalıplarının gelişmekte olan ülkelerde de benimsenmeye başlamasıyla birlikte, bu bölgelerde kolon kanseri insidansında dikkat çekici bir artış gözlemlenmektedir (Arnold vd., 2017). Özellikle kentleşme, sanayileşme ve küreselleşmenin etkisiyle geleneksel beslenme biçimlerinin terk edilmesi ve obezitenin artması, hastalığın bu bölgelerde de yaygınlaşmasına yol açmaktadır. Bu nedenle, sağlıklı

beslenme alışkanlıklarının teşvik edilmesi kolorektal kanserin önlenmesinde önemli bir strateji olarak kabul edilmektedir.

1.4.2 İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ve Beslenmenin Rolü

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH), özellikle ülseratif kolit ve Crohn hastalığı, kolonik epitelde kronik inflamasyon ve hasar oluşturarak kolorektal kanser gelişimi için önemli bir risk faktörü teşkil etmektedir (Eaden vd., 2001). Bu kronik inflamatuvar süreç, DNA hasarına, hücre proliferasyonunda artışa ve mutasyon birikimine yol açarak malign dönüşümü kolaylaştırır.

Buna karşılık, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler taşıyan besin öğelerinin, örneğin sebze ve meyveler, omega-3 yağ asitleri ve çözünür lif açısından zengin diyetlerin kolorektal kanser riskini azalttığı gösterilmiştir (Reynolds vd., 2019). Çözünür lif, bağırsakta kısa zincirli yağ asitleri üretimini destekleyerek inflamasyonu azaltır ve bağırsak sağlığını korur. Ayrıca, sağlıklı yaşam tarzı alışkanlıkları; düzenli fiziksel aktivite, dengeli beslenme ve sigara-alkol tüketiminin sınırlandırılması da kolorektal kanser önlenmesinde etkin stratejiler olarak kabul edilmektedir.

1.5. Kolorektal Kanser Erken Tanı ve Önleme Yöntemleri ile İlgili Güncel Yaklaşımlar

Kolorektal kanserin erken tanısı, hastalığın seyrini olumlu yönde etkileyerek mortaliteyi azaltmak için hayati öneme sahiptir. Günümüzde klasik tarama yöntemleri arasında kolonoskopi, radyolojik görüntüleme ve dışkıda gizli kan testi yer almakta olup, bu yöntemler erken evre lezyonların tespitinde etkinliğini kanıtlamıştır (Tsukanov vd., 2025). Ancak teknolojik gelişmelerle birlikte dışkı DNA testi, sıvı biyopsi ve yapay zeka destekli sanal tarama yöntemleri de klinik uygulamalarda yerini almaya başlamıştır. Bu yenilikçi yöntemler, invaziv olmayan, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olma potansiyeliyle erken tanı oranlarının artırılmasına katkı sağlamaktadır (Tsukanov vd., 2025).

Uzun süreli inflamasyon, özellikle İBH gibi kronik durumlar, kolonik epitelde kalıcı hasar ve displazi gelişimine neden olarak kanserleşme riskini artırmaktadır. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olan bireylerde kolorektal kanser riski belirgin şekilde yüksektir (Eaden vd.,

2001). Bu hastalıklarda oluşan oksidatif stres ve ROS DNA hasarını tetikleyerek tümör oluşum sürecini başlattığı ve desteklediği gösterilmiştir (McLean ve El-Omar, 2009).

1.6. Tedavi Seçenekleri

Gelişmiş ülkelerde uygulanan etkili tarama programları ve tanı yöntemlerindeki teknolojik ilerlemeler sayesinde, KK'ye bağlı mortalite oranlarında anlamlı düşüşler görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verileri de bu trendi doğrulamakta olup, erken teşhis yöntemleri ile birlikte multidisipliner tedavi yaklaşımlarının hastaların prognozunu olumlu yönde etkilediğini göstermektedir (Siegel vd., 2023b). Özellikle kolonoskopi gibi erken tanı araçları, cerrahi tekniklerindeki gelişmeler ve immünoterapi alanındaki yenilikler, hastaların yaşam süresi ve yaşam kalitesini önemli ölçüde artırmıştır (Wolf vd., 2018; Liu vd., 2023a; Zeineddine vd., 2023).

Gelecekte tanı ve tedavi alanında yapay zeka destekli sistemlerin yaygınlaşması, tanı doğruluğunu ve hızını artırırken, nanoteknoloji tabanlı hedefe yönelik ilaç taşıma sistemleri ise ilaçların tümör hücrelerine spesifik olarak ulaştırılması ve yan etkilerin minimize edilmesinde önemli roller üstlenecektir (Bhinder vd., 2021; Kourani vd., 2022). Bu gelişmeler, kolorektal kanser tedavisinde kişiselleştirilmiş ve etkin yaklaşımın önünü açmaktadır.

Tedavi stratejileri, hastalığın evresi, tümörün biyolojik özellikleri, metastaz durumu ve hastanın genel sağlık durumu göz önünde bulundurularak planlanır (Siegel vd., 2023b). Cerrahi rezeksiyon, erken evre kolon kanserlerinde primer tedavi yöntemi olarak kabul edilmekte ve tümörün lokal kontrolünü sağlamakta kritik rol oynamaktadır. Bununla birlikte, evre III ve IV hastalarda cerrahi tedavi genellikle sistemik tedavilerle kombine edilerek uygulanır. Bu kapsamda kemoterapi, radyoterapi, immünoterapi ve hedefe yönelik tedaviler tedavi protokolüne dahil edilir (Shaukat vd., 2021).

1.6.1 5-Fluorourasil ve Kanser

Özellikle kolorektal, mide, pankreas, meme ve baş-boyun kanseri tedavilerinde yaygın olarak kullanılan ve etkinliği bilinen, 5-FU, pirimidin analogu yapısıyla DNA ve RNA sentezini inhibe ederek hücre bölünmesini durduran, antimetabolit özellikte bir kemoterapi ajanıdır. 5-FU, kolorektal kanser tedavisinde etkili, uzun yıllardır en yaygın olarak kullanılan kemoterapi ajanlarından biridir. İlk kez 1957 yılında klinik kullanımına giren bu antimetabolit ilaç, günümüzde hem adjuvan (ameliyat sonrası) hem de metastatik evrede temel kemoterapötik ajan olarak yer almaktadır (Gmeiner ve Okechukwu, 2023).

5-FU, TS enziminin inhibitörüdür. Hücre içine urasil benzeri bir mekanizma ile alınır ve burada aktif metabolitlerine dönüşür. Bu dönüşüm iki farklı yolla gerçekleşebilir. Orotat fosforiboziltransferaz (OPRT) aracılığıyla dönüşüm, fosforibozil pirofosfat (PRPP) kullanılarak doğrudan 5-fluorouridin monofosfata (FUMP) dönüşmesidir. Diğer dönüşüm ise, üridin fosforilaz (UP) ve üridin kinaz (UK) aracılığıyla fluorouridin (FUR) aracılığıyla FUMP oluşmasıdır (Longley vd., 2003).

FUMP daha sonra ribonükleotid redüktaz (RNR) tarafından fosforile edilerek FUDP ve ardından FUTP'ye dönüşür. FUTP, RNA'ya entegre olarak transkripsiyon ve translasyonu bozar. Aynı zamanda, FUDP, florodeoksiüridin monofosfata (FdUMP) indirgenerek (TS) enzimini geri dönüşümsüz şekilde inhibe eder. TS'nin 5,10-metilen-tetrahidrofolat (CH₂THF) kofaktörüyle oluşturduğu dUMP'nin dTMP dönüşümünü engelleyerek DNA biyosentezini durdurur (Longley vd., 2003; Alzahrani vd., 2023; Gmeiner ve Okechukwu, 2023). Böylece tümör hücrelerinde apoptoz (programlı hücre ölümü) indüklenir ve tümör büyümesi baskılanır.

FdUMP'nin TS'ye bağlanması, TS-FdUMP-CH₂THF üçlü kompleksinin oluşmasına yol açar. Bu kompleks, dTMP üretimini engelleyerek deoksitimidin trifosfat (dTTP) seviyelerini azaltır. dTTP eksikliği, DNA replikasyonu ve onarımı için gerekli olan deoksinükleotid dengesini bozar ve DNA sentezini ciddi şekilde sekteye uğratar (Zhang vd., 2014; Hagenkort vd., 2017). Ayrıca, dUMP'nin birikimi sonucu oluşan dUTP, DNA'ya hatalı entegre olabilir. Bu durum, DNA dizisinde mutasyonlara ve onarılamaz hasarlara neden olur. dUTPaz enzimi (DUT), bu hatalı nükleotiti parçalayarak dUMP'ye dönüştürür ve 5-FU'nun etkisini azaltabilir (Hagenkort vd., 2017; Rodrigues vd., 2019).

5-FU, hem DNA hem de RNA hasarı yoluyla çeşitli hücresel ölüm mekanizmalarını tetikler. Bu mekanizmalar arasında apoptoz, otofaji ve ileri hasar durumlarında nekroz yer alır. Apoptoz, 5-FU'nun en karakteristik olarak aktive ettiği programlanmış hücre ölüm yoludur. 5-FU'nun DNA düzeyinde yarattığı hasar, P53 bağımlı ve P53 bağımsız yollarla apoptozisi başlatır. P53 bağımlı apoptozda, DNA hasarı sensör proteinleri aracılığıyla tümör baskılayıcı P53 aktive olur ve hücresel onarım kapasitesini aştığı durumlarda proapoptotik genlerin (örneğin Bax, PUMA, NOXA) ekspresyonunu artırır. Bu genler, mitokondri zarının geçirgenliğini artırarak sitokrom C salınımını tetikler. Sitokrom C, caspase-9'u aktive eder ve bu da caspase-3 gibi efektör kaspazların aktivasyonu ile hücreyi kontrollü şekilde yok eder (Hagenkort vd., 2017).

RNA sentezi ve katlanmasında bozulma ile birlikte endoplazmik retikulum (ER) stresine bağlı apoptotik yolaklar da devreye girer. Bu süreçte özellikle UPR (Unfolded Protein Response) yolakları devreye girer. 5-FU, ER stresine yanıt olarak CHOP/GADD153 transkripsiyon faktörünü aktive eder. CHOP (C/EBP homologous protein) veya diğer adıyla GADD153, ER stresine yanıt olarak aktive olur, Bcl-2'yi baskılar, pro-apoptotik genleri (ör. BIM, DR5) artırır. UPR'in "pro-apoptotik" aşamasında yükselir ve hücre ölümünü tetikler. Bu faktör, özellikle caspase-12 aktivasyonu üzerinden alternatif bir apoptotik yolağın başlatılmasına neden olur (Kim vd., 2016; Alzahrani vd., 2023).

Otofaji, hücresel organellerin lizozomal sistemler aracılığıyla geri dönüştürülmesini sağlar. 5-FU tedavisi sırasında ATG5, LC3B gibi otofajiyle ilişkili genlerin regülasyonu gözlenmiştir. Otofaji, başlangıçta hücre koruma yanıtı olarak devreye girse de aşırı ve düzensiz aktivasyonu hücre ölümüne de neden olabilir (Wang vd., 2022).

Eğer hücredeki enerji rezervleri tükenmişse veya hasar düzeyi kritik eşiği aşmışsa, düzenlenmemiş hücre ölümü biçimi olan nekroz meydana gelebilir. Nekroz, inflamatuvar yanıtı tetikleyen hücre içeriğinin kontrolsüz salınımına yol açar ve tümör mikroçevresinde immün aktiviteyi değiştirebilir (Zhang vd., 2014).

5-FU, özellikle ileri evre kolorektal kanser tedavisinde, tek başına ya da leucovorin, irinotekan, oksaliptatin gibi ilaçlarla kombine edilerek uygulanır (Andre vd., 2004; Van Cutsem vd., 2014). Bu kombinasyonlar, metastatik kolorektal kanser hastalarında progresyonsuz sağkalımı ve genel sağkalımı anlamlı şekilde artırmaktadır (Cheung vd.,

2008). Aynı zamanda evre II ve III hastalarda adjuvan (cerrahi sonrası) 5-FU bazlı tedaviler, hastalığın nüks riskini azaltarak yaşam süresini uzatmaktadır.

5-FU'nun terapötik etkinliğine rağmen, ciddi yan etkileri ve toksisite riskleri de mevcuttur. En yaygın görülen toksisiteler arasında iltihaplanma (mukozit), ishal, kemik iliği baskılanması (myelosupresyon), el-ayak sendromu, saç dökülmesi ve bulantı/kusma yer alır (Vodenkova vd., 2020). Nadir de olsa, kardiyotoksisite gelişebilir; bu durum göğüs ağrısı, aritmi ve miyokard enfarktüsüne neden olabilir (Sara vd., 2018). Bunun yanında, dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) enzimi eksikliği olan hastalarda 5-FU'nun toksisitesi çok daha ağır seyreder. Çünkü DPD enzimi, 5-FU'nun vücuttan atılmasında rol oynar ve eksikliği durumunda ilaç metabolize edilemediği için ciddi nörotoksik ve gastrointestinal etkiler ortaya çıkar (Gmeiner ve Okechukwu, 2023). Bu nedenle, bazı kliniklerde DPD genetik testi yapılarak hasta güvenliği artırılmaktadır.

Tüm bu verilere rağmen, 5-FU hala kolorektal kanser tedavisinin temel taşıdır. Hem tek başına hem de kombinasyon tedavilerinde etkinliği yüksektir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, 5-FU'nun tümör mikroçevresi ile etkileşimlerini, bağışıklık sistemi üzerindeki dolaylı etkilerini ve hedefe yönelik tedavilerle sinerjik kombinasyonlarını da araştırmaktadır. Güçlü antitümör etkileri bulunmasına rağmen, hematolojik, gastrointestinal, dermatolojik ve nadiren kardiyovasküler/nörolojik toksisiteler nedeniyle, bitkisel yaklaşımlarla kombine bir tedavi uygulamaları ile 5-FU dozun düşük seviyelerde uygulanması ve olası yan etkilerin azaltılması hedeflenmektedir (Anand vd., 2023; Gmeiner ve Okechukwu, 2023).

1.6.2 Alternatif Yaklaşımlarda Bitkisel Bileşiklerin Rolü

Son yıllarda kronik hastalıkların insidansındaki artış, bireyleri geleneksel tedavi yöntemlerinin yanı sıra tamamlayıcı ve alternatif tıp yaklaşımlarına yönlendirmiştir. Bu yaklaşımlar içerisinde bitkisel kökenli biyoaktif bileşikler, doğadan türetilmiş terapötik ajanlar olarak ön plana çıkmaktadır. Bu bileşikler, geniş farmakolojik etkileri, çok yönlü hücresel hedefleri ve biyolojik aktiviteleri, genellikle düşük toksisiteleri sayesinde konvansiyonel tedavilere alternatif ya da tamamlayıcı olarak değerlendirilmektedir.

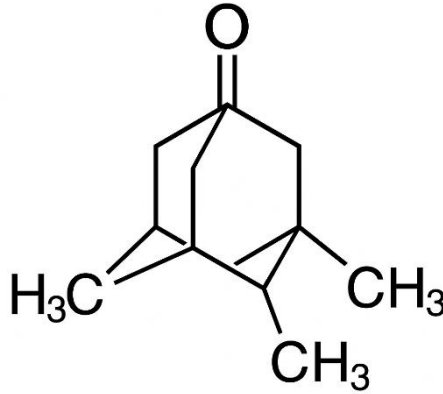
Bitkisel kökenli fitokimyasallar yalnızca semptomları hafifletmekle kalmayıp, aynı zamanda hastalıkların temelinde yer alan moleküler bozukluklara da müdahale edebilir. Birçok fitokimyasal bileşik hücre içi sinyal yollarını modüle ederek oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz gibi süreçleri etkileyebilir. Bu özellikleriyle kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kompleks patolojilerin kontrolünde potansiyel tedavi araçları olarak değerlendirilmektedir (Xiao vd., 2021). Örneğin Kurkumin gibi doğal bileşikler, çeşitli sistemlerde güçlü bir antioksidan ve anti-inflamatuar ajan olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarla, kurkuminin tümör oluşumunu, ilerlemesini ve metastazını baskılayabileceği gösterilmiştir (Lopez-Lazaro, 2008).

Geleneksel kemoterapötik ajanlar, önemli bir antikanser ajanı olmasına rağmen, kanser hücrelerinin çoklu ilaç direnci (ing. Multiple Drug Resistance; MDR), doza bağlı yan etkiler ve sağlıklı hücrelere olan toksik etkileri sebepleri ile tedavide sınırlı kalabilmektedir. Diğer bir taraftan kanser hücreleri kemoterapötik ilaçları hücre içinden dışarı pompalayan proteinler üreterek (örneğin ABCB1, ABCC1 vb.), DNA'larında değişiklikler yaparak veya farklı biyokimyasal yollar geliştirerek apoptoza karşı direnç gösterebilir. Bu durum kemoterapi ilaçlarına karşı duyarsızlığı artırarak, tedaviye cevabı kısıtlar (Ahmed vd., 2020; Xiao vd., 2021). Bu bağlamda, etkili, düşük toksisiteye sahip, hedefe özgü ve çoklu etki mekanizmaları barındıran yeni ilaçların geliştirilmesi, kanser tedavisi açısından stratejik öneme sahiptir (Onar vd., 2023).

Bitkisel kaynaklı bileşiklerin dikkat çeken bir diğer yönü de, kemoterapi gibi agresif tedavi protokollerine karşı gelişen ilaç direncini azaltma yetenekleridir. Örneğin yapılan çalışmalarla, bitkilerde doğal olarak bulunan furanokumarinlerin, apoptozun indüklenmesi, hücre döngüsünde duraklama, otofaji aktivasyonu, anti-metastatik ve anti-anjiyogenik etkiler gibi çok yönlü mekanizmalarla tümör hücrelerini hedef aldığı gösterilmiştir. Ayrıca, NF- κ B, PI3K/Akt ve P53 gibi temel sinyal yollarını modüle ederek çoklu ilaç direncine karşı da etkili olabilecekleri bildirilmiştir (Ahmed vd., 2020). Ayrıca, bazı doğal bileşiklerin kemoterapi ilaçlarıyla kombine kullanıldığında terapötik sinerji oluşturabildikleri, tedavi yanıtını artırabildikleri, toksisiteyi azaltarak sağlıklı dokuları koruyabildikleri bildirilmektedir. Özellikle furanokumarinlerin, karaciğerde CYP3A4 enzimi üzerinden ilaç metabolizmasını düzenleyerek biyoyararlanımı iyileştirebileceği vurgulanmıştır (Ahmed vd., 2020). Fitokimyasallar son yıllarda, kanser tedavisinde alternatif veya tamamlayıcı ajanlar olarak, araştırmacıların ilgisini çekmiştir (Cragg ve Newman, 2013).

1.7. 1,8-Cineole

1,8-cineole, özellikle *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis* (defne), *Rosmarinus officinalis* (biberiye) ve *Zingiber officinale* (zencefil) gibi bitkilerin uçucu yağlarında yüksek oranda bulunan bir monoterpen türüdür. Uçucu yağların ana bileşenlerinden biri olan bu doğal bileşik, yaygın olarak esansiyel yağlarda bulunur (Şekil 1.6). Kimyasal formülü $C_{10}H_{18}O$ olan 1,8-cineole, halkalı yapıda bir siklik eter olup hafif ve nane benzeri ferahlatıcı bir kokuya sahiptir. Moleküldeki oksijen atomunun halkalı bir yapı içinde yer alması, bu bileşiğin uçucu ve lipofilik özellikler göstermesini sağlar. Özellikle *Eucalyptus* türlerinin uçucu yağlarında %60–90 oranında bulunabilir. Ayrıca *Salvia officinalis* (adaçayı), *Thymus vulgaris* (kekik) ve *Laurus* türleri gibi diğer aromatik bitkilerde de yüksek oranlarda yer almaktadır.



Şekil 1.6. 1,8-cineole 3D görüntü

1.7.1 1,8-Cineole'nin Farmakolojik ve Terapötik Özellikleri

1,8-cineole, çok çeşitli farmakolojik ve biyolojik aktivitelere sahiptir. 1,8-cineole içeren bitkiler, tarih boyunca geleneksel tıpta soğuk algınlığı başta olmak üzere solunum yolu rahatsızlıkları, sindirim sistemi problemleri, ateş, enfeksiyonlar, astım, romatizmal hastalıklar ve cilt sorunlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bileşik; antimikrobiyal, antiviral, anti-inflamatuvar, bronkodilatör ve ekspektoran (balgam söktürücü) etkileri nedeniyle özellikle solunum yolları hastalıklarında tercih edilmektedir. Bu bileşik, gıda sektöründe, kozmetik ve parfüm ürünlerinde, ayrıca farmasötik alanlarda yaygın bir şekilde yer almaktadır. Bu etkileri yalnızca laboratuvar ve hayvan deneylerinde değil, aynı zamanda

klirik araştırmalarla da desteklenmiştir. Günümüzde 1,8-cineole içeren çeşitli tıbbi ürünler ve takviye edici gıdalar piyasada bulunmaktadır (Navratilova, 2024).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, 1,8-cineole'nin yalnızca geleneksel kullanım alanlarıyla sınırlı kalmadığını, aynı zamanda antikanser potansiyele sahip bir bileşik olduğunu göstermektedir. Kanser hücreleri üzerinde; apoptoz indüksiyonu, hücre proliferasyonunun baskılanması, oksidatif stres artırımını ve sinyal iletim yolaklarının modülasyonu gibi etkileriyle dikkat çekmektedir (Juergens vd., 2003; Miguel, 2010). Bu  zellikleri sayesinde 1,8-cineole, günümüzde çeşitli farmasötik araştırmalarda kemoterapiye yardımcı ya da alternatif bir bileşik olarak değerlendirilmektedir. Antioksidan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkilerinin yanı sıra düşük toksisiteye sahip olması, terapötik değerini daha da artırmaktadır (Navratilova, 2024).

1.7.2 1,8-Cineole ve Kanser

Kanser, çok hücreli organizmalarda hücre büyüme ve ölüm dengesinin bozulması sonucu gelişen karmaşık bir hastalıktır. Programlanmış hücre ölümü olan apoptoz, doku homeostazının korunmasında ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde kritik bir mekanizmadır (Elmore, 2007). Apoptoz, sitoplazma büzüşmesi, DNA parçalanması ve apoptotik cisimciklerin oluşumu ile karakterize edilen enerjiye bağlı kontrollü hücre  l m d r. Bu süreçteki dengesizlikler kanser, otoimmün hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklara yol açabilmektedir. 1,8-cineole, doğal bir monoterpen olarak çeşitli kanser türlerinde antikanser etkiler sergileyen önemli bir bileşiktir. Hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde, tümör hücrelerinde büyüme inhibisyonu ve proliferasyonun azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (Juergens vd., 2003; Miguel, 2010).

1.7.3 1,8-Cineole'nin Antikanser Etki Mekanizması

1,8-cineole, antikanser etkilerini başlıca mitokondriyal (intrinsik) apoptoz yolunu aktive ederek göstermektedir. Bu süreçte pro-apoptotik Bax proteininin ekspresyonu artarken, anti-apoptotik Bcl-2 seviyeleri azalmaktadır. Bax/Bcl-2 oranındaki bu değişim, mitokondri dış zar geçirgenliğini artırarak sitokrom C'nin sitozole salınmasına yol açar. Sitokrom C, apoptotik proteaz aktivasyon faktörü-1 (APAF-1) ile birleşerek apoptosom kompleksini oluşturur ve prokaspaz-9'un aktif forma (kaspaz-9) dönüşmesini sağlar. Ardından, yürütücü

kaspazlardan biri olan kaspaz-3 aktive olur ve DNA parçalanmasından sorumlu CAD (caspase-activated DNase) enzimini serbest bırakarak hücrelölümü başlatır (Elmore, 2007). Mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması, p38 MAPK sinyal yolunun aktivasyonu, kaspaz-3 ve PARP proteinlerinin parçalanarak, DNA onarım mekanizmalarının devre dışı kalması da, 1,8-cineole'nin apoptotik etkilerini pekiştiren mekanizmalar arasında yer almaktadır (Murata vd., 2013)

A2780 over kanseri hücrelerinde yapılan çalışmalarda, 1,8-cineole'nin hücre döngüsünde pre-G1 fazında birikimi artırdığı, bu sayede apoptozu indüklediği belirlenmiştir. Aynı çalışmada, normal MRC-5 fibroblast hücrelerine kıyasla yaklaşık 42 kat daha yüksek seçici sitotoksosite gösterdiği saptanmıştır (Murata vd., 2013; Abdalla vd., 2020). Bu seçicilik özelliği, 1,8-cineole'yi kanser tedavisinde potansiyel bir aday haline getirmektedir.

Prostat kanseri modellerinde, 1,8-cineole uygulaması sonucunda testosteron ve DHT düzeylerinde azalma, inflamatuvar mediatörlerde (IL-1 β , TNF- α , VEGF-A, PCNA, TGF- β 1) düşüş ve oksidatif stresin hafiflemesi gibi faydalı etkiler gözlenmiştir (Al-Trad vd., 2025). Benzer şekilde, A431 skuamöz hücreli karsinom hücrelerinde G2/M fazında hücre döngüsünü durdurduğu ve bu etkinin P53 sinyal yolunun yukarı regülasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Moleküler docking analizleri, 1,8-cineole'nin çeşitli hücre içi proteinlere yüksek afiniteyle bağlandığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, bileşiğin hedefe yönelik antikanser ajan olarak kullanım potansiyelini desteklemektedir (Sampath vd., 2018). HepG2 karaciğer kanseri hücrelerinde yapılan çalışmalarda ise 1,8-cineole'nin G0/G1 fazında hücre döngüsünü durdurduğu, hücrelölümüne tetiklediği ve oksidatif stres ile çeşitli sinyal yolları (AMPK, MAPK, Akt/mTOR) üzerinde düzenleyici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu mekanizmalar, bileşiğin hepatoselüler karsinom tedavisinde potansiyel bir ajan olarak değerlendirilmesini desteklemektedir (Rodenak-Kladniew vd., 2020a).

1.7.3 1,8-Cineole'nin İnflamasyon ve Oksidatif Strese Etkisi

1,8-cineole, yalnızca apoptoz indükleyici özelliğiyle değil, aynı zamanda inflamatuvar süreçlerin ve oksidatif stresin düzenlenmesindeki etkileriyle de öne çıkan çok yönlü bir doğal bileşiktir. Anti-inflamatuvar ve immünmodülatör özellikleri sayesinde; özellikle kolon, karaciğer ve mide gibi çeşitli gastrointestinal kanserlerin önlenmesinde veya ilerlemesinin yavaşlatılmasında önemli bir terapötik potansiyele sahiptir. Klinik çalışmalarda, şiddetli astım hastalarında sitokin üretimini baskılayarak steroid ihtiyacını azaltması gibi etkilerle de bu mekanizmaların önemi desteklenmiştir (Juergens vd., 2003).

Makrofaj hücrelerinde gerçekleştirilen çalışmalarda, 1,8-cineole'nin NO, ROS ve proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6, IL-1 β) üretimini azalttığı gözlemlenmiştir. Bu etkiler, iNOS inhibisyonu, MAPK/ERK ve NF- κ B sinyal yollarının baskılanması ile gerçekleşirken; aynı zamanda NRF2/HO-1 yolunun aktivasyonu ile hücrel antioksidan savunma sistemi güçlenmektedir (Lin vd., 2024).

Kolorektal kanser hücre hatları (HT-29, HCT-116, RKO) üzerinde yapılan çalışmalar, 1,8-cineole'nin hücre proliferasyonunu doz ve zamana bağlı olarak baskıladığını ve mitokondriyal apoptotik yolları aktive ederek programlanmış hücre ölümünü indüklediğini ortaya koymuştur. Bu süreç, hücre içi stresin artması, DNA hasarı, ROS birikimi ve Akt/survivin gibi anti-apoptotik sinyallerin baskılanması ile başlamaktadır (Murata vd., 2013).

Genel olarak değerlendirildiğinde, 1,8-cineole; apoptozu tetikleme, hücre döngüsünü durdurma ve inflamatuvar-oksidatif yanıtları düzenleme yoluyla tümör hücreleri üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturur. Bu özellikleri, kemoterapiye karşı gelişen çoklu ilaç direncinin aşılmasında, tedaviye bağlı toksisitelerin azaltılmasında ve kemoterapötik etkinliğin artırılmasında tamamlayıcı ajan olarak kullanılmasına olanak tanımaktadır.

1.8. Tedaviye Yanıt ve Direnç Problemleri

Kolon kanseri gelişiminin büyük bir çoğunluğu sporadiktir. Hücrelerde biriken mutasyonlar hücrel süreçlerin patolojik gelişimine destek verir ve kanserli hücreler uygun şartlarda kendilerine bir alan oluşturur. Kanser tedavisinde karşılaşılan en büyük sorunlardan biri,

tümör hücrelerinin kemoterapiye veya hedefe yönelik ajanlara karşı geliştirdiği dirençtir. Özellikle kolorektal kanser gibi tedavi süreci uzun ve çok basamaklı olan malignitelerde, hastalık tekrarı ve progresyonun arkasındaki temel neden tedaviye yanıtızsılıktır. Bu kısımda kolon kanseri gelişiminde rol olan genlerden bazılarının işleyişi ve hücrel süreçlerdeki önemi ele alınacaktır.

1.8.1 Çoklu İlaç Direnci

MDR, kanser hücrelerinin farklı yapı ve mekanizmalara sahip birden fazla ilaca karşı direnç geliştirmesi anlamına gelir. Kolorektal kanser gibi katı tümörlerde tedaviye karşı gelişen direnç, hastalık yönetiminde karşılaşılan en büyük zorluklardan biridir. Bu direnç çoğunlukla çoklu ilaç direnci ve apoptoz mekanizmalarının devre dışı bırakılmasıyla ilişkilidir. Hücrelerin kemoterapiye karşı dayanıklılık geliştirmesi, moleküler seviyede bir dizi karmaşık adaptasyonla sağlanmaktadır (Gottesman vd., 2016).

En yaygın mekanizmalardan biri, ATP-bağımlı taşıyıcı proteinler (ABC transportörleri)'dir. MDR, genellikle ilaçların hücre dışına taşınmasını sağlayan ATP-bağımlı taşıyıcı proteinlerin (ABC transporter ailesi) aşırı ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu proteinler arasında en çok çalışılmalardan ABCB1 (P-glikoprotein), ABCC1 (MRP1) ve ABCG2 (BCRP), proteinler, hücre zarında yer alan ve ATP hidroliziyle çeşitli substratların (ilaçlar, lipitler, toksinler vb.) hücre dışına atılımını sağlamaktadır. Bu özellik karaciğer, böbrek, beyin ve bağırsak gibi detoksifikasyon ve bariyer görevli organlarda oldukça önemlidir. Özellikle bağırsakta bulunan ABC genleri (özellikle ABCB1) ilaçların emilimini sınırladığı durumlarda, kullanılan ilaçlardan biyoyararlanımını etkileyebilmektedir (Marin vd., 2020). Birçok kemoterapi ilacını hücre dışına pompalayarak hücre içi ilaç birikimini azaltması, kemoterapötik ajanların hücre içinde etkili konsantrasyonlara ulaşmasını engelleyerek MDR oluşturmaktadır. Bu da ilacın sitotoksik etkisini önemli ölçüde sınır ve tedaviye direnç geliştirmesine neden olur (Szakacs vd., 2006). Klinik gözlemler, bu taşıyıcıların ekspresyonunun özellikle tedavi sonrası tümörlerde belirgin şekilde arttığını göstermektedir (Gottesman vd., 2016; Li vd., 2017).

Hücrelerin hayatta kalmasını, çoğalmasını ve stres yanıtlarını düzenleyen önemli iletişim sistemlerinden olan NF- κ B, PI3K/AKT ve MAPK/ERK gibi sinyal yolları, ABC genlerinin transkripsiyonel aktivitesini artırarak taşıyıcı proteinlerin ekspresyonunu düzenler.

Kemoterapiye maruziyet süresinde bu sinyal yollarının aktivasyonu, hücrelerde ABC taşıyıcılarının artmasına ve ilaç direncinin gelişmesine katkıda bulunur. Böylece kemoterapi etkinliği azalır, hastanın tedaviye yanıtı zorlaşır (Wang vd., 2019).

FOXM1 proteini, kolorektal kanser hücrelerinde 5-FU direncinin artmasına aracılık eden önemli bir transkripsiyon faktörüdür. FOXM1, kolorektal kanser hücrelerinde 5-FU direncini artırmak amacıyla ABCC10 geninin promotörüne doğrudan bağlanır. Bu bağlanma, ABCC10 geninin ekspresyonunu artırır ve böylece kanser hücreleri, 5-FU ilaç moleküllerini hücre dışına atarak ilaca karşı direnç kazanır (Xie vd., 2017). Tecza ve ekibi, kanser tedavisinde kişiye özel yaklaşımlarını geliştirmek için çoklu genetik polimorfizmden oluşan bir model ortaya koymuş ve bu model ile meme kanseri hastalarında Florourasil, Adriamisin ve Sitoksan (FAC) kemoterapisine hastaların tedaviye verdiği yanıtı ve yan etkilerinin genetik kökenlerini incelemiştir (Tecza vd., 2016). Bu araştırmalar, FAC kemoterapisi sırasında tedaviye verilen yanıtın, ilaç taşıyıcıları (ABCB1, ABCC2, ABCG2 gibi), DNA onarım mekanizmalarında görev alan proteinler (ERCC1/2, XRCC1) ve ilaç metabolizmasına ilişkin genlerdeki (TYMS, DPYD) genetik varyasyonlarla yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu genetik farklılıklar, özellikle TNBC hastalarında 5-FU içeren FAC tedavisini daha iyi tolere eden bireylerin belirlenmesinde önemli bir rehber olabilir (Tecza vd., 2018).

Bir diğer önemli direnç mekanizması, apoptozun yani programlanmış hücre ölümünün engellenmesidir. Normal şartlarda, DNA hasarı ve hücre içi stres gibi uyarılar, P53 tümör baskılayıcı proteinin aktivasyonu aracılığıyla hücre ölümünü başlatır. Ancak birçok tümörde P53'ün mutasyona uğraması veya fonksiyonel inaktivasyonu, apoptoz sinyalinin iletilmesini engeller. Aynı zamanda Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin artışı, Bax ve caspase-9 gibi pro-apoptotik faktörlerin etkinliğini baskılar. Bu durum, hücrelerin mitokondriyal yolla apoptoza gitmesini önlerken, tedaviye dirençli canlı bir hücre popülasyonunun korunmasına olanak tanır (Neophytou vd., 2021; Kulbay vd., 2022).

Bcl-2 proteini, hücre içinde apoptoz sürecini engelleyen önemli bir anti-apoptotik faktördür. Hücrenin yaşamasını destekleyerek programlı hücre ölümünü önler. Mitokondri zarında bulunan Bcl-2, mitokondriden sitokrom c gibi pro-apoptotik moleküllerin sitozole salınımını engeller. Böylece apoptotik kaskadın başlamasını engelleyerek hücrenin hayatta kalmasını sağlar. Kanser hücrelerinde Bcl-2 proteininin aşırı ekspresyonu, hücrelerin apoptozdan

kaçmasına ve tedaviye direnç göstermesine yol açar (Cory ve Adams, 2002; Youle ve Strasser, 2008).

Bax proteini ise Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik üyelerinden biridir ve hücre ölümü sinyalini destekler. Normal koşullarda sitozolde monomerik halde bulunan Bax, apoptotik sinyal aldığında mitokondri dış zarına geçerek porlar oluşturur. Bu porlar aracılığıyla sitokrom c gibi pro-apoptotik faktörlerin sitozole salınımı gerçekleşir ve bu durum apoptotik kaskadın aktive olmasına neden olur. Sonuç olarak, Bax proteini hücrenin programlı ölümünü tetikler (Youle ve Strasser, 2008; Qian vd., 2022).

Hücrede Bcl-2 ve Bax proteinlerinin oranı, hücrenin yaşam veya ölüm kararını belirleyen kritik bir faktördür. Yüksek Bcl-2/Bax oranı hücrelerin apoptoza dirençli olmasını sağlarken, düşük oran hücre ölümünü kolaylaştırır. Kanser hücrelerinde sıklıkla Bcl-2 proteini yüksek, Bax proteini ise düşük seviyelerde bulunur; bu durum, hücrelerin uzun süre yaşamasına ve kemoterapi gibi tedavilere karşı direnç göstermesine yol açar (Qian vd., 2022).

Caspase-9, hücrelerin programlı ölümü olan apoptozun mitokondriyal yol üzerinden başlamasında kritik rol oynayan bir enzimdir. Apoptoz sürecinde, mitokondriden sitokrom c salındıktan sonra, apoptosom adı verilen bir protein kompleksi oluşur. Caspase-9 bu kompleks içinde aktive olur ve aktif hale geçer. Aktif caspase-9, daha sonra diğer etkili kaspazlar özellikle caspase-3'ü aktive ederek, hücrenin ölüm sürecini başlatır (Li ve Yuan, 2008).

Kolorektal kanser hücrelerinde ise, caspase-9'un işlevinde azalma ya da genetik olarak baskılanması, apoptozun yeterince gerçekleşmemesine neden olur. Bu durum, kanser hücrelerinin kendini yok etme mekanizmasının zayıflaması anlamına gelir. Sonuç olarak, hücreler ölmek yerine yaşamaya devam eder ve bu da kemoterapi gibi tedavilere karşı direnç gelişimine yol açar. caspase-9'un yetersiz çalışması, kanser hücrelerinin ilaçlara karşı direnç kazanmasını kolaylaştırır (Kim vd., 2015).

P53 geni, vücuttaki en önemli tümör baskılayıcı genlerden biridir ve P53 proteini olarak bilinen bir transkripsiyon faktörünü kodlar. P53 proteini, hücrelerin genetik materyalinde (DNA'da) oluşan hasarları algılayarak, hücre döngüsünü durdurma, DNA onarım mekanizmalarını aktive etme veya hasar tamir edilemeyecek kadar ağırsa programlı hücre

ölümü (apoptoz) sürecini başlatma görevlerini üstlenir. Böylece, P53, hücrelerin genom bütünlüğünü korur ve kanser gelişimini engeller. Bu nedenle P53, genetik stabilitenin ve hücresel sağlığın korunmasında kritik bir rol oynar (Vousden ve Prives, 2009).

Kolorektal kanser vakalarının yaklaşık yarısında P53 geninde mutasyonlar tespit edilmiştir. Bu mutasyonlar, P53 proteininin görevini düzgün şekilde yerine getirememesine yol açar. Sonuç olarak, DNA hasarına rağmen hücre döngüsünün kontrolsüz şekilde devam etmesi sağlanır. Hasarlı DNA tamir edilmeden çoğalır ve birikir; bu süreç, hücrelerin aşırı ve kontrolsüz çoğalmasına zemin hazırlayarak malign tümörlerin oluşumuna katkıda bulunur. TP53 mutasyonları, kanser gelişiminin erken evrelerinde kritik bir rol oynar ve aynı zamanda kanser hücrelerinin tedaviye karşı direnç kazanmasında etkili olabilir. P53 geni normalde hücreyi korurken, mutasyonları kanserin ilerlemesini kolaylaştırır. Bu yüzden P53 mutasyonları, kolorektal kanser gibi birçok kanser türünde hastalığın kötü seyrinin önemli bir göstergesidir (Fearon ve Vogelstein, 1990).

Bu temel mekanizmaların yanı sıra, DNA hasar onarım sistemlerinin (özellikle NER - Nükleotid Eksizyon Onarımı, MMR - Mismatch Repair, ve HR - Homolog Rekombinasyon) aşırı etkinliği de tedavi direncini destekler. Kemoterapötik ajanların DNA üzerindeki etkileri, bu onarım sistemleri tarafından hızla ortadan kaldırıldığında, hücre hayatta kalır ve çoğalmaya devam eder. Ek olarak, epitel-mezenkimal geçiş (EMT), tümör mikroçevresi ile etkileşimler, epigenetik yeniden programlama ve mikroRNA'ların regülasyonu, tedaviye dirençte rol oynayan diğer önemli moleküler süreçler arasında yer alır. Bu faktörler, hem hücresel fenotipin değişmesine hem de immün sistemin tümöre karşı etkinliğinin azalmasına katkıda bulunur (Li vd., 2017).

Bu moleküler düzeydeki direnç mekanizmalarının anlaşılması, klasik kemoterapilere olan bağımlılığın azaltılmasına ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Özellikle MDR taşıyıcılarının inhibitörlerinin geliştirilmesi ve apoptotik yolların yeniden aktive edilmesi, tedavi etkinliğini artırmak adına umut verici yaklaşımlar arasında gösterilmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Son yıllarda, bitkisel bileşiklerin de kanser tedavisinde kullanımı üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Özellikle ilaç direncini bitkisel kaynaklı bileşenlerin baskıladığı gösterilmektedir (Liu vd., 2024). Bitkisel bileşikler, antikanser, anti-enflamatuar, analjezik, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahiptir. 1,8-cineole (okaluptol), defne gibi bazı bitkisel yağlarda bulunan doğal bir monoterpen bileşiğidir. Araştırmalar, 1,8-cineole'nin antikanser özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bu bileşik, kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebilir, apoptozu indükleyebilir ve kemoterapi ilaçlarıyla sinerjik etkiler gösterebilir (Murata vd., 2013).

Liu ve arkadaşları, 1,8-cineole'nin DR üzerindeki koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında 1,8-cineole tedavisinin hem yüksek glikoz (HG) kaynaklı ARPE-19 hücrelerinde hem de DM farelerinin retinal dokularında çeşitli genlerin ifadesini değiştirebileceğini ve ferroptozu inhibe edebileceğini rapor etmiştir. Yapılan moleküler çalışmalar 1,8 cineolenin tiyoredoksinle etkileşen protein (TXNIP) ifadesini önemli ölçüde yukarı düzenlendiğini, peroksisom proliferatörle aktive edilen reseptör γ 'nin (PPAR- γ) ifadesini ise HG kaynaklı ARPE-19 hücrelerinde önemli ölçüde aşağı düzenlendiğini göstermiştir. Bu sonuçlar 1,8-cineole ile tedavinin bu değişiklikleri etkili bir şekilde tersine çevirebileceğini ortaya koymaktadır. Araştırmacılar PPAR- γ farmakolojik agonisti (rosiglitazon) ile tedavi, tek başına veya 1,8-cineole ile birlikte, HG kaynaklı ARPE-19 hücrelerinde TXNIP transkripsiyonunu ve ferroptozu önemli ölçüde inhibe ettiğini bildirmektedir. Mevcut bulgular, retinal dokuda HG kaynaklı ferroptozun, 1,8-cineole ile iyileştirilebilen DR patogenezinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Liu vd., 2023b).

Rodenak-Kladniew ve arkadaşlarının çalışmasında, 1,8-cineole'nin etki mekanizmaları ve HepG2 hücrelerinde “yaşlanma karşıtı” özellikler taşıyan antikanser bileşiklerle kombinasyonunun potansiyel faydası incelenmiştir. Sonuçlar, 1,8-cineole'nin G0/G1 fazında hücre döngüsü tutuklanmasını teşvik ederek hücre proliferasyonunu engellediğini ve hücre senesansı indüklediğini göstermiştir. Ayrıca, 1,8-cineole'nin uygulamasının hücre içi ROS üretimini artırdığı; AMPK, ERK ve p38 kinazların aktivasyonunu desteklediği ve mTOR sinyal yolunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Antioksidanlar olan N-asetil-L-sistein ve vitaminlerin, 1,8-cineole'nin HepG2 hücre büyümesini inhibe etme ve senesans indüksiyonu etkilerini engellediği gözlemlenmiştir. Ön inkübasyon ile uygulanan 1,8-cineole, HepG2

hücrelerini kuersetin, simvastatin, U0126 ve SB202190 gibi yaşlanma karşıtı (anti-sensans) bileşiklere karşı duyarlı hale getirmiştir. Bu bileşiklerin 1,8-cineole ile kombinasyonu, hücre canlılığında sinerjik bir inhibisyon sağlamış ve özellikle 1,8-cineole ile simvastatin kombinasyonu apoptozun indüksiyonuna yol açmıştır. Çalışmanın sonunda, 1,8-cineole'nin oksidatif stres ve MAPK, AMPK ile Akt/mTOR sinyal yolları aracılığıyla HepG2 hücrelerinde G0/G1 fazında duraklama ve senesans indükleyerek, hücreleri yaşlanma karşıtı ilaçlara karşı duyarlı hale getirdiği; bu mekanizmaların, 1,8-cineole'nin hepatoselüler karsinom (HCC) tedavisinde yaşlanma karşıtı ilaçlarla kombinasyon halinde antineoplastik ve adjuvan bir ajan olarak potansiyel taşıdığını düşündürdüğü raporlanmıştır (Rodenak-Kladniew vd., 2020a).

Rodenak-Kladniew ve arkadaşlarının bir başka çalışmasında, linalool ve 1,8-cineole bileşiklerinin A549 hücrelerinde antikanser etkilerini, normal akciğer hücresi WI-38'in canlılığını etkilemeden G0/G1 ve/veya G2/M evrelerinde hücre döngüsünü durdurarak hücre çoğalmasını engellediği rapor edilmektedir. Çalışmada her iki monoterpenin de, kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonunu, PARP kesilmesini ve DNA parçalanmasını etkilemediği ve apoptozu indüklediği bildirilmiştir. Araştırmacılar linaloolun reaktif oksijen türlerinin üretimini ve mitokondriyal membran potansiyeli depolarizasyonunu artırdığını göstermiştir. Bu etkiler 1,8-cineole'de gözlenmemiştir. Çalışma sonuçları, linalool (2,0 mM) ve 1,8-cineole'nin (8,0 mM) A549 hücre göçünü engellediğini ortaya koymuştur. Son olarak her monoterpenin simvastatin ile kombinasyonunun, G0/G1 hücre döngüsü durmasını artırdığı ve hücreleri simvastatinin tek başına kullanılmasına kıyasla apoptoza duyarlı hale getirdiği bildirilmektedir. Araştırmacıların bu sonuçlar, her iki monoterpenin de akciğer kanseri tedavisi için antiproliferatif, anti-metastatik ve duyarlılaştırıcı özelliklere sahip umut verici antikanser ajanları olabileceğini göstermektedir (Rodenak-Kladniew vd., 2020b).

Murata ve arkadaşları, çalışmalarında 1,8-cineole'nin insan kolon kanseri hücre hatları HCT116 ve RKO üzerindeki antikanser etkilerini hem in vitro (laboratuvar ortamında hücre kültürleri üzerinde) hem de in vivo (hayvan modeli üzerinde) olmak üzere iki düzeyde araştırmışlar. Çalışma sonuçlarında 1,8-cineole, hücre çoğalmasını baskıladığını, hücre ölümünün nekroz ile değil, apoptoz ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Hücre yaşamını ve çoğalmasını destekleyen önemli Survivin ve Akt proteinlerinin inaktive olduğu, stres yanıtı ve apoptozda rol oynayan p38 MAPK aktive olduğu ve bu değişimler sonucunda caspase-3 ve cleaved PARP aktivasyonu ile apoptoz başladığı belirtilmiştir. Hayvansal deney

çalışmalarında ise, bağışıklık sistemi baskılanmış farelere RKO hücreleri enjekte edilerek tümör oluşturulmuş ve tedavisi için 1,8-cineole uygulanmıştır. Çalışma sonucunda 1,8-cineole uygulanan grupta tümör büyümesinin anlamlı şekilde baskılandığı gösterilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, 1,8-cineole'nin kolorektal kanser hücrelerinde anti-proliferatif ve apoptoz indükleyici etkileri olduğu ve bu etkinin hem hücre kültürlerinde hem de hayvan modellerinde doğrulandığını gösterilmiş olup, kolorektal kanser tedavisinde 1,8-cineole'nin potansiyel bir antikanser ajan olabileceğini önerilmiştir (Murata vd., 2013).

Sampath ve arkadaşları; 1,8-cineole'nin in vitro ortamda cilt karsinomu A431 cilt karsinomu hücreleri üzerinde antikanser etkilerine ve apoptoz mekanizması ile moleküler kenetlenme (docking) çalışmalarını araştırmışlardır. Sonuçlar; 1,8-cineole'nin kanser hücrelerine toksik olduğunu, ancak normal HaCaT hücrelerine zarar vermediğini göstermiştir. Çalışmada apoptozun mekanizması, mitokondriyal membran potansiyeli değişiklikleri, P53 artışı, Bax/Bcl-2 dengesinin değişmesi, sitokrom c salınımı, kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivasyonu ile doğrulanmıştır. Ayrıca, 1,8-cineole'nin Bcl-2 ve PARP1 ile etkileşimi, moleküler docking analizleriyle desteklenmiştir. Bulgular, 1,8-cineole'nin P53 bağımlı apoptoz yolunu aktive ederek G2/M fazında hücre döngüsünü durdurduğunu ve etkili bir antikanser ajan olabileceğini göstermektedir (Sampath vd., 2018).

Sampath ve arkadaşları bir başka çalışmasında; Callistemon citrinus'tan elde edilen n-heksan ekstraktı (HE-C) içerisinde baskın olarak bulunan 1,8-cineole'nin antikanser potansiyeli araştırılmıştır. MTT testi, HE-C'nin A431 ve MG-63 kanser hücrelerinde belirgin anti-proliferatif etki gösterdiğini, ancak HaCaT normal hücrelerinde toksik olmadığını ortaya koymuştur. AO/EB boyama, SEM/TEM analizleri ve FACS ile yapılan hücresel ve morfolojik incelemeler, HE-C'nin apoptoz indüklediğini doğrulamıştır. DCF-DA boyası ile yapılan analizlerde ROS artışı gözlenmiş ve bu durumun, 1,8-cineole'nin ROS aracılı apoptoz yoluyla hücre ölümüne neden olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, 1,8-cineole'nin bitkisel kaynaklı etkili bir antikanser ajan aday olduğunu göstermektedir (Sampath vd., 2017).

Moteki ve arkadaşları, defne yapraklarından (*Laurus nobilis L.*) elde edilen uçucu yağın ana bileşeni olan 1,8-cineole'nin, insan lösemi hücre hatları Molt 4B, HL-60 ve mide kanseri hücre hattı KATO III üzerindeki DNA'ya etkileri araştırmıştır. 1,8-cineole'nin insan lösemi hücre hatları olan Molt 4B ve HL-60 hücrelerinde apoptozu özgül olarak indüklediğini, HL-60 hücrelerinde 1,8-cineole uygulaması sonrası apoptotik cisimcikleri gösteren morfolojik

değişiklikler olduğunu gözlemlenmişlerdir. Ancak mide kanseri KATO III hücrelerinde bu etkinin görülmediğini bildirmişlerdir. Apoptoza özgü DNA parçalanması, yani oligonükleozomal boyutta DNA fragmentasyonu, Molt 4B ve HL-60 hücrelerinde doza ve zamana bağımlı olarak gözlemlenmiş olup, buna karşın KATO III hücrelerinde bu etki görülmemiştir. Özetle çalışma, 1,8-cineole'nin lösemi hücre hatlarında büyümeyi baskıladığını, bu bileşiğin apoptozu indüklemesiyle ilişkili olduğunu bildirmektedir (Moteiki vd., 2002).

Ho ve arkadaşları, Bu çalışmada, 1,8-cineole ve etanolün, meme kanseri tedavisinde kullanılan tamoksifen ile GLA (gamma-linolenik asit)'in transkutan (deri yoluyla) geçişine etkileri araştırılmıştır. Domuz derisi üzerinde yapılan difüzyon testlerinde, %20 1,8-cineole ve %20 etanol içeren formülasyon, hem tamoksifen hem de GLA için en yüksek geçiş hızını sağlamıştır. Bulgular, 1,8-cineole ve etanolün, bu iki ajanı birlikte cilt yoluyla etkili şekilde iletebildiğini, böylece ikili meme kanseri tedavisinde potansiyel taşıdığını göstermektedir (Ho vd., 2004).

Abdalla ve arkadaşları bu çalışmada, Ürdün'de yetişen *Achillea membranacea* türünden elde edilen uçucu yağın en baskın bileşiği olan 1,8-cineole (%21,7) olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağ, özellikle A2780 (over kanseri) ve HT-29 (kolon kanseri) hücrelerinde güçlü sitotoksik etki göstermiştir. 1,8-cineole, A2780 hücrelerinde doksorubisin ile karşılaştırılabilir düzeyde sitotoksikite oluşturmuş; ancak MRC5 normal hücrelerine karşı 42 kat daha seçici bulunmuştur. Ayrıca, apoptozu artırmış ve hücre döngüsünde pre-G1 fazında belirgin artışa neden olmuştur. Bu bulgular, 1,8-cineole'nin seçici antikanser ve apoptoz indükleyici özelliklere sahip güçlü bir bileşik olduğunu göstermektedir (Abdalla vd., 2020)

Lee ve arkadaşları; 1,8-cineole'nin UVB ile indüklenen deri kanserleşmesini (karsinogenezis) önleyici etkileri ve buna aracılık eden moleküler mekanizmalar araştırılmıştır. HaCaT hücrelerinde, 1,8-cineole COX-2 ekspresyonunu ve PGE2 üretimini baskılamış, ERK1/2, c-Src ve EGFR fosforilasyonunu inhibe etmiştir. Ayrıca, AhR'ye doğrudan bağlanarak onun hedef genlerinden *cyp1a1*'in ifadesini düşürmüş, AhR knockdown durumunda COX-2 ve ERK1/2 baskılanmıştır. Fare modelinde, 1,8-cineole topikal uygulandığında tümör oluşumunu geciktirmiş ve tümör sayısını azaltmıştır. Bu bulgular, 1,8-cineole'nin AhR'yi hedefleyerek COX-2 yolunu inhibe ettiğini ve UVB kaynaklı cilt kanserine karşı koruyucu bir ajan olabileceğini göstermektedir (Lee vd., 2017)

Kanser tedavisinde kombine tedavi stratejileri, tek başına uygulanan yöntemlere kıyasla daha yüksek etkinlik ve daha düşük direnç geliştirme riski sunması nedeniyle giderek önem kazanmaktadır (Al-Lazikani vd., 2012)

Farklı mekanizmalarla çalışan ilaçların ve tedavi yöntemlerinin eş zamanlı veya ardışık olarak kullanılması, tümör hücrelerinin heterojen yapısı nedeniyle oluşan tedavi direncini aşmaya yardımcı olmaktadır (Chabner ve Roberts, 2005). Ayrıca, kombine tedaviler, tekil ajanların yan etkilerini azaltarak hasta toleransını artırabilir ve tedavi sürecini optimize edebilir. Bu bağlamda, doğal bileşikler ile standart kemoterapötik ajanların birlikte kullanımı, hem etkinliği artırmak hem de toksisiteyi azaltmak amacıyla önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir (Newman ve Cragg, 2016)

Kombine tedavi yaklaşımları, multidisipliner onkoloji pratiğinde geleceğin tedavi modelleri arasında kritik bir rol oynamaktadır. Kanser hücrelerinde 5-FU yanıtına katkıda bulunan çok sayıda tanımlanmış ve potansiyel modülatör vardır. Örneğin, selekoksibin 5-FU ile birleştirilmesinin, kolon kanserinin deri altı implantasyon tümör modelinde tümör hücresi apoptozunu ve antikanser etkinliğini artırdığı gösterilmiştir (Zhang vd., 2013).

Bazı çalışmalarda, 1,8-cineole'nin ilaçlarla kombine halde kullanılmasının, bazı kanser türlerinin tedavisinde etkinliği arttırabileceği gösterilmiştir. Örneğin, hepatosellüler karsinom (HCC) karmaşık bir patogeneze sahip önemli bir tümördür. DEN/2-AAF ile indüklenen sıçan modelinde yapılan çalışma, 1,8-cineole (100 mg/kg) ve ellagik asit (60 mg/kg) tedavisi, tümör belirteçlerinin (AFP, arginaz-1, α -L-fukosidaz, ferritin) baskılanması ve miR-122 düzeyinin normale döndürülmesiyle dikkat çekmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin, TGF- β 1, FSCN1, VEGF, MMP-9 ve vimentin gibi tümör progresyonuyla ilişkili moleküler hedeflerde anlamlı azalma sağladığı, histopatolojik düzeltilmelerle birlikte doksorubisin kadar etkili olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, 1,8-cineole'nin karaciğer kanserine karşı çok hedefli etkili bir fitoterapötik aday olabileceğini göstermektedir (Almeida vd., 2022).

1,8-cineole'nin farklı kalıcı (HNSCC-Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu) hücre hatlarında Wnt/ β -katenin sinyal yolunun düzenlenmesinde, Wnt/ β -katenin aktivitesini inhibe edebildiği ve WNT11'in ifade seviyelerinde azalmaya ve hücreler ilerleme ve göç oranında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (Roettger vd., 2017). Ayrıca, 1,8-cineole'nin, hücrelerdeki çeşitli enflamatuvar yolları düzenleyerek anti-kanser etkiler gösterebileceği, 1,8-cineole'nin

doxorubicin gibi kemoterapötik ajanlarla birlikte kullanıldığında, kemoterapinin etkinliğini artırabileceği ve yan etkilerini azaltabileceği gözlemlenmiştir (Juergens vd., 2020).

1,8-cineole'nin ilacın hücreye girişi, hedefe ulaşma etkisi ve hücre içindeki metabolizması gibi faktörler üzerinde nasıl bir etki yarattığına dair spesifik veriler yeterli düzeyde mevcut değildir. 5-FU kemoterapötik ilaçla birlikte kullanıldığında, kombinasyonun ilaç direncini etkileyip etkilemediğine dair doğrudan bilimsel kanıt bulunmamaktadır. Bu çalışmada kolon kanseri hücre serisi üzerine 1,8 cineole'nin sitotoksik etkisine ek olarak 5- FU ile kombinasyonunun etkileri biyokimyasal ve moleküler düzeyde ilk defa incelenecektir. Çalışma sonucunda 1,8-cineole'nin kolon kanseri hücrelerinde kemoteropatik ilaca karşı hassasiyeti arttırıp arttırmadığı aydınlatılmaya çalışılacaktır.

Tüm bu çalışmaların sonucunda, kolon kanseri tedavisinde etkinliği ve önemi kanıtlanmış olan 5-FU'nun, ilaç direnci gelişmesi nedeniyle sınırlı kalması, bu etkinliği arttırmaya yönelik yeni yaklaşımları gerekli kılmaktadır. Bu bağlamda, 1,8-cineole ile kombinasyonunun araştırılması ve etkilerinin ortaya konması, başta kolon kanseri olmak üzere ilgili tüm süreçlerin aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

3. MATERYAL VE METOT

Yapılan bu çalışma *in vitro* bir çalışmadır. Çalışma kapsamında etik kurul iznine ihtiyaç duymamaktadır. Çalışmanın bütün aşamaları Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Bileşiklerin Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen 1,8-cineole (Sigma-Aldrich-C80601, Almanya) ve 5-FU (Alfa Aesar-A13456), HT-29 hücre hatlarına uygulanmak üzere dimetil sülfoksit (DMSO) ile 1, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 μ M konsantrasyonlarında hazırlandı. UVC ışık altında yarım saat steril edildi. Örneklerin muhafazası analiz boyunca +4°C'de gerçekleştirildi.

3.2. Hücre Kültürü ve Canlılık Testi

Bu çalışmada HT-29 kolon kanseri hücre hatları kullanıldı. Hücreler RPMI-1640 (Gibco, 21875-034, ABD) medyumunda (%10 fetal sıgır serumu (Serox, S181G, ABD), %1 penisilin-streptomisin solüsyonu (Biological Industries, 03-031-1B, İsrail), %1 amino asit solüsyonu (Pan Biotech, P08-32100, İsrail) kültüre edildi. Hücreler deneysel süreç boyunca %5 CO₂ içeren ortamda 37°C sıcaklıkta (Thermo Forma II CO₂ İnkübatör, ABD) inkübe edildi. Flasklardaki besi yeri haftada 2 defa değiştirildi.

Hücreler yaklaşık %80 yoğunluğa ulaştıklarında tripsin-edta solüsyonu ile flask tabanından kaldırıldı. Steril falkon tüplerine alınan hücreler 1500 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz aspire edildi ve bir miktar medyum ile hücreler tekrardan süspanse edildi. Hücre canlılığının belirlenmesi amacıyla tripan mavisi kullanılarak sayım yapıldı. Bileşiklerin hücre canlılığına etkisini belirlemek için 96 kuyucuklu plakalar kullanıldı. Her bir kuyucuğa yaklaşık 10.000 hücre ekimi yapıldı. Ertesi gün 1,8-cineole ve 5-FU hazırlanan dozları ayrı ayrı ve kombine olarak hücrelere uygulandı. Çalışmalar 24, 48 ve 72 saat süre ile gerçekleştirildi. Gruplardaki hücre canlılık düzeyleri 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-difeniltetrazolium bromid (MTT) (Sigma-Aldrich-M2128-Almanya) yöntemi ile belirlendi (Mosmann, 1983). Bileşiklerle hücrelerin muamelesi sonrası, her bir kuyucuktaki medyum

plakalardan uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa 0,5 mg/mL konsantrasyonda steril fosfat tamponu içerisinde hazırlanan MTT çözeltisinden 50 µL ilave eklendi. Hücreler, inkübatörde 3 saat süresince bırakıldı. Sürenin sonunda kuyucuklardaki MTT solüsyonu uzaklaştırılıp, her bir kuyucuğa 100 µL DMSO eklendi ve kuyucuktaki hücrelerin optik densiteleri 570 nm dalga boyunda plaka okuyucuda (Thermo MultiskanGo, ABD) okutuldu. Kontrol kuyucuklarından elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı ve bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. Diğer gruplardaki canlılık düzeyi, kontrol absorbans değerine oranlanarak yüzde canlılık değerleri hesaplandı. Deneyler 8 tekrar olarak gerçekleştirildi (n=8).

3.3. Genotoksisite Analizi

Tek hücre jel elektroforezi olarak da bilinen “Comet Analizi”, memelilerin DNA hasarını (Genotoksisite) belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Genotoksisite analizleri için hücreler 6 kuyucuklu plakalara ekildi ve büyütüldü. Her bir kuyu için, MTT analizi sonucunda hücre canlılığının >%70 olduğu dozlar belirlendi ve bu dozlar hücrelere ayrı ayrı ve kombine şekilde uygulandı. Bunun nedeni ileri DNA fragmentasyonuna neden olmadan daha sağlıklı bir ölçüm alabilmektir (Sasaki vd., 2007).

İlk olarak fosfat tamponu içerisinde mikrodalga fırında çözdürülen %1’lik high melting agarose (HMA) ile rodajlı lamalar kaplanarak, karanlıkta 1 gün süreyle kurutuldu. Uygulamalar sonrasında hücreler sayıldı ve 10.000 hücre/10µL hücre süspansiyonu 80µL %1’lik low meltin agarose (LMA) ile karıştırılıp NMA ile kaplanan slaytlarda preparatlar hazırlandı. Lamlar 10-15 dakika süreyle +4 °C’de ve karanlıkta bırakıldı. Daha sonra lamlar taze olarak hazırlanan lizis solüsyonunda (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, %1 Triton X-100 ve %1 DMSO pH: 10) 1 saat +4°C’de bekletildi. Lizis işleminden sonra, hazırlanan lamlar içerisi soğuk elektroforez tamponu ile dolu tanka aynı düzlemde yerleştirildi ve 25 Volt (maksimum 300 mA) güçte 25 dakika boyunca yatay elektroforez gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında lamlar nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris, pH 7.5) ile 3 kez 5 dakika süreyle +4 °C’de yıkandı. Daha sonra lamlar, etidyum bromür ile boyanarak üzerleri tekrardan lamel ile kapatılıp, karanlıkta +4 °C’de 30 dakika kadar bekletildi (Şekil 3.1). Skoring işlemi için, Zeiss Axio ve Tritek Comet Score yazılım programı kullanıldı. Her lamdan rastgele en az 100 hücre sayıldı, grupların %DNA tail parametreleri DNA hasar göstergesi olarak değerlendirildi.



Şekil 3.1. Comet analizi aşamalarından bir kesit

3.4. Real Time-PCR analizi

Çalışmada, 1,8-cineole ve 5-FU'nun ayrı ayrı ve kombine uygulamalarının HT-29 kolon kanseri hücre hattı üzerinde, ölüm süreçlerine olan etkilerini izleyebilmek için gen ifadelerinde meydana gelen değişimlere gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon analizleri (Real Time PCR) ile bakıldı. Çalışmada hücreler 100 mm kültür disklerinde geliştirildi. Hücre yoğunluğu %60-70 civarına geldiğinde bileşikler uygulandı ve belirlenen süre boyunca hücreler tedavi edildi.

3.4.1 RNA İzolasyonu

HT-29 kolon kanseri hücre hattı, 100 mm çapındaki kültür disklerine ekildi. Disklerdeki hücre yoğunluğu %70 civarına geldiğinde 1,8-cineole ve 5-FU'nun tekli ve kombine uygulamaları gerçekleştirildi. İlaç uygulamasını takiben 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda medyum uzaklaştırıldı ve hücreler fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı. Ardından hücreler kazıyıcı yardımıyla bir miktar PBS içinde toplanarak DNaz ve RNaz içermeyen 15 mL'lik Falcon tüplerine aktarıldı ve 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası PBS dikkatli bir şekilde ayrıldı ve pelletin üzerine 1000 µL Hibrizol reaktifi (Hibrogen, Türkiye) eklendi. 1-2 kere pipetaj yapılarak oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Şeffaf bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapılarak pellet çözdürüldü, ardından 5

dakika oda sıcaklığında inkübe edildi ve tekrar pipetaj yapıldı. Her 1 mL hibrizol için 0,2 mL kloroform ilave edildi. 7 kere 15'er saniye karıştırılarak 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 12.000 g'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası üst faz dikkatli bir şekilde alınarak 2 mL ependorfa aktarıldı. RNA çöktürmesi için 500 µL izopropil alkol eklendi ve tüp birkaç kez çevrilerek karıştırıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra 12.000 g'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj yapıldı. Süpernatant dökülerek nükleaz free su ile hazırlanan %75'lik etanolden 1 mL eklendi. Yavaşça alt üst edildikten sonra 12.000 g'de 2 dakika +4 °C'de santrifüj yapıldı. İzopropil alkol boşaltılarak, ependorf tüpteki pellet kabin içerisinde 15 dakika kurumaya bırakıldı. Kuruyan tüpe 30 µL nükleaz free su eklendi ve pellet pipetaj yapılarak çözündürüldü. Örnekler daha sonra kullanılmak üzere -80 °C'de saklandı.

İzole edilen RNA'ların miktar ve saflık ölçümleri Spektrofotometre (Thermo MultiskanGo, ABD) ile gerçekleştirildi. Elde edilen absorbans değerlerine göre 260/280 oranları yaklaşık 2.0 olup, RNA izolasyonunun yüksek saflıkta ve yeterli konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir.

3.4.2 Real Time PCR Protokolü

Kullanılan primerler 250 µL nükleaz içermeyen su ile çözülerek 100 pmol/µL stok çözelti hazırlandı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra -20 °C'de saklandı. qRT-PCR analizlerinde kullanılmak üzere, bu stok çözelti nükleaz içermeyen su ile 10 pmol/µL olacak şekilde seyreltildi. Kullanılan primer dizileri Tablo 3.1'de sunulmuştur.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan genlerin primer dizilimleri

GEN	Nükleotid Dizini
GAPDH	F: 5' -AAG GTG AAG GTC GGA GTC AA- '3 R: 5' -AAT GAA GGG GTC ATT GAT GG- '3
Bax	F: 5' -GACATTGGACTTCCTCCGGGA- '3 F: 5' -ACAAAGATGGTCACGGTCTGC- '3
Bcl-2	F: 5' -TGGACAACATCGCCCTGTGGA- '3 R: 5' -TCACTTGTGGCCCAGATAGGC- '3
ABCB1	F: 5' -GGCTACATGAGAGCGGAGGA- '3 R: 5' -GCCCCGATTGACTGAATGCT- '3
ABCC2	F: 5' -GGTCATCCTTTACGGAGAACATCA- '3 R: 5' -GGGCCAGGAGCCATAGGTAG- '3
ABCG2	F: 5' -CCAGTGACGGCGACCAAAC- '3 R: 5' -GCCTTCAGGTCATTGGAAGC- '3

Real Time PCR çalışması için “Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit” kullanıldı, kit içeriğine göre kullanım için hazırlandı. (Tablo 3.2). Tüm genlerin ekspresyonu için 3 tekrar olacak şekilde çalışıldı ve her grup için 3 kontrol grubu çalışıldı.

Tablo 3.2. Real Time PCR analizi için hazırlanan reaksiyon karışımı

Reaksiyon Bileşeni	Hacim
Luna Universal One-Step Reaksiyon Mix (2x)	5 µL
Luna WarmStart RT Enzim Mix (20x)	0,5 µL
Forward primer (10 µM)	0,5 µL
Revers primer (10 µM)	0,5 µL
RNA(Sample)	<1 µg
Nükleaz-Free su	2,5 µL
TOPLAM	10 µL

Real Time PCR aşaması için BioRad CFX Connect Real-Time PCR System cihazı kullanıldı. Protokol: Denatürasyon; 55 °C’de 15 dakika 95°C’de 3 dakika, Amplifikasyon; (40x) 95°C’de 10 saniye 55 °C’de 30 saniye 72 °C’de 30 saniye. Melt Curve; 95 °C’de 15 saniye, 65 °C’de 0,05 saniye, 95 °C’de 1 dakika olacak şekilde oluşturuldu. Rölatif gen ekspresyonu hesabı için $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanıldı (Livak ve Schmittgen, 2001).

3.5. İstatiksel Analiz

Analizlerde GraphPad Prism (versiyon 8) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Nicel veriler ortalama±standart sapma, nitel veriler ise sayı (yüzde) ile özetlendi. İncelenen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmaları yapılmadan önce normal dağılıma uygunluk ve varyansların homojenlik kontrolü yapıldı. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle grup ortalaması arasındaki farklılıkta Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda ise Dunn testi kullanıldı. İki değişken arasındaki farkın incelenmesinde ise bağımsız örneklerde Student’s t testi kullanıldı. $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

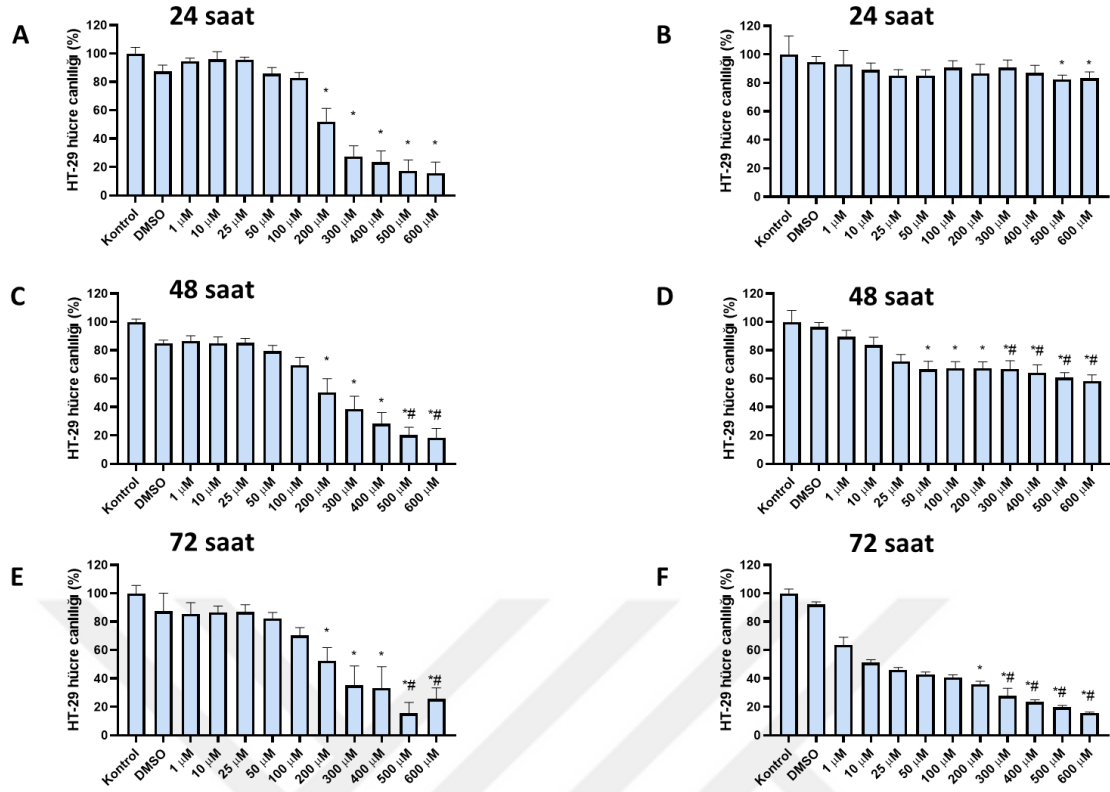
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan deneysel çalışma sonucu elde edilen sitotoksosite, genotoksosite ve moleküler analizlere ait bulgular aşağıda gruplandırılarak sunulmuştur.

4.1. Sitotoksosite Analizi

Bileşiklerin 24, 48 ve 72 saat uygulamaları sonrasında hücre canlılıkları üzerinde meydana getirdiği değişimler Şekil 4.1’de verilmiştir. 1,8-cineole 200 μ M ve üstü dozlarında her üç zaman dilimi için canlılığı önemli düzeyde azalttı (Şekil 4.1A,C,E; $p<0.05$). 5-FU uygulamasından 300 μ M ve üstü dozların, 48 saatlik süre diliminde, canlılık düzeyini anlamlı olarak yaklaşık %30 azalttığı gözlemlendi (Şekil 4.1D; $p<0.05$). 5-FU uygulaması da doz ve zaman bağımlı olarak hücre canlılığında anlamlı düşüşe neden olmaktadır. 48 ve 72 saatlerde 5-FU’nun gösterdiği sitotoksosite daha belirgindi. 72 saat uygulanan 5-FU’da düşük doz uygulamalarının dahi belirgin sitotoksitesisi vardı. 1,8-cineole’ye kıyasla 5-FU’nun etkisi daha güçlü ve daha erken başlamaktadır.

Bu sonuçlar doğrultusunda 5-FU için 48 saat uygulamanın hücre canlılığı üzerine etkileri 24 saate göre kısmen daha belirgindi. 72 saatte ise uygulanan 5-FU gözle görülür etkiler ortaya koydu. Çalışmada 1,8-cineole’nin 5-FU ile muhtemel sinerjik etkinliği araştırıldığı için, 5-FU’nun sitotoksik etkileri dikkate alınarak 48 saat uygulamalar seçildi. Bunun nedeni 48 saatte ilacın kanser hücrelerinde etki göstermeye başlamış olmasıydı. Doz olarak kontrole kıyasla canlılığı etkileyen en düşük ve canlılığı etkilemeyen en yüksek dozlar referans alındı.



Şekil 4.1. 1,8-cineole ve 5-FU uygulamalarından sonra HT-29 hücre canlılık düzeyindeki değişimler. A, C ve E; 1,8-cineol uygulamasının HT-29 hücrelerine etkisi. B, D ve F; 5-FU uygulamasının HT-29 hücrelerine etkisi. Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi. *p<0.05 kontrole kıyasla, #p<0.05 çözücüye (DMSO) kıyasla.

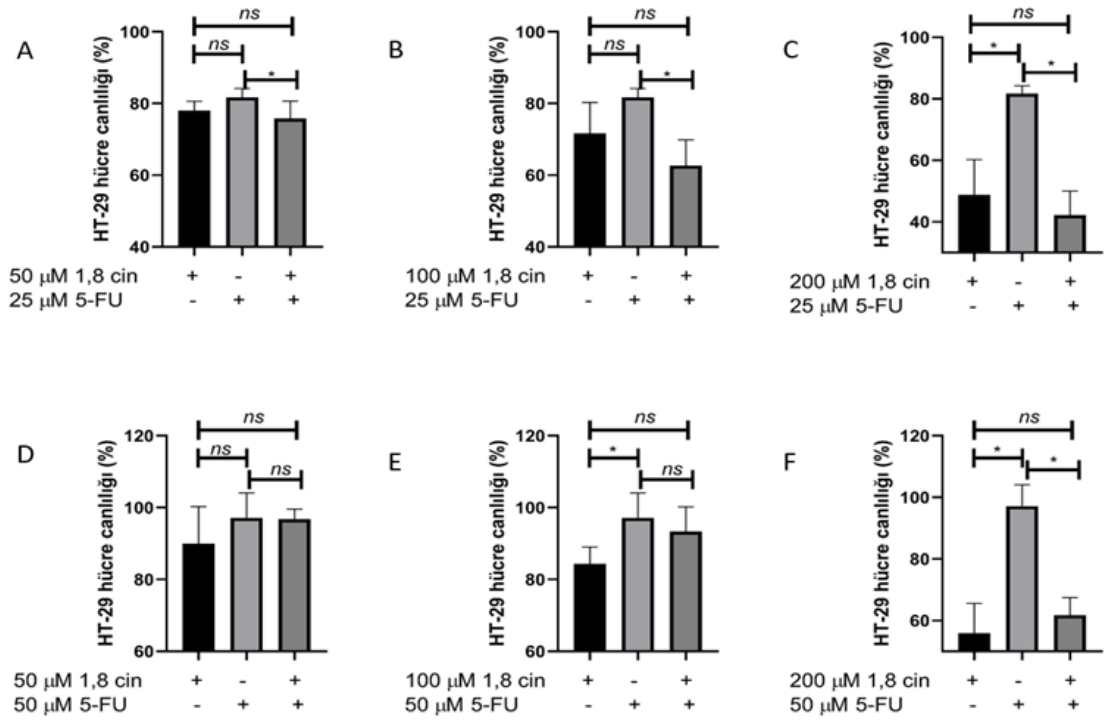
5-FU'nun sitotoksik etki göstermeyen 25 ve 50 µM dozları ile 1,8-cineole'nin canlılığı etkilemeyen en yüksek iki dozu (50 ve 100 µM) ve canlılığı etkileyen en düşük dozu (200 µM) kombine olarak uygulandı. Sonuçlar bileşiklerin tekli uygulamalarına kıyasla kombine uygulamalarında kısmi bir azalmanın olduğunu gösterdi. 25 µM 5-FU ile kombine edilen 50 ve 100 µM 1,8-cineole'nin etkinliği tek başına uygulanan 1,8-cineole'ye kıyasla önemli düzeyde arttı (p<0.05). Buna ek olarak 200 µM 1,8-cineole ile kombine uygulamalar 5-FU'ya kıyasla anlamlı düzeyde hücre canlılığını azalttı (p<0.05). Benzer etkiler 50 µM 5-FU uygulamalarında da gözlemlendi. Kombine uygulamalara ait çalışma sonuçları Şekil 4.2-4.3-4.4'de özetlendi.

24 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri değerlendirildiğinde, 50 µM 1,8-cineole ve 25 µM 5-FU uygulamalarında, 1,8-cineole tek başına hücre canlılığında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (Şekil 4.2A). Ancak 5-FU tek başına uygulandığında hücre canlılığında belirgin bir azalma

gözlenmiştir. Kombinasyon tedavisinde (1,8-cineole + 5-FU), 5-FU'ya kıyasla anlamlı bir canlılık düşüşü meydana gelmiş ve bu durum kombinasyonun 5-FU etkisini artırabileceğini göstermiştir ($p<0.05$). 100 μ M 1,8-cineole ve 25 μ M 5-FU uygulamalarında ise (Şekil 4.2B), kombinasyon tedavisinde hücre canlılığı, 5-FU tek başına uygulamaya göre anlamlı şekilde düşmüş ancak (Şekil 4.2B, $p<0.05$), 1,8-cineole tek başına uygulamadan anlamlı bir farklılık göstermemiştir. 200 μ M 1,8-cineole ve 25 μ M 5-FU uygulamalarında (Şekil 4.2C), yüksek doz 1,8-cineole tek başına hücre canlılığında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur ($p<0.05$). Benzer şekilde, 5-FU'da hücre canlılığını anlamlı derecede azaltmıştır ($p<0.05$). Kombinasyon tedavisinde ise, hücre canlılığı yalnızca 5-FU uygulamasına kıyasla daha belirgin şekilde azalmıştır ($p<0.05$).

Ayrıca, 50 μ M ve 100 μ M 1,8-cineole'nin 50 μ M 5-FU ile kombinasyonu incelendiğinde (Şekil 4.2D,E), her iki kombinasyonda da hücre canlılığı üzerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Kombinasyon tedavisine göre, hücre canlılığı anlamlı şekilde azalmamıştır.

Genel olarak, 5-FU tek başına uygulandığında hücre canlılığını anlamlı şekilde azaltırken, 1,8-cineole tek başına özellikle yüksek dozlarda canlılık azalmasına sebep olmaktadır (Şekil 4.2F $p<0.05$). Kombinasyon tedavilerinde ise 1,8-cineole'nun, 5-FU'nun hücre canlılığını azaltıcı etkisini desteklediği ya da artırdığı gözlemlenmiştir.

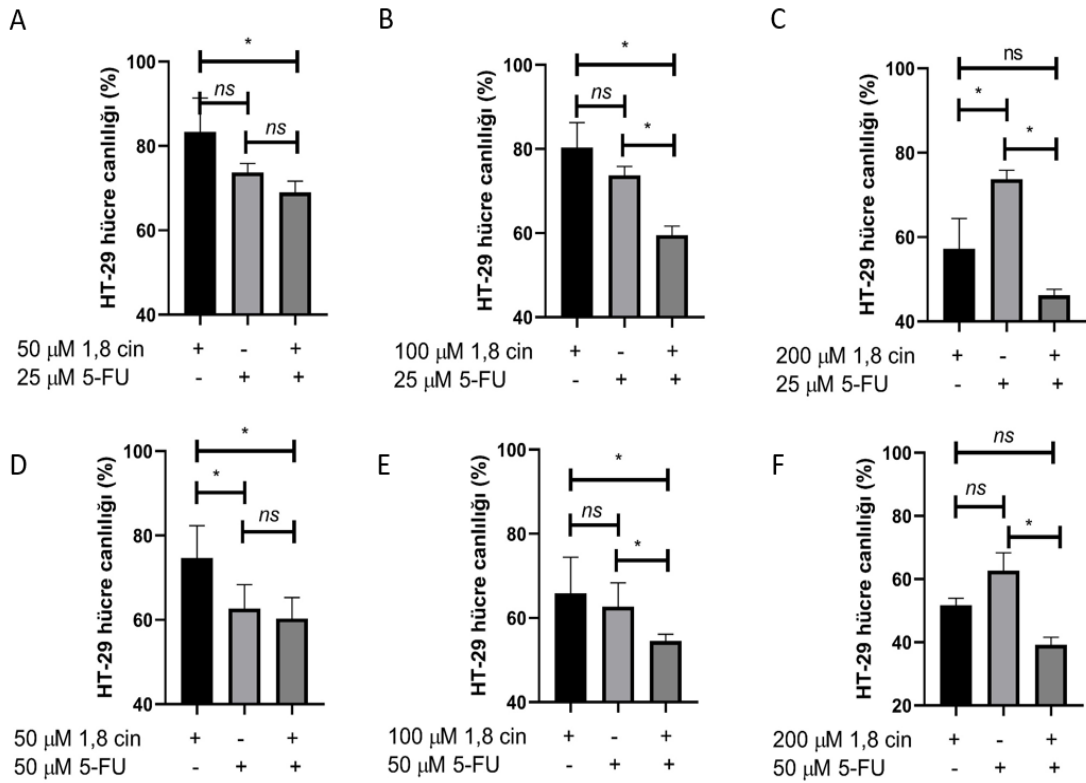


Şekil 4.2. HT-29 hücre hattı üzerinde 24 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri. Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi. * $p < 0.05$ iki grup arası farklılığı göstermektedir. ns: istatistiksel olarak anlamlı değil.

HT-29 kolorektal kanser hücre hattına 48 saat boyunca uygulanan 1,8-cineol ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine tedavi formlarının hücre canlılığı üzerindeki etkileri Şekil 4.3'da göstermektedir. Düşük dozda (50 μ M 1,8-cineole + 25 μ M 5-FU) yapılan tedavi sonucunda kombine tedavi, 1,8-cineole'nin tek başına uygulamasına kıyasla fark yaratmış ($p < 0.05$), fakat 5-FU'nun etkisinde bir fark yaratmamıştır. (Şekil 4.3A). Orta dozda (100 μ M 1,8-cineole + 25 μ M 5-FU) yapılan tedavide, hem 1,8-cineole hem de 5-FU'nun tek başına uygulamaları, kombine uygulama gruba göre anlamlı bir fark ortaya koymuştur ($p < 0.05$), bu da sinerjik bir etkiyi işaret etmektedir (Şekil 4.3B; $p < 0.05$). Yüksek dozda (200 μ M 1,8-cineole + 25 μ M 5-FU) yapılan tedavi, kombine uygulamanın, hem kontrol grubuna hem de tekli tedavilere kıyasla hücre canlılığında anlamlı bir azalma sağladığını göstermiştir (Şekil 4.3C; $p < 0.05$). Burada da sinerjik etki açıkça görülmektedir.

50 μ M 1,8-cineole + 50 μ M 5-FU kombinasyonunda, tedavi 1,8-cineole uygulamasına göre anlamlı bir azalma sağlamasına rağmen ($p < 0.05$), 5-FU'ya kıyasla anlamlı bir fark

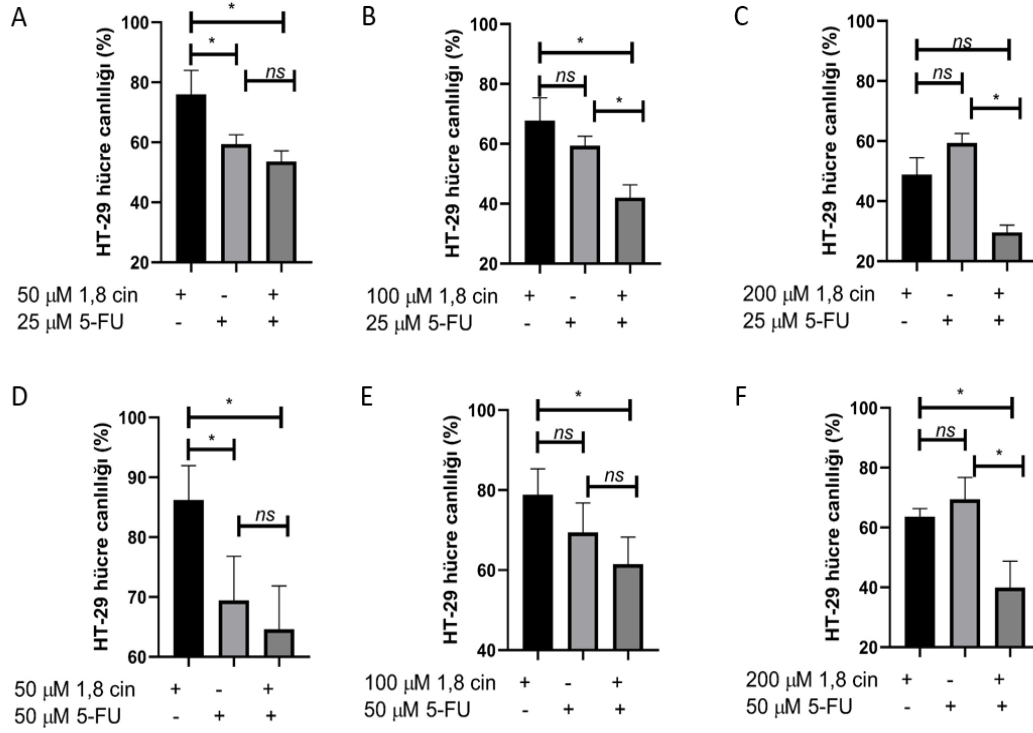
gözlenmemiştir (Şekil 4.3D). 100 μ M 1,8-cineole + 50 μ M 5-FU kombinasyonunda ise, tedavi hem 1,8-cineole uygulamasına göre, hem de 5-FU tedavisine göre anlamlı derecede daha düşük hücre canlılığına yol açmıştır (Şekil 4.3E; $p<0.05$), bu da sinerjik etkiyi göstermektedir. Son olarak, 200 μ M 1,8-cineole + 50 μ M 5-FU kombinasyonunda, tedavi sadece 5-FU grubuna kıyasla anlamlı bir azalma yaratmış ($p<0.05$), ancak 1,8-cineole uygulamasına kıyasla fark anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.3F).



Şekil 4.3. HT-29 hücre hattı üzerinde 48 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. * $p<0.05$ iki grup arası farklılığı göstermektedir. ns: istatistiksel olarak anlamlı değil.

HT-29 kolorektal kanser hücre hattına 72 saat boyunca uygulanan 1,8-cineole ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine etkilerini Şekil 4.4'da gösterilmektedir. Düşük dozda 50 μ M 1,8-cineole ve 25 μ M 5-FU kombinasyonu, 5-FU'nun tek başına kullanımına kıyasla hücre canlılığında anlamlı bir azalma sağlamamıştır, 1,8-cineole'nin tek başına uygulamasına karşın fark anlamlı çıkmıştır (Şekil 4.4A; $p<0.05$). Orta dozda 100 μ M 1,8-cineole ve 25 μ M

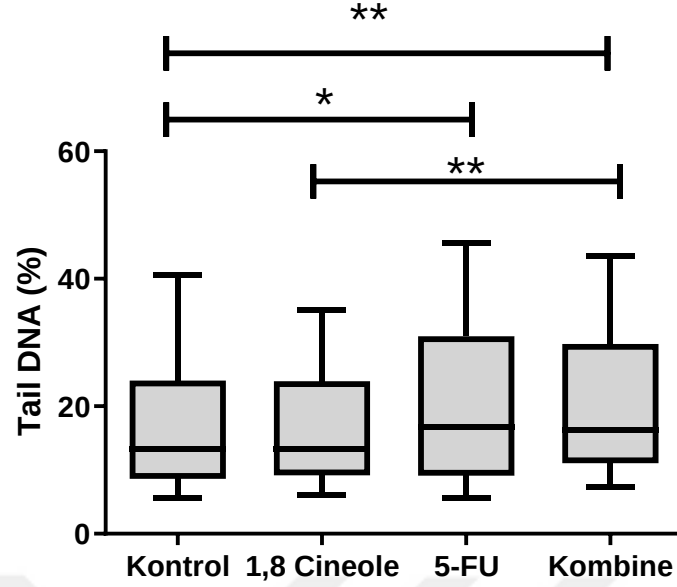
5-FU kombinasyonu, 1,8-cineole uygulamasına kıyasla anlamlı bir hücre canlılığı azalmasına yol açmıştır (Şekil 4.4B; $p<0.05$). Kombine uygulama 5-FU'nun etkisini anlamlı seviyede artırmıştır ($p<0.05$), 5-FU'nun etkisini artıran bu kombinasyon, orta dozda sinerjik bir etki yaratmaktadır. Yüksek dozda 200 μM 1,8-cineole ve 25 μM 5-FU kombinasyonu, yalnızca 5-FU tedavisi ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0.05$), ancak 1,8-cineole uygulamasına kıyasla fark anlamlı olmamıştır (Şekil 4.4C). 50 μM 1,8-cineole ve 50 μM 5-FU kombinasyonu, 1,8-cineole'nin tekli uygulaması ile anlamlı farklılık göstermiştir (Şekil 4.4D; $p<0.05$). Fakat 5-FU uygulaması ile fark anlamlı çıkmamıştır. 100 μM 1,8-cineole ve 50 μM 5-FU kombinasyonunda, kombinasyon tedavisinin 1,8-cineole uygulamasına göre anlamlı bir azalma sağladığını göstermiştir (Şekil 4.4E; $p<0.05$), ancak 5-FU tedavisine kıyasla fark anlamlı bulunmamıştır. Bu, sinerjik etkilerin belirli dozlarla sınırlı olabileceğini göstermektedir. Son olarak, 200 μM 1,8-cineole ve 50 μM 5-FU kombinasyonu, hem 1,8-cineole uygulamasına hem de 5-FU tedavisine kıyasla anlamlı bir fark oluşturmuştur (Şekil 4.4F; $p<0.05$).



Şekil 4.4. HT-29 hücre hattı üzerinde 72 saat süreyle uygulanan tekli ve kombine bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkileri. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. * $p < 0.05$ iki grup arası farklılığı göstermektedir. *ns*: istatistiksel olarak anlamlı değil.

4.2. Genotoksisite Analizi

Bileşiklerin tekli ve kombine uygulamaları sonrasında DNA hasar düzeyleri Comet analizleriyle belirlendi. 5-FU'nun tekli uygulamaları sonrasında DNA hasarı kontrol grubuna kıyasla kısmen artış gösterdi ($p < 0.05$). 1,8 cineole ve 5-FU'nun birlikte uygulaması da kontrole kıyasla DNA hasar düzeyinde anlamlı artışa neden oldu. Buna karşın 1,8-cineole uygulanan grupta DNA hasar düzeyi kontrolle benzer seviyeydi (Şekil 4.5).



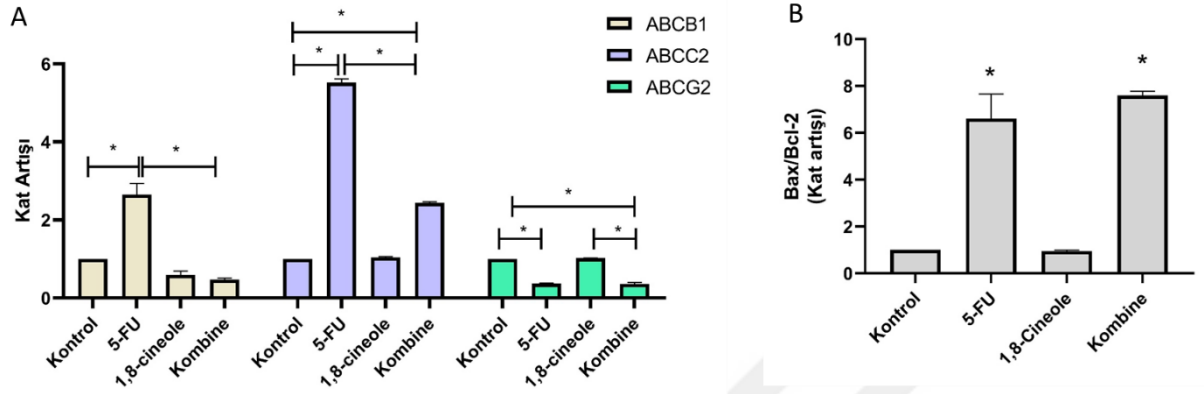
Şekil 4.5. Uygulamalar sonrası DNA hasar düzeyi. Kutu grafikler ortanca (%10-90) olarak ifade edildi. *p<0.05, **p<0.01.

4.3. Gen İfadesi Analizleri

Gerçek zamanlı PCR analizleri, HT-29 kolon kanseri hücre hattında 5-FU, 1,8-cineole ve kombinasyon tedavisinin, ilaç direnci ve apoptozla ilişkili genler üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirildi. Bileşikler 48 saat süre ile HT-29 hücre hatlarına uygulandı. ABC taşıyıcı gen ailesine ait ABCB1, ABCC2 ve ABCG2, apoptoz ile ilişkili Bax ve Bcl-2 genlerinin ifade düzeyleri katlanma oranları üzerinden analiz edildi. HT-29 hücre hattı üzerinde 48 saat süreyle uygulanan PCR grafiği Şekil 4.6’da verilmiştir.

48 saat ilaç uygulanan HT-29 kolon kanseri hücreleri üzerinde yapılan çalışmada incelenen ABCB1 geni ilaç direnciyle ilişkili gen olup, ifadesinin azalması, hücrenin ilaca duyarlılığının arttığını gösterir. Çalışma sonucunda tüm tedavi gruplarında bu genin ifadesinin belirgin şekilde azaldığı özellikle kombine tedavide anlamlı düşüş olduğu görüldü ($p < 0.05$). 5-FU, ABCB1 gen ekspresyonunu anlamlı bir şekilde artırırken, 1,8-cineole ve özellikle kombine uygulamasıyla bu gen ekspresyonu anlamlı şekilde baskılandı (5-FU ≈ 3 kat, $p < 0.05$). ABCC2 gen ifadesinde yine 5-FU’nun ekspresyonu anlamlı şekilde artırdığı, yine kombine uygulamada bu artışın 5-fu uygulamasına göre baskılandığı görüldü (5-FU ≈ 6 kat, kombine ≈ 3 kat). ABCG2 gen ifadesine bakıldığında, 5-FU gen ekspresyonunu hafif şekilde artırdı fakat 1,8-cineole özellikle kombinasyon halinde bu artışı tersine çevirdi.

Bax/Bcl-2 oranına göre, kombine uygulamanın, tek başına uygulanan 5-FU'ya göre artış gösterdiği görüldü (5-FU $\approx$ 6 kat, kombine $\approx$ 8 kat).



Şekil 4.6. A) Uygulamalar sonrası HT-29 hücre hattındaki mRNA düzey değişimleri. B) Bax/Bcl-2 oranı. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. * $p < 0.05$ iki grup arası farklılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Normal hücreler, belirli sinyallerle büyüme, bölünme ve ölüm süreçlerini kontrol ederek, düzenleyici mekanizmalar sayesinde hasar gördüklerinde ya da işlev bozukluğunda, apoptoza girerek, programlanmış hücre ölümü yoluyla ortadan kaldırılır. Kansereleşen hücreler bu sinyalleri tanımaz ve apoptozu inhibe eden genetik değişiklikler nedeniyle bu mekanizmadan kaçarak, hayatta kalır ve kontrolsüz bir şekilde çoğalır (Johnstone vd., 2002). Bunun sonucunda, invaziv ve metastatik özellikler kazanmış malign hücre kitlelerini ortaya çıkarır. Bu durum, kanserin sadece oluşmasında değil, tedaviye karşı direnç geliştirmesinde de kritik bir rol oynar. Modern onkolojide tedavi stratejilerinin odağında, hücre proliferasyonunu durdurmak ve apoptozu yeniden aktive etmek yer almaktadır.

Kemoterapi, kanser tedavisinde sıklıkla tercih edilen sistemik bir yöntem olup, özellikle hızlı bölünen hücreleri hedef alarak tümör büyümesini baskılamayı ve hücre ölümünü indüklemeyi amaçlar. Bu ilaçlar genellikle DNA sentezini, RNA transkripsiyonunu veya hücre döngüsünü bozarak apoptozu tetikler (Johnstone vd., 2002). Ancak kemoterapi, sadece tümör hücrelerini değil, aynı zamanda kemik iliği, saç folikülü ve gastrointestinal sistem gibi hızlı bölünen sağlıklı hücreleri de etkileyerek çeşitli yan etkilere yol açabilir (Perez-Herrero ve Fernandez-Medarde, 2015).

Bu tez çalışmasında, 1,8-cineole bileşiğinin tek başına ve 5-FU ile kombinasyon halinde HT-29 kolorektal kanser hücreleri üzerindeki antikanser etkileri çeşitli moleküler ve hücresel düzeyde değerlendirildi. Araştırma kapsamında uygulanan MTT analizi ile hücre canlılığı üzerindeki sitotoksik etkiler belirlendi, gen ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler kantitatif gerçek zamanlı PCR (qPCR) yöntemi ile analiz edildi ve DNA hasar düzeyleri Comet testi (alkalin tek hücre jel elektroforezi) ile ortaya konuldu. Bu analizler, 1,8-cineole ve bu bileşiklerin kombinasyonunun, hücre proliferasyonu, apoptoz, kemoterapi direnci, ve genotoksisite üzerindeki etkilerini çok boyutlu olarak değerlendirmeye olanak sağladı.

Gerçekleştirilen bu çok yönlü yaklaşımla, hem hücre düzeyinde gözlenen canlılık değişimleri, hem de moleküler düzeyde apoptoz, DNA onarımı ve ilaç direnci ile ilişkili genlerdeki ekspresyon farklılıkları birlikte ele alınarak, 1,8-cineole'nin antikanser potansiyeli kapsamlı şekilde incelendi. Ayrıca, Comet analizi ile DNA düzeyindeki hasarın gözlemlenmesi, genetik bütünlüğün bozulma derecesini ortaya koyarak bu bileşiklerin

genotoksik profilleri hakkında önemli bilgiler sundu. Bu doğrultuda, elde edilen bulgular, literatürde yer alan benzer çalışmalarla karşılaştırılarak, potansiyel mekanizmalar ve klinik yansımalar ışığında tartışıldı.

Bu çalışmada, HT-29 kolon kanseri hücre hattında 1,8-cineole ve 5-FU bileşiklerinin tekli ve kombine uygulamalarının hücre canlılığı üzerindeki etkileri ve zamansal değişimleri incelendi. 24 saatlik elde edilen sonuçlar, yüksek dozlarda 5-FU'nun hücre canlılığını anlamlı şekilde azalttığını doğrulamaktadır. 5-FU, DNA sentezini engelleyerek hücre proliferasyonunu baskılayan yaygın kullanılan bir kemoterapi ajanıdır (Longley vd., 2003). 1,8-cineole'nin tek başına kullanımında, özellikle yüksek dozlarda, kanserli hücrelerde hücre canlılığını azaltıcı etkisi gözlemlendi. 1,8-cineole'nin kemoterapi ajanı olan 5-FU ile kombine edildiğinde, 5-FU'nun hücre canlılığını azaltıcı etkisinin daha belirgin hale geldiği görüldü. Bu bulgu, 1,8-cineole'nin 5-FU'nun etkinliğini artıran ya da tamamlayan bir ajan olarak potansiyel taşıdığını düşündürmektedir. Özellikle kanser tedavisinde, kombine tedavi yaklaşımları, ilacın etkinliğini artırırken toksik yan etkileri azaltmayı hedefler. 1,8-cineole gibi doğal bileşiklerin kemoterapi ile kombine kullanımı, tümör hücrelerinde daha etkili bir antikanser yanıt oluşturabilir. Bununla birlikte, 1,8-cineole'nun hücre canlılığını artırıcı etkisi, farklı doz ve zamanlama parametreleriyle daha detaylı incelenmelidir.

48 saat MTT karşılaştırması sonrası bulgular, 1,8-cineole'nin kemoterapötik ajan olan 5-FU ile birlikte kullanıldığında bazı doz kombinasyonlarında sinerjik etkiler gösterebileceğini ortaya koydu. Özellikle orta ve yüksek doz 1,8-cineole (100 ve 200 μ M) ile düşük doz 5-FU (25 μ M) birlikte uygulandığında kanser hücrelerin canlılığında anlamlı bir azalma gözlemlendi. Bu durum, 1,8-cineole'nin 5-FU'nun antikanser etkisini artırabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, 100 μ M 1,8-cineole + 50 μ M 5-FU kombinasyonunda da benzer şekilde sinerjik bir etki gözlemlendi. Bu bulgular, 1,8-cineole'nin, 5-FU'nun terapötik etkisini destekleyerek daha düşük dozlarla etkili sonuçlar elde edilmesini sağlayabileceğini gösterir. Bununla birlikte, düşük doz kombinasyonlarında 5-FU'ya göre (Panel A ve D), tekli ve kombine uygulamalar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi, bu da düşük doz 1,8-cineole'nin yeterli biyolojik etki oluşturmadığını düşündürülebilir. Yüksek doz kombinasyonların 1,8-cineole grubuna karşı anlamlı bir fark olmaması, muhtemelen hücrelerin yüksek strese yanıt olarak direnç mekanizmaları geliştirmiş olabileceğini düşündürmektedir.

72 saat MTT karşılaştırmasının sonuçlarına göre; 50 μ M ve 100 μ M 1,8-cineole ile 25 μ M 5-FU kombinasyonunda, tekli 1,8-cineole'ya karşın hücre canlılığı anlamlı derecede azalırken, özellikle 100 μ M 1,8-cineole ile 25 μ M 5-FU uygulamasında, 1,8-cineole'nin 5-FU'nun etkisini artırdığı sinerjik bir etki gözlemlendi. Bu, özellikle kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanların etkinliğini artırma potansiyelini işaret etmektedir. Bu dozda 1,8-cineole'nin, 5-FU'nun hücre ölümünü artırıcı bir etki gösterdiği anlaşılmaktadır. 200 μ M 1,8-cineole ile yapılan kombinasyonlarda, özellikle 5-FU'nun etkisini artıran bir sinerji gözlemlense de, yüksek dozda 1,8-cineole'nin toksik etkileri ortaya çıkmaya başladığı düşünülebilir. Bu sonuçlar, yüksek doz 1,8-cineole'nin kanser hücreleri üzerindeki negatif etkilerinin dikkate alınması gerektiğini düşündürmektedir. Bu nedenle, optimum dozaj belirlenmelidir.

Çalışma, 1,8-cineole ve 5-FU'nun birlikte kullanımının, tekli tedaviye kıyasla daha etkili olduğunu göstermektedir. Ancak sinerjik etkinin hangi dozda maksimum düzeye ulaştığı, dozaj optimizasyonunun önemini vurgulamaktadır. Özellikle 100 μ M 1,8-cineole ile 25 μ M 5-FU kombinasyonu, kanser tedavisinde yeni bir strateji olarak değerlendirilebilir. HT-29 kolon kanseri hücre hattında, farklı doz ve zaman dilimlerinde yapılan MTT analizleri, 1,8-cineole ve 5-FU'nun hem doz hem de zaman bağımlı şekilde hücre canlılığını azaltarak antiproliferatif etkiler gösterdiğini ortaya koydu. 5-FU, kolon kanseri tedavisinde standart kemoterapi ajanı olarak bilinir ve yüksek etkinliği nedeniyle hücre canlılığını hızlı ve güçlü biçimde azaltmaktadır. 1,8-cineole ise doğal bir monoterpen olarak, sitotoksik etkisini daha düşük dozlarda ve zamanla artan bir şekilde göstermektedir.

Bu veriler, 1,8-cineole'nin tek başına HT-29 hücrelerinde önemli bir antikanser aktivite potansiyeline sahip olduğunu, ayrıca 5-FU ile birlikte veya tamamlayıcı olarak kullanılmasının tedavi etkinliğini artırabileceğini düşündürmektedir. Doz ve süre optimizasyonu ile 1,8-cineole'nin kemoterapiye bağlı toksisiteyi azaltırken antitümör etkisini destekleyebilecek bir yardımcı ajan olarak potansiyeli vurgulanabilir. Ek olarak, 1,8-cineole'nin kanser hücrelerinde proliferasyon inhibisyonu, apoptoz indüksiyonu, oksidatif stres düzenlemesi ve sinyal yolları modülasyonu gibi mekanizmalarla etkinliğini gösterdiği literatürde desteklenmektedir (örneğin, ROS üretimi artırılması, MAPK ve AMPK sinyal yollarının etkilenmesi). Bu çalışmadaki canlılık azalmaları, bu moleküler mekanizmaların hücre düzeyinde karşılığı olarak düşünülebilir.

Comet analizi sonuçları, 5-FU'nun tek başına uygulandığında DNA hasarını kısmen artırdığını, 1,8-cineole'nin ise tek başına DNA bütünlüğü üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığını gösterdi. Bu bulgu, 1,8-cineole'nin doğrudan genotoksik bir ajan olmadığını ve güvenli bir profil sergilediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, 1,8-cineole ile 5-FU'nun birlikte uygulanması DNA hasar düzeyinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışa neden oldu. Bu durum, 1,8-cineole'nin 5-FU'nun sitotoksik etkisini potansiyalize ederek kemoterapötik etkinliği güçlendirdiğini gösterir. Mekanizma açısından, 1,8-cineole'nin oksidatif stresin artışı, apoptoz yollarının aktivasyonu veya ilaç direncinde rol oynayan genlerin baskılanması yoluyla 5-FU'nun hücre içi etkisini artırabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, bu sonuçlar 1,8-cineole'nin kolon kanseri tedavisinde 5-FU ile kombine edildiğinde kemoterapiye duyarlılığı artırıcı potansiyel bir ajan olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Kemoterapiye direnç, kolon kanserinde tedavi başarısını sınırlayan ve günümüz tedavilerinin etkinliğini azaltan en önemli faktörlerden biridir. Bu direnç; ilaçların hücre dışına atılmasında görev alan ABC taşıyıcılarının (örneğin ABCB1, ABCC2, ABCG2) artışı, DNA tamir mekanizmalarının aktivasyonu, apoptozun baskılanması ve hücre içi sinyal yollarının (örneğin PI3K/Akt, NF- κ B) yeniden düzenlenmesi gibi birçok faktörle ilişkilidir. ABCB1, ABCC2 ve ABCG2 genlerinin hücre dışına ilaç pompalayarak kemoterapi etkinliğini azalttığı bilinmektedir (Holohan vd., 2013). Hücre dışına ilaç atılımı 5-FU gibi kemoterapötik ajanların etkinliğini azaltmaktadır (Robey vd., 2018). Bu nedenle kemoterapiye direnç geliştiren hücreleri hedef alan yeni kombinasyon tedavileri ve biyolojik ajanlar, güncel onkolojik araştırmaların odağını oluşturmaktadır (Vasan vd., 2019).

Yapılan çalışma sonucunda, 5-FU'nun tek başına ABC taşıyıcı gen ailesinden özellikle ABCB1 ve ABCC2'nin ekspresyonu belirgin şekilde arttırdığı gözlemlendi. Bu artış, 5-FU'nun tek başına ilaç direncini tetikleyebileceğini gösterdi. 1,8-cineole'nin tek başına ve 5-FU ile kombine uygulanmasının, genlerin ekspresyonunda belirgin şekilde bir azalma sağladığı görüldü. ABCG2'de ise 5-FU'nun ekspresyonu hafif artırdığı, 1,8-cineole ile kombinasyonunun artışı tersine çevirdiği görüldü. Bu veriler tedaviye karşı gelişen hücresel direncin kırılmasına önemli bir katkı sağlamaktadır. Bu genlerin tedavileriyle baskılanması, özellikle kombinasyon grubunda daha güçlü bir etkiyle ortaya çıkması, 1,8-cineole'nin direnç kırıcı etkisini desteklemektedir.

Apoptoz mekanizmasında Bax/Bcl-2 oranı, hücrelerin programlı ölüm sürecine ne ölçüde yatkın olduğunu belirleyen kritik bir göstergedir (Cory ve Adams, 2002; Johnson vd., 2010). Çalışma sonucunda, Bax ve Bcl-2'nin ekspresyon profilleri ise tedavilerin hücre ölümü üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır. 5-FU'nun, Bax ekspresyonunu artırması ve Bcl-2 ekspresyonunu baskılaması, hücrelerin programlanmış ölüm mekanizmalarının etkinleştiğine dair güçlü bir kanıt sundu. Bax/Bcl-2 oranına göre, 1,8-cineole'nin tek başına, Bax ve Bcl-2 üzerindeki etkisiyle apoptoz indükleyici ve direnç azaltıcı potansiyele sahip olduğu söylenebilirken, kombine uygulamanın, tek başına uygulanan 5-FU'ya göre artış göstermesi, 5-FU'nun etkinliğini artırdığını tedavinin apoptozu daha etkin şekilde tetiklediğini gösterdi. Bu bulgu, 1,8-cineole'nin kemoterapiye karşı sinerjik etki göstererek kanser hücrelerinin hayatta kalma sinyallerini baskılayabileceğini gösterdi. Elde edilen veriler, apoptozun kemoterapi etkinliğinde kritik bir rol oynadığını ve bu durumun birçok çalışma tarafından desteklendiğini göstermektedir. (Cory ve Adams, 2002).

Sonuç olarak, 1,8-cineole'nin hem tek başına hem de 5-FU ile kombinasyonunun, HT-29 kolon kanseri hücre hattında ilaç direnci genlerini baskıladığı, ilaç taşıyıcı pompaları baskılayarak kemoterapi direncini azalttığını (ABCB1, ABCC2 ekspresyonunun düşüşü), apoptoz genlerini modüle ettiği, apoptozu uyarıcı (Bax artışı) ve hücre hayatta kalma mekanizmalarını baskılayıcı (Bcl-2 düşüşü) etki oluşturduğu, 5-FU'nun olumsuz etkilerini azaltıp etkinliğini artırdığı ve kemoterapi etkinliğini artırabilecek önemli bir adjuvan ajan olarak kullanılabileceğini ortaya koydu. Bu bulgular, doğal bileşiklerin klasik kemoterapi ilaçlarıyla kombinasyonunun kanser tedavisinde yeni stratejiler geliştirmek için umut verici olduğunu göstermektedir. İleri çalışmalarda bu moleküler etkileşimlerin detaylandırılması ve *in vivo* modellerde etkinliklerinin doğrulanması önem taşımaktadır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Literatürde 5-FU'nun kolon kanseri tedavisinde standart kemoterapötik ajan olarak kullanımı geniş biçimde belgelenmişken, doğal bir monoterpen olan 1,8-cineole'nin tek başına etkisi üzerine çalışmalar sınırlıdır. 1,8-cineole'nin antikanser potansiyeli çeşitli tümör hücrelerinde ayrı ayrı gösterilmiş olsa da, bu bileşiğin 5-FU ile birlikte kullanımı ve sinerjik moleküler etkileri için nadir bilgiler bulunmaktadır (Murata vd., 2013).

Çalışmamızda bu iki ajan birlikte kullanılarak, 1,8-cineole ve 5-FU'nun kombine tedavisinin HT-29 hücre hattında ilk kez, apoptoz ve ilaç direnci genleri birlikte değerlendirildi ve sinerjik veya antagonist etkiler ayrıntılı olarak analiz edildi.

Yapılan bilimsel çalışmalar, genellikle ya apoptoz ya da ilaç direnci üzerine ayrı ayrı odaklanan çalışmalar olurken, bu çalışma, ilk kez ABCB1, ABCC2, ABCG2 ilaç direnci taşıyıcıları ile Bax ve Bcl-2 gibi apoptoz belirteçlerinin gen ekspresyon düzeylerini aynı deneysel modelde entegre yaklaşımla birleştirerek, bütüncül ve multidisipliner bir yaklaşımla analiz sundu.

1,8-cineole gibi doğal bileşiklerin kemoterapi ile kombine kullanımı güncel ve yenilikçi bir yaklaşımı sundu. Bu çalışma, bu yaklaşımın moleküler temelli ilk sonuçlarını sunarak klinik öncesi araştırmalara zemin hazırladı. Çalışma, 5-FU'nun tek başına kullanımında ortaya çıkabilecek yan etkileri, 1,8-cineole ile kombine edildiğinde daha düşük dozda aynı veya daha yüksek etkinlik elde edilmesini gösterdi. Kemoterapik ajanların yan etki potansiyelinin düşürülmesi yönünde katkı sağladığını gösterdi. 1,8-cineole farmakolojik olarak güvenli, anti-inflamatuvar ve antikanser özelliklere sahip bir bileşiktir (Navratilova, 2024). 1,8-cineole'nin toksisitesinin düşük olması, onun güvenli bir destek ajanı olduğunu gösterir. Bu durum, yan etkilerinin düşürülmesine katkı sağladığını ve doğal bileşiklerin tedavide güvenilir etkinliğini vurgulamaktadır.

Çalışmada bazı dezavantaj ve sınırlılıkların da bulunmaktadır. Bu çalışmanın *in vitro* olarak HT-29 hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiş olması, elde edilen sonuçların *in vivo* düzeyde henüz test edilmemesi, klinik uygulamalardaki kullanımı ve başarıları hakkında tam bilgi vermemekle birlikte, çalışmanın uygulanabilir kılınması için önce hayvan modelleri ve ardından insan klinik denemelerin yapılması gerekmektedir. Ayrıca kombine tedavinin ideal oranı, toksisite sınırı ve maksimum sinerji düzeyi üzerine daha kapsamlı dozlama çalışmaları yapılmalıdır. Bu çalışmada apoptoz ve ilaç direnci dışında, örneğin otofoji, inflamasyon ya da metastaz genleri de dahil edilerek daha geniş bir genomik analiz yapılabilir.

Çalışmamızın bilimsel ve toplumsal önemi; bu çalışma, klasik kemoteraplere alternatif veya tamamlayıcı fitokimyasal ajanların kullanılmasının etkinlik artırıcı ve direnç azaltıcı alternatif bir yaklaşım olabileceğini göstermektedir. 1,8-cineole gibi doğal bileşiklerin kemoterapiye eklenmesi, ilaç direnci gelişimini engelleyen yeni nesil tedavi

kombinasyonları için temel oluşturmaktadır. Düşük doz 5-FU ile daha etkili sonuç alınabilir, bu da gastrointestinal ve hematolojik yan etkileri azaltabilir. Tedavide bireysel moleküler profillere göre (örneğin ilaç direnci genlerinin düzeyine göre) farklı kombinasyonların seçilmesi, kişiye özgü tedavi yaklaşımlarının önünü açabilir, hasta yaşam kalitesini artırabilir. Türkiye gibi zengin bitki örtüsüne sahip ülkelerde bu tarz doğal bileşiklerin keşfi ve değerlendirilmesi, yerli ve sürdürülebilir tedavi alternatiflerine katkı sunar.



KAYNAKLAR

- Abdalla, A. N., Shaheen, U., Abdallah, Q. M. A., Flamini, G., Bkhaitan, M. M., Abdelhady, M. I. S., Ascrizzi, R. ve Bader, A. (2020). Proapoptotic Activity of Achillea membranacea Essential Oil and Its Major Constituent 1,8-Cineole against A2780 Ovarian Cancer Cells. *Molecules*, 25(7): 1582.
- Ahmed, S., Khan, H., Aschner, M., Mirzae, H., Kupeli Akkol, E. ve Capasso, R. (2020). Anticancer Potential of Furanocoumarins: Mechanistic and Therapeutic Aspects. *Int J Mol Sci*, 21(16): 5622.
- Aiderus, A., Barker, N. ve Tergaonkar, V. (2024). Serrated colorectal cancer: preclinical models and molecular pathways. *Trends Cancer*, 10(1): 76-91.
- Al-Lazikani, B., Banerji, U. ve Workman, P. (2012). Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era. *Nat Biotechnol*, 30(7): 679-692.
- Al-Trad, B., Abu Haija, Y., Aljabali, A. A., Alomari, G., Tahat, L. ve Al-Ghadi, M. Q. (2025). The Effects of 1,8-Cineole Treatment on Benign Prostatic Hyperplasia in Rats. *Curr Pharm Biotechnol*.
- Almeida, P. P., Thomasi, B. B. M., Menezes, A. C., Da Cruz, B. O., Costa, N. D. S., Brito, M. L., Pereira, A. D., Castanon, C. R., Degani, V. A. N., Magliano, D. C., Knauf, C., Tavares-Gomes, A. L. ve Stockler-Pinto, M. B. (2022). 5/6 nephrectomy affects enteric glial cells and promotes impaired antioxidant defense in the colonic neuromuscular layer. *Life Sci*, 298: 120494.
- Alzahrani, S. M., Al Doghaither, H. A., Al-Ghafari, A. B. ve Pushparaj, P. N. (2023). 5-Fluorouracil and capecitabine therapies for the treatment of colorectal cancer (Review). *Oncol Rep*, 50(4): 175.
- Anand, U., Dey, A., Chandel, A. K. S., Sanyal, R., Mishra, A., Pandey, D. K., De Falco, V., Upadhyay, A., Kandimalla, R., Chaudhary, A., Dhanjal, J. K., Dewanjee, S., Vallamkondu, J. ve Perez de la Lastra, J. M. (2023). Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes Dis*, 10(4): 1367-1401.
- Andre, T., Boni, C., Mounedji-Boudiaf, L., Navarro, M., Tabernero, J., Hickish, T., Topham, C., Zaninelli, M., Clingan, P., Bridgewater, J., Tabah-Fisch, I., de Gramont, A. ve Multicenter International Study of Oxaliplatin/5-Fluorouracil/Leucovorin in the Adjuvant Treatment of Colon Cancer, I. (2004). Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med*, 350(23): 2343-2351.
- 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.

- Bhinder, B., Gilvary, C., Madhukar, N. S. ve Elemento, O. (2021). Artificial Intelligence in Cancer Research and Precision Medicine. *Cancer Discov*, 11(4): 900-915.
- Boland, C. R. ve Goel, A. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(6): 2073-2087 e2073.
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., Ghissassi, F. E., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K. ve International Agency for Research on Cancer Monograph Working, G. (2015). Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol*, 16(16): 1599-1600.
- Chabner, B. A. ve Roberts, T. G., Jr. (2005). Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer*, 5(1): 65-72.
- Chaffer, C. L. ve Weinberg, R. A. (2011). A perspective on cancer cell metastasis. *Science*, 331(6024): 1559-1564.
- Chen, W., Zheng, R., Baade, P. D., Zhang, S., Zeng, H., Bray, F., Jemal, A., Yu, X. Q. ve He, J. (2016). Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 66(2): 115-132.
- Cheung, W. Y., Fralick, R. A. ve Cheng, S. (2008). The confused cancer patient: a case of 5-fluorouracil-induced encephalopathy. *Curr Oncol*, 15(5): 234-236.
- Clevers, H. (2006). Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*, 127(3): 469-480.
- Cory, S. ve Adams, J. M. (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer*, 2(9): 647-656.
- Cragg, G. M. ve Newman, D. J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta*, 1830(6): 3670-3695.
- De Palma, F. D. E., D'Argenio, V., Pol, J., Kroemer, G., Maiuri, M. C. ve Salvatore, F. (2019). The Molecular Hallmarks of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*, 11(7): 1017.
- Eaden, J. A., Abrams, K. R. ve Mayberry, J. F. (2001). The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut*, 48(4): 526-535.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35(4): 495-516.
- Esteller, M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet*, 8(4): 286-298.
- Fearon, E. R. ve Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5): 759-767.

- Force, U. S. P. S. T., Davidson, K. W., Barry, M. J., Mangione, C. M., Cabana, M., Caughey, A. B., Davis, E. M., Donahue, K. E., Doubeni, C. A., Krist, A. H., Kubik, M., Li, L., Ogedegbe, G., Owens, D. K., Pbert, L., Silverstein, M., Stevermer, J., Tseng, C. W. ve Wong, J. B. (2021). Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*, 325(19): 1965-1977.
- Gill, S. R., Pop, M., Deboy, R. T., Eckburg, P. B., Turnbaugh, P. J., Samuel, B. S., Gordon, J. I., Relman, D. A., Fraser-Liggett, C. M. ve Nelson, K. E. (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 312(5778): 1355-1359.
- Gmeiner, W. H. ve Okechukwu, C. C. (2023). Review of 5-FU resistance mechanisms in colorectal cancer: clinical significance of attenuated on-target effects. *Cancer Drug Resist*, 6(2): 257-272.
- Gottesman, M. M., Lavi, O., Hall, M. D. ve Gillet, J. P. (2016). Toward a Better Understanding of the Complexity of Cancer Drug Resistance. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 56: 85-102.
- Grivennikov, S. I., Greten, F. R. ve Karin, M. (2010). Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, 140(6): 883-899.
- Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., de Reynies, A., Schlicker, A., Soneson, C., Marisa, L., Roepman, P., Nyamundanda, G., Angelino, P., Bot, B. M., Morris, J. S., Simon, I. M., Gerster, S., Fessler, E., De Sousa, E. M. F., Missiaglia, E., Ramay, H., Barras, D., Homicsko, K., Maru, D., Manyam, G. C., Broom, B., Boige, V., Perez-Villamil, B., Laderas, T., Salazar, R., Gray, J. W., Hanahan, D., Tabernero, J., Bernards, R., Friend, S. H., Laurent-Puig, P., Medema, J. P., Sadanandam, A., Wessels, L., Delorenzi, M., Kopetz, S., Vermeulen, L. ve Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*, 21(11): 1350-1356.
- Hagenkort, A., Paulin, C. B. J., Desroses, M., Sarno, A., Wiita, E., Mortusewicz, O., Koolmeister, T., Loseva, O., Jemth, A. S., Almlof, I., Homan, E., Lundback, T., Gustavsson, A. L., Scobie, M. ve Helleday, T. (2017). dUTPase inhibition augments replication defects of 5-Fluorouracil. *Oncotarget*, 8(14): 23713-23726.
- Ho, S., Calder, R. J., Thomas, C. P. ve Heard, C. M. (2004). In-vitro transcutaneous delivery of tamoxifen and gamma-linolenic acid from borage oil containing ethanol and 1,8-cineole. *J Pharm Pharmacol*, 56(11): 1357-1364.
- Holohan, C., Van Schaeybroeck, S., Longley, D. B. ve Johnston, P. G. (2013). Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat Rev Cancer*, 13(10): 714-726.
- Issa, J. P. (2004). CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer*, 4(12): 988-993.
- Jeri-Yabar, A., Vittini-Hernandez, L., Prado-Nunez, S. ve Dharmapuri, S. (2024). Survival Analysis of Metastatic Early-Onset Colorectal Cancer Compared to Metastatic Average-Onset Colorectal Cancer: A SEER Database Analysis. *Cancers (Basel)*, 16(11).

- Johnson, C. M., Wei, C., Ensor, J. E., Smolenski, D. J., Amos, C. I., Levin, B. ve Berry, D. A. (2013). Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control*, 24(6): 1207-1222.
- Johnson, S. M., Gulhati, P., Rampy, B. A., Han, Y., Rychahou, P. G., Doan, H. Q., Weiss, H. L. ve Evers, B. M. (2010). Novel expression patterns of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway components in colorectal cancer. *J Am Coll Surg*, 210(5): 767-776, 776-768.
- Johnstone, R. W., Ruefli, A. A. ve Lowe, S. W. (2002). Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell*, 108(2): 153-164.
- Juergens, L. J., Worth, H. ve Juergens, U. R. (2020). New Perspectives for Mucolytic, Anti-inflammatory and Adjunctive Therapy with 1,8-Cineole in COPD and Asthma: Review on the New Therapeutic Approach. *Adv Ther*, 37(5): 1737-1753.
- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R. ve Vetter, H. (2003). Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir Med*, 97(3): 250-256.
- Kim, B., Srivastava, S. K. ve Kim, S. H. (2015). Caspase-9 as a therapeutic target for treating cancer. *Expert Opin Ther Targets*, 19(1): 113-127.
- Kim, J. K., Kang, K. A., Piao, M. J., Ryu, Y. S., Han, X., Fernando, P. M., Oh, M. C., Park, J. E., Shilnikova, K., Boo, S. J., Na, S. Y., Jeong, Y. J., Jeong, S. U. ve Hyun, J. W. (2016). Endoplasmic reticulum stress induces 5-fluorouracil resistance in human colon cancer cells. *Environ Toxicol Pharmacol*, 44: 128-133.
- Kourani, K., Jain, P., Kumar, A., Jangid, A. K., Swaminathan, G., Durgempudi, V. R., Jose, J., Reddy, R., Pooja, D., Kulhari, H. ve Kumar, L. D. (2022). Inulin coated Mn(3)O(4) nanocuboids coupled with RNA interference reverse intestinal tumorigenesis in Apc knockout murine colon cancer models. *Nanomedicine*, 40: 102504.
- Kulbay, M., Paimboeuf, A., Ozdemir, D. ve Bernier, J. (2022). Review of cancer cell resistance mechanisms to apoptosis and actual targeted therapies. *J Cell Biochem*, 123(11): 1736-1761.
- Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R. ve Weinberg, R. A. (2017). Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell*, 168(4): 670-691.
- Lee, J., Ha, S. J., Park, J., Kim, Y. H., Lee, N. H., Kim, Y. E., Kim, Y., Song, K. M. ve Jung, S. K. (2017). 1,8-cineole prevents UVB-induced skin carcinogenesis by targeting the aryl hydrocarbon receptor. *Oncotarget*, 8(62): 105995-106008.
- Li, J. ve Yuan, J. (2008). Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*, 27(48): 6194-6206.
- Li, Y. J., Lei, Y. H., Yao, N., Wang, C. R., Hu, N., Ye, W. C., Zhang, D. M. ve Chen, Z. S. (2017). Autophagy and multidrug resistance in cancer. *Chin J Cancer*, 36(1): 52.

- Lin, C. H., Chiang, Y. T., Lin, L. Y., Tsao, N. W., Wang, C. H., Chien, S. C., Sun, Y. H. ve Wang, S. Y. (2024). Composition Characterization of *Crossostephium chinense* Leaf Essential Oil and Its Anti-Inflammatory Activity Mechanisms. *Plants (Basel)*, 13(17): 2506.
- Liu, M., Liu, S. J., Chen, M. J. ve Ning, T. (2023a). A new modality of colorectal cancer screening based on chronic disease management. *BMC Gastroenterol*, 23(1): 78.
- Liu, W., Wang, Y., Xia, L. ve Li, J. (2024). Research Progress of Plant-Derived Natural Products against Drug-Resistant Cancer. *Nutrients*, 16(6): 797.
- Liu, Z., Gan, S., Fu, L., Xu, Y., Wang, S., Zhang, G., Pan, D., Tao, L. ve Shen, X. (2023b). 1,8-Cineole ameliorates diabetic retinopathy by inhibiting retinal pigment epithelium ferroptosis via PPAR-gamma/TXNIP pathways. *Biomed Pharmacother*, 164: 114978.
- Livak, K. J. ve Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*, 25: 402-408.
- Longley, D. B., Harkin, D. P. ve Johnston, P. G. (2003). 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*, 3(5): 330-338.
- Lopez-Lazaro, M. (2008). Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Mol Nutr Food Res*, 52 Suppl 1: S103-127.
- Marin, J. J. G., Macias, R. I. R., Monte, M. J., Herraiz, E., Peleteiro-Vigil, A., Blas, B. S., Sanchon-Sanchez, P., Temprano, A. G., Espinosa-Escudero, R. A., Lozano, E., Briz, O. ve Romero, M. R. (2020). Cellular Mechanisms Accounting for the Refractoriness of Colorectal Carcinoma to Pharmacological Treatment. *Cancers (Basel)*, 12(9): 2605.
- Markowitz, S. D. ve Bertagnolli, M. M. (2009). Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med*, 361(25): 2449-2460.
- McLean, M. H. ve El-Omar, E. M. (2009). Genetic aspects of inflammation. *Curr Opin Pharmacol*, 9(4): 370-374.
- Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12): 9252-9287.
- Moteki, H., Hibasami, H., Yamada, Y., Katsuzaki, H., Imai, K. ve Komiya, T. (2002). Specific induction of apoptosis by 1,8-cineole in two human leukemia cell lines, but not a in human stomach cancer cell line. *Oncol Rep*, 9(4): 757-760.
- Murata, S., Shiragami, R., Kosugi, C., Tezuka, T., Yamazaki, M., Hirano, A., Yoshimura, Y., Suzuki, M., Shuto, K., Ohkohchi, N. ve Koda, K. (2013). Antitumor effect of 1, 8-cineole against colon cancer. *Oncol Rep*, 30(6): 2647-2652.

- Navratilova, Z. (2024). 1,8-cineole (eucalyptol) in a therapy of respiratory diseases. *Ceska Slov Farm*, 73(3): 181-186.
- Neophytou, C. M., Trougakos, I. P., Erin, N. ve Papageorgis, P. (2021). Apoptosis Deregulation and the Development of Cancer Multi-Drug Resistance. *Cancers (Basel)*, 13(17): 4363.
- Newman, D. J. ve Cragg, G. M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*, 79(3): 629-661.
- Nguyen, L. H., Goel, A. ve Chung, D. C. (2020). Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*, 158(2): 291-302.
- Onar, O., Telkoparan-Akillilar, P. ve Yildirim, O. (2023). Clitocybe nebularis extract and 5-fluorouracil synergistically inhibit the growth of HT-29 colorectal cancer cells by inducing the S phase arrest. *3 Biotech*, 13(2): 48.
- Perez-Herrero, E. ve Fernandez-Medarde, A. (2015). Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*, 93: 52-79.
- Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y. ve Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Front Oncol*, 12: 985363.
- Rawla, P., Sunkara, T. ve Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol*, 14(2): 89-103.
- Reynolds, A., Mann, J., Cummings, J., Winter, N., Mete, E. ve Te Morenga, L. (2019). Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet*, 393(10170): 434-445.
- Robey, R. W., Pluchino, K. M., Hall, M. D., Fojo, A. T., Bates, S. E. ve Gottesman, M. M. (2018). Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nat Rev Cancer*, 18(7): 452-464.
- Rodenak-Kladniew, B., Castro, A., Starkel, P., Galle, M. ve Crespo, R. (2020a). 1,8-Cineole promotes G0/G1 cell cycle arrest and oxidative stress-induced senescence in HepG2 cells and sensitizes cells to anti-senescence drugs. *Life Sci*, 243: 117271.
- Rodenak-Kladniew, B., Castro, M. A., Crespo, R., Galle, M. ve Garcia de Bravo, M. (2020b). Anti-cancer mechanisms of linalool and 1,8-cineole in non-small cell lung cancer A549 cells. *Heliyon*, 6(12): e05639.
- Rodrigues, D., Souza, T., Jennen, D. G. J., Lemmens, L., Kleinjans, J. C. S. ve de Kok, T. M. (2019). Drug-induced gene expression profile changes in relation to intestinal toxicity: State-of-the-art and new approaches. *Cancer Treat Rev*, 77: 57-66.
- Roettger, A., Bruchhage, K. L., Drenckhan, M., Ploetze-Martin, K., Pries, R. ve Wollenberg, B. (2017). Inhibitory Effect of 1,8-Cineol on beta-Catenin Regulation, WNT11 Expression, and Cellular Progression in HNSCC. *Front Oncol*, 7: 92.

- Roshandel, G., Ghasemi-Kebria, F. ve Malekzadeh, R. (2024). Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers (Basel)*, 16(8): 1530.
- Sampath, S., Subramani, S., Janardhanam, S., Subramani, P., Yuvaraj, A. ve Chellan, R. (2018). Bioactive compound 1,8-Cineole selectively induces G2/M arrest in A431 cells through the upregulation of the P53 signaling pathway and molecular docking studies. *Phytomedicine*, 46: 57-68.
- Sampath, S., Veeramani, V., Krishnakumar, G. S., Sivalingam, U., Madurai, S. L. ve Chellan, R. (2017). Evaluation of in vitro anticancer activity of 1,8-Cineole-containing n-hexane extract of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels plant and its apoptotic potential. *Biomed Pharmacother*, 93: 296-307.
- Sara, J. D., Kaur, J., Khodadadi, R., Rehman, M., Lobo, R., Chakrabarti, S., Herrmann, J., Lerman, A. ve Grothey, A. (2018). 5-fluorouracil and cardiotoxicity: a review. *Ther Adv Med Oncol*, 10: 1758835918780140.
- Sasaki, Y. F., Nakamura, T. ve Kawaguchi, S. (2007). What is better experimental design for in vitro comet assay to detect chemical genotoxicity. *Jap Soc Altern Anim Exp*: 499-504.
- Sethy, C. ve Kundu, C. N. (2021). 5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: Implication of DNA repair inhibition. *Biomed Pharmacother*, 137: 111285.
- Shams-White, M. M., Brockton, N. T., Mitrou, P., Romaguera, D., Brown, S., Bender, A., Kahle, L. L. ve Reedy, J. (2019). Operationalizing the 2018 World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) Cancer Prevention Recommendations: A Standardized Scoring System. *Nutrients*, 11(7): 1572.
- Shaukat, A., Kahi, C. J., Burke, C. A., Rabeneck, L., Sauer, B. G. ve Rex, D. K. (2021). ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol*, 116(3): 458-479.
- Sheng, H., Shao, J., Morrow, J. D., Beauchamp, R. D. ve DuBois, R. N. (1998). Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res*, 58(2): 362-366.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S. ve Jemal, A. (2023a). Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*, 73(1): 17-48.
- Siegel, R. L., Wagle, N. S., Cercek, A., Smith, R. A. ve Jemal, A. (2023b). Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*, 73(3): 233-254.
- Singh, M. P., Rai, S., Pandey, A., Singh, N. K. ve Srivastava, S. (2021). Molecular subtypes of colorectal cancer: An emerging therapeutic opportunity for personalized medicine. *Genes Dis*, 8(2): 133-145.

- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. ve Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3): 209-249.
- Szakacs, G., Paterson, J. K., Ludwig, J. A., Booth-Genthe, C. ve Gottesman, M. M. (2006). Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 5(3): 219-234.
- Tecza, K., Pamula-Pilat, J., Lanuszewska, J., Butkiewicz, D. ve Grzybowska, E. (2018). Pharmacogenetics of toxicity of 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget*, 9(10): 9114-9136.
- Tecza, K., Pamula-Pilat, J., Lanuszewska, J. ve Grzybowska, E. (2016). Genetic polymorphisms and response to 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget*, 7(41): 66790-66808.
- Thanikachalam, K. ve Khan, G. (2019). Colorectal Cancer and Nutrition. *Nutrients*, 11(1): 164.
- Thursby, E. ve Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*, 474(11): 1823-1836.
- Tsukanov, V. V., Vasyutin, A. V. ve Tonkikh, J. L. (2025). Risk factors, prevention and screening of colorectal cancer: A rising problem. *World J Gastroenterol*, 31(5): 98629.
- URL1. "What Is Colorectal Cancer?". from <https://www.cancer.org/cancer/types/colorectal-cancer/about/what-is-colorectal-cancer.html>. Son erişim tarihi:29.07.2025
- URL2. "Cancer Today". from https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&types=0&cancers=39&group_populations=1&populations=903_904_905_908_909_935&sexes=0. Son erişim tarihi:29.07.2025
- URL3. "Cancer Today". from https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&types=1&cancers=39&group_populations=1&populations=903_904_905_908_909_935&sexes=0. Son erişim tarihi:29.07.2025
- URL4. "Cancer Today". from <https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/maps-heatmap?mode=population&sexes=1>. Son erişim tarihi:29.07.2025
- URL5. "Cancer Today". from <https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/maps-heatmap?mode=population&sexes=2>. Son erişim tarihi:29.07.2025
- Van Cutsem, E., Cervantes, A., Nordlinger, B., Arnold, D. ve Group, E. G. W. (2014). Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 25 Suppl 3: iii1-9.

- Vasan, N., Baselga, J. ve Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782): 299-309.
- 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. *Pharmacol Ther*, 206: 107447.
- Vogelstein, B., Fearon, E. R., Hamilton, S. R., Kern, S. E., Preisinger, A. C., Leppert, M., Nakamura, Y., White, R., Smits, A. M. ve Bos, J. L. (1988). Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*, 319(9): 525-532.
- Vousden, K. H. ve Prives, C. (2009). Blinded by the Light: The Growing Complexity of P53. *Cell*, 137(3): 413-431.
- Vuik, F. E., Nieuwenburg, S. A., Bardou, M., Lansdorp-Vogelaar, I., Dinis-Ribeiro, M., Bento, M. J., Zadnik, V., Pellise, M., Esteban, L., Kaminski, M. F., Suchanek, S., Ngo, O., Majek, O., Leja, M., Kuipers, E. J. ve Spaander, M. C. (2019). Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut*, 68(10): 1820-1826.
- Wang, L., Lin, N. ve Li, Y. (2019). The PI3K/AKT signaling pathway regulates ABCG2 expression and confers resistance to chemotherapy in human multiple myeloma. *Oncol Rep*, 41(3): 1678-1690.
- Wang, Z., Liu, J., Xie, J., Yuan, X., Wang, B., Shen, W. ve Zhang, Y. (2022). Regulation of autophagy by non-coding RNAs in gastric cancer. *Front Oncol*, 12: 947332.
- Wild, C., Weiderpass, E. ve Sreewart, B. (2020). World Cancer Report. International Agency for Research on Cancer, WHO.France.
- Wolf, A. M. D., Fontham, E. T. H., Church, T. R., Flowers, C. R., Guerra, C. E., LaMonte, S. J., Etzioni, R., McKenna, M. T., Oeffinger, K. C., Shih, Y. T., Walter, L. C., Andrews, K. S., Brawley, O. W., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Siegel, R. L., Wender, R. C. ve Smith, R. A. (2018). Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin*, 68(4): 250-281.
- Xiao, H., Zheng, Y., Ma, L., Tian, L. ve Sun, Q. (2021). Clinically-Relevant ABC Transporter for Anti-Cancer Drug Resistance. *Front Pharmacol*, 12: 648407.
- Xie, T., Geng, J., Wang, Y., Wang, L., Huang, M., Chen, J., Zhang, K., Xue, L., Liu, X., Mao, X., Chen, Y., Wang, Q., Dai, T., Ren, L., Yu, H., Wang, R., Chen, L., Chen, C. ve Chu, X. (2017). FOXM1 evokes 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer depending on ABCC10. *Oncotarget*, 8(5): 8574-8589.
- Youle, R. J. ve Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9(1): 47-59.

- Zeineddine, F. A., Zeineddine, M. A., Yousef, A., Gu, Y., Chowdhury, S., Dasari, A., Huey, R. W., Johnson, B., Kee, B., Lee, M. S., Morelli, M. P., Morris, V. K., Overman, M. J., Parseghian, C., Raghav, K., Willis, J., Wolff, R. A., Kawaguchi, Y., Vauthey, J. N., Sun, R., Kopetz, S. ve Shen, J. P. (2023). Survival improvement for patients with metastatic colorectal cancer over twenty years. *NPJ Precis Oncol*, 7(1): 16.
- Zhang, D. Q., Guo, Q., Zhu, J. H. ve Chen, W. C. (2013). Increase of cyclooxygenase-2 inhibition with celecoxib combined with 5-FU enhances tumor cell apoptosis and antitumor efficacy in a subcutaneous implantation tumor model of human colon cancer. *World J Surg Oncol*, 11: 16.
- Zhang, J., Lou, X., Jin, L., Zhou, R., Liu, S., Xu, N. ve Liao, D. J. (2014). Necrosis, and then stress induced necrosis-like cell death, but not apoptosis, should be the preferred cell death mode for chemotherapy: clearance of a few misconceptions. *Oncoscience*, 1(6): 407-422.
- Zhao, M., Mishra, L. ve Deng, C. X. (2018). The role of TGF-beta/SMAD4 signaling in cancer. *Int J Biol Sci*, 14(2): 111-123.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı Soyadı : İPEK DEMİRKOPARANOĞLU YÜRÜTEN
Doğum Yeri ve Tarihi :
E-Posta :

Eğitim Durumu:

Yüksek Lisans :

Lisans
Önlisans

Bildiği Yabancı Diller :

Bilimsel Faaliyet/Yayınlar :

6. Uluslararası Selçuk Bilimsel Araştırmalar Kongresi 2025 - Tam Metin Bildiri
İnsan Meme Kanseri Hücresinde 1,8-Cineole'nin Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması

