



**RUTİN, KERSETİN VE VİTEKSİNİN
FARKLI KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi
Tuğba İBİŞOĞLU
Eskişehir 2023**

**RUTİN, KERSETİN VE VİTEKSİNİN FARKLI KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Tuğba İBİŞOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Behiye ŞENEL)

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak 2023

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2004S018 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Tuğba İBİŞOĞLU'nun "Rutin, kersetin ve viteksinin farklı kanser hücreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı tezi 18/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Rana ARSLAN	
Üye	: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Hazal EKEN	

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ÖZET

RUTİN, KERSETİN VE VİTEKSİNİN FARKLI KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Tuğba İBİŞOĞLU

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak, 2023

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Behiye ŞENEL)

Kanser günümüzde sıklığı giderek artan ve ölüm oranı en yüksek olan hastalıkların başında gelmektedir. Kanser tedavisinde, kemoterapi ve radyasyon uygulaması günümüzde ana yöntemlerdir. Kemoterapi uygulaması toksisitesinin yüksek olması nedeniyle kanser hastaları için çeşitli yan etkilere neden olmakta ve yaşam kalitelerini bozmaktadır. Kanserle mücadele de önleyici çalışmalar da büyük önem kazanmıştır. Kanserden korunmada kansere yol açtığı düşünülen etkenlerden uzak durmanın yanı sıra çeşitli bitkisel desteklerin kullanılması da oldukça yaygın olarak tercih edilmektedir. Flavonoidler, bitkilerin yapısında yer alan çok çeşitli ve farklı farmakolojik etki potansiyeline sahip moleküllerdir. Özellikle antiproliferatif ve antioksidan özellikleri olan flavonoidlerin kanser tedavisinde ve kanserin önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu doğal maddelerin, kanserli hücrelerin çoğalmasını ve yayılmasını engelleyebilecekleri belirtilmektedir. Farmakolojik aktiviteleri nedeniyle dikkat çekici olan ve pek çok tıbbi bitki içerisinde yer aldığı bilinen flavonoidlerden olan rutin, viteksin ve kersetindir. Bu flavonoidlerin, antienflamatuar, antiviral, antimikrobiyal, antineoplastik, antihipertansif ve antioksidan etkileri olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Bu proje kapsamında, rutin, kersetin ve viteksin flavonoidlerinin çeşitli kanser hücreleri (meme, beyin, kolon, pankreas, akciğer vb) üzerindeki etkilerini değerlendirip bu kanser tipleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmayı amaçlıyoruz.

Anahtar Kelimeler: Rutin, viteksin, kersetin, antiproliferatif, antioksidan etki

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT RUTİN, QUERCETİN AND VİTEXİN ON DIFFERENT CANCER CELLS

Tuğba İBİŞOĞLU

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January, 2023

Supervisor: Prof. Dr. Rana ARSLAN

(Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Behiye ŞENEL)

Cancer is one of the leading causes of death with increasing frequency and highest mortality rate today. Chemotherapy and radiotherapy are the main methods used in cancer treatment nowadays. Chemotherapy causes various side effects and impairs quality of life of cancer patients due to its high toxicity. Preventive studies for cancer have gained great importance. In addition to avoiding the factors thought to cause cancer, the use of various herbal supplements is also widely preferred in cancer prevention. Flavonoids are molecules found in the structure of plants with a large variety of different pharmacological effect potential. It is thought that flavonoids with especially antiproliferative and antioxidant properties can be effective in cancer treatment and cancer prevention. It is stated that these natural substances can prevent the proliferation and spread of cancerous cells. Rutin, vitexin and quercetin are flavonoids that are remarkable with their pharmacological activities and are known to be found in many medicinal plants. In several studies, these flavonoids have been reported to have anti-inflammatory, antiviral, antimicrobial, antineoplastic, antihypertensive and antioxidant effects. Within the scope of this project, we aim to evaluate the effects of rutin, quercetin, and vitex flavonoids on various cancer cells (breast, pancreas, lung, etc.) and compare their effects on these types of cancer.

Keywords: Rutine, vitexin, quercetin, antiproliferative, antioxidant effect

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait özgün bir çalışma olduğunu çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Tuğba İBİŞOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımda, tezimin doğru bir şekilde yönlenip sonuçlanmasında bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, tüm bu süre zarfında desteğini esirgemeyen, göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı kıymetli danışman hocam Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı hocamız sayın Prof. Dr. Rana ARSLAN'a teşekkür ederim.

Geniş bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez çalışmamın olgunlaşmasında çok büyük emeği olan ve bana her zaman güler yüzü ve samimiyeti ile yaklaşan değerli ikinci tez danışmanım Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı hocamız sayın Doç. Dr. Behiye ŞENEL'e çok teşekkür ederim.

Tezim için her türlü imkanı sağlamaya çalışan Farmasötik Biyoteknoloji Laboratuvarını kullanmamıza izin vererek desteğini esirgemediği için Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Başkanı hocamız Doç. Dr. Gülay Büyükköroğlu'na, tez çalışmalarımındaki akım sitometri cihazını kullanmamızda yardımcı olarak tezime çok büyük katkı sağlayan Farmasötik Mikrobiyoloji hocamız Doç. Dr. Zerrin CANTÜRK'e ve deneysel çalışmalar sırasında yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Ceyda KÖROĞLU'na teşekkür ederim.

Benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan değerli eşim Haydar Selman İBİŞOĞLU'na, hayatımın her alanında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, haklarını ödeyemeyeceğim sevgili aileme; annem Gönül CENGİZ, babam Küçükbey CENGİZ ve abim Tolga CENGİZ'e,

Sonsuz Teşekkürler

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser.....	3
2.1.1. Meme kanseri	4
2.1.2. Akciğer kanseri	6
2.1.3. Pankreas kanseri.....	7
2.1.4. Kolon kanseri	8
2.1.5. Nöroblastom.....	8
2.2. Kanser Patofizyolojisi	9
2.2.1. Hücre siklusu.....	9
2.2.2. Beslenme ile kanser ilişkisi	16
2.2.3. Oksidatif stres	17
2.2.4. Kanserojen maddeler.....	18
2.3. Kanser Tedavisi.....	19
2.3.1. Kanser tedavisinde bitkisel aktif bileşiklerin rolü	20

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler	30
3.2. Kullanılan Cihazlar	30
4. DENEYSEL YÖNTEMLER.....	31
4.1. Rutin, Kersetin ve Viteksin Konsantrasyonlarının Hazırlanması.....	31
4.2. Hücre Kültürü Çalışmaları.....	31
4.2.1 Deneylerde kullanılan hücre hatları.....	31
4.2.2. Sitotoksosite deneyi.....	33
5. BULGULAR.....	38
5.1. Sitotoksosite Test Sonuçları	38
5.2. Akım Sitometri Analiz Sonuçları.....	50
5.3. DPPH Analizi Sonuçları.....	59
5.4. Migrasyon Sonuçları	61
6. TARTIŞMA	72
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
KAYNAKÇA.....	83
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal madde ve malzemeler.....	30
Tablo 3.2. Kullanılan cihazlar	30
Tablo 5.1. Kersetin, Rutin Viteksin ve karışımlarının hücreler üzerinde etkili olduğu IC ₅₀ değerleri (µg/mL).....	44
Tablo 5.2. Kersetin, Rutin, Viteksin ve 1:1 karışımlarının HUVEC, A549, MCF-7, CACO-2, SH-SY5Y ve PANC-1 hücre hatlarındaki apoptotik etkileri..	57
Tablo 5.3. Image J programı ile 0., 24. ve 48 saatte mm olarak ölçülen boşluk mesafeleri (mm) ve bu boşlukların 24 ve 48 saatte % kapanma oranları (KO)	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Kanser hücresinde görülen özellikler	3
Şekil 2.2. Hücenin bölünme evreleri	11
Şekil 2.3. Hücre döngüsünde siklin proteinleri	12
Şekil 2.4. Kanser hücresinin oluşum evreleri	13
Şekil 2.5. Apoptoziste görülen morfolojik değişiklikler	15
Şekil 2.6. Apoptoz mekanizması	15
Şekil 2.7. Apoptoz ve nekroz mekanizmaları	16
Şekil 2.8. Flavonoidlerin sınıflandırması	23
Şekil 2.9. Viteksin kimyasal yapısı	24
Şekil 2.10. Kersetin kimyasal yapısı	26
Şekil 2.11. Rutin kimyasal yapısı	28
Şekil 5.1. Kersetinin artan konsantrasyonlarda 24 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi	38
Şekil 5.2. Kersetinin artan konsantrasyonlarda 48 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi	39
Şekil 5.3. Rutinin artan konsantrasyonlarda 24 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi	40
Şekil 5.4. Rutinin artan konsantrasyonlarda 48 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi	41
Şekil 5.5. Viteksinin artan konsantrasyonlarda 24 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi	42
Şekil 5.6. Viteksinin artan konsantrasyonlarda 48 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi	42
Şekil 5.7. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda HUVEC hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi	44
Şekil 5.8. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda A549 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi	45
Şekil 5.9. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda MCF-7 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi	46

Şekil 5.10. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda CACO-2 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi	47
Şekil 5.11. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi	48
Şekil 5.12. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda PANC-1 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.....	49
Şekil 5.13. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının A549 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları.....	51
Şekil 5.14. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının HUVEC hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları	52
Şekil 5.15. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının MCF-7 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları	53
Şekil 5.16. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının CACO-2 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları	54
Şekil 5.17. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının SH-SY57 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları	55
Şekil 5.18. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının PANC-1 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları.....	56
Şekil 5.19. Kersetin, Rutin ve Viteksinin 0,25-50 µg/kuyu konsantrasyonlarında radikal süpürücü etki yüzdeleri.....	60
Şekil 5.20. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının radikal süpürücü etki yüzdeleri	60
Şekil 5.21. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın HUVEC hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları.....	62
Şekil 5.22. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın A549 hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları.....	63
Şekil 5.23. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın MCF-7 hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları.....	64
Şekil 5.24. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın CACO-2 hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları.....	65
Şekil 5.25. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın SH-SY5Y hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları.....	66

Şekil 5.26. HUVEC hücrelerinde kontrol 0. Saat görüntüsü üzerinde Image J programı ile analiz ve elde edilen sonuç görüntüsü	69
---	----



KISALTMALAR DİZİNİ

μM	: Mikromol
ACS	: American Kanser Derneği
ATCC	: Amerikan Doku Kültürü Koleksiyonu
CDKs	: Siklin-bağımlı kinaz
CRC	: Kolorektal kanser
DMEM	: Dulbecco's modified Eagles medium
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
FBS	: Fetal Sığır Serumı
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GLOBACAN	: Küresel Kanser Gözlem Kurumu
H_2O_2	: Hidrojen Peroksit
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
IC_{50}	: Yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyonu
KHOAK	: Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde
MTT	: 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazolium bromür
NF-kB	: Nükleer faktör Kabba B
PBS	: Fosfat tamponlu tuz
PC	: Pankreas kanseri
PS	: Fosfotidilserin
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
TNF	: Tümör nekroz faktör
NB	: Nöroblastom
PI	: Propidyum İyodür

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, kontrolsüz hücre büyümesi, tümör oluşumu ve doku organizasyonunun kaybı ile karakterize ölümcül bir hastalıktır (Nikitovic vd., 2013). Kanser hücreleri, normal hücrelerde bulunan düzenleyici fonksiyonların çoğunu kaybettikleri için bölünmeye devam ederler. Dünya çapında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Bulaşıcı olmayan hastalıklar arasında kanser, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci önde gelen ölüm nedenidir. Kanser, dünya çapında sekiz ölümden birinden sorumludur (Desai vd., 2008). Günümüzde tıp alanındaki büyük gelişmelere rağmen kanser hala dünya genelinde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ise hasta hücrelerin yok edilmesini sağlarken aynı zamanda sağlam hücrelerin de ölmesine ve zarar görmesine neden olarak oldukça fazla yan etki göstermektedir. Bu yüzden kanser tedavisi oldukça zor ve yıpratıcı olmaktadır. Hastaların yaşadıkları zorlukları ve ilaçların yan etkilerini azaltabilmek, bunun yanı sıra sadece kanserli hücreleri yok etmek amacıyla yeni ilaç geliştirme çalışmaları büyük bir hızla devam etmektedir. Günümüzde kanser tedavilerine her geçen gün yenileri eklenmektedir. Klasik tedavi yöntemleri; cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapidir. Bu tedavi yöntemlerine ek olarak alternatif tedaviler, lazer tedavisi, gen tedavisi, immünoterapi, anjiogenez inhibitörleri, kemik iliği transplantasyonu (KİT) ve kök hücre nakli gibi tedavi yöntemleri bulunmaktadır (Düzen ve Korkmaz, 2015).

Yüzyıllardır doğa ilaç geliştirmek için başvuru alan en önemli kaynak olmuştur. Bitkiler bu kaynakların başında gelmektedir. Son yıllarda bitkisel ürünlere olan ilgi ve kullanım giderek artmaktadır. Ancak bitkisel ürünlerin rastgele ve hekime danışılmadan kullanılması son derece sakıncalı ve olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. Bitkisel etken maddelerin saflaştırılması kimyasal analizlerinin ve etkinlik çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Çeşitli hastalıkların tedavisinde en çok araştırılan bitkisel etken maddelerin başında flavonoidler gelmektedir

Günümüzde tedavide kullanılmakta olan bitkisel kaynaklı antikanser ajanların dört sınıfı vardır; vinka alkaloidleri (vinblastin, vinkristin ve vindesin), epipodofilotoksinler (etoposid ve teniposide), taksanlar (paklitaksel ve dosetaksel) ve kamptotesin türevleri (kamptotesin ve irinote). Bitkiler hala daha yeni ilaçlar sağlamak için muazzam bir potansiyele sahiptir ve bu nedenle kansere karşı kemoprotektif potansiyel sağlayabilen doğal kimyasalların bir kaynağıdır (Desai vd., 2008). Meyve ve sebzelerin tüketimi,

birçok bölgede insan kanseri riskinin azalmasıyla tutarlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Flavonoidler, bitki kaynaklı meyve, sebze ve içeceklerde yaygın olarak bulunan ve heterosiklik bir yapı veya pirona bağlı 2 fenolik benzen halkasından oluşan benzer yapılara sahip ve insan diyetinde nispeten yaygın olarak yer alır. Bu bileşikler, meyve, sebze, bitki özlerinde ve ayrıca çay ve kırmızı şarap gibi bitki türevli içeceklerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bileşiklerin antihepatotoksik, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antialerjik, antiosteoporotik ve antikanser aktivitelere sahip olduğu kabul edilmiştir (Silva vd., 2002).

Yapılan çalışmalara bakıldığında flavonoidler, serbest radikal süpürücü, antimutajenik ve antiproliferatif özellikler, hücre sinyalizasyonunun ve hücre döngüsünün düzenlenmesi ve anjiyogenezin inhibisyonu dahil olmak üzere kanserin önlenmesinde rol oynayabilecek birçok biyolojik etkiye sahiptir. Bu özellikler, kısmen yüksek meyve ve sebze tüketimi ile düşük kanser riski arasında kurulmuş olan ilişki ile alakalıdır. Diyetle birlikte flavonoid alımının kanser riskinde azalma sağlayıp sağlamadığı hala tartışmalı bir konudur ve bu konudaki araştırmalar halen devam etmektedir (Wang vd., 2009).

Tüm bu bilgilerin ışığında bu tez çalışmasında; antioksidan ve antinflamatuvar etkili olduğu bilinen çeşitli flavonoidlerin (viteksin, rutin, kersetin) farklı kanser hücre hatları; A549, PANC-1, SH-SY5Y, MCF-7, CACO-2 üzerindeki inhibitör etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, anormal hücrelerin kontrolsüz büyümesiyle hızla yayılan ve ölüme yol açan bir hastalık grubudur (http-1). Kanserler büyümeyi durdurma yeteneğini kaybetmiş küçük hücrelerden oluşur. Bazen kanser, bir laboratuvar testi veya radyolojik rutin testle veya tamamen farklı bir nedenle “tesadüfen” saptanabilir. Genel olarak kanserin tespit edilmeden önce 1 cm büyüklüğe ulaşması veya 1 milyon hücreden oluşması gerekir. Bu noktada “kitle”, “büyüme”, “tümör”, “nodül”, “yumru” veya “lezyon” olarak adlandırılabilir. Bu genel kuralın istisnaları arasında kan ve kemik iliği kanserleri (lösemi ve lenfomalar) bulunur, bunlar sıklıkla “kitle” üretmezler, ancak laboratuvar testlerinde görünmektedir (Roy ve Saikia, 2016). Hanahan ve Weinberg’e göre kanser hücresinin temel fonksiyonel özellikleri; kendi çoğalma sinyallerini kendisi oluşturur, büyümeyi baskılayan sinyallere karşı duyarsızdır, sınırsız çoğalma potansiyeli vardır, programlı hücre ölümünden kaçır, dokulara ve uzak organlara yayılır (metastaz), kendisine yeni damar oluşturur (anjiojenez). Kanser kronik enfeksiyonun eşlik ettiği bir mikro çevrede gelişir (http-2).



Şekil 2.1. Kanser hücresinde görülen özellikler (http-3)

En erken kanser kanıtlarından bazıları fosilleşmiş kemik tümörleri, eski Mısır'daki insan mumyaları ve eski el yazmaları arasında bulunmuştur. En eski kanser tanımı

Mısır'da keşfedilmiştir ve MÖ 3000'e kadar uzanmaktadır. Edwin Smith Papirüsündeki bir yazıda hastalık hakkında “Tedavisi yok” yazmaktadır. Kanser kelimesinin kökeni, “Tıbbın Babası” olarak kabul edilen Yunan hekim Hipokrat'a (MÖ 460-370) dayandırılmaktadır. Hipokrat, ülser oluşturmayan ve ülser oluşturan tümörler tanımlamak için *karsinoz* ve *karsinom* terimlerini kullanmıştır. Yunanca'da kitleden parmak benzeri yayılan çıkıntılar bu kelimeler yengeç anlamına gelir. Daha sonra Romalı hekim Celsus (MÖ 25 -MS 50), yengeç anlamına gelen Yunanca terimi, Latince *kanser* kelimesine çevirmiştir. Başka bir Yunan hekim olan Galen (MS 130-200), tümörleri tanımlamak için *oncos* (Yunanca şişlik) kelimesini kullanmıştır. Hipokrat ve Celsus'un yengeç benzetmesi hala kötü huylu tümörleri tanımlamak için kullanılsa da Galen'in terimi artık kanser uzmanları/onkologların adının bir parçası olarak kullanılmaktadır (ACS, 2022).

Kanser, birincil halk sağlığı sorunudur ve kardiyovasküler hastalıklardan sonra dünya çapında ikinci önde gelen ölüm nedenidir (Ferlay vd., 2013). Kanser hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı yüküdür (Dai ve Mumper, 2010). Yüz yıl önce kanser çok yaygın değildi; bununla birlikte, son birkaç on yıldan beri, muhtemelen değişen yaşam tarzımız, alışkanlıklarımız ve artan yaşam beklentimiz nedeniyle insidansı endişe verici bir şekilde artmaktadır (Mackay vd., 2006).

GLOBOCAN (Küresel Kanser Gözlem Kurumu), 14 Aralık'ta güncellenmiş küresel kanser yüküne ilişkin yeni tahminler yayınladı ve buna göre 2020'de 19,3 milyon vaka ve 10 milyon ölüm görüldüğünü belirtmiştir. Dünya genelinde her 5 kişiden 1'inin yaşamları boyunca kansere yakalandığını ve 8 erkekten 1'inin ve 11 kadından birinin hastalıktan öldüğü tahmin edilmektedir. Bu yeni tahminler, geçmiş kanser teşhisinden sonraki beş yıl içinde 50 milyondan fazla insanın yaşadığını göstermektedir. Küresel olarak yaşlanan nüfus ve sosyo-ekonomik risk faktörleri, bu artışı yönlendiren başlıca faktörler arasında yer almaktadır (GLOBOCAN 2020). 2030 yılına kadar 21,7 milyon kanser vakası ve 13 milyon kanser ölümü olacağı tahmin edilmektedir (Siegel vd., 2017).

2.1.1. Meme kanseri

Meme kanseri en sık teşhis edilen kanserdir ve dünya çapında kadın ölümlerinin başlıca nedenlerinden biridir (Bray vd., 2018). Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türü olup, her yıl 1,5 milyondan fazla kadını etkilemekte ve kadınlarda kanserle ilgili ölümlerin çoğuna neden olmaktadır. Dünyada 2018'de yaklaşık 2,1 milyon yeni meme kanseri tanısı konmuş ve kadınlarda meydana gelen tüm yeni kanser vakalarının %24,2'sini oluşturmaktadır. Meme kanseri görülme oranları gelişmiş

lkelerdeki kadınlarda daha yüksek olmakla birlikte, bu oranlar tüm ülkelerde artmaktadır (GLOBACAN 2018). Gelişmiş ülkelerde meme kanseri insidansı fazla olmasına rağmen; gelişmekte olan ülkelerde meme kanseri sebebiyle daha fazla ölüm meydana gelmektedir (WHO 2017; Parks vd., 2018). Türkiye’de ise 2009 yılında yüz binde 40,6 olan meme kanseri insidansı, 2015 yılında 17,531 meme kanseri vakasıyla bu oran yüz binde 43,8’e yükselmiştir (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2018). Meme kanserinde insidans ve mortalite hızları yüksek olmasına rağmen erken tanı ve etkin tedavi sayesinde iyi prognoz sağlanmakta, bu sayede yaşam beklentisi fazla olmaktadır. Meme kanseri tarama yöntemleri ile meme kanseri tanılarının %63,7’si erken lokalize dönemde konulabilmektedir. Bu dönemde yakalanan hastaların beş yıllık yaşam beklentileri %97,9’dur (ACS, 2012; Masoudiyekta vd., 2018). Mamografi, klinik meme muayenesi ve kendi kendine meme muayenesi meme kanseri tarama yöntemleri olarak kabul edilmektedir. Bunlardan mamografinin en etkili tarama yöntemi olduğu ispatlanmıştır (WHO, 2017).

Meme kanseri insidansı ve mortalitesi yaşla orantılı olarak artmaktadır. Dünya genelinde bu hastalık 60 yaş civarında zirve yapmaktadır ve 40,4 yaştan itibaren keskin bir eğimle başlamaktadır. Çocuk doğurmak, daha geņç yaşlarda ilk doğum (20’li yaşlar) ve daha uzun emzirme süresi gibi etkenler ve alkol tüketiminin az olması, düşük obezite oranı gibi etmenler meme kanserine yakalanma olasılıklarını düşürmektedir. Geņç yaşta menarş ve menopozda ileri yaş, yoğun meme dokusu, gecikmiş çocuk doğurma, hormonal kontraseptifler, menopozdan önce sigara içmek meme kanseri riskini artırmaktadır. Düzenli fiziksel aktivite yapan ve yüksek miktarda meyve ve sebze tüketen kadınlarda meme kanseri riski azalmaktadır. Haftada en az 7 saat yürüyen kadınların meme kanseri riski hareketsiz kadınlara göre %10-25 daha düşüktür ve menopoz sonrası kadınlarda daha da fazla koruyucu etki gösterir (Winters vd., 2017).

Meme kanseri oluşumunu engellemek için yaklaşık 10 mg/gün doz izoflavon gerektiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır. Flavonoidler ayrıca meme kanserindeki epigenetik mekanizmayı da etkiler; araştırmalar epigallocateşin, genistein ve resveratrolün tamamının DNA metiltransferazı inhibe ettiğini ve meme kanserinde kromatin modifikasyonunu değiştirdiğini gösterir. Bu flavonoidler, farklı tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu indkleyebilmekte, meme kanseri progresyonunu ve metastazını azaltmaya katkıda bulunmaktadır (Selvakumar, 2020). MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF-10A vb. hücre hatları deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır.

2.1.2. Akciğer kanseri

Dünya çapında akciğer kanseri, kanser insidansı ve mortalitesinin önde gelen nedeni olmaya devam etmekte olup 2018 yılında 2,1 milyon yeni akciğer kanseri vakası ve 1,8 milyon ölüm, yaklaşık 5 (1,8%) kanser ölümünden 1'ini temsil etmektedir (Bray vd., 2018). Akciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanserdir (Wu vd., 2019). Tüm akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %85'inin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHOAK) olduğu bildirilmektedir ve akciğer kanserine bağlı ölümlerin %80'i KHOAK'den kaynaklanmaktadır (Malya vd., 2020). Aynı zamanda dünya çapında kanser ölümünün erkekler arasında birinci ve kadınlar arasında ikinci nedenidir (Torre vd., 2016).

Akciğer kanseri oranları ve eğilimleri, tarihsel sigara içme alışkanlıklarındaki farklılıklar nedeniyle cinsiyet, yaş, ırk/etnik köken, sosyoekonomik durum ve coğrafyaya göre önemli ölçüde değişiklik göstermektedir (Torre vd., 2016). Erkeklerde akciğer kanseri oranları, ağırlıklı olarak sigara içme alışkanlıklarına bağlı olarak, gelişmiş ülkelerde az gelişmiş ülkelere göre oldukça yüksektir, ancak tütün kontrol politikaları nedeniyle gelişmiş ülkelerdeki erkeklerde genel insidans azalmaktadır (Torre vd., 2016; Youlten vd., 2008). Akciğer kanseri, 40 yaşın üzerindeki erkeklerde ve 59 yaşın üzerindeki kadınlarda sık olmakla birlikte, vakaların %10'u 55 yaşından küçük hastalarda görülmektedir ve genetik faktörlerin bu hasta nüfusunda büyük rol oynadığı düşünülmektedir (Torre vd., 2016; Siegel vd., 2018; Arnold vd., 2016). Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (KHOAK) epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) mutasyonları ve lepidik özelliğe sahip akciğer kanseri gelişme insidansı kadınlarda daha yüksektir (Patel, 2005; Planchard, vd., 2009). Sigara içen kadınlarda daha sık görülen bazı genetik mutasyonlar (CYP1A1 geninin aşırı ekspresyonu, glutatyon S-transferaz M1 enziminin mutasyonu, p53 tümör baskılayıcı 4 geninin mutasyonları ve X'e bağlı gastrin salan peptid reseptörünün aşırı ekspresyonu) kadınlarda akciğer kanseri gelişimine zemin oluşturmaktadır (Patel, 2005; Planchard, vd., 2009; Kligerman ve White 2011).

Akciğer kanseri risk faktörleri; tütün kullanımı, pasif içicilik, hava kirliliği, radon gazı maruziyeti, asbeste maruz kalmak, kapalı alanda katı yakıt kullanımına bağlı duman (odun, mangal kömürü, mahsül atığı, gübre ve kömür), çeşitli metaller (arsenik, krom, nikel), HIV enfeksiyonu, tüberküloz, genetik yatkınlık, göğüs bölgesine radyoterapi alma öyküsü olarak belirtilmiştir. Akciğer kanseri vakalarının %10-25'ini sigara kullanımı öyküsü olmayan hastalar oluşturmaktadır (Couraud vd., 2012; Ferlay vd., 2010). Sigara,

akciğer kanseri etiyolojisinden sorumlu başlıca faktördür ve akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %90'ı sigara kullanmaktadır. Sigara dumanında 60'dan fazlasının kanıtlanmış karsinojen özelliği bulunan 4000'den fazla kimyasal madde bulunur (Müsellim, 2007). Sigara içmenin yanı sıra çevre kirliliği, hızlı gelişme ve kentleşme dünya çapında akciğer kanserinin diğer önemli nedenlerini oluşturmaktadır (Sharma vd., 2019). Bunların yanı sıra doğal fitokimyasallar açısından zengin Akdeniz diyetinin ise akciğer kanseri riskini azalttığı bilinmektedir ve yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, tümör proliferasyonu, büyümesi ve metastazı üzerinde fitokimyasalların etkilerini göstermiştir (Vauzour vd., 2010; Budisan vd., 2017; Krusinska vd., 2018). A549, H1975, HCC4006, HCC827 vb. hücre hatları deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır.

2.1.3. Pankreas kanseri

Dünyada en yaygın görülen kanserler arasında 14. sırada yer almaktadır ve pankreas kanseri (PC) en ölümcül kanser türlerinden biridir ve erken evrede tanı oranı düşüktür. Amerikan Kanser Derneği (ACS)'nin en son verilerine dayanarak PC, tahmini yeni vaka sayısı ve tahmini ölüm sayısı açısından ilk on kanser arasında yer almaktadır. PC'nin 5 yıllık sağkalım oranı %9 ile 15 kanser türü arasında en düşük orana sahiptir. Şu anda, sigara, alkol tüketimi, kronik pankreatit, obezite ve diabetes mellitus (DM) gibi birçok risk faktörünün PC'i ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Zhou vd., 2019). Gelişmiş ülkeler, gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha yüksek insidans oranlarına sahiptir. Ülkeler arasında PC insidansındaki bu büyük farklılık çevresel faktörlerin hastalık için önemli bir rol oynadığını göstermektedir (WHO, 2017; GLOBACAN, 2018). Diğer birçok kanserin aksine, pankreas kanserinin hem insidansı hem de mortalitesi artmaktadır ve 2030 yılına kadar kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedeni olacağı tahmin edilmektedir (Rahib vd., 2014).

PC ile ilişkili risk faktörleri değiştirilemez veya değiştirilebilir olabilir. Değiştirilemeyen risk faktörleri arasında artan yaş, ailesel kanser sendromları Afro-Amerikan ırkı, kalıtsal ve diğer kronik pankreatit formları, diyabet ve O Rh olmayan kan grubu yer alır. Değiştirilebilir önemli risk faktörleri arasında sigara, obezite, vejetaryen olmayan diyet gibi faktörler ve toksinler bulunur. Pankreas kanserinin 30 yaşından sonra insidans oranları katlanarak artmaktadır ve erkeklerde kadınlara göre %30 daha fazla görülmektedir. Genetik varyasyon/mutasyonlar, pankreas kanserinin hem ailesel hem de ailesel olmayan oluşumlarında önemli bir rol oynar. Pankreas kanserinin %80'den fazlası sporadik olarak meydana gelen mutasyonlar nedeniyle gelişir. Pankreas kanseri

vakalarının küçük bir kısmı kalıtsal germ hattı mutasyonlarından kaynaklanmaktadır (Midha, 2016). PANC-1 ve MIA PACA-2 vb. hücre hatları deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır.

2.1.4. Kolon kanseri

Kolorektal kanser (CRC), gastrointestinal sistemdeki kolon veya rektumu kaplayan epitel hücrelerinden kaynaklanır. Kolon kanseri, 2012 yılında her iki cinsiyette teşhis edilen yaklaşık 1,36 milyon yeni vaka ile dünyada en yaygın üçüncü kanser türüdür (Ren vd., 2003; Ferlay vd., 2015). 2012 yılında, dünya çapında 1,4 milyon teşhis edilmiş vakadan yaklaşık 694,000 ölüm bildirilmiştir (Ferlay vd., 2015). Kolon kanseri erken teşhis edildiğinde 5 yıllık sağkalım oranı %90'dır, ancak vakaların sadece %39'u kanser yayılmaya başlamadan önce teşhis edilebilmektedir (Roy ve Saikia, 2016). Kolorektal kanser (CRC), erkeklerde akciğer ve prostat kanserinden sonra en sık görülen üçüncü kanserdir ve kadınlarda meme kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanserdir. CRC'nin değiştirilebilir risk faktörleri arasında sigara içmek, fiziksel hareketsizlik, aşırı kilolu olmak ve obezite, işlenmiş et yemek ve aşırı alkol almak yer alır. CRC insidansı 45-50 yaşına kadar düşüktür, ancak yaşla birlikte giderek artar ve erkekler kadınlardan daha fazla risk altındadır (Tárraga López vd., 2014).

Kolon kanseri insidansının 2030 yılına kadar %90 oranında artacağı tahmin edilmektedir (De Martel vd., 2012). Kemoterapi sırasında bazen bir takım istenmeyen yan etkiler ortaya çıkar. Mevcut sayısız doğal ürün *in vitro* ve *in vivo* umut verici kanser önleyici özellikler göstermiş olsa da, CRC'de terapötik amaçlı sadece birkaç bitki ürünü olduğu bildirilmektedir (Ren vd., 2003; Taraphdar vd., 2001) Flavonoidler, kolon kanseriyle mücadelede ana polifenol bileşik grubu olarak kabul edilmektedir ve bunların tüketimi ile CRC riskinin azalması arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Kocic vd., 2013). HT-29, HCT-119, CCL-228-SW 480, CACO-2 vb. hücre hatları deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır.

2.1.5. Nöroblastom

Nöroblastom (NB), sempatik sinir sisteminde ortaya çıkan katı, heterojen tümördür. NB tümörleri en yaygın olarak karında gelişir ve en sık adrenal bezde lokalize olmaktadır (Zafar, 2021). En sık 1 yaşından küçük bebeklerde ortaya çıkmaktadır (Qiu ve Matthay, 2022). NB geliştirme olasılığı yaşa göre değişir, en yüksek vaka sayısı perinatal dönemde tespit edilir ve ardından ilk 10 yıl içinde sürekli olarak azalır. NB ergenlerde ve genç erişkinlerde nadiren görülür, ancak bu hasta grubunda ölümcül bir hastalık olma

eğilimindedir. İlginç bir şekilde, <18 aylık hastalarda NB sıklıkla kendiliğinden geriler. Yaşamın ilk yılında ortaya çıkan tüm NB vakalarının yaklaşık yarısının çoğunlukla tam spontan gerileme nedeniyle tespit edilememektedir (Nakagawara, 2018). NB tümörleri, çocukluk çağı malignitelerinin %7-8'ini oluşturur ve her yıl yaklaşık 650 NB hastasına teşhis konulmaktadır (Zafar, 2021). Nöroblastoma insidansı, 15 yaşın altındaki bir milyon çocuk başına 10,2 vakadır (Maris, 2010). Düşük ve orta riskli hastalığı olan hastalarda sağkalım %100'e yaklaşırken, yüksek riskli NB hastalarının 5 yıllık sağkalım oranı %50'den azdır. NB'de bazı etnik farklılıklar vardır; Avrupa kökenli olanlarda ve Afrikalı-Amerikalı çocuklarda daha yaygındır ve daha yüksek riskli hastalık sergileme eğilimindedir (Zafar, 2021).

Otonom sinir sisteminde ortaya çıkan en sık görülen pediatrik kanser olan NB için en iyi korunma stratejisi 6 aydan fazla emzirmeyi önermektir (Tortajada, 2005). *Potentilla parvifolia* Fisch. (Rosaceae) bitkisinden elde edilen kersetin ve tiliroside flavanoidlerin nöroprotektif etkileri, insan nöroblastoma SH-SY5Y hücre modeli ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir ve iyi birer nöroprotektif etkilerinin olduğu görülmüştür (Yuan, 2017). p53 işlevini kaybetmiş nöroblastoma, genellikle trajik sonuçlara yol açan tedaviye oldukça dirençli bir fenotipe sahiptir. Didymin, kültürde ilaca dirençli p53-mutant nöroblastom hücrelerinin yanı sıra p53 vahşi tipini de öldüren narenciye türevi doğal bir flavanoiddir. Oral olarak uygulanan didymin, fare modellerinde nöroblastoma ksenograftlarının kötü huylu olmayan hücrelere, nöral dokulara veya nöral kök hücrelere karşı toksisite olmaksızın gerilemesine neden olur (Singhal, 2017).

2.2. Kanser Patofizyolojisi

2.2.1. Hücre siklusu

Normal bir hücrenin kanserli bir hücreye dönüşmesi, muhtemelen kanserin oluşumunda çok kritik bir olay değildir; aslında önemli olan vücudun bağışıklık hücrelerinin, yeni oluşan kanser hücrelerini sayıca azken teşhis edip yok edememeleridir (Hanahan ve Weinberg, 2011). Normal şartlarda vücudumuzda kanser oluşturabilecek DNA'sı bozulmuş, mutasyona uğramış hücreler oluşabilmekte ancak bu tip hücreler bağışıklık sistemi tarafından yok edilmektedir veya DNA onarım mekanizması ile onarılabilmektedirler (Bilge ve Kantarcı, 2006). Bağışıklık sisteminin vücudu taradığını bu sebeple sıkça ortaya çıkan karsinomların aşırı büyümesini önlediği ileri sürülmektedir (Ehrlich, 1909). Bağışıklıkta görevli kanser hücreleri, onkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin düzensiz ekspresyonu ile sonuçlanan mutasyonlara sahiptirler ve aynı zamanda

bu değişiklikler yüzlerce genin ekspresyonunun değişmesine neden olur (Roy ve Saikia, 2016).

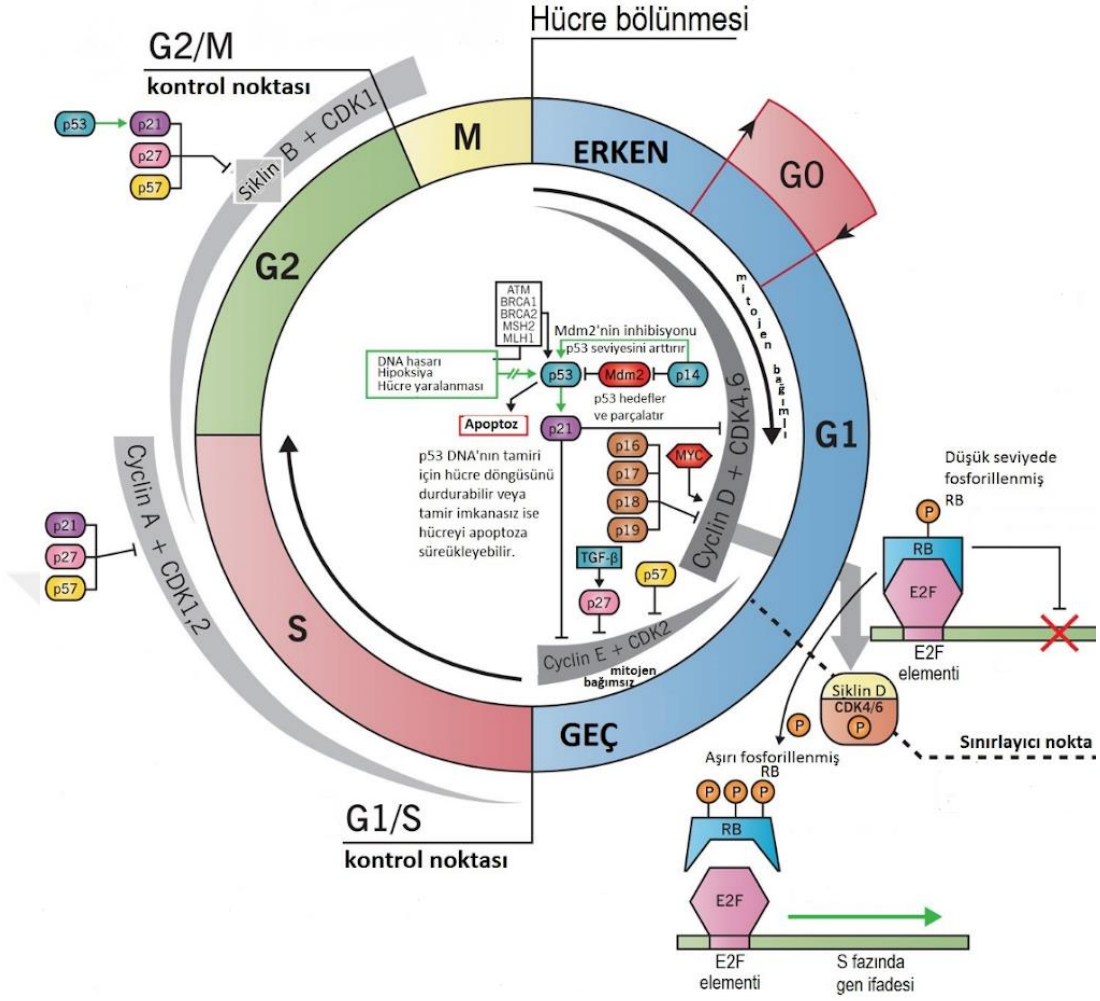
Bir dakika ile bir sene arasında değişen hücre döngüsünün amacı hücrenin büyümesi ve hücre çoğalmasıdır.

S fazı (Sentez): DNA replikasyonu, kromozomların çiftlenmesi, RNA ve protein sentezi gerçekleşir. Bu dönem 4 ile 24 saat arasında sürer.

G₂ fazı (G=Gap): DNA replikasyonu olmaz, RNA ve protein sentezi devam eder. Sağlıklı ve tümör hücrelerinde 2 saat sürer.

M fazı (Mitoz): Bir saatlik sürede mitoz ve sitokinez gerçekleşir.

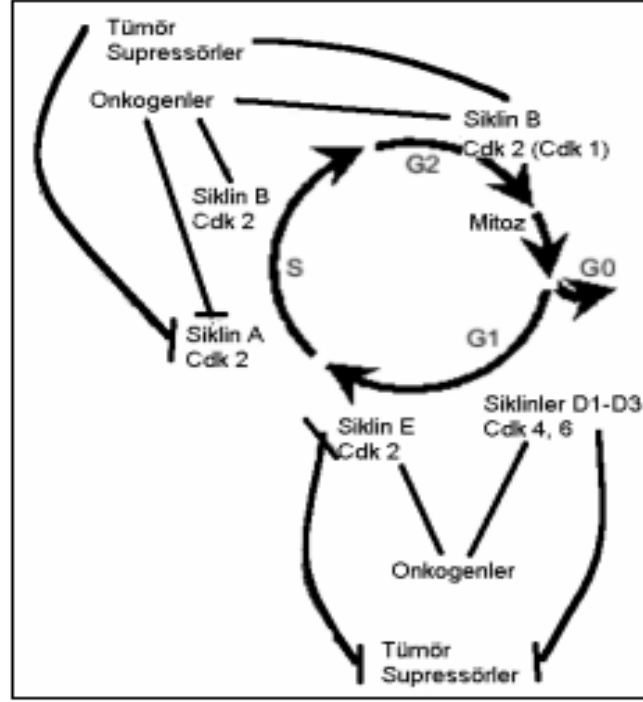
G₁ fazı: Hücrelerin ilk bölümde tekrar hücre bölünmesine girmeden Sentez'e (S) hazırlandığı, DNA zinciri, kromozom için gerekli enzim, nükleotid ve histon sentezinin yapıldığı evredir. DNA replikasyonu olmaz ancak RNA ve protein sentezi devam eder. Hücre çoğalma hızını belirler, tümör tipleri arasında süresi değişkenlik gösterir. Tümör hücrelerinden yavaş çoğalanlar mitozdan sonra G₀ fazıyla devam ederler. (Yokuş ve Ülker, 2012; Kayaalp, 2018). G₀, büyümenin durduğu veya farklılaşmanın tamamlandığı fazdır. Hücrenin siklin bağımlı kinazların (CDKs) aktive olmasıyla G₁ fazından S fazına girer (Şener vd., 2022). Hücre döngüsünde DNA replikasyonu ve hücre bölünmesinin regülasyonu en iyi anlaşılmış olan olaylardır. Birçok yetişkin dokudaki hücreler bölünmenin olmadığı G₀ fazındadır (Güneş, 1999). G₀ fazındaki hücre tekrar bölüneceğı zaman döngüye G₁ fazından katılmaktadır. Büyüme faktörleri, sitokinler ve tümör virüsleri gibi mitojenik iletiler, hücrenin S fazına geçiş hazırlıkları yaptığı G₁ fazına girmesini sağlar. Döngünün kontrol noktaları; G₁, G₂ ve M evrelerinin son aşamalarında bulunmaktadır (Yokuş ve Ülker, 2012).



Şekil 2.2. Hücrenin bölünme evreleri (<http-4>)

Siklinler ve CDKs proteinleri hücre döngüsünün metabolik aktivitelerini düzenlemekte, kontrol etmekte ve hücre bölünmesini hızlandırma yönünde uyarmaktadır. Hücre döngüsünde bölümler arası geçiş bu moleküller aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Siklinler CDKs'a bağlanarak onları uyarırlar, ardından CDKs hücre döngüsünün yürütülmesinde rol oynayan substrat moleküllerini fosforile ederek aktive olmasını sağlarlar. Hücre siklusu kontrolünde görevli başlıca siklinler, Siklin A, B, D ve E'dir. Siklinler CDKs moleküllerini etkiler, S fazında CDKs 1 ve 2, siklin A tarafından, geç dönemlerinde siklin E, CDK 2 ve G₁ evresinin orta ve son dönemlerinde CDKs 4 ve 6, siklin D tarafından uyarılır. Büyümeyi uyanan sinyal, hücrede siklin D ailesinin düzeyini artırmakta ve uygun CDKs aktive olmaktadır. Bu nedenle siklin D salınımının kontrolünün bozulduğu bir mutasyon, hücreyi S fazına sokmakta ve neoplastik transformasyon gelişmektedir. S fazında DNA sentezinde görevli enzimler ve DNA sentezi için gerekli genlerin ekspresyonu gerçekleştirilir. Bir seferlik üretilen siklinler

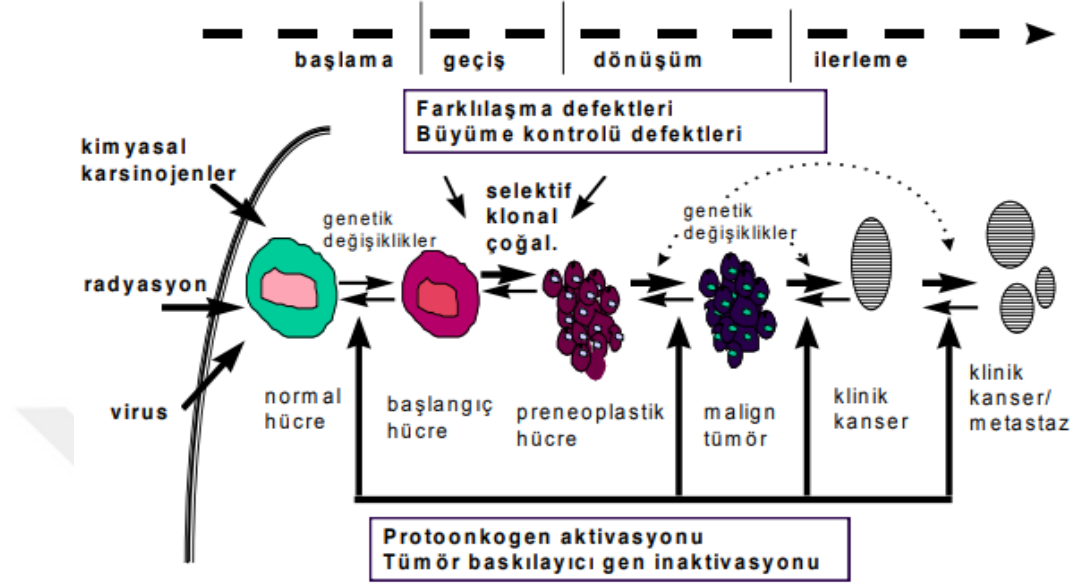
CDKs'lerle birleşip onları aktive ettikten sonra hücre içinde yok edilirler (Yokuş ve Ülker, 2012; Kayaalp, 2018). Döngüdeki aracı moleküllerden bazıları CDKs moleküllerine bağlanarak onları inhibe eden siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CDKIs) ve diğer kinaz inhibitörü (KI) proteinlerdir (Kayaalp, 2018).



Şekil 2.3. Hücre döngüsünde siklin proteinleri (Yokuş ve Ülker, 2012)

Hücre bölünmesinde yaşamsal öneme sahip olan düzenleyici tümör baskılayan p53 geni; DNA hasarına yanıt olarak p53 gen ürününü aktive ederek hücre döngüsünü durdurur (Aydın Özgür, 2006; Ekmekçi, 2008). p53 molekülü normalde inaktif halde bulunur, DNA hasarı ile aktif hale geçer, eğer DNA hasarı ciddi ve tamiri mümkün değilse hücreyi apoptozise yönlendirir (Bircan vd., 2005). G1 dönemi ile S dönemi (kontrol noktası 1) ve G2 dönemi ile M dönemi (kontrol noktası 2) arasında hücre siklusundaki baskılayıcı etkilerini gösterir. Önemli bir negatif düzenleyici yani bölünmeyi inhibe edici gen olan p53 geni, sentezini sağladığı p21 proteini aracılığıyla kontrol noktası 1'de inhibisyonu gerçekleştirir (Kayaalp, 2018). Mide kanserlerinin yaklaşık yarısına yakın insidanda, akciğer kanserlerinin yarısında, CRC %70'inden fazlasında p53 geninde homozigot kayıp saptanmıştır (Karaman, 2003). Bax ve Bcl-2; p53 apoptozisin iki ana elemanıdır ve p53 ile etkileşime girerler. p53; Bax'ın ekspresyonunu artırır ve apoptozu artırır, Bax protein (bcl-2-associated x protein) ise bcl-2 ile yüksek derecede yapısal benzerlik göstermesine rağmen proapoptotik aktivite

gösterir. p53; fetal ve yetişkin dokuda eksprese edilen Bcl-2'nin ekspresyonunu azaltır ve apoptoz baskılanır. Hasara uğramış genetik materyalin bir sonraki hücreye aktarılması engellenir (Karaman, 2003; Bircan vd., 2005).



Şekil 2.4. Kanser hücresinin oluşum evreleri (<http-5>)

2.2.1.1. Apoptoz

Apoptoz, 1970'lerde Kerr ve arkadaşları tarafından tanımlandığından beri, biyolojik araştırmalarda en çok araştırılan süreçlerden biri olmaya devam etmektedir. Oldukça seçici bir süreç olan apoptoz hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda önemlidir (Wong, 2011).

Apoptoz, DNA hasarından veya hücre döngüsü sırasında oluşanlar gibi hasarlı hücrelerin düzenli ve verimli bir şekilde çıkarılmasıyla sonuçlanan programlanmış hücre ölümünün bir şeklidir. Apoptoz, genotoksik stres gibi hücre içinden gelen sinyaller veya ligandların hücre yüzeyi ölüm reseptörlerine bağlanması gibi dış sinyaller tarafından tetiklenebilir. Apoptotik hücre ölümü mekanizmasındaki kuralsızlaştırma, kanserin ayırt edici özelliğidir. Apoptoz değişikliği sadece tümör gelişimi ve ilerlemesinden değil, aynı zamanda tedavilere karşı tümör direncinden de sorumludur. Şu anda klinik onkolojide kullanılan çoğu antikanser ilacı, kanser hücresi ölümünü tetiklemek için bozulmamış apoptotik sinyal yollarından yararlanır. Hücrenin ölüm yollarındaki kusurlar ilaç direncine neden olabilir ve bu nedenle tedavilerin etkinliğini sınırlandırabilir (Pistritto vd., 2016).

Apoptoz kanserli hücrelerde az miktarda meydana gelmekte ve ölmeyecek malign hücrelere neden olmaktadır. Apoptoz mekanizması karmaşıktır, bu esnada hücreler malign transformasyona tümör metastazına ve antikanser ilaçlara karşı dirence yol açabilmektedir. Apoptoz, problemin nedenidir fakat aynı zamanda tedavi için gerekli bir mekanizmadır. Kanserde hücre bölünmesi ile hücre ölümü arasında bir denge kaybı vardır ve ölmesi gereken hücreler bunu yapacak sinyalleri almamıştır. Sorun, apoptoz yolu boyunca herhangi bir adımda ortaya çıkabilir. Azaltılmış apoptoz, gelişmiş tümör ve büyümesi ve gelişimi ile sonuçlanan bir tümör baskılayıcı gen olan p53'ün aşağı regülasyonu ve mekanizmadan bağımsız olarak p53'ün etkisizleştirilmesi, birçok insan kanseri ile bağlantılıdır (Wong, 2011).

Apoptozda biyokimyasal değişiklikler; genel olarak, apoptozda üç ana tip biyokimyasal değişiklik gözlemlenebilir:

- Kaspazların aktivasyonu,
- DNA ve protein yıkımı,
- Membran değişiklikleri ve fagositik hücreler tarafından tanınması.

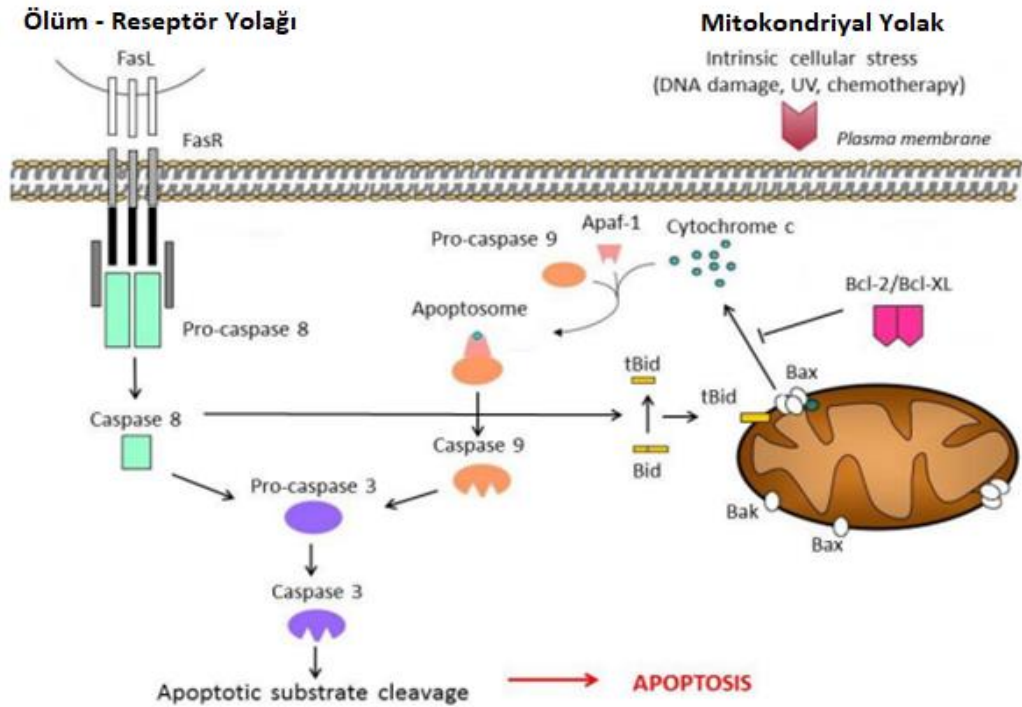
Apoptozun başlarında, hücre zarının dış katmanlarında, iç katmanlardan “dışarı çevrilmiş” olan fosfatidilserin (PS) ifadesi vardır. Bu, ölü hücrelerin makrofajlar

tarafından erken tanınmasına izin vererek proinflamatuvar hücresel bileşenlerin salınımı olmadan fagositozla sonuçlanır.



Şekil 2.5. Apoptoziste görülen morfolojik değişiklikler (Akmeşe, 2016)

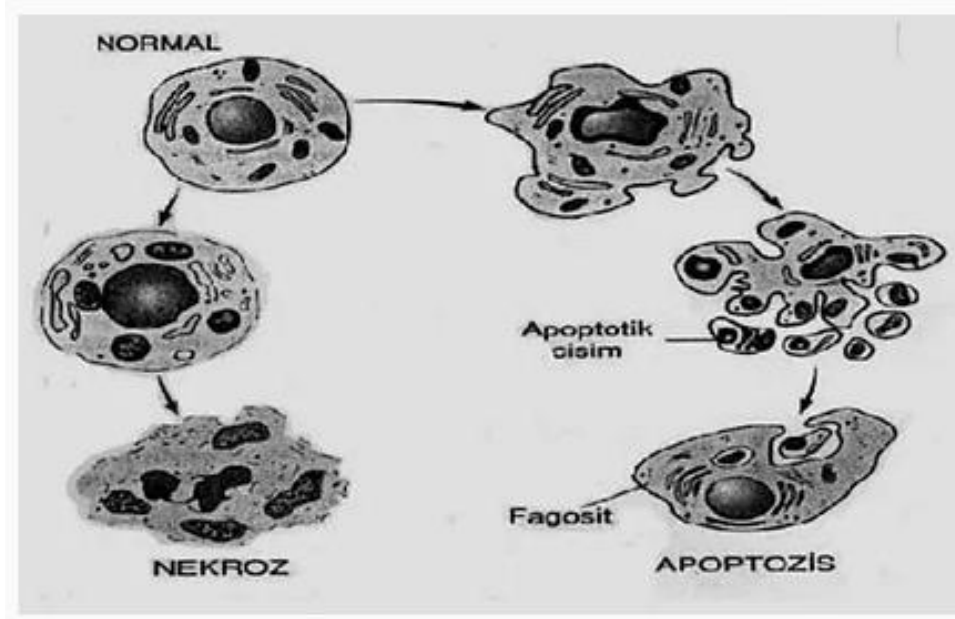
Apoptozun diğer bir önemli özelliği, kaspazlar adı verilen sistein proteaz ailesine ait bir grup enzimin aktivasyonudur. Aktive edilmiş kaspazlar birçok hayati hücresel proteini parçalar ve nükleer yapı iskelesini ve hücre iskeletini parçalar. Ayrıca nükleer DNA'yı daha da bozan DNAaz'ı da aktive ederler (Wong, 2011).



Şekil 2.6. Apoptoz mekanizması (Lialitska, 2012)

2.2.1.2. Nekroz ve Apoptoz farkları

Apoptoz (programlanmış hücre ölümü olarak da bilinir), hücre yapısında bir dizi enzime bağlı biyokimyasal süreçle ve morfolojik değişiklik ile karakterize edilen bir süreçtir. Sonuç, çevredeki dokulara minimum hasar ile hücrelerin vücuttan temizlenmesidir. Bununla birlikte nekroz (kontROLSÜZ hücre ölümü), genellikle hücre içeriğinin çevre dokulara dökülmesi ve ardından hasar görmesiyle sonuçlanan, çoğunlukla şiddetli bir saldırının ardından hücrenin kontROLSÜZ ölümü olarak karakterize edilir. Apoptozun başarısız olması ve bunun sonucunda vücutta hasarlı hücrelerin birikmesi, çeşitli kanser türlerine neden olabilir. Bu nedenle, etkili kemoterapötiklerin geliştirilmesinde yolların anlaşılması önemlidir. Son zamanlarda apoptozun birkaç alt tipi olduğu ve apoptoz, nekroz ve otofaji arasında bir örtüşme olduğu netlik kazanmıştır (D'Arcy, 2019).



Şekil 2.7. Apoptoz ve nekroz mekanizmaları (<http-6>)

2.2.2. Beslenme ile kanser ilişkisi

Yapılan çalışmalar tüm kanser vakalarının %90-95'inin çevre ve yaşam tarzından kaynaklandığını göstermektedir (Anand vd., 2008). Yaklaşık 2500 yıl önce Hipokrat, genel sağlık için gıdanın önemini belirtmiştir. Son birkaç yüzyıl boyunca hastalıkları önlemek/tedavi etmek için özellikle bitkilerden elde edilenler başta olmak üzere yenilebilir maddelerin kullanımını kabul etmiş ve teşvik edilmiştir dolayısıyla, kanser kemopreventif/kemoterapötik olarak fitokimyasallar olarak da bilinen doğal ajanların

potansiyeli konusunda farkındalık yaratmıştır. Günümüzde piyasada bulunan antikanser ilaçlar arasında doğal ürün türevleri veya doğal ürün taklitleri yer almaktadır (Newman ve Cragg, 2007).

Diyet, fiziksel hareketsizlik, hareketsiz yaşam tarzı ve obezite, sigaradan sonra kanserin başlangıcındaki ana risk faktörleridir. Beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerin kanser başlangıcını önlemeye %30-50 oranında katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir (Mentella vd., 2019). Şimdiye kadar yapılmış olan incelemelerde, meyve ve sebzelerde antikanser özelliğe sahip yaklaşık 25.000 farklı fitokimyasal tanımlanmıştır (Anand vd., 2008). Son yıllarda polifenolik bileşikler içeren bitkisel gıdalara büyük ilgi duyulmaktadır (Huang vd., 2010; Khan vd., 2008). Düzenli bir şekilde sebze ve meyve (sarımsak ve lahana, brokoli, vb.) içeren bir diyetle beslenme sonucu selenyum, folik asit, çeşitli vitaminlerin (A vit., B-12, D vit.) ve antioksidanların alımının kanser başlangıcında koruyucu bir rol oynadığı ve böylece meme kanseri, kolorektal kanser ve prostat kanseri riskinin %60-70 ve akciğer kanseri riskinin ise %40-50 oranında azaltılabildiği belirtilmektedir (Mentella vd., 2019).

Lif bakımından zengin ürünlerin (örneğin tam tahıllar) yüksek miktarda alınması ve orta düzeyde süt ve süt ürünleri alımı, farklı kanser türlerinin (örneğin kolorektal kanser, akciğer kanseri, mide kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser, yemek borusu kanseri) görülme sıklığını azaltabilir. Tersine hayvansal katı ve sıvı yağlar bakımından zengin olan ve genellikle yüksek sıcaklıklarda pişirilen et ve hayvansal ürünler özellikle kolorektal kanser, mide kanseri ve prostat kanseri için kanser insidansını artırabilir. Alkol alımı ve sağlığa olumlu ya da olumsuz etkileri konusunda çalışmalar arasında bir fikir birliği yoktur. Orta düzeyde bir alkol alımı (günde 30 g'a kadar) böbrek kanserinin başlamasına karşı koruyucu bir etkiye sahip yol açarken aşırı alkol alımı kesinlikle birçok kanserin (ağız boşluğu kanseri, yemek borusu kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser, mide kanseri ve karaciğer kanseri) başlangıcında risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Mentella vd., 2019).

2.2.3. Oksidatif stres

Serbest radikaller vücudun onları düzenleme yeteneğini aşarsa, oksidatif stres olarak bilinen bir durum ortaya çıkar (Lobo vd., 2010). Oksidatif stres ilk olarak Helmut Sies tarafından “prooksidan-antioksidan dengesinin oksidan türler lehine bozulması ve potansiyel hasara yol açması” olarak tanımlanmıştır. Artan serbest radikal oluşumunun yanı sıra koruyucu antioksidan savunma sisteminin azalmış aktivitesinin bir yansımasıdır.

Reaktif oksijen türleri esas olarak zarar verici oksidatif reaksiyonlardan sorumludur. Oksidatif stres, antioksidanların etkisiyle karşı konulamayan reaktif oksijenli türlerin aşırı üretimi olarak tanımlanır (Pisoschi ve Pop, 2015). Reaktif oksijen ve nitrojen türleri (ROS/RNS) üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengesizlik meydana gelmiştir (Lopez-Alarcona ve Denicola, 2013).

Antioksidanlardan zengin beslenmenin insan sağlığına yararlı olacağı öne sürülmüştür ve doğal ürünlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. İyi bir antioksidan, sadece iyi bir radikal temizleyici ve indirgeyici bileşik değil, aynı zamanda antioksidan enzimlerin ekspresyonunu indükleyen transkripsiyon faktörlerini aktive ederek, böylece oksidatif stresi iyileştirerek antioksidan aktivitesini gösterebilen bir moleküldür (Lopez-Alarcona ve Denicola, 2013).

Serbest radikal üretimi ile antioksidan savunmalar arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak ortaya çıkan oksidatif stres, lipidler, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere çok çeşitli moleküler türlerin hasar görmesi ile ilişkilidir. Radyasyon ve kemoterapinin yan etkilerinin yanı sıra kanserin başlaması ve ilerlemesi, ROS ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizliğe bağlanmıştır (Lobo vd.,2010). Bu dengesizlik sonucunda, onkogenlerin aşırı ekspresyonu, mutajen bileşiklerin oluşumu, aterojenik aktivitenin teşviki, senil plak oluşumu veya iltihaplanma görülebilir. Oksidatif stres, nörodejenerasyon, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, böbrek hastalıkları, ateroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, alzheimer hastalığı ve kanser dahil olmak üzere birçok hastalığa neden olmaktadır (Forman ve Zhang 2021; Pisoschi ve Pop, 2015). Kanser başlıca iç nedenleri oksidatif stres; hipoksi, genetik mutasyonlar ve apoptotik fonksiyon eksikliği iken, dış nedenleri ise artan stres, çevre kirliliği, sigara, radyasyon ve ultraviyole ışınlarına maruz kalma ile ilişkilidir (Blackadar, 2016).

2.2.4. Kanserojen maddeler

İmmün tahribattan kaçınmak artık kanserin ayırt edici özelliği olarak kabul edilmektedir ve immünoterapi alanı, melanom gibi farklı kanser türlerine sahip hastalarda, artan sağkalım ve iyileşme yanıtının görülmesi son gelişmelerle artmıştır (Couzin-Frankel, 2013). Kronik stres, yaşlılık, kronik zayıflatıcı hastalık, daha önce kemoterapi kullanımı, analjezik, antibiyotik, kortikosteroid gibi ilaçların kötüye kullanılması gibi herhangi bir faktör nedeniyle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde kanser riski artmaktadır (Roy ve Saikia, 2016).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) araştırmasına göre, dünya çapında kanserden kaynaklanan ölümlerin %35'i fiziksel, kimyasal, biyolojik ve enfeksiyon faktörlerinden kaynaklandığı görülmüştür.

Fiziksel faktörler; WHO, Uluslararası "Elektromanyetik Alanlar" Programının bir monografisinde 50/60 Hz'lik manyetik alan olası bir tümör faktörü olarak kabul eder. X ışınlarına maruziyeti, mor ötesi, ultraviyole ışığa maruz kalma, güneş ışınlarına maruziyet, solaryum tarafından yayılan radyasyon, arsenik, kömür katranı, is gibi maddelere maruziyet kansere yol açar.

Kimyasal faktörler; Tütün kullanımı, alkol tüketimi, evlerde ve tarımda kullanılan kimyasallar, egzoz emisyonları, endüstriyel kirleticiler ve toksik atıklar, zirai ilaçlara yüksek maruziyet, duman, tütsü veya saç boyası kanser riskini artırabilir. Bazı ilaçların da kanserojen etkileri olabilir; hamile kadınlarda düşük tehdidinde verilen stilbestrol gibi türevler, aromatik benzen türevleri, kloro-organik maddeler, fenoksiasetik asit türevleri ve miyelosupresif antibiyotikler vb.

Biyolojik faktörler; Diyet, fiziksel hareketsizlik, hareketsiz yaşam tarzı ve obezite, sigaradan sonra kanserin başlangıcındaki ana risk faktörleridir. Beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerin kanser başlangıcını önlemeye %30-50 oranında katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir (Mentella vd., 2019). Yukarıda Beslenme ile Kanser İlişkisi bölümünde daha detaylı bahsedilmiştir.

Enfeksiyonlar; Sık enfeksiyonlara maruz kalmak kanser için tehdit olarak görülmektedir. *Helicobacter pylori* enfeksiyonlarının mide kanseri ile, *C. pneumoniae*'nin akciğer kanseri ile ve *Chlamydia trachomatis*'in rahim ağzı kanseri gelişiminde risk faktörü olarak görülmektedir. Nazofaringeal karsinom ve Burkitt lenfomasına neden olan Epstein-Barr virüsü (EBV), tümör hücrelerinde tanımlanmıştır ayrıca EBV'nin mide kanseri, Hodgkin lenfoma, damak, bademcik ve dil kanserinin etiyopatogenezinde yer aldığı görülmektedir. *Salmonella typhi*'den kaynaklı kolanjiokarsinom (safra yolu kanseri) gelişiminde yer alan çeşitli potansiyel mekanizmalar varken, *Streptococcus bovis* genellikle kolorektal kanser ile ilişkilidir (Lewandowska vd., 2019).

2.3. Kanser Tedavisi

Biyobelirteç testi; Kanser hakkında bilgi sağlayabilecek genleri, proteinleri ve tümör belirteçlerini aramak için kullanılan bir yoldur.

Kemoterapi; Kanser hücrelerini öldürmek için ilaçların kullanıldığı bir tedavi türüdür. Birinci basamak cerrahi tedavinin ardından verilen kemoterapi *Adjuvan*

(koruyucu), ilk basamak tedaviden sonra uygulanan tedavi *Neoadjuvan* (küçültücü) ve *Palyatif* (destek amaçlı) kemoterapi olmak üzere 3 türü vardır.

Hormon tedavisi; Kanserlerin büyümesini yavaşlatmak veya durdurmak amacı ile kullanılan bir tedavi türüdür.

Yüksek ateş; Hipertermi, normal dokuya çok az zarar vererek veya hiç zarar vermeden kanser hücrelerinin zarar görmesine ve öldürülmesine yardımcı olmak için vücut dokusunun 45 °C 'ye kadar ısıtıldığı bir tedavi türüdür.

İmmünoterapi; Bağışıklık sisteminizin kanserle savaşmasına yardımcı olan kanser tedavisi türüdür.

Fotodinamik terapi; Kanseri ve diğer anormal hücreleri öldürmek için ışıkla aktive edilen bir ilaç kullanılır.

Radyasyon tedavisi; Kanser hücrelerini öldürmek ve tümörleri küçültmek için yüksek dozda radyasyon kullanan kanser tedavisidir.

Kök hücre nakli; Yüksek doz kemoterapi veya radyasyon tedavisi ile kendi hücreleri yok edilmiş kişilerde kan hücrelerine dönüşen kök hücreleri geri kazandıran prosedürlerdir.

Ameliyat; Kanseri tedavi etmek için kullanıldığında cerrahi yöntemlerle vücuttan kanserli dokunun çıkarıldığı bir prosedürdür.

Hedefe yönelik tedavi; Kanser hücrelerinde büyümelerine, bölünmelerine ve yayılmalarına yardımcı olan değişiklikleri hedefleyen bir tür kanser tedavisidir, kemoterapi ilaçlarının aksine sağlıklı hücrelere zarar vermez sadece kanser hücrelerini hedefler ([http-7](#); [http-8](#)).

Mevcut kanser tedavileri genellikle sağlıklı hücreleri öldüren ve hastalarda toksisite ile sonuçlanan radyasyon ve kemoterapötik ilaçların alınmasını ve cerrahi müdahaleyi içermektedir. Bu nedenle araştırmacılar sadece kanserli hücreleri ortadan kaldıracı yollarını aramaktadır. Kanserli hücrelerin tümör içi heterojenliği, etkili bir kanser tedavisinin önündeki en büyük engeldir (Zaimy vd., 2017). Son yıllarda risk faktörlerini ortadan kaldırmaya yönelik çabalara rağmen, kanserin yayılması artmaya devam etmektedir (Navya vd., 2019).

2.3.1. Kanser tedavisinde bitkisel aktif bileşiklerin rolü

Kanser tedavisinde bitki ve bitki bazlı ürünlerin kullanımı tıbbi uygulamalarda hızla artmaktadır (Cassileth ve Vickers, 2005). Bitkisel ürünler, zararlı yan etkilerinin daha az olduğunun düşünülmesi nedeniyle çeşitli kanser türlerinin tedavisi için uzun süredir

öneme sahiptirler. Mevcut kemoterapötiklerle ilişkili toksisite, yeni kanser önleyici ilaçların geliştirilmesine yönelik talebi artırmaktadır. Klinik olarak kullanılmakta olan birçok ilaç doğal ürünlere dayanmaktadır (Butler, 2008). Kanser insidansındaki keskin artış uygun tedavi eksikliği ve sentetik ilaçlarla ilişkili ciddi yan etkiler yeni ve daha etkili moleküllerin araştırılmasını gerekli kılmıştır. Son yıllarda, dünya genelinde bitkisel ilaçların veya bitki türevli doğal ürünlerin kullanımına, düşük yan etkileri nedeniyle ilgi artmıştır. Doğal ürünler arasında flavonoidler, bitkiler aleminde her yerde bulunan geniş bir bileşik grubunu oluşturmaktadır (Marder vd., 1998).

Geleneksel bilgiler ve bilimsel raporlar şifalı bitkilerin, bazı kanser türleri de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilen biyolojik olarak aktif bileşiklerin zengin kaynakları olduğunu göstermektedir. Kemoterapötik bir ilaç geliştirmeye yönelik ilk girişim 1940'larda nitrojen hardalları ve antifolat ilaçlarla başlamıştır (Chabner ve Roberts Jr., 2005).

Flavonoidler ve diğer fenoliklerin kanser ve kalp hastalığının gelişiminde önleyici rol oynadığı öne sürülmüştür. Epidemiyolojik çalışmalar, tüketimlerinin kanser ve kardiyovasküler hastalık riskinde azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Haghi ve Hatami, 2010). Flavonon türevlerinin hücre döngüsünü düzenleyici proteinlerin ekspresyonunun kontrolünde kritik bir rol oynadığı ve ayrıca apoptoz ve otofaji ile ilgili mekanizmaları aktive ederek kanser hücresi ölüm oranını arttırdığı bildirilmektedir (Woo vd., 2012; Irimie vd., 2015; Irimie vd. 2016).

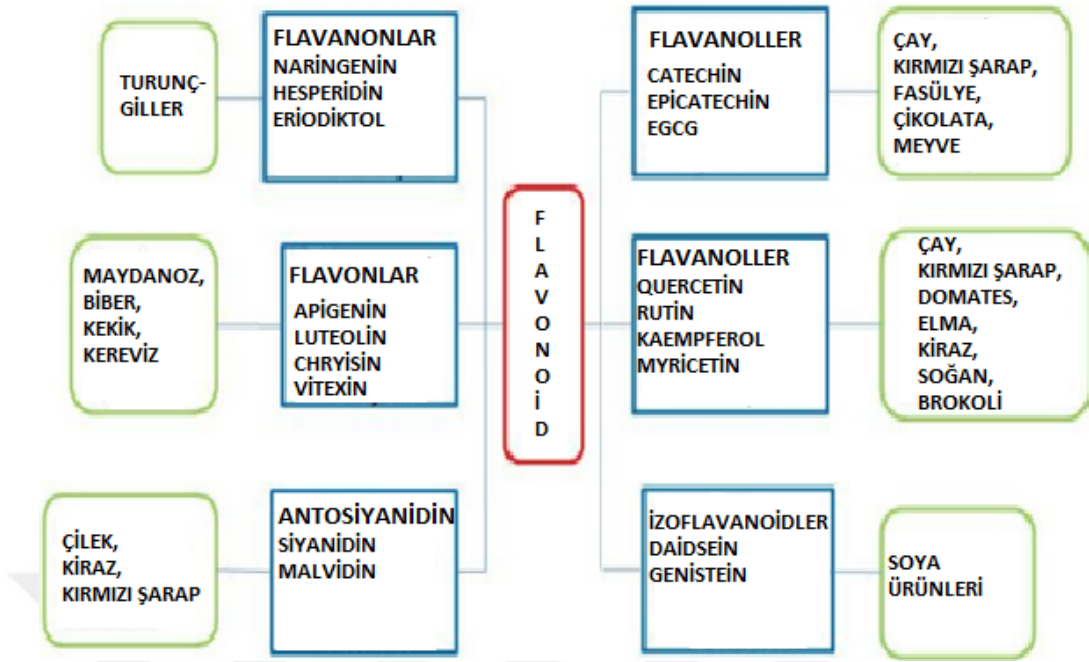
Karsinogenez, kanserin başlamasına, ilerlemesine ve ilerlemesine yol açan genetik ve epigenetik değişikliklerden oluşan bir dizi olayı içeren çok aşamalı bir süreçtir. Kemoprevensiyon, çok aşamalı karsinogeneze müdahale etmek için toksik olmayan doğal bileşiklerin, sentetik kimyasalların veya bunların kombinasyonlarının kullanılması olarak adlandırılır. Diyet modifikasyonu yoluyla kemoprevensiyon, yani bitki bazlı gıdaların artan tüketimi, kanser riskini azaltmak için en umut verici ve potansiyel olarak uygun maliyetli bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır (Georgea vd., 2017). Kanser kemoprevensiyonu kanserojen ilerlemeyi tersine çevirebilen, kontrol edebilen veya engelleyebilen doğal, diyetsetel veya sentetik ajanların kullanılmasıdır. Dünya çapında artan kanser vakalarıyla mücadele etmek için çekici bir strateji haline gelmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar diyet flavonoidlerinin ve sebzelerin uzun süreli alımının kronik hastalık ve özellikle kanser riskini azalttığını göstermektedir (Xiao, 2008).

2.3.1.1. Flavonoidler

Flavonoidler, bitki pigmentasyonundan sorumlu ve güçlü antioksidan özelliklere sahip en büyük polifenol sınıfıdır. Renk dışında, flavonoidlerin tohum olgunlaşmasında, farklı biyotik/abiyotik streslerden korunmada ve ısıya uyum sağlamada ve donma toleransında geniş bir yelpazede biyokimyasal işlevlerden sorumlu olduğu kanıtlanmıştır. Flavonoidler bitkilerde detoksifiye edici ve koruyucu bir sistem olarak geliştirilmiştir (Marcarini vd., 2011; Li vd., 2018).

Flavonoidler, minimum tek hidroksil grubu ile aromatik bir halka taşıyan ve on beş karbonlu bir iskelete dayanan bileşiklerin genel adıdır. En basit düzeyde, iskelet, üç karbonlu bir köprü (C-halkası) ile birbirine bağlanan iki fenil halkasından (A- ve B-halkaları) oluşur (C₆-C₃-C₆) (Iwashina, 2000; Singh, 2021). Bugüne kadar çeşitli bitkilerde yaklaşık 8000 fenolik bileşik tanımlanmıştır ve bunların yarısı glikozitler, aglikon ve metillenmiş türevler olarak bulunan flavonoidlerdir. Flavonoidlerin doğası, hidroksilasyon ve polimerizasyon derecelerine, yapısal sınıfa, diğer konjugasyonlara ve ikamelere bağlıdır. Flavonoidlerin serbest radikalleri temizleme özelliği, apoptozu ve otofajiyi indüklemesi, kanser hücresi proliferasyonunu baskılaması, antienflamatuar, antialerjik, enzim aktivitesini üzerinde modulator etkisi gibi biyolojik aktiviteleri bilinmektedir. Flavonoidler 6 gruba ayrılan polifenolik bileşiklerdir: izoflavonoidler, flavanonlar, flavanoller, flavonoller, flavonlar ve antosiyanidinler. Meyveler, sebzeler, yeşil çay, şarap ve kakao bazlı ürünler gibi bitki kaynaklı içecekler flavonoidlerin ana kaynaklarıdır (Cushnie ve Lamb, 2011; Kopustinskiene vd., 2020; Singh vd., 2021). Günlük olarak flavonoid açısından zengin gıdalar veya flavonoid takviyelerinin alımının artırılması, bağırsak mikrobiyotasında olumlu değişikliklere neden olarak kanser riskini azaltabilir ve hayati fonksiyonları hücresel düzeyde normalleştirebilir (Kopustinskiene vd., 2020).

Flavonoidler ayrıca meme, kolon, prostat, yumurtalık, pankreas ve özofagus kanseri gibi kanser hücre dizilerinin potansiyel inhibitörleridir ve kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeye kapasiteleri olduğu gösterilmiştir. Ayrıca insanlarda görülen kanser hücrelerinde p53 yoluyla antimetastatik ve apoptotik etkilere sahiptirler (Ganesan ve Xu, 2017). Bunun yanı sıra kimyasal çeşitlilikleri, yapısal karmaşıklıkları, satın alınabilirlikleri, önemli toksik etkilerinin olmaması/az olması ve doğal biyolojik aktivitelerinin olması onları yeni araştırmalar için ilgi çekici adaylar haline getirmektedir (Ziaullah ve Rupasinghe, 2015).



Şekil 2.8. Flavonoidlerin sınıflandırması (Lialiutska, 2012)

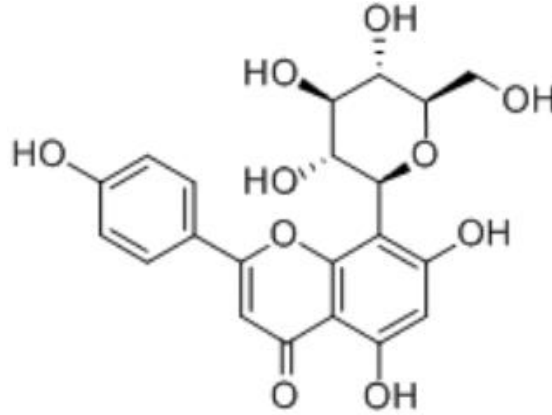
Flavonollerin serbest biçimleri olan aglikonlar, lipofilik (yağda çözünür) özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, çoğu flavonol bitkilerde sentezlenir, lipofobik (suda çözünür) olan glikozit formuna bağlanır. Flavonol metabolitleri idrar ve safra yolu ile atılır. Biyoyararlılığın önemli faktörlerinden biri, alınan flavonollerin yağda çözünürlüğüdür. Flavonol açısından zengin gıdalar yutulduğunda, aglikonlar ve glikozit formları farklı sindirim ve emilim yollarına maruz kalır. Lipid çözünürlüğü emilimde önemli bir belirleyici faktördür (Dabeek, 2019).

Polifenol açısından zengin bir diyet, hücrel redoks potansiyeli, enzimatik aktivite, hücre çoğalması ve sinyal iletim yolları gibi çok sayıda fizyolojik süreci modüle ederek kronik patolojilere karşı koruma sağlar. Polifenoller, esas olarak enterositlerde ve karaciğerde ve ayrıca bağırsak mikrobiyotasında faz I ve faz II reaksiyonlarının aracılık ettiği kapsamlı bir biyotransformasyon nedeniyle düşük bir oral biyoyararlanıma sahiptir. Karaciğerde zayıf bir şekilde emilir ve kapsamlı bir şekilde metabolize edilir. Toplam polifenolik alımın %5'inden daha azının emilerek değişmeden plazmaya ulaştığı düşünülmektedir (Luca vd., 2020).

2.3.1.1.1. Viteksin ve Kanser tedavisindeki yeri

Viteksin, kimyasal olarak 8-D-glukosil-4',5,7-trihidroksi-flavon veya apigenin-8-C-glukozit olarak bilinir, moleküler formülü $C_{21}H_{20}O_{10}$ ve moleküler ağırlığı 432.3775 g/mol'dür (http-9). C-glikozitler ise aglikonun karbonlarına bağlıdır, C-8'de bir C-C bağı

oluşturan, onlara asit hidrolizine karşı daha fazla direnç ve dolayısıyla çok çeşitli biyolojik aktiviteler veren şeker grupları içerir (Ganesan ve Xu, 2017).



Şekil 2.9. Viteksin kimyasal yapısı (<http-10>)

Passiflora, bambu, mimoza, buğday, alıç, maş fasulyesi gibi bitkilerde bulunan viteksin aynı zamanda birçok geleneksel Çin ilacının aktif bileşenidir ve anti-oksidan, anti-kanser, anti-inflamatuar, anti-hiperaljezik ve nöroprotektif etkileri nedeniyle son zamanlarda artan bir ilgi görmektedir. Viteksin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini azaltma, antioksidan enzimlerin ekspresyonunu ve aktivitesini artırma ve enflamatuar faktörlerin ekspresyonunu inhibe etmedeki önemli rolüyle yüksek yağlı diyetin neden olduğu beyindeki oksidatif stresi ve iltihabı hafifletebilir (Li vd., 2022).

Viteksin gastrointestinal kanalda zayıf bir şekilde emilmektedir. Bu bileşiklerin kalın bağırsakta etkili olma sürelerinin, antioksidan aktivitelerini gösterebilmeleri ve serbest radikalleri yakalayabilmeleri için yeterince uzun olduğunu öne sürülmektedir (Zhang, 2007). Ağızdan alınan çoğu viteksin doğrudan kolona gider ve deglikosilasyon ve heterosiklik C döngülerinin halka açılması yoluyla bağırsak florası tarafından hidrolize edilir. Doğrudan emilen viteksin, faz II metabolizması tarafından metabolize edilir ve bu faz II metabolitleri daha sonra organizmanın dışı akış taşıyıcısı tarafından hızla atılır, bu da viteksinin vücutta çok düşük bir biyoyararlanımına neden olur (Li vd., 2022). Viteksinin sıçanlarda çok düşük mutlak oral biyoyararlanım sergilediği bulunmuştur fakat belirgin bir ilk geçiş etkisi bulunmuştur. Sıçanlarda viteksinin hepatik, mide ve bağırsaktan ilk geçiş etkileri sırasıyla %5.2, %31.3 ve %94.1 idir (Chen.,2013).

Deneysel çalışmalar, flavon C-glikozitlerin anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri gibi davrandığını ve vazodilatatör, bloke edici ve/veya Ca^{2+} kanal bloke edici aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Kardiyak hipertrofi, vasküler kontraktile,

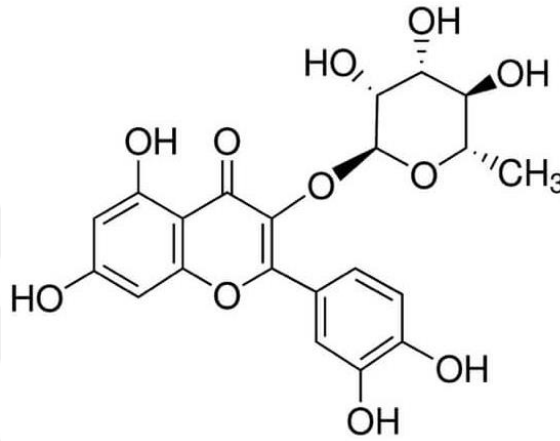
miyokard hasarı, çeşitli proinflatuar hastalıklar, endotel disfonksiyonu ve aterosklerozda C glikoziti kullanılır. Ayrıca, flavon C-glikozitlerin *in vivo* ve *in vitro* tedavisi lipopolisakarit kaynaklı proinflatuar sitokin sekresyonunu, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenazı (COX) ve reaktif oksijen (ROS) üretimini azaltır. Ayrıca, çok güçlü antitiroid etkilere sahiptir, hayvanlarda enerji ve glukoz metabolizmasındaki bozuklukları önler ve metabolik hastalıkların komplikasyonlarını iyileştirir (Ganesan ve Xu, 2017).

Viteksinin antioksidan ve antienflatuar özellikleri miyokardiyal iskemi hasarına karşı dokunun kanlanmasını sağlamaktadır (Ganesan ve Xu, 2017). Vitexin proliferasyonun inhibisyonunun yanı sıra apoptoz ve otofajinin teşvik edilmesi nedeniyle çeşitli *in vitro* ve *in vivo* modellerde, antineoplastik etkiler gösterir. Vitexin U937 insan lösemi hücrelerinde, MCF-7 insan göğüs kanseri hücrelerinde, BHK-21 bebek hamster böbreğinde, HepG2 karaciğer hücrelerinde, HeLa servikal hücrelerinde, HEp-2 gırtlak hücrelerinde ve HCT116 kolorektal hücrelerde hücre apoptozu hedefleyerek antitümör aktiviteler sergiledi (Ganesan ve Xu, 2017). Viteksin ile tetiklenen apoptoza genellikle mitokondriyal membran potansiyelinde ve Bcl-2 protein seviyelerinde bir azalmanın yanı sıra kaspaz-3 ve kaspaz-9 protein ekspresyonunda bir artış eşlik etmektedir. Tümör baskılayıcı protein p53 ve viteksin ilişkisi insan ağız kanseri OC2 hücrelerinde de incelenmiştir. Sonuçlar, vitexinin p53–PAI1–MMP2 kaskad yoluyla hücre canlılığını ve hücre göçünü azalttığını gösterdi. Meme kanserini önleme ve tedavisi için Bax/Bcl-2 ve kaspaz aktivitesinin yukarı ve aşağı regülasyonu gerçekleşmektedir. Farelerde dört meme kanseri (MA782, MCF-7, T47D ve MDA-MB-435s), PC-3 prostat, HepG2 karaciğer ve HeLa servikal tümör ksenograftlarında maksimum tümör inhibisyonu (%92'ye kadar) gözlenmiştir. Kemoterapi ilaçları (örn., adriamisin, 5-fluorourasil ve sisplatin) ile karşılaştırıldığında, vitexin tedavisi ile güçlü ve geniş bir antitümör etkinliği göstermiştir. Viteksin ile tedavi, apoptotik hücreleri güçlendirmiş ve Bcl-2 ifadesinde eşlik eden bir düşüşle birlikte Bax ifadesini artmıştır. Ayrıca viteksin tedavisi; steroid metabolizması ve sinyallemesini değiştiren östrojen reseptörü ve progesteron pozitif meme kanseri risklerini azaltmıştır (Ganesan ve Xu, 2017).

2.3.1.1.2. Kersetin ve kanser tedavisindeki yeri

Kersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksifavon) flavonoid ailesinin önemli bir üyesidir, insan diyetinde en çok tüketilen polifenollerden biridir. İnsan sağlığı üzerinde potansiyel olarak faydalı biyolojik aktivitelere (antiinflatuar, antiviral, antioksidan, antitümör etki

ve pıhtılaşmayı, hiperglisemi, hipertansiyonu azaltıcı ajan görevi ve kardiyovasküler bozuklukları önleme) sahip olduğu gösterilmiştir (Vargas ve Burd, 2010; Kumar ve Pandey 2013; Deepika, 2022). Kersetin en yaygın olarak elma, çilek, kiraz, kırmızı yapraklı marul, soğan gibi farklı meyve sebzelerde büyük miktarda bulunur, kuşkonmaz ve az miktarda biber, brokoli, bezelye ve domates, turuçgillerde çekirdeklerde ve sert kabuklu yemişlerde, kırmızı üzümde ve yenilebilir kökler, yumru kökler ve soğanlar, baklagiller, tahıl taneleri, otlar, baharatlarda kayda değer miktarda kersetin içerir (Brown, 1980; Wang vd., 2009; Deepika,2022).



Şekil 2.10. Kersetin kimyasal yapısı (<http-11>)

Kersetin, flavonol grubunun bir üyesidir ve doğada bol miktarda bulunan polifenol olarak kabul edilir. Kersetin yaygın olarak glikozitler halinde bulunur, yani şeker kalıntılarıyla konjuge halde bulunur (Deepika,2022).

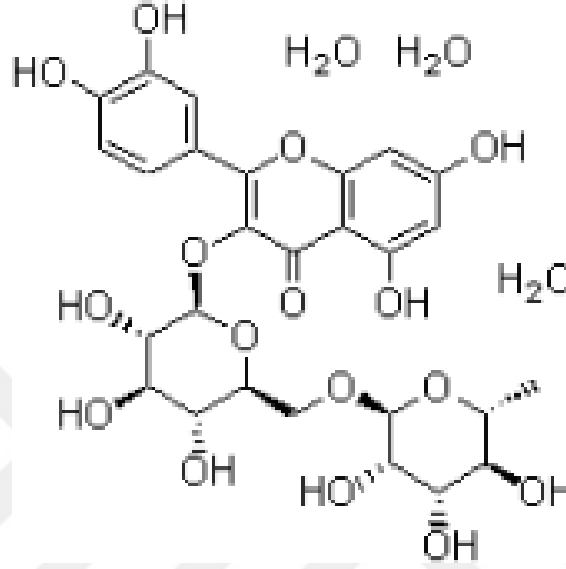
Kersetin lipofiliktir ve dolayısıyla plazma zarından kolayca geçer. Kersetin, sulu bir ortamda çok düşük çözünürlüğe sahiptir ve metabolik, kimyasal stabilitesi de çok zayıftır ve zardan geçirgenliği kısıtlanır, dolayısıyla oral biyoyararlanımı çok zayıftır. Kersetin güçlü bir terapötik olarak kullanılabilir, ancak zayıf çözünürlüğe, zayıfa geçirgenliğe ve düşük biyoyararlanıma sahiptir. Kersetin'in önemli bir dezavantajı, kanser tedavisi olarak kullanımı sınırlayan kararsızlığıdır. Molekül suda çözünmez ve alkolde çok az çözünür. Kersetin ile ilgili çalışmalar organik bir solventte, alkolde çözülerek yapılmaktadır (Deepika,2022). Bir şeker parçasının kan dolaşımına emilmeden önce hidrolizi, alınan kersetinin lipid çözünürlüğünü artırır. Ana plazma metabolitleri, maksimum seviyelere sırasıyla 0,8 ve 0,6 saat sonra ulaşılan kersetin-30-sülfat ve -3-glukuroniddir. Başlıca idrar metabolitleri kersetin -diglukuronid, -30 -glukuronid, isorhamnetin-3-glukuronid ve -glukuronid sülfattır ve 4 saat sonra maksimum seviyelere

ulaşmıştır (Dabeek, 2019). Diyet flavonoidleri (glikozit formları) bağırsakta enzimatik olarak hidrolize edilir ve emilir ve epitel hücresi ve karaciğerde faz II enzimleri tarafından glukuronid/sülfat formlarına konjuge edilir. Bağırsak mikrobiyotası, gıdalarda bulunan flavonoidlerin metabolizmasında önemli bir rol oynar (Kaeko, 2018). Kersetin'in oral biyoyararlanımı çok zayıftır ve bu, onun şeker kısımlarına bağlıdır. Bitkilerde bulunan kersetin çoğunlukla doğrudan emilimini engelleyen hidrofilik glikozitler formundadır. Kersetin absorpsiyonu, glikozit hidrolize edilerek aglikon formuna geçtikten sonra %65-81'e kadar yükselir. Kersetin bir besin takviyesi olarak kullanılır. Güvenli kersetin dozu 1 g/gün'dür. Hem serbest hem de konjuge halde mevcuttur (Deepika, 2022). Kan basıncını ve inflamasyonu düşürmede yararlı etkiye sahip olduğu bildirilen kersetinin optimal etkili dozu, aglikon formunun 500 mg'ıdır (Dabeek, 2019).

Kolorektal kanserde kersetin hücre döngüsünü durdurur, östrojen reseptörlerini modüle eder, sinyal yollarını düzenler ve dolayısıyla kemo-koruyucu fonksiyonlarını sergiler. Kersetin, lösemide hücre döngüsünü G2'de durdurduğu görölmüştür. Kersetin'in ayrıca kanserli hücrelerde p53 ile ilgili yolları düzenlediği bilinmektedir. p53 salınımını düzenler ve dolayısıyla siklin A, siklin B, CDK2 aktivitelerini inhibe eder ve bu nedenle meme kanserinin MCF-7 hücrelerini hücre döngüsünün S fazında durdurur. İnsan metastatik PA-1 hücre dizileri üzerine yapılan çalışmalar, kersetinin mitokondriyal aracılı apoptotik yolu indüklediğini ve böylece metastatik yumurtalık kanseri hücrelerinin büyümesini engellediğini göstermektedir. Kersetin tedavisi sonucunda Bcl-2 ve Bcl-xl gibi anti-apoptotik moleküller ve sitokrom c, Bid, Bax, Bad, kaspaz-3 ve kaspaz-9 gibi pro-apoptotik moleküller artar. Kersetin ayrıca kanserin ilerlemesi ile ilişkili olan çoklu doymamış yağ asidi metabolitlerinin oluşumunu engellediği bilinmektedir. Poli doymamış yağ asidi (PUFA) metabolize etmekten sorumlu enzim olan 'lipoksijenazı' inhibe eder. Hipertansif sıçanlarda kersetin nitrik oksit üretiminde önemli rol oynar ve oksidatif stresi azaltır. Kersetin, kaspaz 8'i etkinleştirerek kanser hücre hatlarının ölümüne neden olan hücre ölüm alanının aktivasyonundan sorumludur. Kersetin tarafından indüklenen apoptozu, prostat kanseri ve lösemik hücreler durumunda HSP-70 ve HSP-90 gibi ısı şoku yapan proteinlerin azaltılmış aktivasyonu ile ilişkili olduğu görölmüştür. Kronik myeloid lösemi ve akut lenfoid lösemide kersetin telomeraz aktivitesi baskılanır (Deepika, 2022).

2.3.1.1.3. Rutin ve kanser tedavisindeki yeri

Rutin, suda az çözünen, açık sarı görünümlü katı bir maddedir. Rutinin molekül formülü, $C_{27}H_{30}O_{16}$ 'dır ve molekül ağırlığı 610,53 daltonudur. Rutin birçok biyolojik aktiviteye sahiptir, ancak zayıf çözünürlük ve absorpsiyona sahiptir ve oral uygulamasını sınırlar (Liu, 2020).



Şekil 2.11. Rutin kimyasal yapısı (http-12)

Rutin, flavonol olan kersetin ve disakkarit rutinozdan oluşan bir flavonol glukoziddir. Rutin gibi çeşitli C-glikozit flavonları, biyolojik aktivitelerde O-glikozit flavon izomerlerinden daha etkileyicidir. Birçok bitkide bulunan rutin, özellikle karabuğday bitkisi olan *Fagopyrum esculentum*'da bulunur. Diğer zengin rutin kaynakları siyah çay, elma kabukları, soğan, karabuğday, çarkıfelek çiçeği ve üzüm kabuklarıdır (Florek vd., 2005; Saghaiera vd., 2016; Satari vd., 2021).

Rutin, diyabet, hipertansiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılır ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek nöroprotektif, antiinflamatuvar, anti-kanserojen, antiproliferatif, anti-oksidatif stres etkilerine sahiptir (Saghaiera vd., 2016; Ganeshpurkar ve Saluja, 2017). Rutin'in prostat ve kolon kanserlerinin yanı sıra servikal kanser hücrelerinin canlılığını azalttığı, oksidatif oksijen oluşumunu azalttığı bu sebeple kanser hücresi oluşumuna engel olduğu, hücre yaşam döngüsünün (apoptosis) sağlıklı olarak tamamlanmasına destek olduğu ve bu sayede kanser oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Khan vd., 2020).

Rutin, proinflatuar sitokinlerin salgılanmasını baskılar. Apoptoz, kaspaz ailesi tarafından yürütülür. p53 ve Bax gibi apoptotik gen ekspresyonu ile düzenlenir. Rutin (900 µm), insan prostat kanseri hücre dizilerinde (DU-145, PC-3 ve LNCaP) mutant p53 proteininin ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur. p53 geni tarafından kontrol edilen hücre döngüsünün G1 ve G2 fazları, hücresel proliferasyonda ana düzenleyici mekanizmadır. Çalışmalar rutin glutatyon S-transferaz P1 (GSTP1) polimorfizmini arttırdığını göstermiştir, Cyp1A1 sitokrom P450 (CYP1A1, CYP2D6) polimorfizmleri (antitümör genlerin inhibe edici etkisi), p53 (apoptoz gen ekspresyonu) ve Nqo-1 (antioksidan enzim), hücre döngüsünün durmasına ve sonuç olarak apoptozun indüklenmesine yol açar. Ayrıca rutin, bcl-2 antiapoptoz gen ekspresyonunu ve Bcl2/Bax oranını azaltabileceği bildirilmiştir. Başka çalışmalar rutin inhibe edebileceğini ve düzenleyebileceğini öne sürmektedir. G2 ve G1 fazlarında hücre döngüsü apoptozu uyarır ve NF-κβ yolu ve p38 MAP kinazın fosforilasyonu dahil olmak üzere bazı onkojenik yolları azaltır. Rutin, insan glioblastoma hücre dizilerinde apoptoz ve G2/M indüksiyonu yoluyla büyüme inhibisyonuna neden olmuştur. Rutin (400–700 mM/ ml), G1 fazında hücre döngüsü durması ve SW480'de (insan kolon adenokarsinomu hücre dizisi) *in vitro* antianjiyojenik özellikler göstermiştir. Rutin, kersetin gibi diğer antioksidanlar da kaspazdan bağımsız bir yolla hücre apoptozunu indüklemiştir. Ayrıca rutin, nöroblastoma hücrelerinin büyümesini, G2/M fazında apoptozu ve döngü durmasını indükleyerek önemli ölçüde inhibe etmiştir. Bazı çalışmalar, rutin (810 µm) canlılıkta azalmaya neden olabileceğini ve sonuç olarak insan karaciğer hücrelerinde apoptozu indükleyebileceğini göstermiştir. Başka bir çalışma, hücre ölümüne ve hücre içi ROS üretimine neden olan LLC-PK1 hücreleri (bir domuz böbrek tübüler epitel hücre dizisi) üzerinde rutin koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir. Ayrıca artan kaspaz aktivitesi ve apoptoz yoluyla prostat kanseri hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksik etkiler gösterir. Ayrıca rutin, hücre canlılığını azaltarak insan akciğer (A549) ve kolon (HT-29 ve CACO-2) kanser hücre dizilerinin tedavisi için aday bir terapötik ajan olabilir (Satari vd., 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal madde ve malzemeler

Sarf madde	Firma adı
Viteksin	Cayman Chemical
Kersetin	Cayman Chemical
Rutin	Cayman Chemical
DMSO	VWR Prolabo, ABD
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)	Sigma Aldrich, Almanya
EDTA	Sigma Aldrich, Almanya
Etil Alkol (Absolüt)	Merck, Almanya
Fötal Bovine Serum (FBS)	Sigma-Aldrich, Almanya
Phosphate Buffer Saline (PBS)	Invitrogen, Almanya
Penisilin/Streptomisin	GIBCO, İngiltere
MTT boyası	Applchem, Almanya
Tripsin-EDTA 10X	Pan, Biotch, Almanya
Tripan mavisi	Roche, Almanya
Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit	BioLegend, Amerika
DPPH	Sigma-Aldrich, ABD

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2. Kullanılan cihazlar

Makine-Teçhizat	Firma-Model
Hassas terazi	Mettler AM 100, ABD
Küçük kapasiteli masa üstü santrifüj	Sigma-Aldrich, Almanya
Otoklav	Hirayama HVE 50, Japonya
CO ₂ 'li Etüv	Hera Cell 240i, Amerika
İnvert Mikroskop	Leica DMI 40ht 0, Almanya
Büyük kapasiteli santrifüj	Rotina 420R, Almanya
Distile su cihazı	Millipore, Amerika
Cytation 5 Çoklu Plaka okuyucu	BioTek, ABD
Derin dondurucu (-20)	Liebherr Medline, Almanya
Derin dondurucu (-80)	New Brunswick Sci, ABD
10, 100, 1000 ve 5000 µl'lik otomatik pipetör	Eppendorf, Kanada,
15 ve 50 ml'lik santrifüj tüpleri	Isolab, Almanya
25 cm ² -75 cm ² 'lik hücre kültür flaskı	Greiner bio-one, ABD
2ml'lik Eppendorf tüp	Greiner bio-one, ABD
6 ve 96 kuyucuklu hücre kültür plakası	TPP, İsviçre
12 kanallı otomatik pipet	Axygen, İngiltere
Lamel	Isolab, Almanya
Laminar Flow kabin	Heal Force, Çin
Masa üstü Mikro santrifüj	Sigma, Almanya
Su banyosu	Nüve, Türkiye
Akım sitometri cihazı	BD Accuri™ C6, ABDABD

4. DENEYSEL YÖNTEMLER

Bu tez çalışmasında; antioksidan etkili olduğu bilinen çeşitli flavonoidlerin (viteksin, rutin, kersetin) farklı kanser hücre hatları üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Hücre Kültürü Laboratuvarı ve Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı kullanılmıştır.

Çalışma süresince viteksin, rutin ve kersetin ve bu flavonoidlerin kombinasyonları hazırlanarak hücreler üzerindeki sitotoksik etkinin belirlenmesi amacıyla MTT testi, apoptotik özelliklerinin değerlendirilmesi için akım sitometrisi ile Annexin V-FITC analizi ve yara iyileştirme özelliğini anlamak için çizik yöntemi ile migrasyon ve oksidasyonu belirlemek için DPPH testleri yapıldı.

4.1. Rutin, Kersetin ve Viteksin Konsantrasyonlarının Hazırlanması

Moleküler ağırlıkları bilinen toz halindeki rutin, kersetin etanolde ve viteksin dimetilsülfoksit (DMSO) içinde belirli hacimlerde çözülerek 100 mM konsantrasyonda ana stoklar hazırlanmıştır. Ana stoklar çalışma sırasında her seferinde taze olarak ve literatür bilgisine göre DMSO'nun % 1'in altındaki dozlarının güvenli doz (Jamalzadeh vd., 2016; Hajighasemi ve Tajik, 2017; Ayazoğlu Demir vd., 2020) olduğu göz önünde bulundurularak hazırlanmış, besiyeri içinde dilüe edilerek kullanılmış ve hücrelere uygulanmıştır.

4.2. Hücre Kültürü Çalışmaları

4.2.1 Deneylerde kullanılan hücre hatları

Sitotoksiste, apoptoz ve hücre migrasyon (yara iyileşmesi) analizlerinde kullanılan hücre hatları sırasıyla akciğer kanseri hücre dizisi (A549), pankreas kanser hücre dizisi (PANC-1), insan umbilikal venlerinden elde edilen endotel hücre dizisi (HUVEC), insan meme kanseri hücre dizisi (MCF-7), insan kolon kanseri hücre dizisi (CACO-2), insan nöroblastom hücre dizisi (SH-SY5Y)'dir. Bu hücre dizileri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Hücre Kültürü Laboratuvarının hücre kültürü stoklarından kullanılmıştır.

4.2.1.1 Stoktan hücre soylarının çıkarılması ve çoğaltılması

Çalışmamızda HUVEC, A549, PANC-1, MCF-7, CACO-2, SH-SY5Y hücre hatları uzun süreli saklanabilmesi için -80°C dolapta kriyovial tüpler içerisinde donmuş halde bulunmaktadır. Dondurulmuş halde bulunan hücreler büyüebilmesi ve çoğalabilmesi için 37°C sıcaklığındaki su banyosunda hızlı bir şekilde kriyo tüpün içine

su girmeyecek şekilde bekletilerek çözülmesi sağlanmıştır. Süspande haldeki hücreler tek tek tamamen çözündükten sonra falkon tüpüne aktarılmış ve içerisine %10 FBS (Fetal Bovine Serum), ve %1 penisilin streptomisin bulunan DMEM (%1 L-glutamin, %1 sodyum pirüvat içeren) besiyeri eklenmiştir. Hücre süspansiyonu dikkatlice büyük kapasiteli santrifüj cihazına alınarak 5 dk. boyunca 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant aspire edilerek uzaklaştırılmıştır. Falkon tüpünde pellette kalan hücreler üzerine DMEM besiyeri aktararak hücreler süspande edilmiş ve 75 cm² flaskların içerisine aktarılmıştır. Hücreler %5 CO₂'li etüvde, %95 bağıl nemde 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır.

4.2.1.2. Hücrelerin pasajlanması

Hücre dizilerinde pasajlama işlemi hücrelerin flask yüzeyini tamamen kaplamaya başladıklarında gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk önce flask içerisinde bulunan eski besiyeri aspire edilmiştir. Hücrelerin tripsin ile muamelesinden sonra yüzeyden daha kolay kalkabilmesi ve serumdan arındırılabilmesi için 75 cm²'lik flask içerisine 2 mL 1X PBS uygulandı ve hücrelerin yüzeyleri nazikçe yıkanmıştır. Sonrasında PBS aspire edilerek ortamdan uzaklaştırılmış ve yüzeye yapışan hücrelerin, yüzey ile olan bağlantılarını kesip yüzer forma getirebilmek için 2 mL %0,25 Trypsin-EDTA solüsyonu ortama ilave edilmiştir. Flask 37°C, %5 CO₂ ortamda 2-4 dakika inkübe edilmiş ve sürenin sonunda hücrelerin yüzey ile olan bağlantılarının kopup kopmadığı mikroskop altında incelenmiştir. Yüzeyden hücreler ayrıldığında, tripsinin proteaz aktivitesini inhibe etmek için, ortama Trypsin miktarının on katı kadar besiyeri ilave edilmiştir. Hücre süspansiyonu pipet yardımıyla 50 mL'lik falkon tüpe alınmış ve 5 dakika/1200 rpm santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant kısım aspire edildikten sonra geriye kalan hücre pelleti besiyeri ile yeniden sulandırılarak ilgili hücre kültür kaplarına alınarak için 37°C, %5 CO₂ içeren etüvde yeniden inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma yapılacağı zaman etüve kaldırılmadan işlemler daha sonraki bölümlerde anlatıldığı gibi hücre sayımı, MTT analizleri, migrasyon ya da flow sitometri için kullanılmak üzere falkon tüpünde süspande halde bırakılmıştır.

4.2.1.3. Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu

Özellikle hücre kültürü çalışmalarında kullanılacak olan cam, pipet ve solüsyonlar alüminyum folyolara sarılı bir şekilde otoklavda basınçlı buhar yardımıyla 121°C’de 15 dk süresince sterilize edilerek kullanılmıştır.

4.2.2. Sitotoksite deneyi

4.2.2.1. Hemositometre yöntemiyle hücrelerin sayımı

Çalışmalar süresince flasklar içerisindeki besiyerleri 2-3 gün arayla değiştirilmiş ve flask yüzeyinin tamamına yakın bölümü hücreler ile kaplanınca 4.3.2’de anlatıldığı gibi hücreler tripsin ile pasajlama ve santrifüj işlemleri yapılarak hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Süspande hale getirilen hücrelerden 20 µL alınarak 2 mL’lik ependorf tüpüne aktarılmış ve içerisine 20 µL %0,4 Tripan mavisini eklenerek ile karıştırılmıştır. Bu karışım iyice pipetaj yapıldıktan sonra karışımdan 10 µL alınarak mikroskop altında hemositometre üzerinde hücre sayımı yapılmıştır. Burada mavi boyanmayan canlı hücrelerin sayısı bulunarak aşağıdaki eşitlik ile (E4.1) hücre sayısı elde edilmiştir.

$$\text{Hücre kültürü/mL} =$$

$$\text{Canlı hücre sayısı} \times 10^4 \times \text{Dilüsyon faktörü} \times \text{Hücre süspansiyonunun toplam hacmi} \quad (\text{E4.1})$$

4.2.2.2. MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2- il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)

MTT tahlili, orijinal olarak Mosmann tarafından tarif edilen kolorimetrik bir tahlildir. Canlı hücrelerde metabolik aktiviteyi ölçmek için yapılır. Bu testin altında yatan ilke, metabolik olarak aktif hücrelerin katılmasıyla suda çözünür, sarı renkli tetrazolyum tuzu MTT'nin suda çözünmeyen mor formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır. Formazan renginin yoğunluğu, çeşitli hücre tiplerinin canlılığını tahmin etmek için kullanılabilen, canlı, metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile orantılıdır (Aziz, 2006; Byun vd., 2008). Analiz sırasında elde edilen renkli çözelti yoğunluğu 500 ve 600 nm arasındaki belirli bir dalga boyunda bir spektrofotometre veya bir plaka okuyucu kullanılarak okunmaktadır.

Tez çalışmasında rutin, kersetin, viteksin ve bunların 1:1, 1:2, 2:1 şeklindeki kombinasyonlarının A549, MCF-7, CACO-2, PANC-1, HUVEC, SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkileri MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak hiçbir flavonoidin uygulanmadığı sadece besiyeri eklenen kuyulardaki absorbans değerleri %100 canlı olarak kabul edilmiştir. Analiz sonuçları bu absorbans değerleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Analiz sırasında ayrıca hücre proliferasyonunda %50

azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyon olan IC₅₀ değeri de saptanmıştır. Bu değerlendirmelerde GraphPad Prism 9 analiz programı kullanılmıştır. Yöntemde aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulanmıştır.

- 1- Hücreler 37 °C sıcaklıkta ve %5 CO₂ ve %95 hava içeren atmosfer ortamında kültüre edildikten sonra tripsin ile kaldırılmış ve santrifüj edilerek süspansiyon haline getirilmiştir.
- 2- Bölüm 4.2.2.1'hücre sayımı yapıldıktan sonra, hücreler 96 kuyucuklu hücre kültür plakalarının her kuyucuğuna her bir kuyuda 2x10⁴ /ml hücre süspansiyonu olacak şekilde eşit olarak aktarılmıştır.
- 3- 1 günlük inkübasyon süresi sonunda her bir kuyudaki besiyeri çekilmiş ve etkinliği ölçülecek Rutin, Kersetin, Viteksin için 1-100µg/mL konsantrasyonları, karışımları için 1:1, 1:2 ve 2:1 oranları hücre kültür besiyeri ile karıştırılarak plakalara eklenmiştir. Plakalar 37°C, %5 CO₂ ve %95 hava içeren atmosfer koşullarında 24 ve 48 saat süreyle yeniden inkübasyona bırakılmıştır.
- 4- 24 ve 48 saatlik her inkübasyon süresi sonrasında kuyucuklarda bulunan besiyerleri uzaklaştırılmış ve kuyular PBS ile yıkandıktan sonra, her kuyucuğa 5 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış MTT boyasından 20 µL ilave edilmiştir.
- 5- Hücreler, MTT boyasının canlı hücreler tarafından formazan tuzuna dönüştürülmesi için 37°C'de 3 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.
- 6- İnkübasyon süresi sonunda MTT boyası kuyucuklardan uzaklaştırılıp her bir kuyucuğa 200 µL DMSO eklenerek formazan tuzunun çözünmesi ve renk oluşturması için tekrardan 37°C'de 30 dakikalık inkübasyona bırakılmıştır.
- 7- Plakalardaki canlı hücre konsantrasyonu Cytation 5 cihazı aracılığıyla 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür.
- 8- Flavonoidlerin bulunduğu kuyulardan elde edilen absorbans değerleri kontrol hücrelerinden elde edilen değerleri ile karşılaştırılmış ve yüzde değer hesaplanarak grafiğe aktarılmıştır.
- 9- Deney her bir derişim için 8 kuyuda yapılmış ve 3 kez tekrar edilmiştir.

4.2.2.3. Akım sitometri

Bu tezde akım sitometrisi çalışmaları için BioLegend'in PI'li FITC Annexin V-FITC Apoptoz Tespit Kiti (FITC Annexin V Apoptosis detection Kit with PI) kullanılmış ve yöntem üreticinin protokolüne göre uygulanmıştır;

BioLegend'in Apoptoz Tespit Kiti, apoptotik ve nekrotik hücrelerin tanımlanması için özel olarak tasarlanmıştır. Annexin V, kalsiyum bağımlı bir şekilde fosfatidilserine (PS) bağlanan hücre içi proteinlerin anneksin ailesinin bir üyesidir. PS normalde sağlıklı hücrelerde plazma zarının hücre iç yüzeyinde bulunur, ancak erken apoptoz sırasında zar asimetrisi kaybolur ve PS dış yüzeyine yer değiştirir. Florokrom etiketli Annexin V daha sonra apoptotik hücreleri spesifik olarak hedeflemek ve tanımlamak için kullanılmaktadır. Annexin V proteini, floresan bir madde olan floresan izotiyosiyanat (FITC) ile işaretlendiği için apoptotik hücre floresan altında görünür hale gelebilmektedir. Nekrotik hücrelerin yüzeyinde Annexin V bağlanması görülebildiğinden ikinci bir boya olarak propidyum iyodür (PI) eklenmektedir. Erken apoptotik hücreler PI'yi dışlarken, geç evre apoptotik hücreler ve nekrotik hücreler, bu boyaların DNA'ya bağlandıkları çekirdeğe geçişi nedeniyle pozitif olarak boyanacaktır. Yöntemde sırasıyla aşağıdaki adımlar uygulanmıştır;

1. Bölüm 4.2.1.1 ve 4.2.2.1'de anlatıldığı gibi hücreler kültüre edilip sayımı yapıldıktan sonra 6'lık plakalara yaklaşık 50.000 hücre olacak şekilde kuyulara ekimi yapılmıştır.
2. Ertesi gün hücreler üzerine 2,5 µg/mL olacak şekilde rutin, kersetin ve viteksin ve bu flavonoidlerin 1:1 karışımları eklenmiş ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.
3. 48 saat sonunda hücreler tripsin vasıtasıyla kaldırılmış ve 2mL'lik mikrotüplere aktarılacak 5dk 1200rpm'de santrifüj edilmiştir.
4. Santrifüj sonunda süpernatant ile tripsin uzaklaştırıldıktan sonra hücreler 400 µL Annexin V Binding Buffer eklenerek yeniden süspanse edilmiştir.
5. Tüp içine kit içerisinde yer alan FITC Annexin V'ten 5 µL ve Propidium İyodür'den 10 µL solüsyon eklenmiş ve tüp yavaşça vorteks yapılmıştır.
6. Vorteks sonrasında tüpler karanlıkta oda sıcaklığında (25°C) 15 dakika inkübe edilmiştir.
7. Inkübasyon sonrasında tüpler BD Accuri™ C6 cihazına alınarak ölçümler gerçekleştirilmiştir.

8. Kontrol olarak hiçbir flavonoidin uygulanmadığı hücreler kullanılmış ve aynı yöntem takip edilerek aynı zamanda analiz edilmiştir. Analizde canlı, erken apoptotik, apoptotik ve nekrotik hücrelerin % oranları belirlenmiştir.

4.2.2.4. DPPH analizi

1922'de Goldschmidt ve Renn tarafından keşfedilen 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali renkli ve kararlı olması sebebi çeşitli çalışmalarda kullanılan en popüler radikallerden birisidir (Foti, 2015).

DPPH Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Sentetik ya da doğal bileşiklerin DPPH radikalini süpürücü etkileri bu radikalinin menekşe/mor rengini giderme yetenekleri ile ölçülmektedir. Yöntem çalışılan maddelerin DPPH ile oluşturdıkları rengin 517 nm'de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır. DPPH çözeltisi, bir hidrojen atomu verebilecek bir madde ile karıştırıldığında, mor-menekşe rengin kaybolması ile birlikte indirgenmiş forma dönüşmektedir. Yöntemde sırasıyla şu aşamalar uygulanmıştır;

- 1) Analiz 96 kuyucuklu plakalarda çalışılmış ve Reaksiyon ortamını sağlayabilmek için flavonoidlerin her birinden 0,5, 1,2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 µg/kuyu olacak şekilde konsantrasyonlar etanolde çözündürülerek hazırlanmıştır.
- 2) 40 µg/ml konsantrasyonda etanol içinde hazırlanmış olan DPPH çözeltisinin flavonoidlerin üzerine eklenerek vortekste 30 saniye karıştırılmış ve oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir.
- 3) Süre sonunda kuyulardaki renk değişimi UV Spektrofotometresi'nde 517 nm de okunmuştur. Her bir deney 3 kez tekrar edilmiş ve ortalamaları alınarak hesaplanmıştır. Kullanılan bileşiklerin radikal süpürücü etkileri (R.S.E.) kontrol olarak kullanılan DPPH çözeltisine oranla okunan absorbens değerlerine göre aşağıdaki eşitlikten (E4.2) hesaplanmıştır.

$$\%R.S.E. =$$

$$(Kontrol\ absorbens - Bileşiklerin\ absorbens\ değeri)/Kontrol\ absorbens \times 100$$

(E4.2)

4.2.2.5. Migrasyon (Yara İyileşmesi)

Göç, canlı hücrelerin önemli bir özelliğidir ve normal gelişim, bağışıklık tepkisi ve kanser metastazı ve iltihaplanma gibi hastalık süreçleri için kritik öneme sahiptir. Hücre göçünü inceleme yöntemleri, kanser biyolojisi, immünoloji, vasküler biyoloji, hücre biyolojisi ve gelişim biyoloji gibi çok çeşitli çok çeşitli biyomedikal araştırmalar için çok

faydalı ve önemlidir. Burada örnek olarak tümör hücresi göçünü ve istilasını kullanılıyor ve bu süreçleri ölçmek için yaygın olarak kullanılan, kolay erişebilir. Yöntem, birleşik hücre tek tabakası üzerinde bir çizik oluşturulduğu hücre kültürü yara kapatma tahlilidir. Yaranın kapanma hızı ve hücre göçü, birkaç zaman aralığında düzenli bir ters mikroskopla anlık görüntüler çekilerek ölçülebilir (Justus vd., 2014). Tezde çalışılan flavonoidlerin hücreler üzerindeki bu etkisinin araştırılması için migrasyon deneyi aşağıdaki şekilde yapılmıştır;

- 1- 24 kuyucuklu hücre kültür kaplarına A549, MCF-7, CACO-2, PANC-1, HUVEC, SH-SY5Y hücreleri her kuyucukta 6×10^4 hücre olacak şekilde ekildi.
- 2- Bir sonraki gün %95 doluluk oranına sahip kuyularda 200 μ L pipet ucu ile dikey boşluklar oluşturuldu.
- 3- Boşluk oluşturma aşamasında yüzeyden kalkan hücreler 1X PBS vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırıldı.
- 4- Besiyeri ile tazelenen hücreler 0. saat olarak Leica DMI400 ışık mikroskobu altında fotoğraflandı
- 5- Ardından 2,5 μ g/mL konsantrasyonunda Rutin, Kersetin, Viteksin ve bunların 1:1 karışımları ilgili kuyucuklara uygulanarak hücreler 37°C %5 CO₂'li inkübatöre alındı.
- 6- Yara iyileşmesinin takibi 24 ve 48. saatlerde aynı bölgelerin mikroskop altında fotoğrafları çekilerek gerçekleştirildi.
- 7- Fotoğraflar yara iyileşmesi değerlendirmesi Image J programı vasıtasıyla hiçbir madde uygulanmayan kontrol grubu ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

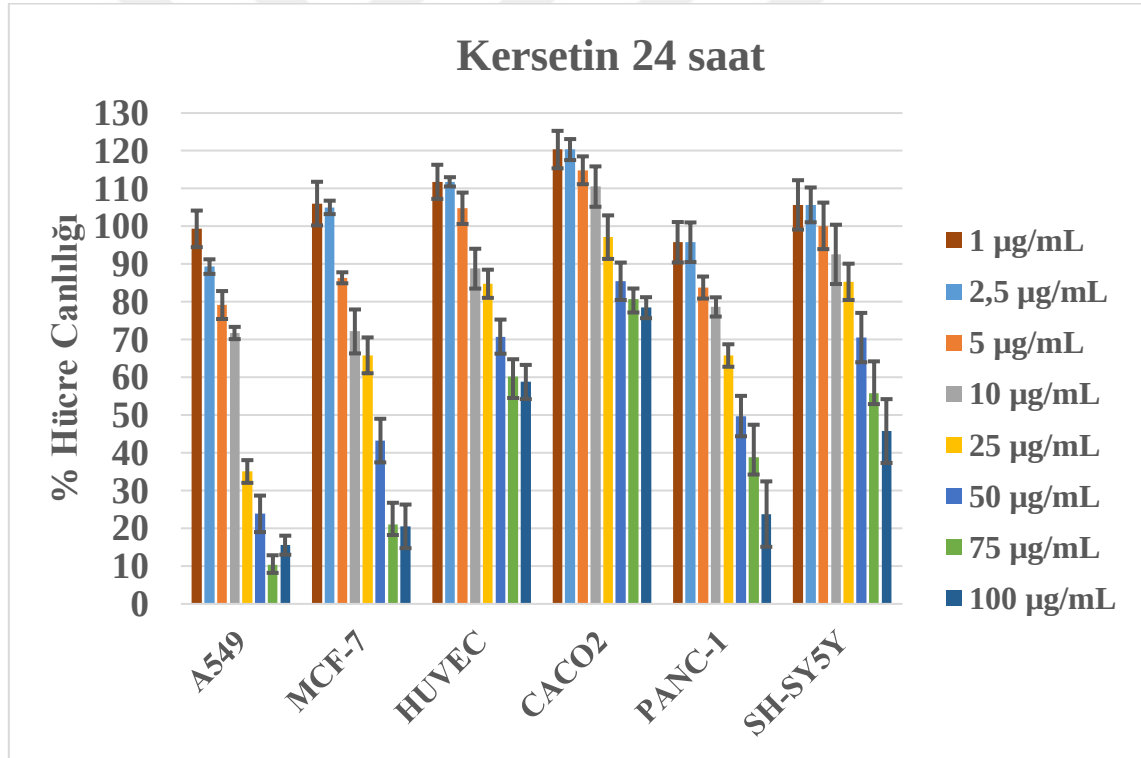
4.2.2.6. İstatistiksel Analiz

Tüm deneylerde istatistiksel analiz sonuçları GraphPad Prism 9 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans (one-way ANOVA) analizi ve Minitab programı regresyon analizi ile gerçekleştirilmiştir. Tüm analiz sonuçları $\pm$ standart hata (S.H.) olarak ifade edilmiş ve istatistiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir. Buna göre anlamlılık değerleri; $p > 0.05$ fark yok, $p < 0.05$ fark var olarak değerlendirilmiştir.

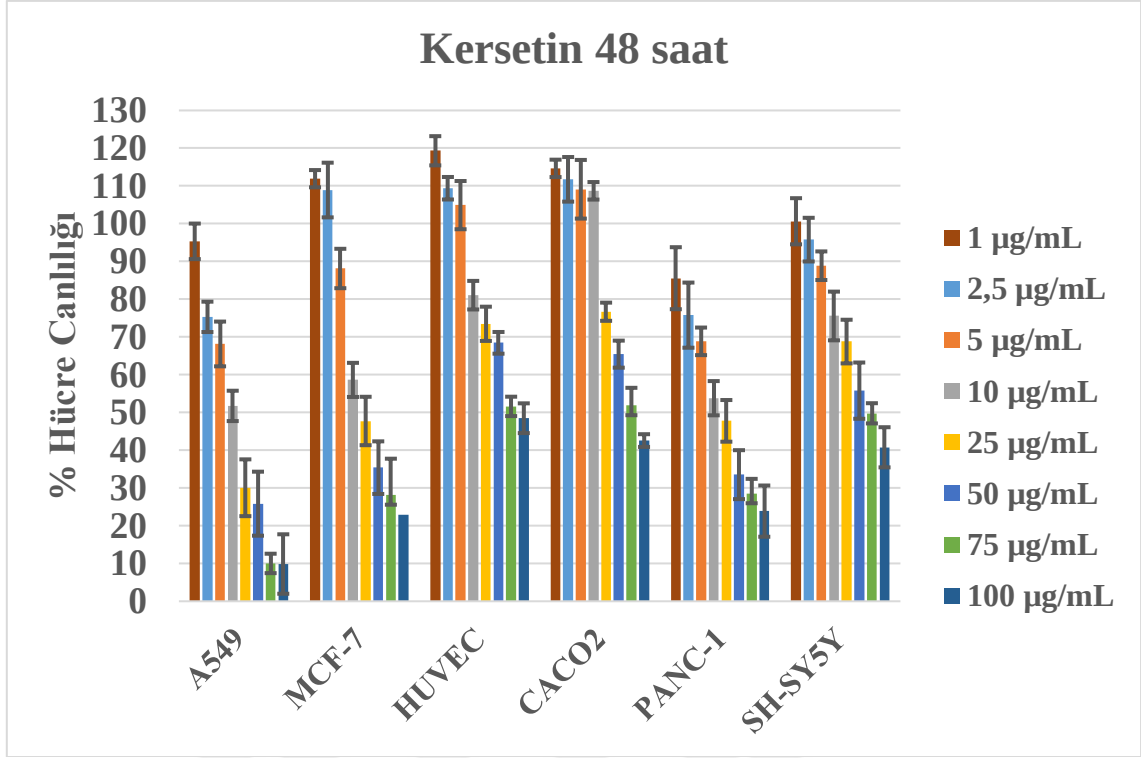
5. BULGULAR

5.1. Sitotoksosite Test Sonuçları

Tez kapsamında Kersetin, Viteksin, Rutin flavonoidlerinin tekli uygulamalarının hücre canlılığı üzerine etkilerine MTT deneyi ile bakılmıştır. Bu amaçla flavonoidlerin 1 μM - 100 μM konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlanmış ve A549, PANC-1, HUVEC, MCF-7, CACO-2, SH-S5SY hücrelerine uygulanarak 24- 48 saatlik canlılık değerleri belirlenmiştir. Analizler flavonoidlerin ilgili hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi zamana ve konsantrasyona bağlı olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar istatistiksel analizlerle birlikte grafikler üzerinde sırasıyla Şekil 5.1.'da gösterilmiştir. Analizler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmış ve sonuçlar Graphpad Prism 9.0 programı aracılığıyla değerlendirilmiştir. Her bir flavonoidin hücreler üzerinde gösterdiği IC_{50} değerleri de Tablo 5.1.'de verilmiştir.



Şekil 5.1. Kersetinin artan konsantrasyonlarda 24 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi



Şekil 5.2. Kersetinin artan konsantrasyonlarda 48 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi

Uluslararası standart ISO 10993-5'e göre çalışılan etkin maddeye maruz bırakılan hücrelerin canlılığı, herhangi bir maddeye maruz kalmayan kontrol hücrelerine kıyasla %70'ten daha az ise açık bir sitotoksik etki görüldüğü belirtilmektedir. Bu bilgiden yola çıkılarak kersetinin analiz sonuçları değerlendirildiğinde;

-A549 hücrelerinde 24. saatte 10 µg/mL ve 48. saatte 5 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-PANC-1 hücrelerinde 24. saatte 25 µg/mL ve 48. saatte 5 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

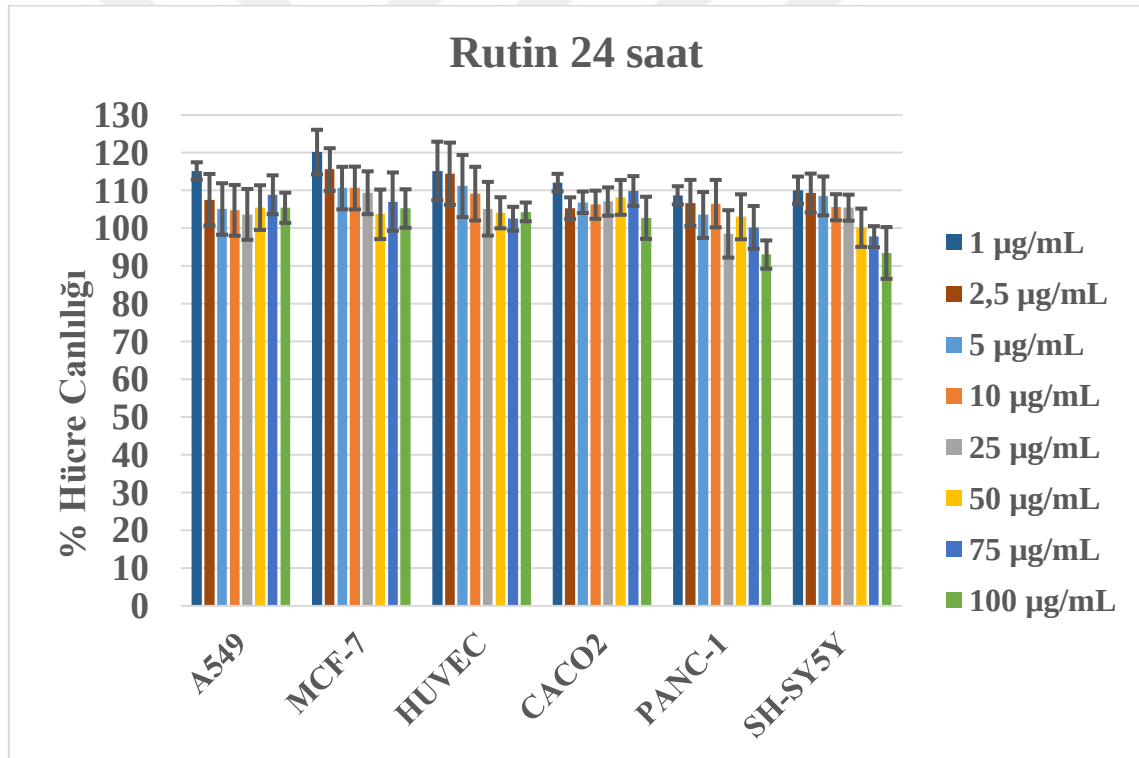
-HUVEC hücrelerinde 24. saatte 50 µg/mL ve 48. saatte 50 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 10 µg/mL ve 48. saatte 5 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

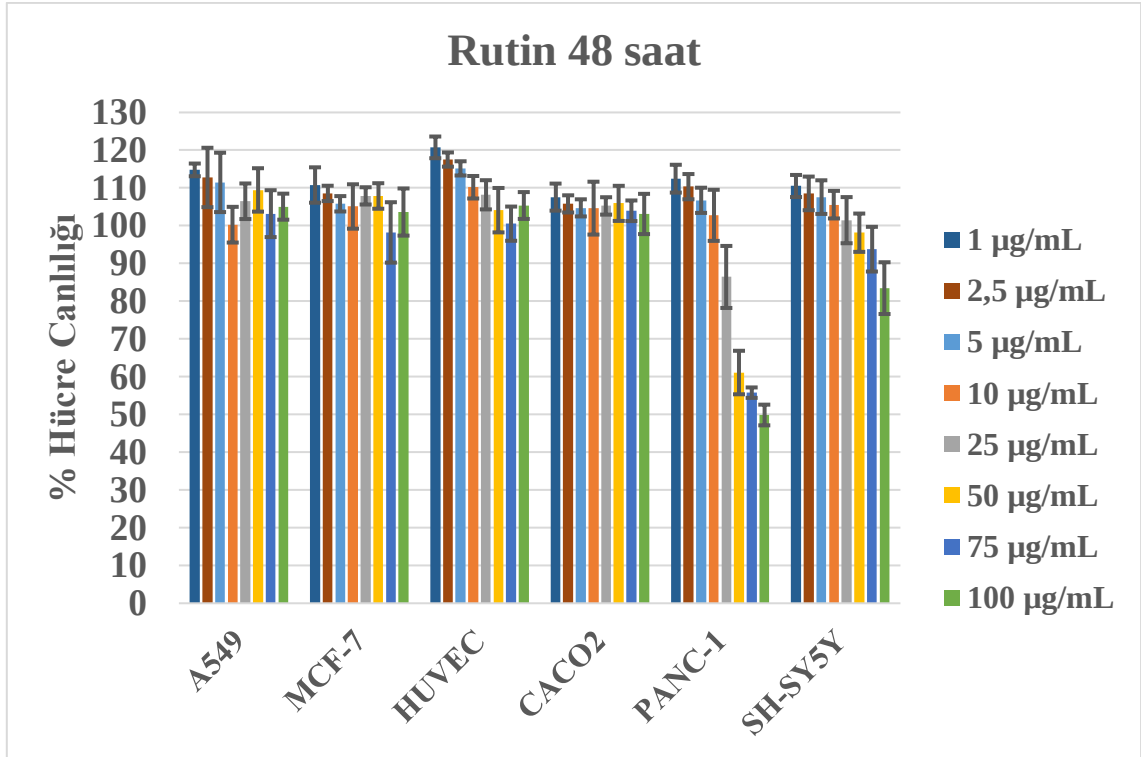
-CACO-2 hücrelerinde 24. saatte 100 µg/mL ve 48. saatte 25 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-SH-SY5Y hücrelerinde 24. saatte 50 µg/mL ve 48. saatte 25 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

Kersetinin deney sonuçları Minitab analiz programı ile istatistiksel olarak incelendiğinde konsantrasyon, hücre tipi ve inkübasyon sürelerinin hücre canlılığı üzerinde (R^2 ad= %96,63) önemli etkisi olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. $p<0.05$ olduğundan dolayı konsantrasyon hücreler üzerinde tek başına etkili olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde hücre tipi içinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu saptanmıştır. Deney süresi istatistiksel açıdan $p>0.05$ 'in üstünde olduğu için tek başına bir etkisi olmadığı ama hücre tipi ya da konsantrasyon ile birlikte değerlendirildiğinde $p<0.05$ olduğu için ikili etkileşimi olduğu belirlenmiştir. 2,5 $\mu\text{g/mL}$ 'nin üstündeki konsantrasyonlarda görülen tüm hücrelerdeki hücre canlılığındaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Bu değer altındaki konsantrasyonların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).



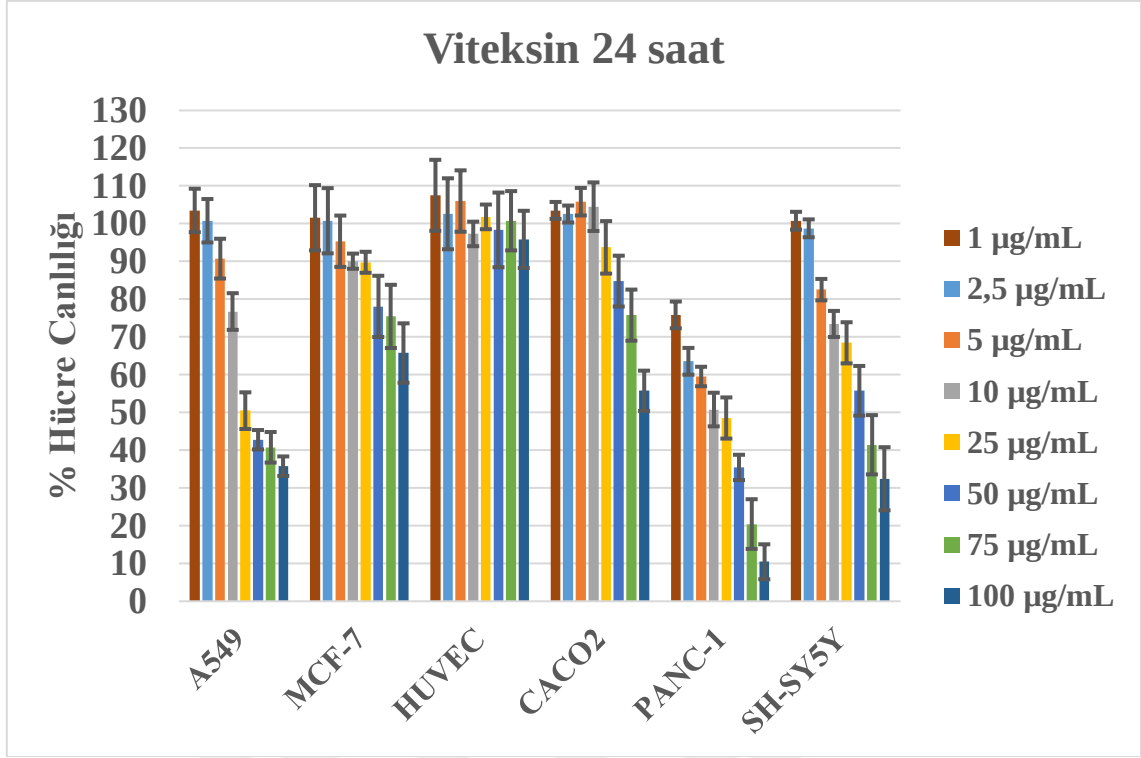
Şekil 5.3. Rutinin artan konsantrasyonlarda 24 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi



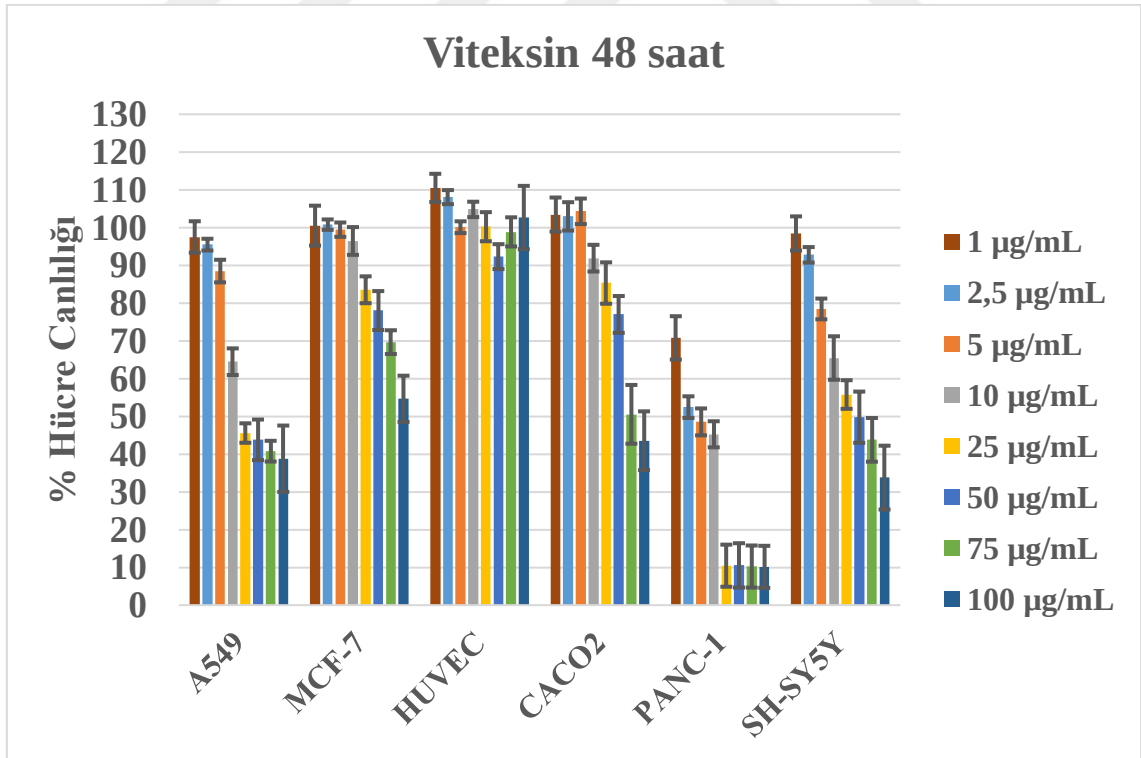
Şekil 5.4. Rutinin artan konsantrasyonlarda 48 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi

Rutin MTT deneyi analiz sonuçlarına bakıldığında ise PANC-1 hücresi hariç diğer hücrelerde çalışılan tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı %83'ün altına inmediği saptanmıştır. PANC-1 hücrelerinde ise 24. saatte yine çalışılan konsantrasyonlarda hücre canlılığı %93'ün altına inmezken 48. saatte 25 µg/ml'den sonra sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır.

Rutin deney sonuçları Minitab analiz programı ile istatistiksel olarak incelendiğinde konsantrasyon, hücre tipi ve inkübasyon sürelerinin, hücre canlılığı üzerinde (R^2 ad= %62,12) önemli bir etkisi olmadığı ($p>0.05$) bulunmuştur. Yapılan analizde sadece rutin PANC-1 hücrelerinde 48 saatlik inkübasyon süresi içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).



Şekil 5.5. Viteksinin artan konsantrasyonlarda 24 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi



Şekil 5.6. Viteksinin artan konsantrasyonlarda 48 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi

Hazırlanan viteksin 1-100 µg/mL aralığındaki çözeltisinin yine hücreler üzerindeki etkisi incelendiğinde sırasıyla;

-A549 hücrelerinde 24. saatte 25 µg/mL ve 48. saatte 10 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-PANC-1 hücrelerinde 24. saatte 2,5 µg/mL ve 48. saatte 5 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-HUVEC hücrelerinde ise 24. ve 48. saatte hücre canlılığı %90'ın altına düşmediği gözlenmiş bu sebeple herhangi bir sitotoksik etki göstermediği saptanmıştır.

-MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 100 µg/mL ve 48. saatte 75 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-CACO-2 hücrelerinde 24. saatte 100 µg/mL ve 48. saatte 75 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

-SH-SY5Y hücrelerinde 24. saatte 25 µg/mL ve 48. saatte 10 µg/mL'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

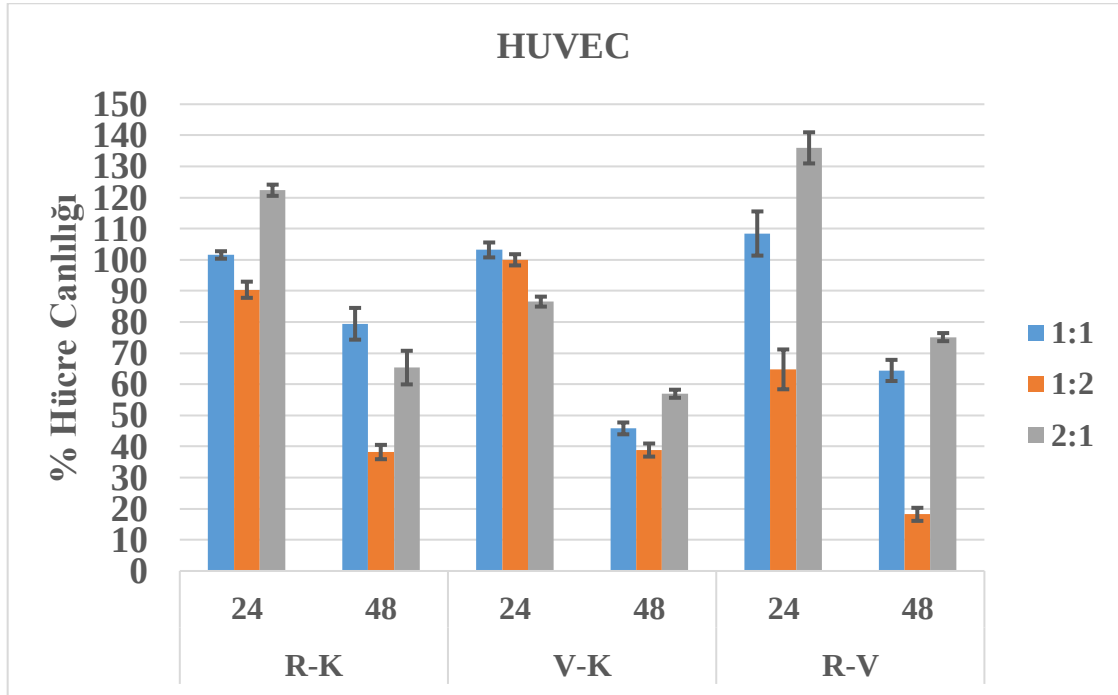
Viteksinin deney sonuçları Minitab analiz programı ile istatistiksel olarak incelendiğinde konsantrasyon, hücre tipi ve inkübasyon sürelerinin hücre canlılığı üzerinde (R^2 ad= %96,68) önemli etkisi olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. $p<0.05$ olduğundan dolayı konsantrasyon hücreler üzerinde tek başına etkili olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde hücre tipi içinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu saptanmıştır. Deney süresi istatistiksel açıdan $p>0.05$ 'in üstünde olduğu için tek başına bir etkisi olmadığı ama hücre tipi ile birlikte değerlendirildiğinde $p<0.05$ olduğu için ikili etkileşimi olduğu belirlenmiştir. Sadece CACO-2, HUVEC ve MCF-7 hücrelerinde 10 µg/mL'nin üstündeki konsantrasyonlarda görülen hücre canlılığındaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). PANC-1 ve SH-SY5Y'de ise viteksinin hiçbir konsantrasyonda anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Bu değerlerin altındaki konsantrasyonların da hiçbir hücre üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). İnkübasyon süresi değerlendirildiğinde ise sadece PANC-1 hücresi üzerinde etkisi olduğu belirlenmiştir.

Tez kapsamında çalışılan maddelerin hücreler üzerindeki etkisi konsantrasyon ve zamana karşı değerlendirilmiş ve grafik olarak gösterildikten sonra her bir maddenin IC_{50} değerleri de yine Graphpad Prism 9.0 programı aracılığıyla belirlenmiştir. Buna göre çalışılan konsantrasyonlarda bazı hücreler üzerinde IC_{50} değerleri saptanamamıştır. Sonuçlar toplu halde Tablo 5.1.'de verilmiştir.

Tablo 5.1. Kersetin, Rutin Viteksin ve karışımlarının hücreler üzerinde etkili olduğu IC₅₀ değerleri (µg/mL)

	Kersetin		Rutin		Viteksin	
	24	48	24	48	24	48
A549	17.56	11.62	-	-	26.11	19.53
HUVEC	-	91.91	-	-	-	-
CACO-2	-	79.47	-	-	-	86.06
MCF-7	34.32	17.49	-	-	-	-
SH-SY5Y	90.05	74.63	-	-	64.10	27.68
PANC-1	52.12	16.61	-	99.8	15.67	5.52

Yapılan tüm MTT deneyi sonuçlarına bakıldığında kersetin ve viteksinin özellikle zamana ve konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir. Sadece rutinün çalışılan hücrelerin canlılığı üzerinde etki göstermediği fakat 48. saat sonunda sadece PANC-1 hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar elde edildikten sonra flavonoidlerin kombinasyonlarının denenmesine karar verilmiş ve bu kombinasyonların nasıl bir etki göstereceğinin araştırılması planlanmıştır. Buna göre her bir flavonoid 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarında karıştırılarak yine aynı hücreler üzerinde MTT deneyi yapılmıştır. Her bir çözelti oranı hazırlanırken hücrelerin yaklaşık olarak sitotoksiste göstermediği en düşük konsantrasyon olan 2.5 µg/mL seçilmiştir. Sonuçlar Şekil 5.7-5.12’de yine konsantrasyon ve zamana bağlı olarak grafik ile gösterilmiştir.



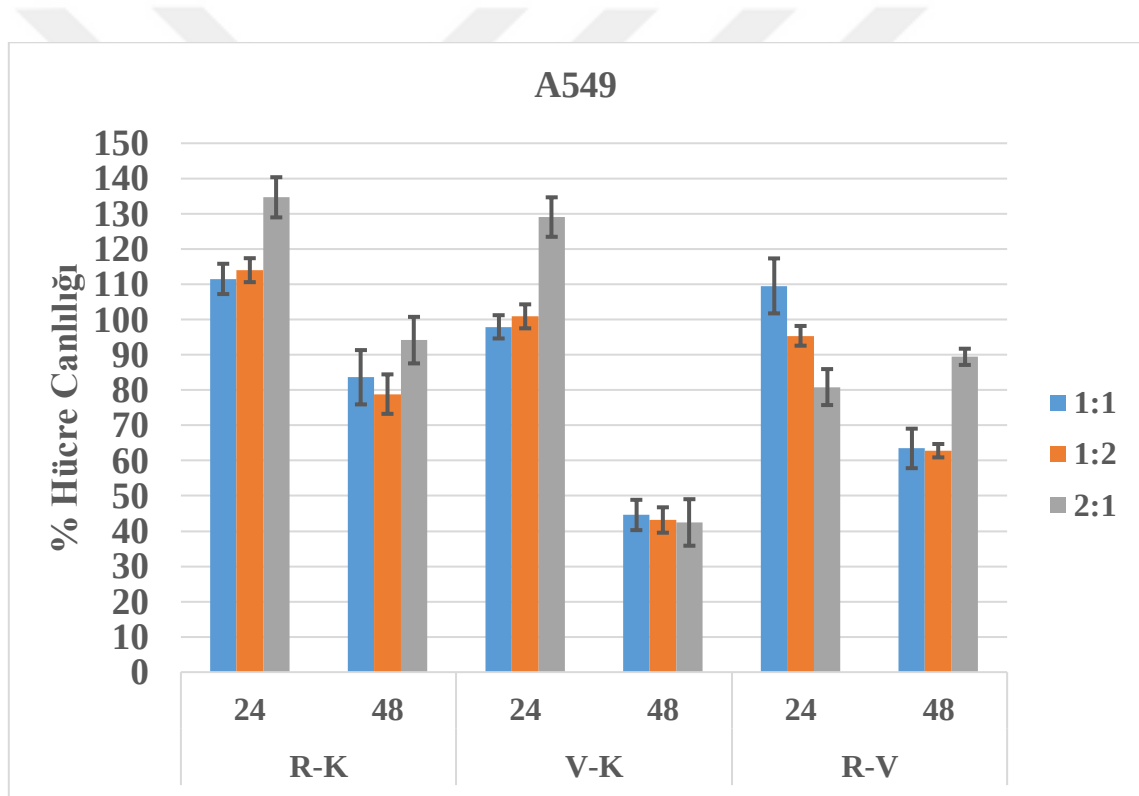
Şekil 5.7. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda HUVEC hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi

Kersetin, Rutin ve Viteksinin 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarındaki karışımlarının HUVEC hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde;

R-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %90'ın altına düşmez iken 48. saatte 1:2 oranında hücre canlılığı %38,22; 2:1 oranında %65,36 olarak saptanmıştır.

V-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %86,57'nin altına düşmez iken 48. saatte 1:1 oranında %45,82; 1:2 oranında %38,87 ve 2:1 oranında %56,96 olarak saptanmıştır.

R-V kombinasyonlarında hücre canlılığı 24. Saatte sadece 1:2 oranında %64,79 olarak, 48. Saatte 1:1 oranında %64,45; 1:2 oranında %18,20 ve 2:1 oranında %75,16 olarak saptanmıştır.



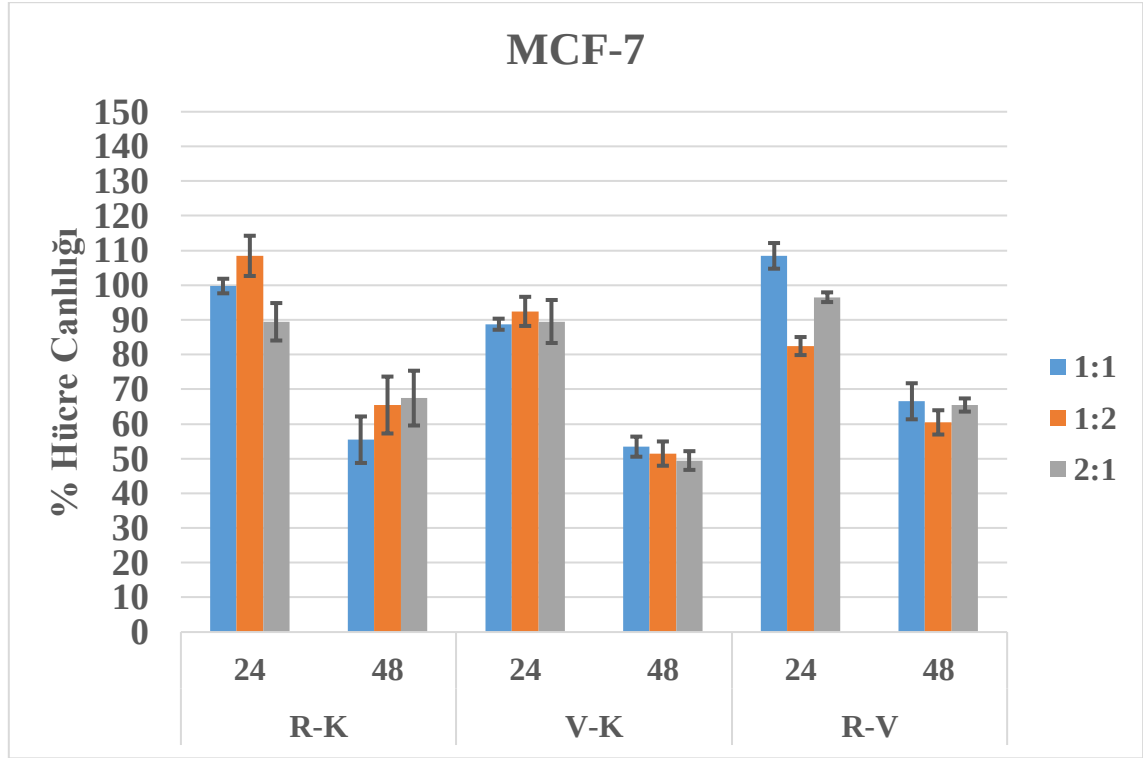
Şekil 5.8. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda A549 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi

Kersetin, Rutin ve Viteksinin 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarındaki karışımlarının A549 hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde;

R-K kombinasyonlarında 24. ve 48. saatte hücre canlılığı üzerinde olumsuz etki gözlenmez iken 48. saatte bile hücre canlılığı %78'in (1:2 oranı) altına düşmediği saptanmıştır.

V-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı üzerinde olumsuz etki gözlenmez iken 48. saatte bütün kombinasyonlarda hücre canlılığı %40'ın altına düştüğü saptanmıştır.

R-V kombinasyonlarında hücre canlılığı 24. saatte sadece 1:2 oranında %64,79 olarak, 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %64,45; 1:2 oranında %18,20 ve 2:1 oranında %75,16 olarak saptanmıştır.



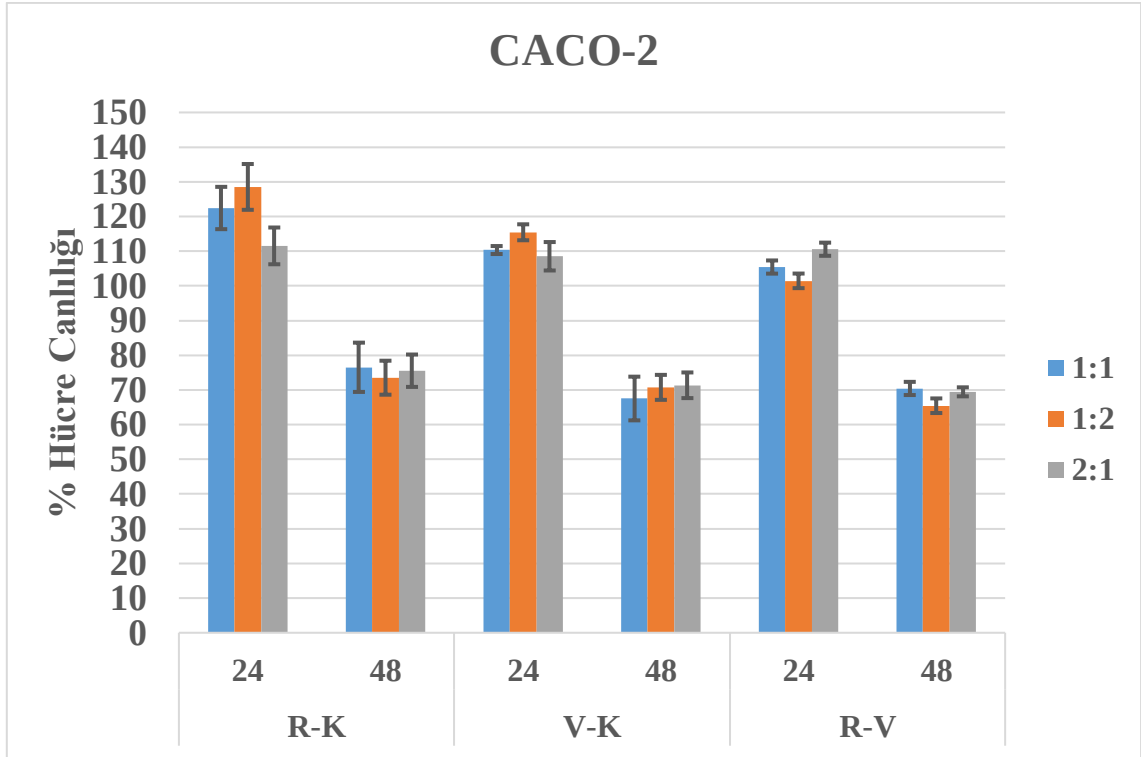
Şekil 5.9. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda MCF-7 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi

Kersetin, Rutin ve Viteksinin 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarındaki karışımlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde;

R-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %90'ın altına düşmez iken 48. saatte 1:1 oranında %55,45; 1:2 oranında %65,45 ve 2:1 oranında %67,45 olarak saptanmıştır.

V-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %88,75'nin altına düşmez iken 48. saatte 1:1 oranında %53,45; 1:2 oranında %51,45 ve 2:1 oranında %49,45 olarak saptanmıştır.

R-V kombinasyonlarında hücre canlılığı 24. saatte hücre canlılığı %82,45'in altına düşmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %66,53; 1:2 oranında %60,45 ve 2:1 oranında %65,45 olarak saptanmıştır.



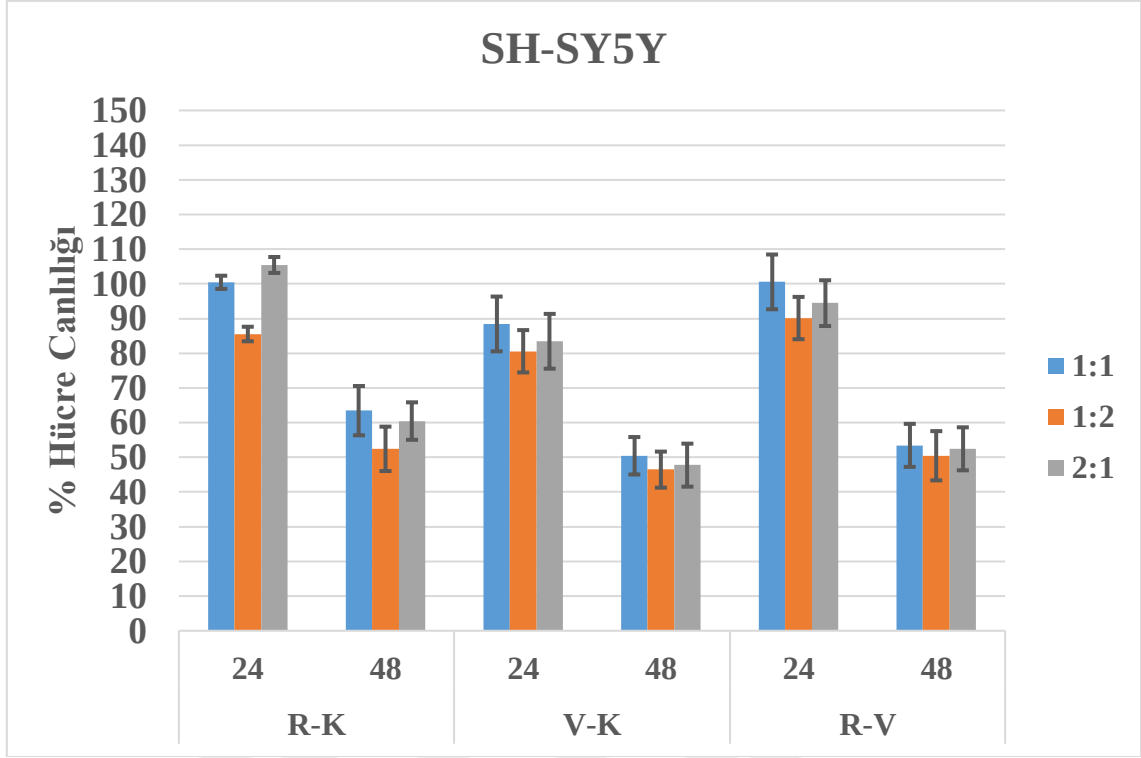
Şekil 5.10. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda CACO-2 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi

Kersetin, Rutin ve Viteksinin 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarındaki karışımlarının CACO-2 hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde;

R-K kombinasyonlarında 24. ve 48. saatte hücre canlılığı üzerinde olumsuz etki gözlenmez iken 48. saatte bile hücre canlılığı %73,53'in (1:2 oranı) altına düşmediği saptanmıştır.

V-K kombinasyonlarında 24. ve 48. saatte hücre canlılığı üzerinde olumsuz etki gözlenmez iken 48. saatte bile hücre canlılığı %67,53'ün (1:1 oranı) altına düşmediği diğer oranlarda da yine %70 dolaylarında hücre canlılığı saptanmıştır.

R-V kombinasyonlarında hücre canlılığı 24. saatte hücre canlılığı üzerinde olumsuz etki gözlenmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %70,43; 1:2 oranında %65,45 ve 2:1 oranında %69,45 olarak saptanmıştır.



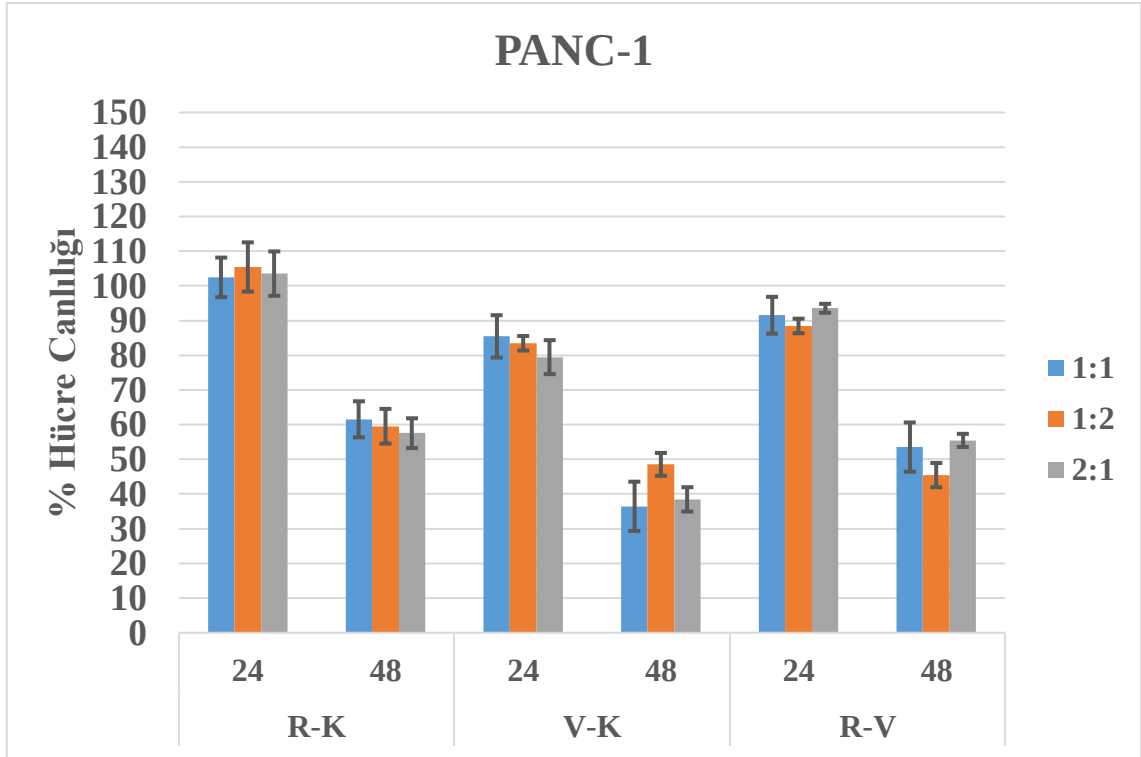
Şekil 5.11. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi

Kersetin, Rutin ve Viteksinin 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarındaki karışımlarının SH-SY5Y hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde;

R-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %85,54'ün altına düşmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %63,45; 1:2 oranında %52,45 ve 2:1 oranında %60,45 olarak saptanmıştır

V-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %80,57'nin (1:2 oranı) altına düşmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %50,45; 1:2 oranında %46,45 ve 2:1 oranında %47,75 olarak saptanmıştır.

R-V kombinasyonlarında hücre canlılığı 24. saatte hücre canlılığı %90,15'in (1:2 oranı) altına düşmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %53,45; 1:2 oranında %50,45 ve 2:1 oranında %52,45 olarak saptanmıştır.



Şekil 5.12. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının 24-48 saat sonunda PANC-1 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi

Kersetin, Rutin ve Viteksinin 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarındaki karışımlarının PANC-1 hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde;

R-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı üzerinde olumsuz etki gözlenmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %61,54; 1:2 oranında %59,53 ve 2:1 oranında %57,53 olarak saptanmıştır

V-K kombinasyonlarında 24. saatte hücre canlılığı %88,45'in (2:1 oranı) altına düşmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %36,45; 1:2 oranında %48,54 ve 2:1 oranında %38,45 olarak saptanmıştır.

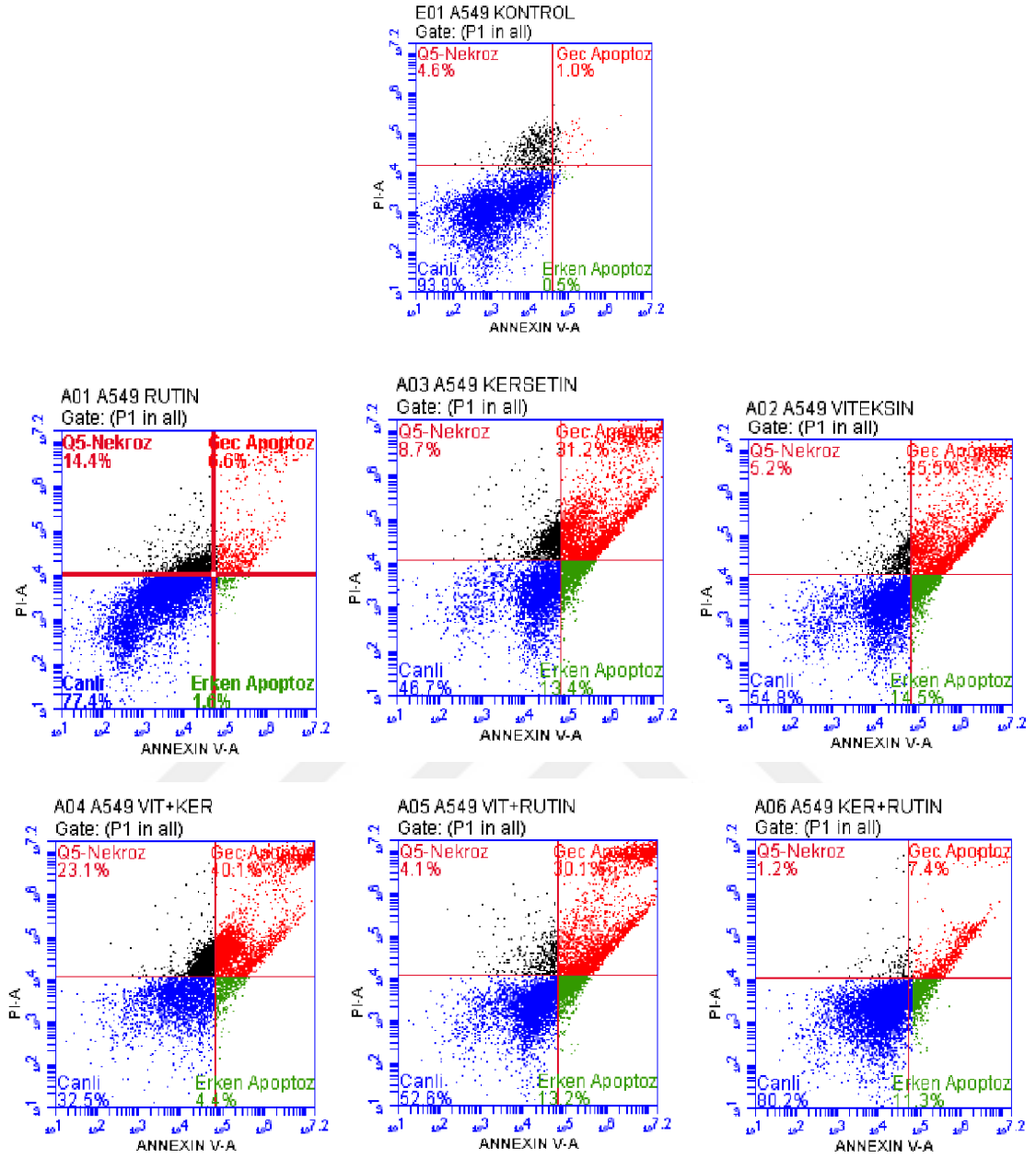
R-V kombinasyonlarında hücre canlılığı 24. saatte hücre canlılığı %88,45'in (1:2 oranı) altına düşmez iken 48. saatte hücre canlılığı 1:1 oranında %53,53; 1:2 oranında %45,45 ve 2:1 oranında %55,45 olarak saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar en son Minitab analiz programı ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarında karışım halinde uygulanan flavonoidlerin deney sonuçları istatistiksel olarak incelendiğinde R-K kombinasyonunun özellikle 48 saatlik inkübasyon sürelerinin tüm hücrelerdeki hücre canlılığı üzerinde (R^2 ad= %89,86) önemli etkisi olduğu ($p < 0.05$) fakat hücre tipinin ya da kullanılan oranın anlamlı bir etkisinin olmadığı ($p > 0.05$) bulunmuştur. V-K kombinasyonları analiz edildiğinde de R-

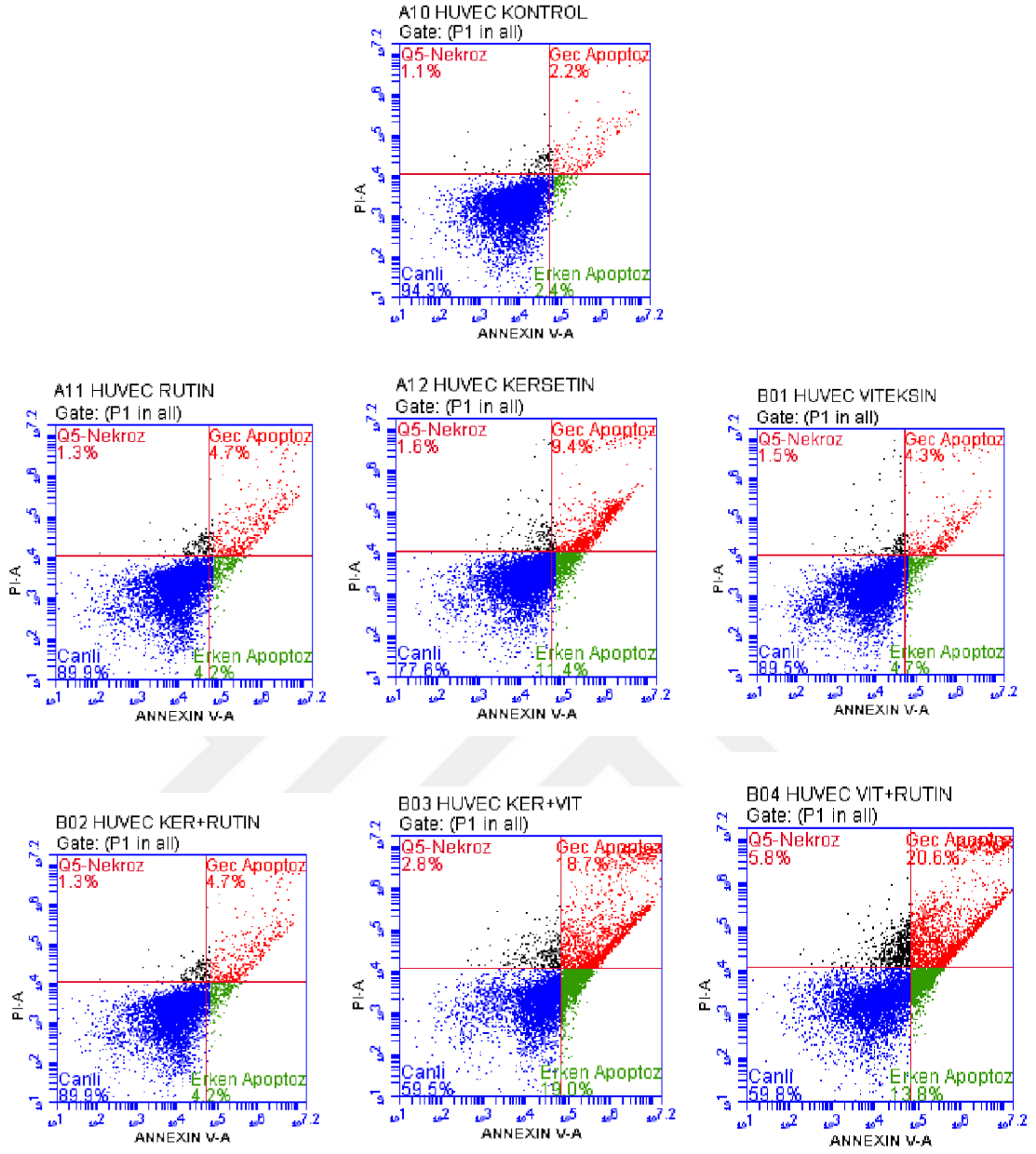
K kombinasyonları gibi 48 saatlik inkübasyon sürelerinin tüm hücrelerdeki hücre canlılığı üzerinde önemli etkisi olduğu (R^2 ad= %89,65) ($p<0.05$) fakat hücre tipinin ya da kullanılan oranın anlamlı bir etkisinin olmadığı ($p>0.05$) bulunmuştur. R-V kombinasyonları analiz edildiğinde ise (R^2 ad= %83,98) 48 saatlik inkübasyon süresinin önemli bir etkisi bulunmakla birlikte sadece HUVEC hücrelerinde 1:2 oranında karışımda önemli etkisi ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır.

5.2. Akım Sitometri Analiz Sonuçları

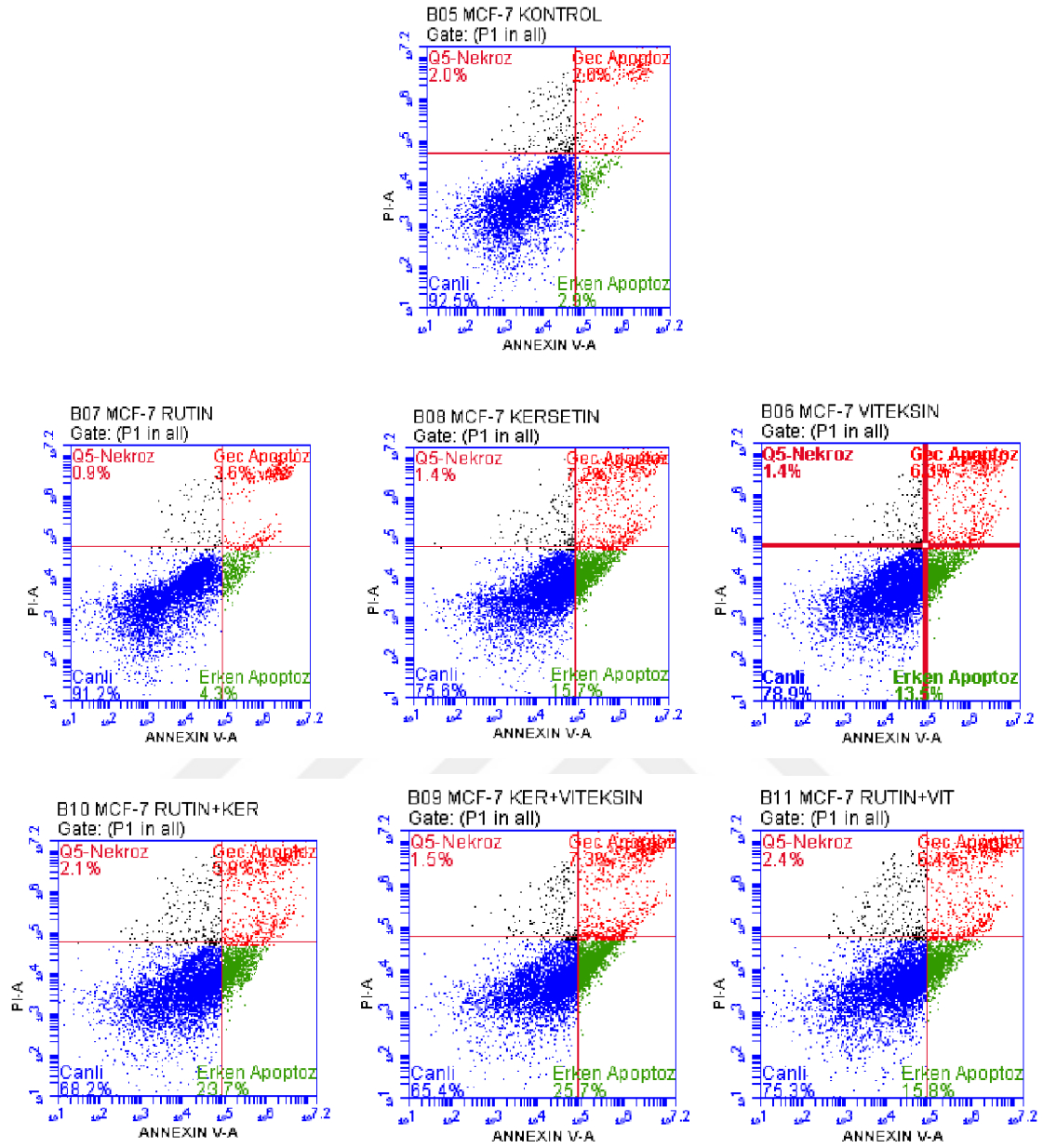
Tez kapsamında Rutin, Kersetin, Viteksin ve bu flavonoidlerin karışımlarının A549, MCF-7, HUVEC, CACO-2, PANC-1, SH-SY5Y hücreleri üzerindeki apoptotik etkilerinin incelenmesi Annexin V-FITC/PI ile ve akım sitometri cihazı yardımıyla belirlenmiştir. Kombinasyonların 24 saatlik MTT analizlerinde çok önemli sitotoksik etki görülmemesi ve yine 48 saatlik MTT analizlerinde görülen sitotoksik etkilerin birbirine yakın olması sebebiyle 1:1 oranı seçilmiştir. Sonuçlar Şekil 5.13-5.18’de verilmiştir. Yine flavonoidlerin ve kombinasyonların daha ayrıntılı olarak % canlı hücre, % nekrotik hücre, % erken apoptoz, % geç apoptoz şeklinde Tablo 5.2.’de verilmiştir.



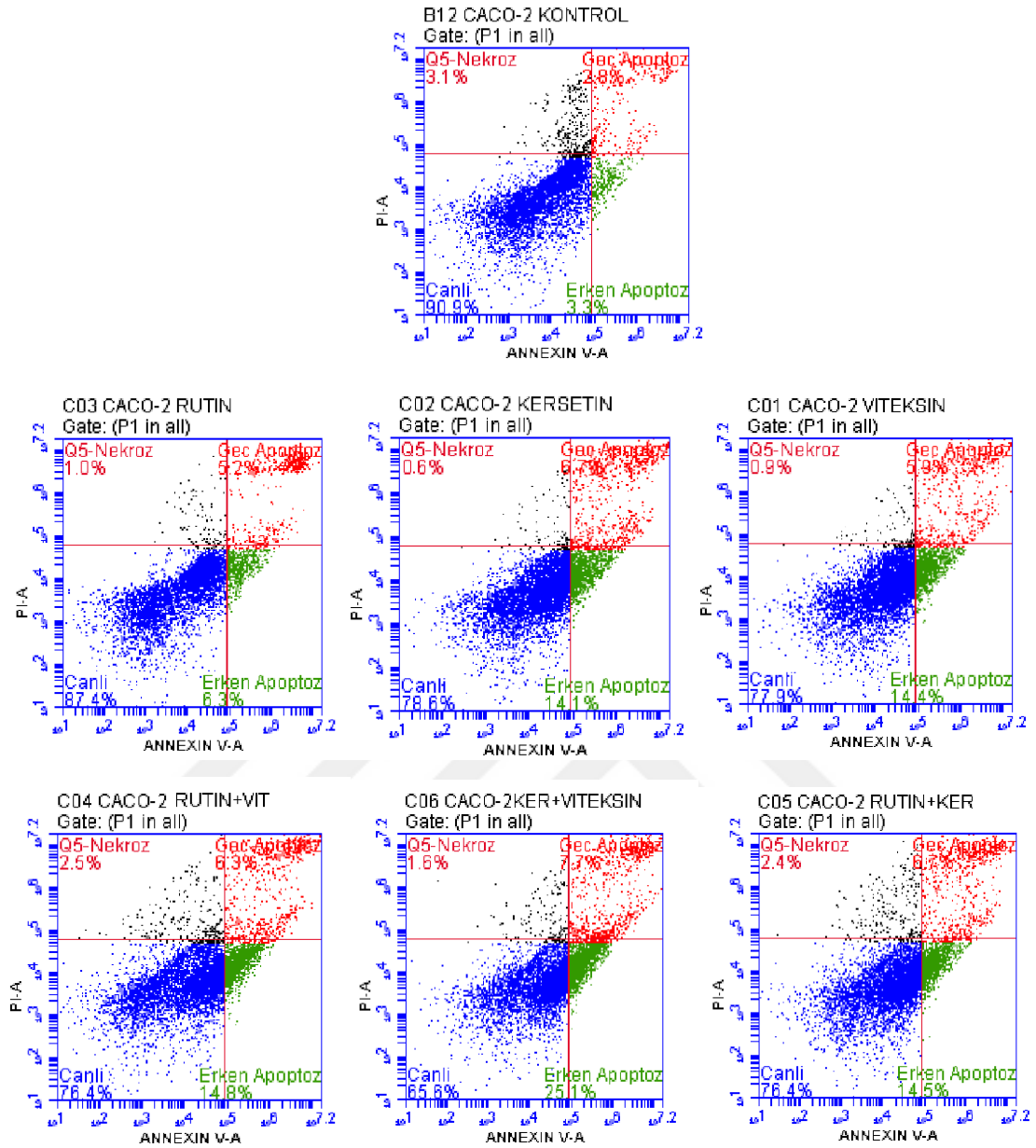
Şekil 5.13. Kontrol, Kerasetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının A549 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları



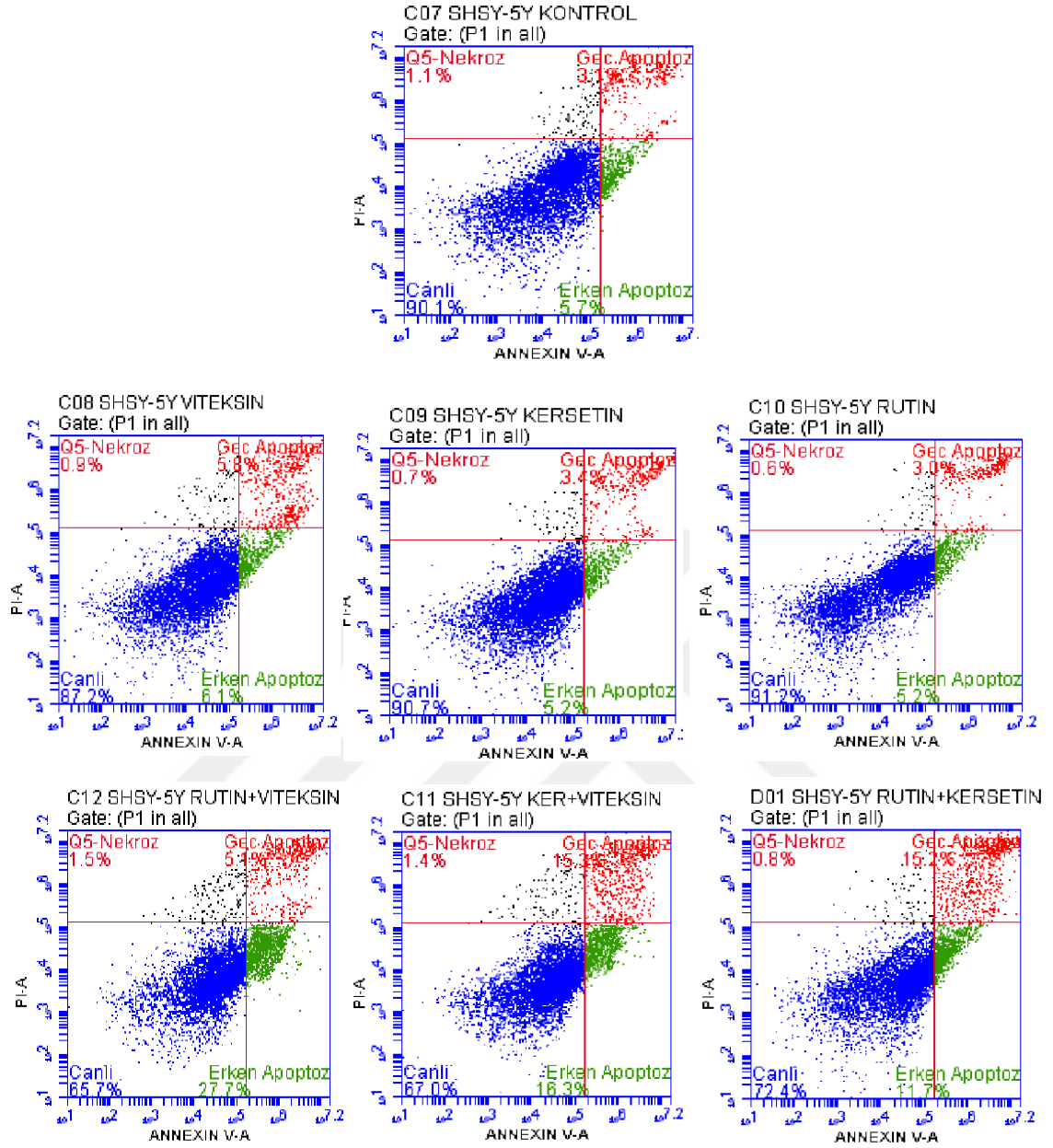
Şekil 5.14. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının HUVEC hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları



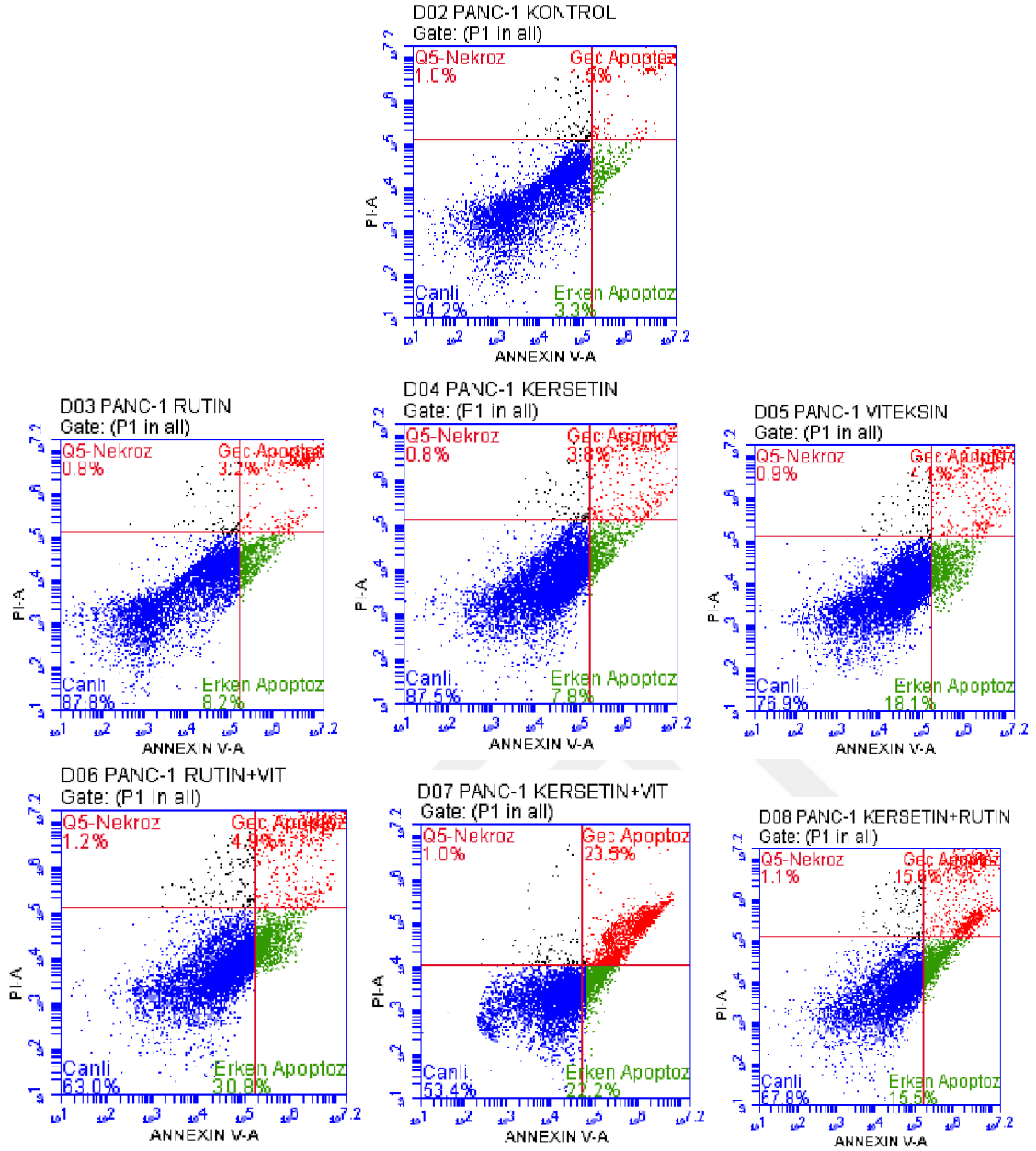
Şekil 5.15. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının MCF-7 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları



Şekil 5.16. Kontrol, Kerasetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının CACO-2 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları



Şekil 5.17. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının SH-SY57 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları



Şekil 5.18. Kontrol, Kersetin, Rutin Viteksin ve 1:1 karışımlarının PANC-1 hücreleri ile 48 saat inkübasyon sonunda akım sitometrisi sonuçları

Çalışılan flavonoidlerin ve kombinasyonların daha ayrıntılı olarak % canlı hücre, % nekrotik hücre, % erken apoptoz, % geç apoptoz şeklinde aşağıdaki tabloda görülmektedir.

Tablo 5.2. Kersetin, Rutin, Viteksin ve 1:1 karışımlarının HUVEC, A549, MCF-7, CACO-2, SH-SY5Y ve PANC-1 hücre hatlarındaki apoptotik etkileri

Hücreler	Maddeler	Canlı Hücre (%)	Nekroz Hücre (%)	Erken Apoptoz (%)	Geç Apoptoz (%)
HUVEC	Kontrol	94.3	1.1	2.4	2.2
	Kersetin	77.6	1.6	11.4	9.4
	Rutin	89.9	1.3	4.2	4.7
	Viteksin	89.5	1.5	4.7	4.3
	R-K	89.9	1.3	4.2	4.7
	V-K	59.5	2.8	19	18.7
	R-V	59.8	5.8	13.8	26.6
A549	Kontrol	93.9	4.6	0.5	1.0
	Kersetin	46.7	8.7	13.4	31.2
	Rutin	77.4	14.4	1.6	6.6
	Viteksin	54.8	5.2	14.5	25.5
	R-K	80.2	1.2	11.3	7.4
	V-K	32.5	23.1	4.4	40.1
	R-V	52.6	4.1	13.2	30.1
CACO-2	Kontrol	90.9	3.1	3.3	2.8
	Kersetin	78.6	0.6	14.1	6.7
	Rutin	87.4	1.0	6.3	5.2
	Viteksin	77.9	0.9	14.4	5.9
	R-K	76.4	14.5	6.7	2.4
	V-K	65.6	1.6	25.1	7.7
	R-V	76.4	2.5	14.8	6.3
MCF-7	Kontrol	92.5	2.0	2.9	2.6
	Kersetin	75.6	1.4	15.7	7.2
	Rutin	91.2	0.9	4.3	3.6
	Viteksin	78.9	1.4	13.5	6.3
	R-K	68.2	2.1	23.7	5.9
	V-K	65.4	1.5	25.7	7.3
	R-V	75.3	2.4	15.8	6.4
SH-SY5Y	Kontrol	90.1	3.1	5.7	1.1
	Kersetin	90.7	0.7	5.2	3.4
	Rutin	91.1	0.6	5.2	3.0
	Viteksin	87.2	0.9	6.1	5.8
	R-K	72.4	0.8	11.7	15.2
	V-K	67.0	1.4	16.3	15.3
	R-V	65.7	1.5	27.7	5.1
PANC-1	Kontrol	94.2	1.0	3.3	1.5
	Kersetin	87.5	0.8	7.8	3.8
	Rutin	87.8	0.8	8.2	3.2
	Viteksin	76.9	0.9	18.1	4.1
	R-K	67.8	1.1	15.5	15.6
	V-K	53.4	1.0	22.2	23.5
	R-V	63.0	1.2	30.8	4.9

Analiz sonuçları genel olarak hücreler ve flavonoidler açısından ayrı ayrı yorumlanmıştır. Buna göre;

HUVEC hücrelerinde tek başına flavonoidlerin canlı hücre sayısını önemli derecede düşürmezken, özellikle erken ve geç apoptozu uyardığı gözlenmiştir. Özellikle çalışılan flavonoidler arasında kersetinin en fazla erken (%11,4) ve geç apoptozu (%9,4)

uyaran flavonoid olduğu saptanmıştır. Flavonoidlerin birebir karışımları değerlendirildiğinde yine en fazla erken ve geç apoptozun indüklediği ve bu karışımlardan da canlı hücre sayısı özellikle R-V ve V-K gruplarında önemli derecede düştüğü gözlemlenirken, R-V'nin nekrotik hücre (%5,8) ile birlikte daha çok erken (%13,8) ve geç apoptozu (%26,6) indüklediği saptanmıştır. V-K'nın da yine erken (%19) ve geç apoptozu (%18,7) neredeyse eşit oranda indüklediği gözlenmiştir.

A549 hücrelerinde özellikle kersetin ve viteksinin canlı hücre yüzdesini azaltmakla birlikte daha çok geç apoptozu indükledikleri gözlenmiştir. Kersetin flavonoidi geç apoptozu %31,2 oranında erken apoptozu %13,4 oranında, viteksinin ise erken apoptozu %14,5 oranında, geç apoptozu ise %25,5 oranında indüklediği saptanmıştır. Rutinin ise daha çok nekrozu (%14,4) indüklediği saptanmıştır. Flavonoidlerin birebir karışımlarında ise R-K'nın hücre canlılığı üzerinde çok fazla etkisi görülmemekle birlikte düşük oranda erken apoptozu (%11,3) indüklediği saptanmıştır. V-K ve R-V karışımlarında ise yine daha çok geç apoptozu indükledikleri gözlenmiştir. Bununla birlikte V-K'nın nekrozu (%23,1) da yüksek oranda indüklediği saptanmıştır.

CACO-2 hücrelerinde tek başına flavonoidler uygulandığında hücre canlılığını önemli derecede düşürmediği en fazla viteksinin %77,9'a kadar düşürdüğü saptanmıştır. Bu hücrelerde yine flavonoidlerin çok yüksek olmamakla birlikte erken ve geç apoptozu indüklediği saptanmıştır. Burada da en fazla kersetin (%14,1) ve viteksinin (%14,4) özellikle erken apoptozu indüklediği gözlenmiştir. Flavonoidlerin birebir karışımlarında ise canlı hücre yüzdesi en düşük V-K grubunda %65,6 olarak saptanırken diğer iki grupta %76,4 olarak saptanmıştır. R-K'nın daha çok nekrozu (%14,5) indüklediği saptanırken V-K'nın %25,1 oranında, R-V'nin ise %14,8 oranında erken apoptozu indüklediği saptanmıştır.

MCF-7 hücrelerinde tek başına flavonoidler uygulandığında canlı hücre oranı en düşük %75,6 olarak kersetin uygulamalarında görölürken, viteksinde %78,9, rutinde ise %91,2 olarak saptanmıştır. Kersetin %15,7 oranında, viteksin %13,5 oranında daha çok erken apoptozu indüklediği gözlenmiştir. Flavonoidlerin birebir karışımlarında canlı hücre sayısı en fazla %65,4 oranında V-K grubunda gözlenmiştir. Bu hücrelerde sırasıyla V-K'da %25,7, R-K'da %23,7 ve R-V'de ise %15,8 oranında en fazla erken apoptoz gözlendiği saptanmıştır.

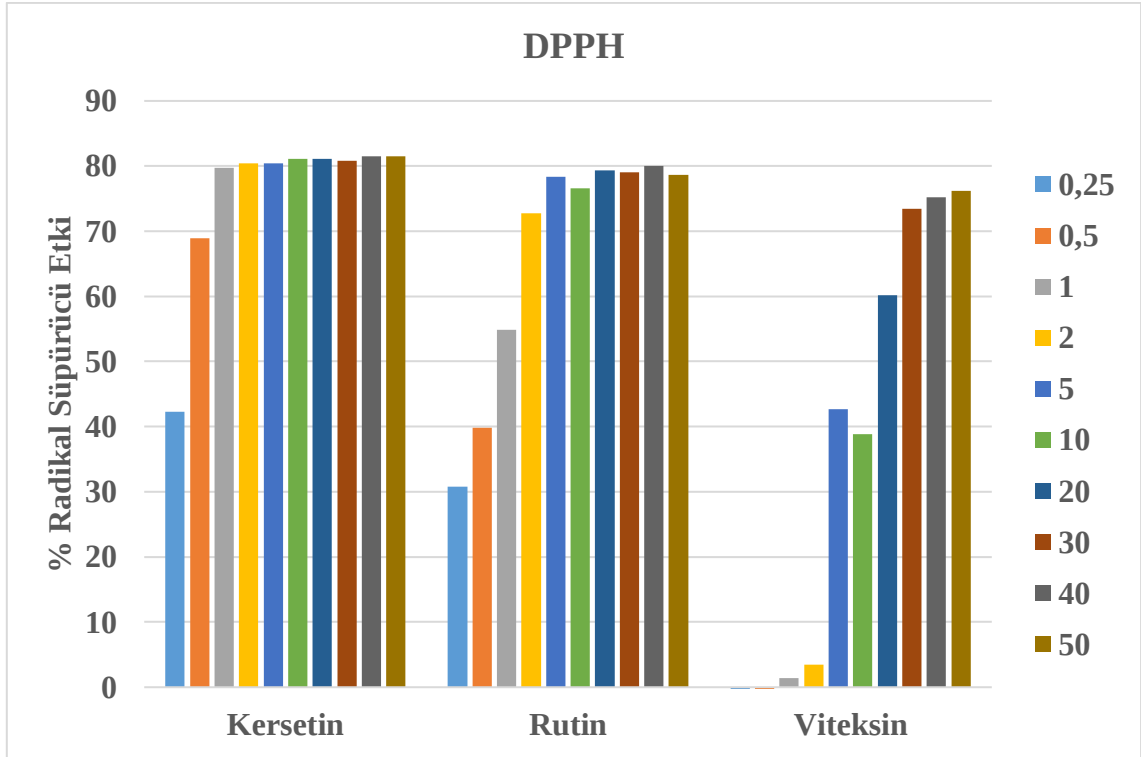
SH-SY5Y hücrelerinde tek başına flavonoidler uygulandığında canlı hücre oranı en düşük viteksinde %87,2 olarak saptanmıştır. Bu hücrelerde de yüksek olmamakla birlikte

yaklaşık %5-6 oranında erken apoptozun indüklendiği görülürken sadece viteksinde yine aynı oranlarda geç apoptozunda (%5,8) indüklendiği saptanmıştır. Flavonoidlerin birebir karışımlarında ise nekroz çok fazla görülmemekle birlikte, canlı hücre oranı en düşük R-V'de %65,7 ve V-K'da %67 olarak saptanmıştır. Bu hücrelerde R-K ve V-K'nın erken ve geç apoptozu daha çok indüklediği saptanırken R-V'nin daha çok erken apoptozu (%27,7) indüklediği saptanmıştır.

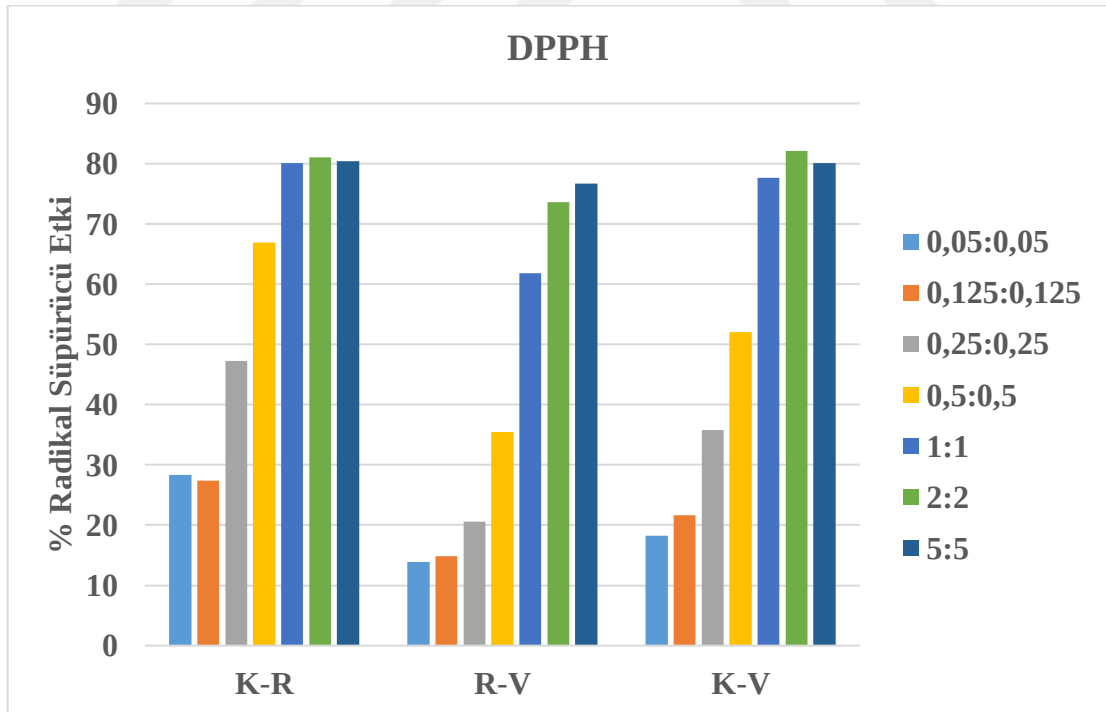
PANC-1 hücrelerinde tek başına flavonoidler uygulandığında canlı hücre oranı %76,9'un altına düşmediği gözlenmiştir. Bununla birlikte tüm flavonoidlerin daha çok erken apoptozu indükledikleri saptanmıştır. Bunlar içerisinde en fazla viteksin %18,1 oranında erken apoptozu indüklediği ve geç apoptozu da %4,1 oranında indükleyerek diğer flavonoidlere göre daha fazla apoptoza etki ettiği gözlenmiştir. Flavonoidlerin birebir karışımlarında ise canlı hücre oranı en fazla R-K grubunda %67,8 olarak saptanmakla birlikte yine nekroza göre erken ve geç apoptozun daha çok indüklendiği saptanmıştır. Bu gruplar içerisinde özellikle R-V'nin geç apoptoza kıyasla en yüksek oranda erken apoptozu (%30,8) indüklediği gözlenmiştir. R-K ve V-K gruplarında erken ve geç apoptoz nispeten eşit oranlarda indüklendiği saptanmıştır.

5.3. DPPH Analizi Sonuçları

Tez kapsamında çalışılan Rutin, Kersetin, Viteksin ve kombinasyonlarının DPPH testi ile radikal süpürücü etki yüzdeleri uygulanan konsantrasyonlar ile birlikte Şekil 5.19-5.20 'de grafik halinde gösterilmiştir.



Şekil 5.19. Kersetin, Rutin ve Viteksinin 0,25-50 µg/kuyu konsantrasyonlarında radikal süpürücü etki yüzdeleri

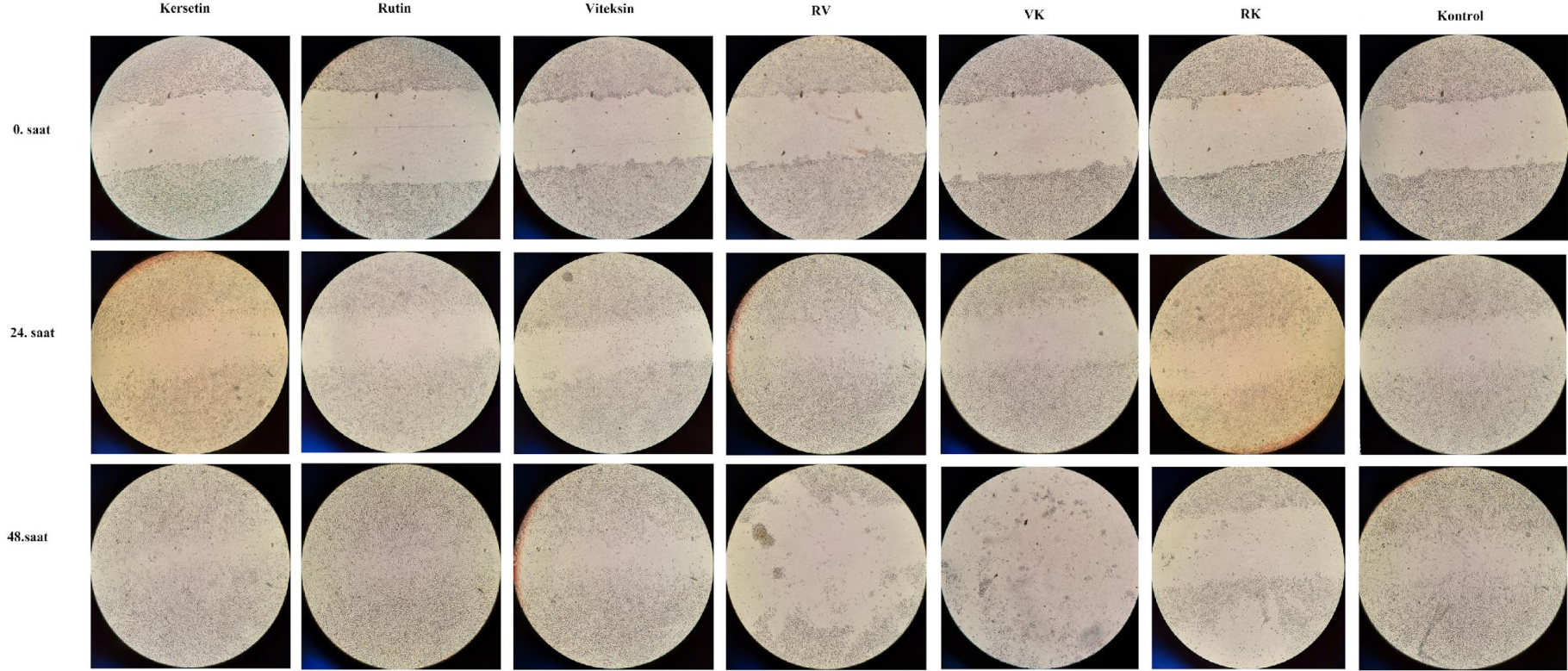


Şekil 5.20. Kersetin, Rutin ve Viteksinin çeşitli oranlarda karışımlarının radikal süpürücü etki yüzdeleri

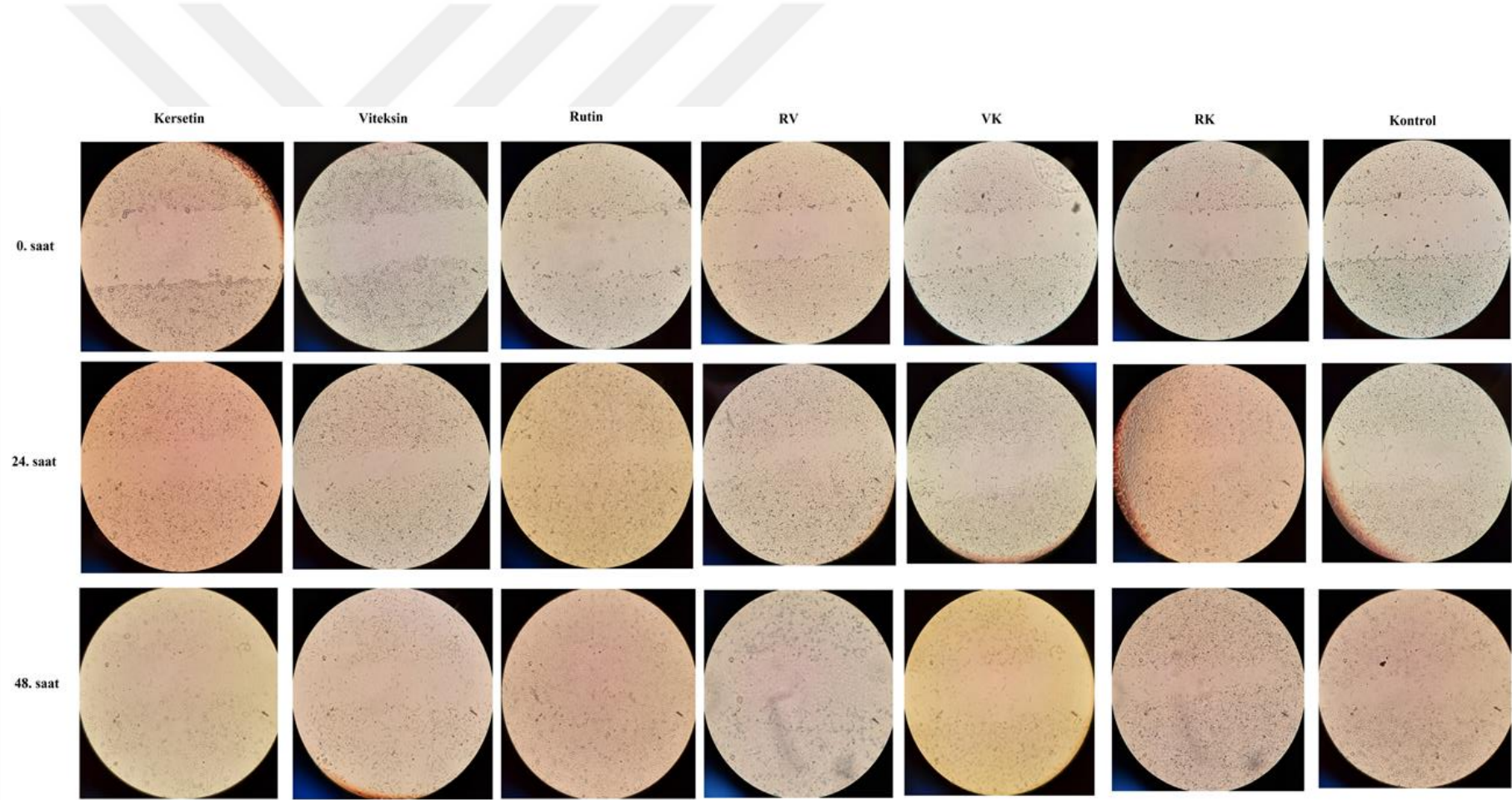
DPPH deneyinde sadece etanol ve etanolle hazırlanmış DPPH çözeltisi negatif ve pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. DPPH radikal süpürücü etki oranları kontrollere

göre E4.2 eşitliği vasıtasıyla hesaplanmış ve grafiğe geçirilmiştir. Bu grafiğe göre özellikle kersetinin 1 µg/kuyu konsantrasyonundan itibaren rutin'in 5 µg/kuyu'dan itibaren ve viteksin'in ise 30 µg/kuyu'dan itibaren %80 oranlarında radikal süpürücü etki gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte bunlardan daha yüksek konsantrasyonlara antioksidan yüzdesinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Bu flavonoidler içerisinde en fazla antioksidan etkiye kersetin sahip olduğu gözlenmiştir. Yine 1:1 oranlarında fakat farklı konsantrasyonlarda birbiri ile karışımların antioksidan etkisine bakıldığında, K-R'nin 1:1 (1 µg/kuyu) oranından, R-V'nin en yüksek 5:5 (5 µg/kuyu) ve K-V'nin ise 1:1 (1 µg/kuyu) oranından itibaren en yüksek orana sahip olduğu gözlenmiştir. Karışım uygulamalarında en yüksek K-R ve K-V'de benzer antioksidan etki gözlenmekle birlikte bu antioksidan etkinin kersetinden ileri geldiği düşünülmekte ve süpürücü etkiyi gösteren miktarda herhangi bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır.

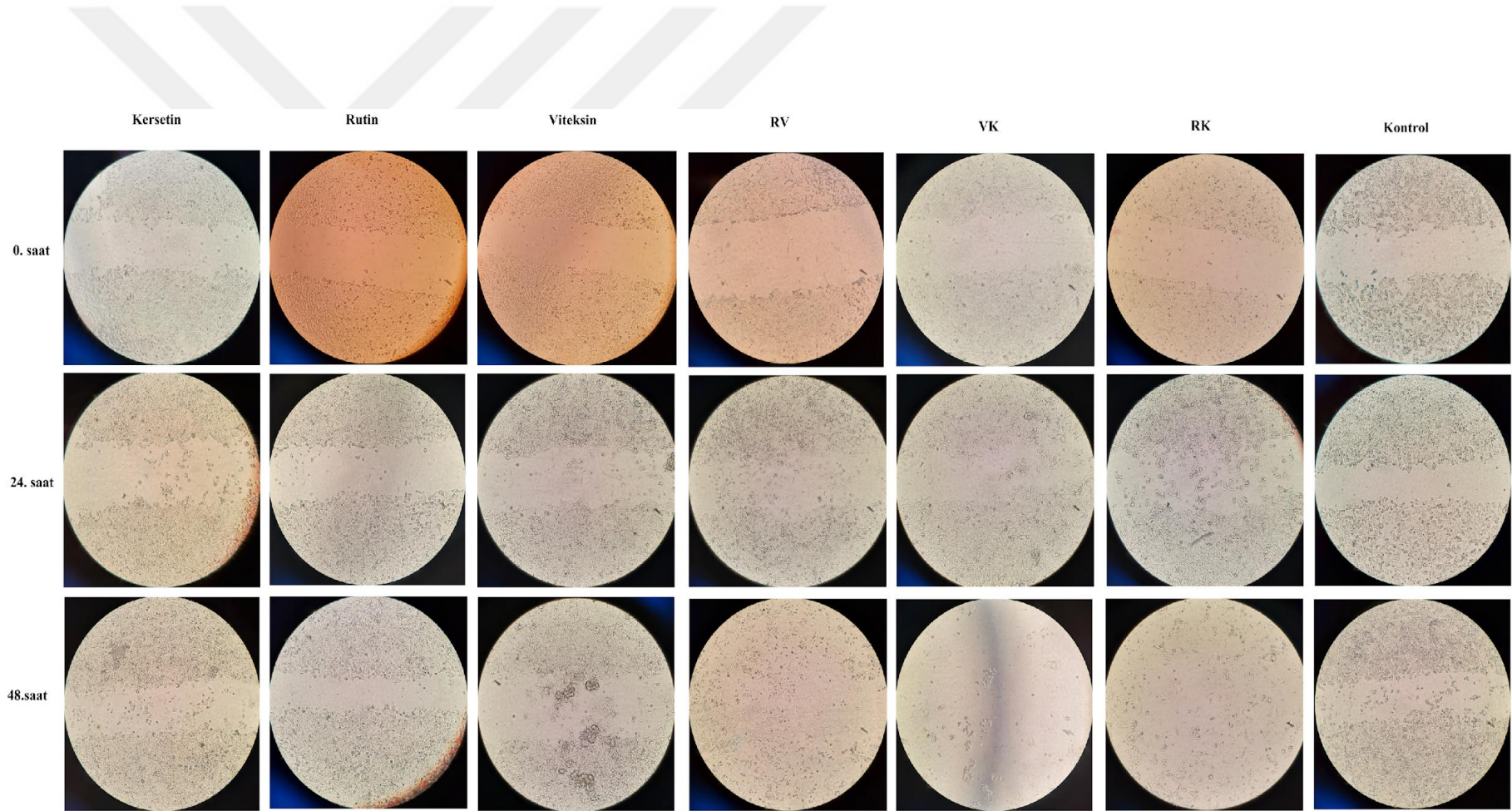
5.4. Migrasyon Sonuçları



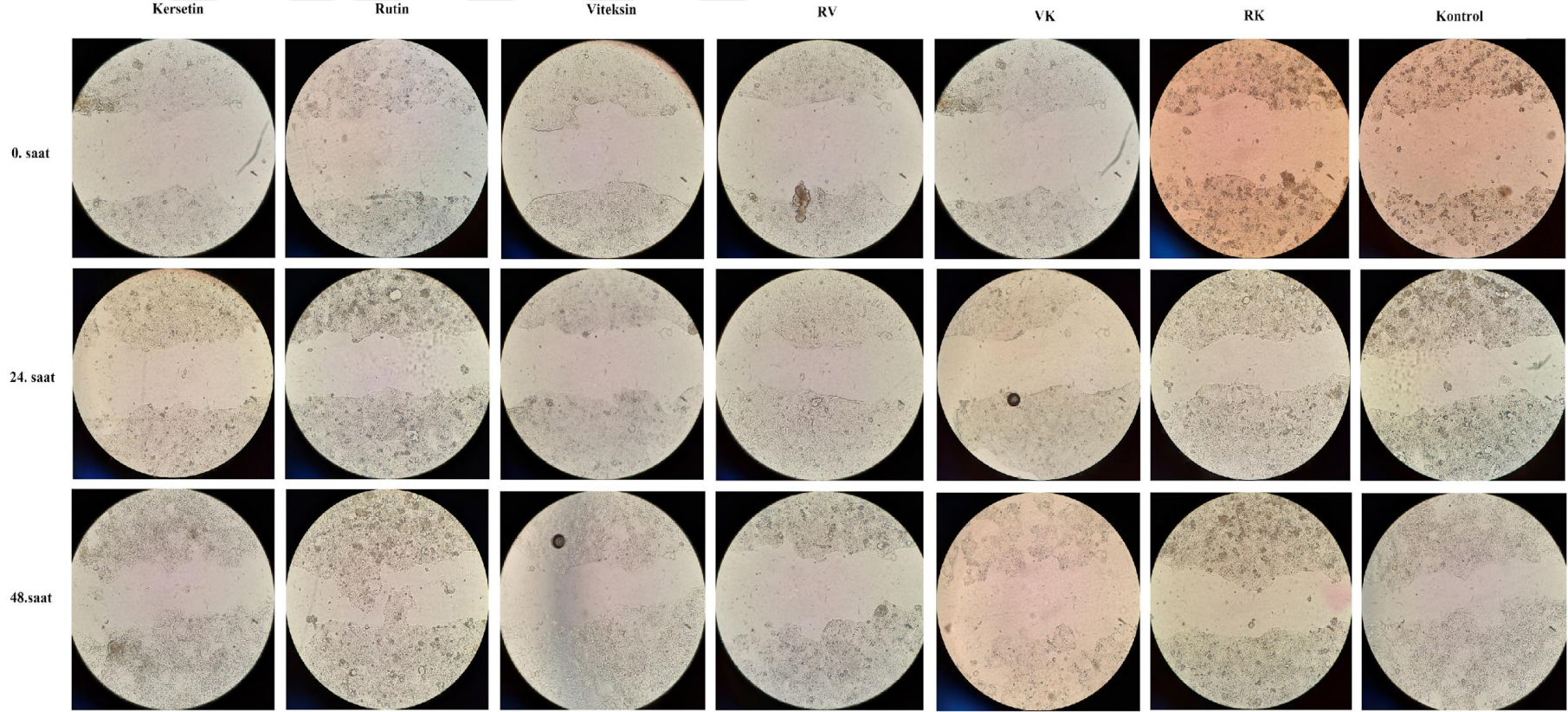
Şekil 5.21. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın HUVEC hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları



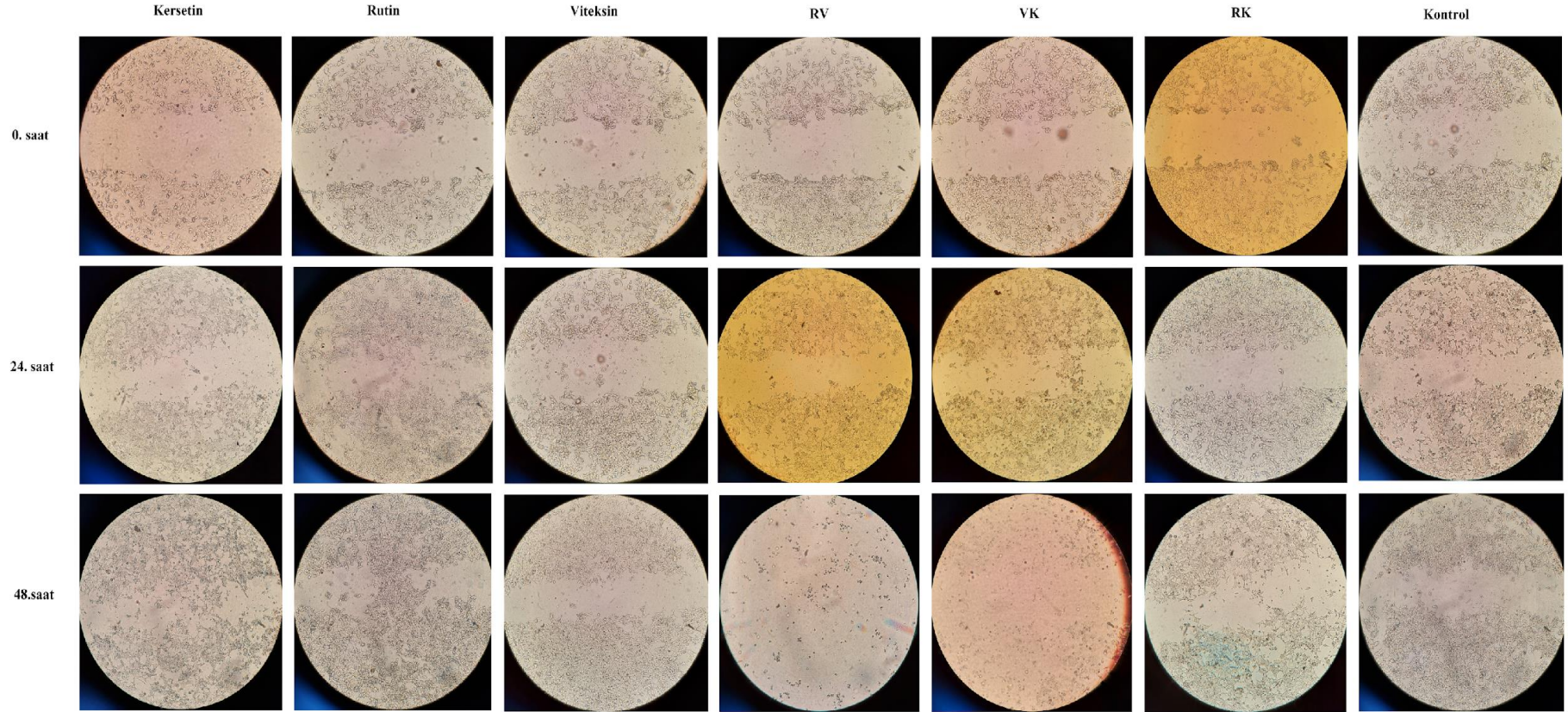
Şekil 5.22. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın A549 hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları



Şekil 5.23. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın MCF-7 hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları



Şekil 5.24. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın CACO-2 hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları



Şekil 5.25. Rutin, Kersetin, Viteksin, R-V, V-K, R-K'nın SH-SY5Y hücrelerinde 0., 24., 48. saat migrasyon analiz sonuçları

Şekil 5.2.1 ile Şekil 5.2.5'te 2,5 µg/mL konsantrasyonunda Rutin, Kersetin, Viteksin ve bunların 1:1 karışımları ilgili kuyucuklara uygulanmış ve 3 farklı saatte ışık mikroskobu altındaki yara iyileşmesi görselleri verilmiştir. 0. saatte çizik alanları belirgin bir şekilde tüm uygulama alanlarında görülmektedir. Sonuçlar hücreler açısından değerlendirildiğinde;

HUVEC hücrelerinde 24. saat sonunda kontrol de dahil tüm uygulama alanlarında hücre migrasyonunun başladığı gözlenmektedir. 48. Saate kontrol grubunda kersetin ve viteksin ile benzer migrasyon özelliği devam ederken rutinde alanın nispeten daha fazla kapandığı gözlenmiştir. Karışımlara bakıldığında ise migrasyonun 48. saatte büyük ölçüde baskılandığı hücrelerin fibroblastik özelliklerini kaybetmeye başladıkları saptanmıştır. Ayrıca hücrelerin plakadan yüzeyinden ölererek kalktıkları da gözlenmiştir.

A549 hücrelerinde 24. saat sonunda kontrol de dahil tüm uygulama alanlarında hücre migrasyonunun büyük ölçüde başladığı gözlenmektedir. Özellikle rutin uygulama alanında neredeyse hiç boşluğun kalmadığı gözlenirken viteksin ve kersetin uygulama alanında da kontrole göre nispeten biraz daha fazla migrasyon olduğu gözlenmiştir. Karışımlarda R-V ve R-K gruplarında yine kontrole göre daha yüksek oranda migrasyon olduğu gözlenmiştir. V-K'nın ise kontrole benzer migrasyon özelliği göstermiştir. 48. Saate bakıldığında rutinde hücreler arasında birtakım boşlukların meydana geldiği Kersetin ve viteksin uygulama alanında da migrasyonun gerilediği hücreler arasında daha fazla boşluk olduğu gözlenmiştir. Karışımlar değerlendirildiğinde diğer uygulama alanlarına göre R-K'da biraz boşluk olmakla birlikte migrasyonun olduğu V-K ve R-V'de migrasyonun yine büyük ölçüde gerilediği saptanmıştır.

MCF-7 hücrelerinde 24. saat sonunda tek başına uygulanan flavonoidlerde kontrol göre migrasyonun daha yavaş olduğu karışımlarda ise migrasyonun daha fazla gözleendiği saptanmıştır. 48. Saate bakıldığında özellikle rutin ve kersetin kontrole göre daha çok migrasyon özelliği gösterirken viteksin de yavaş bir migrasyon gözlenmiştir. Bununla birlikte 48. saat sonunda hücre yapılarında da herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Karışımlara bakıldığında migrasyonun V-K ve R-K'da hücreler neredeyse tamamıyla öldüğü gözlenirken R-V'de hücrelerdeki değişiklik ve migrasyonun da baskılandığı gözlenmiştir.

CACO-2 hücrelerinde hücre büyüme özellikleri ve nispeten büyük hücre olmaları sebebi ile çizik yönteminde zorluklar yaşanmıştır. Çizik oluşturulurken hücrelerin kalıplar halinde kalktığı gözlenmiş ve bununla ilgili birçok deneme yapılmasına rağmen

bir çözüm bulunamamıştır. Bu sebeple çizik oluşturma aşamasında alanlarda farklılık olmasının önüne geçilememiş ve bu şekilde değerlendirilmiştir. Buna göre 24. saat sonunda bütün uygulama alanlarında migrasyonun gözlemlendiği saptanmıştır. 48. saatte de tek başına flavonoid uygulanan alanlarda migrasyonun devam ettiği, karışımlarda ise R-K dışında diğerlerinde migrasyonun gerilediği saptanmıştır.

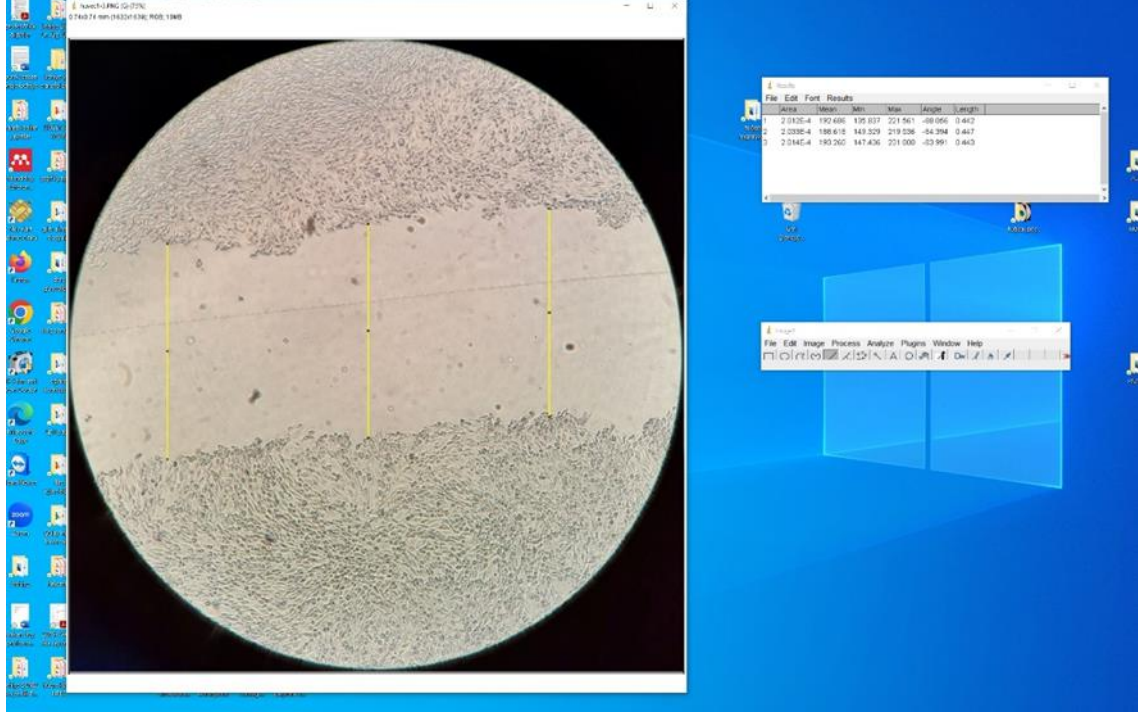
SH-SY5Y hücrelerinde 24. saatte tüm uygulama alanlarında yine migrasyon belirgin şekilde görülürken 48. saatte tek başına flavonoid uygulanan alanlarda migrasyon devam ederken karışım uygulanan alanlarda özellikle R-V ve V-K’da migrasyonun büyük ölçüde gerilediği ve değerlendirilebilecek hücrenin neredeyse kalmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte R-K uygulama alanında hücre migrasyonu devam etmiştir.

PANC-1 hücreleri laboratuvar çalışması sırasında kontaminasyon sebebi ile kaybedilmiştir. Farmasötik Biyoteknoloji Laboratuvarı hücre kültür stoğunda yer alan diğer PANC-1 hücreler kullanılmaya çalışılmış fakat üretimi sağlanamamıştır. Diğer hücre kültür laboratuvarlarından da PANC-1 hücreleri temin edilmiş fakat onlarda da ürememe gerçekleştirilemediği için PANC-1 hücrelerinin migrasyon özelliğine bakılamamıştır.

Migrasyon deneyi görselleri üzerinde migrasyon alanlarının Image J programı vasıtasıyla ölçümleri yapılmış ve mm olarak boşluklar Tablo 5.3.’de verilmiştir.

Image J programından kısaca bahsedilirse, Java tabanlı herkesin kullanımına açık görüntü işleme yazılımıdır. Her renkte ve formatta görüntü üzerinde çalışabilme imkanı sunmaktadır. Java 1,5 veya sonraki sürümlerine sahip bilgisayarda, National Institutes of Health (NIH) tarafından geliştirilmiş görüntü analiz programı açık kodlu olup internetten ücretsiz olarak <http://rsb.info.nih.gov/ij/> adresinden çalışma kılavuzuyla indirilebilmektedir. Programın yaptığı hesaplamalar ve sonuçlar bilimsel çalışmalarda kullanılabilir ve uluslararası değerlendirmelerde kabul görmektedir. Bu yöntemde görüntüler hem bilgisayara mikroskoba bağlı kamera aracılığı ile aktarılabilir hem de bu sistemin var olduğu başka bir yerde resimler çekilerek daha sonra ölçüm yapılabilir. Image J görüntü analiz programında, her formatta ve renkteki görüntü üzerinde çalışılabilir, seçimlerin alan ve piksel istatistiklerini hesaplayabilir, mesafeleri ve açıları ölçebilir. Image J Programı elde edilen bir görüntü üzerinde morfolojik yapı ve doku özelliklerini belirlemek için tanımlanmış her parametreyi sistematik komut sistemi kullanarak hesaplama imkânı sağlamaktadır([http-13](#); [http-14](#); [http-15](#); [http-16](#); [http-17](#); Güller, 2005).

Tez çalışmasında her bir görüntü ayrı ayrı Image J programı ile analiz edilmiş ve boşluk oluşturulan alandan 3 yerden ölçüm alınarak ortalama bir değer hesaplanmıştır. Görüntü üzerinden yapılan bir analizin ekran fotoğrafı Şekil 5.26.'da görülmektedir. Şekil üzerinde sarı çizgiler boşluk için ölçülen yerleri sağ üst tarafta da analiz sonucu elde edilen değerler görülmektedir.



Şekil 5.26. HUVEC hücrelerinde kontrol 0. Saat görüntüsü üzerinde Image J programı ile analiz ve elde edilen sonuç görüntüsü

Image J programında her bir görüntü tek tek açılmış ve mümkün olduğunca aynı bölgeden olmak suretiyle gösterilen bölgelerden ölçüm alınmıştır. Bu ölçümlerin ortalamaları alınarak aşağıdaki Tablo 5.3.'te 0., 24. ve 48. saatteki mm birim ile verilmiştir. Daha sonra 24 ve 48. Saatteki kapanma oranlarının % değerleri aşağıdaki eşitlikle (E5.1) hesaplanmış ve yine Tablo 5.3.'te gösterilmiştir.

$$\% \text{ Kapanma Oranı (KO)} = \frac{0.\text{saat ölçümü} - 24.\text{(ya da 48.) saat ölçümü}}{0.\text{saat ölçümü}} \times 100 \quad (\text{E5.1})$$

Analiz edilen bazı bölgelerde hücre ölümünün çok olması sebebiyle aradaki boşluğun mesafesi Image J programı ile ölçülememiş ve tabloda (-) olarak gösterilmiştir. Tabloda yer alan negatif değerli rakamlar ise yine hücre ölümü sebebiyle önceki ölçülen boşluktan daha büyük bir boşluk oluşması sebebiyle ortaya çıkmıştır. Bunun dışında

sadece rutin uygulanan A549 hücrelerinde 24 satte hiçbir boşluk kalmadığı için ölçüm yapılamamıştır.



Tablo 5.3. Image J programı ile 0., 24. ve 48 saatte mm olarak ölçülen boşluk mesafeleri (mm) ve bu boşlukların 24 ve 48 saatte % kapanma oranları (KO)

	HUVEC					A549					MCF-7					CACO-2					SH-SY5Y				
	0	24	48	24s %KO	48s %KO	0	24	48	24s %KO	48s %KO	0	24	48	24s %KO	48s %KO	0	24	48	24s %KO	48s %KO	0	24	48	24s %KO	48s %KO
Kontrol	0,4	0,3	0,1	38,6	70,2	0,4	0,3	0,1	17,8	66,5	0,3	0,2	0,2	32,1	44,9	0,5	0,3	0,2	39,2	62,6	0,3	0,2	0,2	27,7	44,1
Viteksin	0,4	0,3	0,2	35,8	62,4	0,3	0,2	0,4	52,5	-18,4	0,3	0,3	0,3	-5,5	-8,3	0,5	0,4	0,3	10,2	31,1	0,3	0,3	0,2	7,3	34,6
Rutin	0,6	0,3	0,0	57,1	96,4	0,4	-	0,1	72,4	-	0,3	0,3	0,2	13,0	48,0	0,5	0,4	0,3	30,1	48,2	0,4	0,2	0,2	48,4	56,7
Kersetin	0,4	0,3	0,1	42,4	74,9	0,5	0,2	0,4	52,4	13,1	0,4	0,3	0,3	10,7	28,8	0,5	0,4	0,3	20,4	48,1	0,4	0,3	0,2	34,4	60,8
V-R	0,4	0,2	-	59,4	-	0,3	0,1	0,5	67,3	-46,8	0,5	0,2	-	48,6	-	0,5	0,3	0,4	34,1	24,7	0,4	0,3	-	28,8	-
K-R	0,5	0,2	0,4	51,1	10,0	0,3	0,1	0,2	72,4	51,5	0,4	0,3	-	13,5	-	0,5	0,3	0,3	38,2	28,3	0,3	0,2	0,2	25,8	37,9
V-K	0,5	0,3	-	42,2	-	0,3	0,3	0,4	21,4	-7,3	0,3	0,3	-	19,8	-	0,5	0,4	0,5	8,5	-5,0	0,3	0,2	-	37,0	-

6. TARTIŞMA

Kanser, dünya çapında insan morbidite ve mortalitesinin en önemli nedenlerinden biri olduğu için, araştırmacılar kanser hücrelerinin hayatta kalmasını, anjiyogenezisi, proliferasyonunu ve metastazını azaltmak için yeni bileşikler ve terapötik yaklaşımlar keşfetmeye çalışmaktadır. Son yıllarda özel fitokimyasal bileşiklerin ve flavonoidlerin kullanımının kanser tedavisi alanında ilginç ve umut verici bir taktik olduğu bildirilmektedir (Hosseinzadeh vd., 2020).

Kanser, baskılama, blokaj ve transformasyon gibi çeşitli yollarla kontrol edilebilmektedir. Baskıyayıcı ajanlar, prokarsinojenlerden yeni kanser oluşumunu engellemekte; blokaj maddeleri, kanserojen bileşiklerin kritik başlatma bölgelerine ulaşmasını engellemekte ve transformasyondan sorumlu maddeler ise kanserojen bileşenlerin metabolizmasını daha az toksik maddelere dönüştürmeyi kolaylaştıracak veya biyolojik etkilerini önleyecek şekilde hareket etmektedir. Flavonoidler her üç şekilde de hareket edebilme özelliğine sahip bileşiklerdir. Bu özellikleri sayesinde DNA'yı oksidatif hasara karşı koruyarak, karsinojenleri etkisiz hale getirerek, mutajenik genlerin ve prokarsinojenik maddeleri aktive etmekten sorumlu enzimlerin ekspresyonunu inhibe ederek ve ksenobiyotik detoksifikasyondan sorumlu sistemleri aktive ederek malign tümörlerin farklı gelişim evrelerinde rol oynayabilirler (Benavente-García ve Castillo, 2008).

Flavonoidler, bitkilerde renk, tat ve farmakolojik aktivitelerinden sorumlu biyoaktif sekonder metabolitler olarak sentezlenen polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidler, bitkileri olumsuz çevre koşullarından koruyan güçlü antioksidanlar olmaları nedeniyle dikkat çekmişler ve çok sayıda akut ve kronik insan hastalığında olası yararlı etkilerini değerlendirmek için çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışmada kullanılmıştır (Rodriguez-Garcia ve Sanchez-Quesada, 2019). Yapılan bu *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, flavonoidlerin anti-inflamatuar, antioksidan, immünomodülatör ve güçlü antikanser aktiviteler gösterebileceği çeşitli yayınlarda rapor edilmiştir (Abotaleb vd., 2018). Sorumlu moleküler mekanizmalar henüz tam aydınlatılamamış olmakla beraber flavonoidlerin, insan kanser hücrelerinde, hücre proliferasyonunu inhibe etme ve apoptozu veya otofajiyi indüklemeye yeteneği, anti-kanser ajanları olarak potansiyellerine yoğun bir ilgi uyandırmıştır (Perez-Vizcaino ve Fraga, 2018; Zhang vd., 2018). Örneğin flavonlar açısından zengin bir diyetin, özellikle meme kanseri, sindirim sistemi, deri, prostat ve belirli hematolojik maligniteler olmak üzere belirli kanser türlerinin

azalmasıyla ilişkili olduğunu desteklemektedir. Dolayısıyla flavonoidler doğal ürün ve ilaç keşif araştırmalarında birincil hedef haline gelmiştir (Khan vd., 2021).

Tez kapsamında literatür kaynakları değerlendirildiğinde flavonoidler ile kanser hücreleri üzerinde yapılan etkinlik çalışmalarının sınırlı olduğu saptanmıştır. Bu bilgilerden yola çıkılarak çalışmamızda antikanserojen, antiproliferatif ve antiapoptotik etkilere sahip olduğu bildirilmiş olan rutin, kersetin ve viteksin flavonoidlerinin, kanser hücreleri üzerindeki canlılık etkileri MTT testi ile, apoptotik etkileri akım sitometri deneyleri ve iyileşme üzerindeki etkilerini migrasyon ve oksidasyonu etkisinin değerlendirilmesi için DPPH testi yapılmıştır.

In vitro deneylerde kullanılan sitotoksikite testi yöntemleri yeni ya da var olan bileşiklerin biyolojik ortama uyumluluğunun ya da etkinliklerinin değerlendirilmesinde önemli test yöntemleridir. Bu bileşiklerin kültüre edilmiş hücrelerde büyüme oranları üzerindeki etkilerinin araştırıldıktan sonra toksisite profillerinin çıkarılıp *in vivo* deneylere geçilmesi farmakoloji alanında hem zaman hem kolaylık hem de ekonomik yönden avantaj sağlamaktadır (Aslantürk, 2018). MTT testi, sitotoksikite veya hücre canlılığını değerlendirmek için en sık kullanılan kolorimetrik testlerden biridir. Bilim otoriteleri tarafından kabul edilen ve Uluslararası Standart ISO 10993-5'e göre bu test sonucu hücre canlılığının %30'dan fazla azalması sitotoksik etki olarak kabul edilmektedir (http-18). Bu tez çalışması kapsamında viteksin, rutin, kersetin flavonoidlerinin farklı kanser hücre hatları; A549, PANC-1, MCF-7, CACO-2, SH-SY5Y ve sağlıklı HUVEC, hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak 24 ve 48 saat süre sonunda değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki flavonoidler tek başına ve 1:1, 1:2 ve 2:1 karışımları hücrelere besiyeri ile uygulanmış ve spektrofotometrik olarak canlı hücre yüzdeleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak verilmiştir. Bu analiz sonuçlarında kersetinin çalışılan hücreler üzerinde doza ve zamana bağlı sitotoksikite gösterdiği saptanmıştır. Özellikle ilk 24 saatte A549 ve MCF-7 hücreleri üzerinde 10 µg/mL'den sonra hücre canlılığını %70'in altına indirdiği saptanmıştır. 48 saat sonunda ise A549, PANC-1 ve MCF-7 hücrelerinde 5 µg/mL'den sonra hücre canlılığını %70'in altına indirdiği saptanmıştır. Bu çalışmada çalışılan hücreler arasında en az etkilenen hücre tipi CACO-2 olmakla birlikte, bu hücrelerde de ilk 24 saatte 100 µg/mL ve 48. saate 25 µg/mL'den sonra sitotoksikite görülmeye başlanmıştır. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde hücre tipi ve konsantrasyonun kersetinin etkilerini önemli derecede etkileyebileceği ve özellikle 2,5 µg/mL üstündeki

konsantrasyonlarda görülen tüm hücrelerdeki hücre canlılığındaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Kersetin ile ilgili literatür verileri incelendiğinde Tan vd.'nin (2012) A549 hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada kersetinin 72 saat inkübasyon sonunda $100\mu\text{M}$ ($\sim 30,2\mu\text{g/mL}$)'dan sonra hücre canlılığını %70'in altına indirdiği saptanırken, Zhaorigetu vd.'nin (2021) yine aynı hücreler üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada ise IC_{50} değerleri sırasıyla 24, 48 ve 72 saatte 8,65, 7,96 ve 5,14 $\mu\text{g/mL}$ olarak rapor edilmiştir. Wang vd.'nin yaptığı bir diğer çalışmada ise 48 saatlik inkübasyon sonucu IC_{50} değeri $22,5\mu\text{M}$ ($\sim 6,8\mu\text{g/mL}$) olarak belirtilmiştir. Bao vd. (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise IC_{50} değeri $77\mu\text{M}$ ($\sim 23\mu\text{g/mL}$) olarak belirtilmiştir. Bununla birlikte düşük dozlarda kullanılan kersetinin hücre çoğalmasını indüklediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Fernández-Blanco vd., 2016). Çalışmamızda 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda elde ettiğimiz IC_{50} değerleri sırasıyla $17,56\mu\text{g/mL}$ ve $11,62\mu\text{g/mL}$ 'dir ve literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Literatürde kersetinin MCF-7 hücreleri üzerinde etkisinin MTT ile analiz edildiği çalışmalarda farklı sonuçlar olmakla birlikte genelde 48 saatlik inkübasyon sonucunda IC_{50} değerleri $40-55\mu\text{M}$ ($\sim 12-16,6\mu\text{g/mL}$) arasında olduğu saptanmıştır (Lin vd, 2008; Tummala vd., 2017; Wu vd., 2018; Li vd., 2018; Niazvand vd., 2019). Bizim yaptığımız çalışmada da 48 saatlik inkübasyon süresi sonucunda IC_{50} değeri $17,49\mu\text{g/mL}$ olarak saptanmış ve literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

PANC-1 hücreleri üzerindeki etkilere bakıldığında kersetinin $25\mu\text{g/mL}$ 'den başlayarak hücre canlılığını %70'in altına indirdiği gözlenmiştir (Lee vd., 2013). Bizim çalışmamızda saptanılan IC_{50} değeri 24 saat sonunda $52,12\mu\text{g/mL}$, 48 saat sonunda $16,61\mu\text{g/mL}$ 'dir.

SH-SY5Y hücrelerinde kersetinin etkisi ile ilgili literatürde 2022 yılında yapılan bir MTT analizinde 24 saatlik IC_{50} değeri $2,08 \pm 0,03\mu\text{g/mL}$ bulunurken, 2021 yılında yapılan bir başka çalışmada kersetinin SH-SY5Y hücrelerinde 10 mM 'da dahi hücre canlılığı üzerinde herhangi bir etkisi bulunmadığı saptanmıştır (Kalagatur vd., 2021, Dogan, 2022). Bizim çalışmamızda da 24 saat sonunda IC_{50} değeri $90,05\mu\text{g/mL}$ ve 48 saat sonucu $74,63\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Kersetinin SH-SY5Y hücreleri üzerinde hücre canlılığını azaltıcı etki görülmemiştir.

HUVEC hücreleri ile literatürde yapılan analizlerde ise kersetinin $200\mu\text{M}$ 'ın üstündeki dozlarda ancak hücre canlılığını düşürdüğü saptanırken (Esteghlal vd., 2021),

Kartal vd.'nin yaptığı ve kersetinin 5-320 nM olarak kullanıldığı bir çalışmada ise hücre canlılığını düşürmek yerine hücre sayısı üzerinde çoğaltıcı etki gösterdiğini saptamıştır. Bizim çalışmamızda da kullanılan konsantrasyonlarda 24 saatte IC₅₀ değeri hücre canlılığı %50'nin altına düşmediği için saptanamazken 48 saatlik IC₅₀ değeri 91,91 µg/mL olarak en az etkilenen hücre olarak belirlenmiştir.

CACO-2 hücrelerine bakıldığında ise yine literatürde kersetin için geniş bir aralık bulunduğu gözlenmiştir. Örneğin Thabit'in yaptığı bir çalışmada 24 ve 48 saatlik IC₅₀ değerleri sırasıyla 50 µM (~15,1 µg/mL) ve 32 µM (~9,6 µg/mL) olarak bulunurken, Fernández-Blanco vd.'nin (2016) yaptıkları çalışmada 100 µM'da (~30,2 µg/mL) dahi hücre canlılığı %70'in altına inmediği saptanmıştır. Tezde CACO-2 hücrelerindeki analizlerde ilk 24 saatte hücre canlılığı çalışılan konsantrasyonlarda %50'nin altına inmediği saptanırken 48 saatlik inkübasyon sonucu IC₅₀ değeri 79,47 µg/mL olarak belirlenmiş ve literatürden daha yüksek bir değer olduğu saptanmıştır.

Kersetin gibi doğal kaynaklarda çokça bulunan bir diğer flavonoid olan rutin de antikanser özelliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarda 786-O (insan renal kanser hücresi) hepatoma hücreleri (HTC), insan meme kanser hücresi (MDA-MB-231 ve MCF-7) ve kolon kanser hücreleri (HT29 and CACO-2) gibi çeşitli kanser hücrelerinde gösterilmiştir (Sghaier vd., 2016; Iriti vd., 2017; Caparica vd., 2020). Uğusman vd.'nin (2012) yaptıkları bir çalışmada rutin HUVEC hücrelerinde 1000 µM'a (610,5 µg /mL) kadar herhangi bir sitotoksik etki göstermediği bununla birlikte H₂O₂'ye maruz bırakılmış hücrelerde dahi hücre proliferasyonunu arttırıcı etki gösterdiği saptanmıştır.

Rutin SH-SY5Y hücrelerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada yüksek nöroproteksiyon gösterdiği saptanırken, MCF-7 ve PANC-1 hücrelerinde yapılan bir başka çalışmada *in vitro* anti-proliferatif aktivite ve indüklenmiş kaspaz 3/7 aktivitesi ile apoptoza yo açtığı saptanmıştır. Bu çalışmada MCF-7 ve PANC-1 hücreleri için 24 saatlik inkübasyon sonunda IC₅₀ değerleri 100 µM'ın (~610 µg/mL) üstünde çıkarken 48 saatlik inkübasyon sonunda IC₅₀ değerleri sırasıyla MCF-7 için 90 µM (~54,9 µg/mL) PANC-1 için 82 µM (~50 µg/mL) olarak saptanmıştır (Saleh vd., 2019).

Rutin sitotoksitesinin farklı kanser hücre hatlarında (A549, CACO-2) 24 saatlik inkübasyondan sonra MTT tahlili kullanarak değerlendirildiği bir başka çalışmada hücrelerinin canlılığının doza bağlı olarak düştüğü rapor edilmiştir. Bu çalışmada da A549 hücreleri için IC₅₀ değeri 559,83 µM (~341,7 µg/mL) bulunurken CACO-2 hücrelerinde 710,59 µM (~433,82 µg/mL) olarak saptanmıştır (Ben Sghaier vd., 2016).

Çalışmalarımızda rutin ile yaptığımız MTT analizlerinde PANC-1 hücresi hariç diğer hücrelerde çalışılan tüm konsantrasyonlarda (1-100 µg/mL) hücre canlılığı %83'ün altına inmediği saptanmıştır. PANC-1 hücrelerinde ise 24. saatte yine çalışılan konsantrasyonlarda hücre canlılığı %93'ün altına inmezken 48. saatte 25 µg/mL'den sonra sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır. PANC-1 hücrelerinde 48 saat inkübasyon sonucu IC₅₀ değeri 99,8 µg/mL olarak literatürden biraz yüksek bir değer bulunmuştur.

Viteksinin HUVEC hücreleri üzerinde etkisinin araştırılması için yapılan MTT analizinde 1000 µM'a (~432,38 µg/mL) kadar herhangi bir sitotoksik etki göstermediği saptanmıştır (Ugusman vd., 2012). MCF-7 hücreleri üzerinde yapılan bir başka analizde ise viteksinin IC₅₀ değeri 247,4 µM (~106,9 µg/mL) olarak saptanmıştır (Khoja vd., 2022).

Papi vd.'nin (2013) MCF-7 ve CACO-2 hücreleri üzerinde viteksinle birlikte farklı flavonoidlerinde sitotoksik etkilerine baktıkları çalışmada meme kanseri hücrelerinin kolon kanseri hücrelerine göre daha dirençli olduğunu ve 72 saatlik inkübasyon sonunda MCF-7 hücrelerinde IC₅₀ değeri 350,4 µg/mL bulunurken CACO-2 hücrelerinde 120,9 µg/mL olarak saptanmıştır. Çalışmada aynı zamanda viteksin, raphasatin ve (-)-epigallokateşin'in ikili ya da üçü bir arada kullanımının meme kanseri üzerinde etkili bir sitotoksik etki yaratmazken kolon kanseri üzerinde bu kombinasyon kullanımının sinerjistik etkileşime girerek güçlü sitotoksik etki yarattığı rapor edilmiştir.

Yapılan klinik araştırmaların bir tanesinde flavonol içeren gıdalar tüketen sigara içenlerde pankreas kanseri insidansı önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Örneğin apiin, rhoifolin ve viteksinin değerlendirildiği bir çalışmada viteksinin 25 µg/mL'den sonra PANC-1 hücre dizisinde hücre canlılığını önemli derecede etkilemeye başladığını göstermişlerdir.

Liu vd.'nin (2019) A549 hücreleri üzerinde viteksinin etkisini araştırdıkları bir diğer çalışmada ise kullanılan dozlarda vitexinin A549 hücrelerinin yaşayabilirliğini doza bağlı bir şekilde azalttığını ve normal insan bronşiyal epitelyal 16HBE hücrelerine karşı neredeyse hiç toksisite göstermediğini gösterdi.

Bizim yaptığımız analizlerde de viteksinin konsantrasyona bağımlı sitotoksisite gösterdiği saptanmıştır. Bu hücreler arasında viteksinden en fazla etkilenen hücre tipi PANC-1 olup özellikle ilk 24 saatlik analiz için IC₅₀ değeri 15,67 µg/mL bulunurken 48 saat için bu değer 5,52 µg/mL olarak saptanmıştır. Viteksin literatür çalışmaları ile uyumlu olarak çalışmada normal hücre olarak kabul edilen HUVEC hücrelerinde,

Çalışılan konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermediği bununla birlikte yine MCF-7 hücrelerinin de direnç göstererek hücre canlılığını azaltmadığı saptanmıştır. Viteksinden HUVEC ve MCF-7 dışında diğer hücreler arasında en az etkilenen hücre CACO-2 olmuş ve 24 saatte hücre canlılığı %50' lere ulaşmazken 48 saatte IC₅₀ değeri 86,06 g/mL olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak MTT analizleri ile elde edilen sonuçlardan birçoğu literatürdeki sonuçlar ile tutarlı olmakla birlikte, bazıları değildir. Bu farklılıkların da çalışmalarda kullanılan MTT reaktifinin konsantrasyonu ve kullanılan miktarı, hücrelerin MTT ile inkübasyon süresi, kullanılan besiyeri içeriği, optik yoğunluğun ölçüldüğü dalga boyu, analiz edilen maddenin rengi, hücre tipi, hücrenin genetik yapısı, pasaj sayısı, sitotoksisite ölçümü yapılan zamanların farklılığı sebebiyle olduğu düşünülmektedir.

Tez alışmamızda flavonoidlerin tek başına çalışılması yanında kombinasyonlarında değerlendirilmesi yapılmıştır. Buna göre MTT analizlerinde tek başına uygulandığında hücre çoğalması üzerinde etkisi olmadığı gözlenen 2,5 g/mL dozu seçilmiş ve her bir flavonoidten 2,5 g/mL olacak şekilde 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarında karıştırılarak aynı hücreler üzerine uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde tüm hücrelerde kombinasyonların ilk 24 saatte bütün hücrelerde %80'nin üstünde hücre canlılığı gözlenirken özellikle 48. saatte tüm kombinasyonların hücre canlılığını %70 ve altına indirdiği saptanmıştır. Bu kombinasyonlardan en fazla V-K kombinasyonlarının hücreler üzerinde en etkili kombinasyon olduğu gözlenmiştir. Diğer kombinasyonlarda rutin olması ve rutinin hücre canlılığını arttırıcı etki göstermesi sebebiyle nispeten daha yüksek hücre canlılığı gözlenmiştir. Kombinasyon oranları kendi içinde değerlendirildiğinde ise aralarında çok fazla fark olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte sadece HUVEC hücrelerinde  kombinasyondan 1:2 oranında kullanılanda daha fazla hücre ölümü gözlenmiştir.

R-K kombinasyonları kendi içinde incelendiğinde, A549 ve CACO-2 hücrelerinin tüm oranlarda ve HUVEC hücrelerinde 1:1 ve 2:1 oranlarında uygulandığında hücrelerin çok fazla etkilenmediği ve hücre canlılığı 48 saatte dahi %70'in altına inmediği saptanmıştır.

R-V kombinasyonları kendi içinde incelendiğinde ise bu kombinasyonun en fazla SH-SY5Y ve PANC-1 hücrelerini etkilediği saptanırken hücre canlılığını 48. saatte %50'lere indirdiği analiz edilmiştir. Bununla birlikte HUVEC hücrelerinde 1:2 oranında R-V kombinasyonunun 24 saatte hücre canlılığını % 64,79'a ve 48 saatte % 18,20'ye

kadar düşürebildiği saptanırken diğer kombinasyonlarda hücre canlılığı en fazla yaklaşık %65'e kadar düşürdüğü gözlenmiştir.

V-K kombinasyonları hücreler üzerinde en etkili kombinasyon olarak saptanırken, hücreler arasında en yüksek CACO-2 hücrelerinde hücre canlılığı gözlenmiş ve %70 olarak belirlenmiştir. Diğer hücrelerde 24 saatte hücre canlılığı en düşük %80 ve üstünde gözlenirken 48 saatte hücre canlılığı CACO-2 hücreleri hariç %50'nin üzerine çıkmadığı saptanmıştır.

Literatürde karşılaşılan ve 2022 yılında yapılmış bir çalışmada kersetin ve rutin karışımı SophorOx™ araştırılmıştır. %50.67 kersetin, %41.26 rutin ve diğer birkaç flavonoidin de bulunduğu karışımda 10 µM konsantrasyonda önemli düzeyde TNF-a (~%28,25) ve IL-6 (~%32,25) inhibe edici seviyeleri ile bir anti-inflamatuar özellik sergilediği saptanmış 25mM'da ise yine Raw 264,7 hücrelerinde %70 hücre canlılığı saptanmıştır (Shanmugasundaram ve Rosa, 2022). Bir siklodekstrin formülasyonu içinde %11 rutin ve %52 kersetinin bir arada bulunduğu bir çalışmada A549 hücreleri üzerinde IC₅₀ değeri 141,7 µM olarak saptanmıştır.

Literatürde yaptığımız çalışmaya benzer bir çalışma olmaması ve olan çalışmalarında ya farklı hücreler üzerinde yapılmış olması ya da formülasyon içinde değerlendirilmiş olması sebebiyle karşılaştırma yapılamamış ve çalışma sonuçlarımız literatürdeki tek sonuçlar olarak değerlendirilmiştir.

Anti-kanser ajan olduğu düşünülen maddelerin etkinliğini kontrol etmek için genellikle hücre sağkalımı ve apoptoz analizleri yapılarak bakılmaktadır. Anti-kanser olabilecek etkin maddeler genellikle apoptoz sürecini aktive ederek bölünen hücreleri öldürmektedir (Niazvand vd., 2019). Bu nedenle çalışmamızda flavonoidlerin ve kombinasyonlarının MTT analizlerinin yanı sıra tüm hücreler üzerinde apoptoz özelliklerinin değerlendirilmesi için akım sitometrisi kullanılmıştır.

Tez çalışması süresince yapılan akım sitometri analizlerinde tek başına ve kombinasyon şeklinde uygulanan flavonoidlerin HUVEC hücrelerinde nekrozdaki daha çok apoptozu uyardığı saptanmıştır. Bu analizlerde V-K ve R-V karışımlarının daha fazla apoptoza sebep olduğu gözlenmiştir. A549 hücrelerinde ise Kersetin ve viteksin düşük oranda nekroz ile birlikte daha yüksek oranda apoptozu indüklediği, rutin ise daha çok nekrozu indüklediği saptanmıştır. Kombinasyonların A549 hücreleri üzerindeki etkisine bakıldığında V-K'nın yüksek oranda nekroz (%23,1) ile birlikte geç apoptozu (%40,1) indüklerken, R-V'nin geç apoptozu (30,1) etkilediği saptanmıştır. Buradan

kombinasyonlarda rutin değil daha çok kersetin ve viteksinin daha baskın olduğu düşünülmektedir. CACO-2 hücrelerine bakıldığında ise kersetin ve viteksinin erken apoptozu %14,1 ve %14,4 oranında uyardığı saptanırken, kombinasyonlarda R-K'nın nekrozu %14,5, V-K ve R-V'nin erken apoptozu sırasıyla %25,2 ve %14,8 oranında uyardığı saptanmıştır. MCF-7 hücrelerine bakıldığında ise hem tek başına uygulandıklarında hem de kombinasyonları halinde uygulandıklarında en fazla erken apoptozu indükledikleri saptanmıştır. Çalışmadaki diğer hücreler olan SH-SY5Y ve PANC-1 hücrelerinde de tek başına flavonoidlerin erken apoptozu uyarırken kombinasyonların hem erken hem de geç apoptozu indükledikleri saptanmıştır.

Çalışma sonucunda yapılan literatür araştırmalarında kersetinin A549 (Tan vd., 2012), ve MCF-7 (Niazvand vd., 2019) hücrelerinde apoptozu indüklediği saptanmıştır. Bir başka çalışmada 0-40µM (0-17,2 µg/mL) arasındaki konsantrasyonlarda viteksinin A549 hücrelerinde doza bağlı olarak apoptozu indüklediğini rapor etmişlerdir (Liu vd., 2019). Literatürde kersetinin hücreler üzerindeki etkisinin akım sitometrisi ile çalışıldığı diğer hücrelerde de yine apoptozun indüklendiği belirtilmiştir (Hashemzaei vd., 2017). Viteksin ile yapılan çeşitli hücrelerde çalışmalarda da doza bağlı olarak viteksin'in çeşitli sinyal yolları yoluyla apoptozu ve otofajiyi desteklediğini, hücre çoğalmasını ve göçünü engellediğini ve böylece antitümör etkiler uyguladığını göstermektedir (Li vd., 2020). Glioblastoma hücreleri ile yapılan bir çalışmada da viteksinin erken ve geç apoptozu indüklediği belirtilmiştir (Zhang vd., 2018). Kersetinle yapılan bir çalışmada test edilen dozların üst aralığında geç tip apoptozu indüklediği ve insan melanom hücreleri üzerinde iki farklı öldürücü etkiye neden olduğunu gösterilmiştir (Rosner, vd., 2006). Kersetinle yapılan bir diğer çalışmada ise A-549 insan akciğer adenokarsinomu kanseri hücre hattı üzerinde inhibitör etkisinin apoptozun indüklenmesi ile ilişkili olduğu ve bu etkinin moleküler mekanizmasının ise apoptoz düzenleyici gen bcl-2'nin ekspresyonundaki azalma ve apoptozu düzenleyici gen bax'ın ekspresyonundaki artış ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Zheng, vd., 2012). Bizim çalışmalarımızda da kersetinin apoptozu, viteksinin genelde erken ve geç apoptozu uyardığı saptanmıştır. Fakat hangi yolakla bu uyarının gerçekleştiği saptanmamıştır. Bununla birlikte literatür taramalarında Grootaert vd. (2016) tarafından 20 M konsantrasyonda kersetin, hesperitin, hesperidin ve rutin CACO-2 hücreleri tarafından alımı çalışılmış ve sonuçta rutin diğer flavonoidlere göre 24 saatteki hücreler tarafından alımının çok düşük olduğu

belirtilmiştir. Rutin ile ilgili bu sonuç bizim çalışmalarımızda da hücreler üzerinde en az etki gösteren flavonoidin rutin olmasını destekler niteliktedir.

Flavonoidlerin bir diğer özelliği olan antioksidan aktiviteleri onların moleküler yapılarından kaynaklanmaktadır. B ve A halkalarındaki hidroksil gruplarının sayısı ve konumu, antioksidan aktivite için anahtar faktörlerdir. A halkasındaki C-6 veya C-8 pozisyonundaki glukozun bulunması ve bu glikozun sterik engellemesi nedeni ile antioksidan aktivite azalmaktadır. Bu açıdan bakıldığında, vitexin'in C-8'indeki glukoz, düşük radikal süpürme aktivitesinden sorumlu olarak gözükmemektedir. Ayrıca, B halkası üzerinde bir orto-dihidroksi grubunun varlığı, flavonoid fenoksil radikallerinin stabilizasyonu üzerinde etkisi olan hidrojen bağı ve elektron delokalizasyonu nedeniyle flavonoidlerin radikalleri süpürme aktivitesini ve antioksidan potansiyelini geliştirir. Bu nedenle kersetinin B halkası üzerindeki bir orto-dihidroksi grubunun yüksek katkısı, bu flavonoidlerin önemli antioksidan aktivitelerine yol açmaktadır (Veiko vd., 2021). Tez çalışmasında yaptığımız DPPH testinde de literatürle uyumlu olarak viteksinin süpürücü etki gösterebilmesi için diğer rutin ve kersetine göre daha yüksek dozlarda kullanılması gerektiği ve kombinasyonlarda da yine viteksin varlığının bu süpürücü mekanizmayı etkilediği saptanmıştır.

Hücre göçü, migrasyon ya da yara iyileşme isimlendirilen hücre hareketleri normal büyüme, bağışıklık yanıtı ve kanser yayılması ve iltihaplanma gibi hastalık süreçleri için gerekli olan canlı hücrelerin önemli bir işlevidir. Hücre göçü ve istilası, önemli fizyolojik ve patolojik fenomenlerin kanser metastazına müdahale için zengin hedefler sağlayan süreçlerdir ve bu nedenle de ilaç keşfinin tarama aşamasında zararlı etkilerin daha hızlı tanınmasına olanak tanır. Sitotoksite ve akım sitometrisi sonuçlarına göre tez çalışmamızda da kullandığımız kersetin sadece A549 hücreleri hariç diğer hücrelerin hepsinde 24 ve 48 saat sonunda açılan boşluğun kapanmasında etkili olduğu saptanmıştır. Yapılan % hesaplamalarda tüm hücrelerde neredeyse 48 saat sonunda kapanan alan oranının 24 saatin iki katına çıktığı saptanmıştır. Sadece A549 hücrelerinde yaklaşık 24 saat sonunda %52,3 kapanan oran hesaplanırken 48 saatte hücre ölümleri gerçekleşmesi sebebi ile oran %13,1'e kadar düşmüştür. Bu da kersetinin A549 hücrelerinde özellikle 48 saatte daha fazla etkili olabileceğini göstermektedir. Aynı şekilde rutinde de kapanan oran 48 saatin sonunda %50 ve üstü olarak hesaplanmıştır. Kersetinin aksine rutin A549 hücrelerinde ilk 24 saatte açılan boşluğun %72'sini kapatırken 48 saat sonunda ise açık alan gözlenmemiştir. Fu vd.'nın kersetinin yara iyileştirici özellikteki etkisi ile ilgili

yaptıkları çalışmada 10, 20 ve 40mg/mL oral uygulanan diyabetli farelerde yara iyileşmenin yüksek olduğunun ve bu iyileşmenin özellikle makrofajların polarizasyonuna etki ederek gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir.

Literatürde A549 ve HT29 hücreleri üzerinde farklı dozlarla yapılan bir migrasyon çalışmasında açılan alanın doza bağımlı olarak kapandığı gösterilmiştir. Çalışmacılar kullandıkları 25-200 μ M arasından özellikle 25 μ M konsantrasyonda 18 saat içinde neredeyse %85 oranında alanın kapandığını konsantrasyon arttıkça kapanan alanın azaldığını belirtmiştir (Ben Sghaier vd., 2016).



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde flavonoidler, evrensel onayları, düşük yan etki oranları ve kabul edilebilir güvenlikleri nedeniyle çekici anti-kanser terapötik ajanlar olarak kabul edilmektedir. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda flavonoidlerin antikanser aktivitesinin apoptoz ve antiproliferasyon, kanser hücrelerinin hücre döngüsünün inhibisyonu, konağın bağışıklık sisteminin düzenlenmesi veya bir anti-inflamatuar etki ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, *in vivo* ve klinik araştırmalarda elde edilen sonuçların çoğunun vaka-kontrol çalışmalarından ya da flavonoid alımının retrospektif olarak değerlendirilmesinden elde edilmesi gibi bazı önemli problemleri bulunmaktadır. Bu nedenle, yalnızca daha güvenilir veriler sağlamakla kalmayıp aynı zamanda flavonoidlerin biyoyararlanımını iyileştirmek, olası yan etkilerinin ortaya çıkarılması ya da önlenmesi için hedef moleküllerinin ve proseslerinin tanımlanmasında daha kapsamlı ve çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Aynı şekilde kanserde metastaz durumunda da oldukça önemli olabilecek tümör mikroçevresi üzerindeki flavonoidlerin hem tek başına hem de kombin halde etkisinin çalışılması önemli bir konudur. Flavonoidlerin ya tek başına ya da kombine halde uygulanması ile anti-tümör etkinin artırılması veya ilaçların sistemik toksisitesini azaltarak kanser tedavisinde kullanılan ilaçların anti-tümör etkisini de destekleyebileceğini gösteren çalışmaların yapılması kanser ve bunun gibi hastalıkların tedavisinde önemli kilometre taşlarındandır. Bu sebeple yaptığımız tez çalışmasında elde edilen bilgiler literatüre bu gibi bilgilerin toplanmasında önemli bir kaynak oluşturacaktır. Özellikle kombin halde uygulamanın antikanser aktiviteyi ne kadar etkilediği bizim çalışmamızda görülebilmektedir. Bununla birlikte daha fazla kombinasyonlarla çalışmanın genişletilebileceği düşünülmektedir.

Literatür araştırmalarında görünüyor ki doğal olarak oluşan polifenolik bileşiklerin her yerde bulunan bir grubu olan flavonoidler, son zamanlarda antikanser ajanlar olarak önem kazanmıştır. Ne yazık ki, diyet flavonoidlerinin düşük çözünürlüğü, emilimi ve hızlı metabolizması nedeniyle antikanser potansiyelleri yeterli değildir. Bu sebeple flavonoidlerin bir taşıyıcı sistem ile organizmaya verilmesi etkinliğinin artırılması çalışmaları da gelecek çalışmalar için yapılabilecek yol haritalarından biridir.

KAYNAKÇA

- Abotaleb, M., Samuel, S.M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., Busselberg, D. (2018). Flavonoids in Cancer and Apoptosis. *Cancers*, 11(1), 28.
- Akmeşe, Ş. (2016). *Varikoselli hastalarda immünohistokimyasal yöntem kullanarak spermlerdeki apoptozisin saptanması ve apoptozis ile sperm parametreleri serum ve seminal plazmadaki Tas-Tos seviyeleri arasındaki ilişkinin araştırılması*. Yüksek lisans tezi Şanlıurfa: Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri.
- American Cancer Society (ACS), (2012). Cancer Facts & Figures 2012.
- American Cancer Society (ACS), (2022). Cancer Facts & Figures 2022.
- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Sundaram, C., Harikumar, K.B., Tharakan, S.T., Lai, O.S., Sung, B., Aggarwal, B.B. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research*, 25, 2097-2116.
- Arnold, B.N., Thomas, D.C., Rosen, J.E., Salazar, M.C., Blasberg, J.D., Boffa, D.J., Detterbeck, F.C., Kim, A.W. (2016). Lung Cancer in the Very Young: Treatment and Survival in the National Cancer Data Base. *Journoul of Thoracic Oncology*, 11(7), 1121-31.
- Aslantürk. Ö.S. (2017). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World* <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Ayazoglu Demir, E., Demir, S., Aliyazicioglu, Y. (2020). In vitro Cytotoxic Effect of Ethanol and Dimethyl Sulfoxide on Various Human Cell Lines. *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 23(5), 1119-1124.
- Aydın Özgür, M., Şamlı, H., Özgöz, A., Solak, M., Dilek, H. (2006). Researching p53 Gene Mutation in Breast Carcinomas by Polymerase Chain Reaction And Enzyme Restriction and Displaying p53 Protein in Tissue by Immunohistochemical Method. *The Medical Journal of Kocatepe*, 6, 17-22.
- Aziz, D.M. (2006). Assessment of bovine sperm viability by MTT reduction assay. *Animal Reproduction Science*, 92(1-2), 1-8.
- Bao, X., Liao, H., Qu, J., Guo, X., Wang, E. X., Zhen, Y. H. (2016). Synthesis, Characterization and Cytotoxicity of Alkylated Quercetin Derivatives. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(3), 329-335.
- Ben Sghaier, M., Pagano, A., Mousslim, M., Ammari, Y., Kovacic, H., & Luis, J. (2016). Rutin inhibits proliferation, attenuates superoxide production and decreases adhesion and migration of human cancerous cells. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 84, 1972-1978.

- Benavente-García, O., ve Castillo, J. (2008) Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56(15), 6185-205.
- Bilge, D. B. ve Kantarcı, G. (2006). Mutasyon, Dna Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kanslerle İlişkisi. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 35(2), 149-170.
- Bircan, S., Çandır, Ö., Kapucupğlu, N., Başpınar, Ş. (2005). Bazal hücreli karsinom ve çevre nontümöral epidermiste p53, bcl-2, bax ekspresyonu. *Türk Patoloji Dergisi*, 21(3-4), 044-048.
- Blackadar, C.B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 7, 54-86.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal, A. (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68, 394-424.
- Brown, J.P. (1980). A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. *Mutation Research*, 75(3), 243-277.
- Budisan, L., Gulei, D., Zanoaga, O.M., Irimie, A.I., Sergiu, C., Braicu, C., Gherman, C.D., Berindan-Neagoe, I. (2017). Dietary intervention by phytochemicals and their role in modulating coding and non-coding genes in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1178.
- Butler, M.S. (2008). Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. *National Product Reports*, 25(3), 475-516
- Byun, J.W., Choo, S.H., Kim, H.H., Kim, Y.J., Hwang, Y.J. ve Kim, D.Y. (2008). Evaluation of boar sperm viability by MTT reduction assay in Beltsville thawing solution extender. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21, 494-498
- Caparica, R., Júlio, A., Araújo, M. E. M., Baby, A. R., Fonte, P., Costa, J. G. ve Santos de Almeida, T. (2020). Anticancer Activity of Rutin and Its Combination with Ionic Liquids on Renal Cells. *Biomolecules*, 10(2), 233.
- Cassileth, B. R. ve Vickers A.J. (2005). High prevalence of complementary and alternative medicine use among cancer patients: implications for research and clinical care. *Journal of Clinical Oncology*, 23(12), 2590-2.
- Chabner, B.A. ve Roberts Jr., T.G. (2005). Timeline: chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews, Cancer*, 5, 65-72.
- Chen, Y., Zhang, W., Li, D., Ai, J., Meng, Y., Ying, X., Kang, T. (2013). Hepatic and gastrointestinal first-pass effects of vitexin-4''-O-glucoside in rats. *The Journal of Pharmacol and Pharmacology*, 65(10), 1500-7.

- Couraoud, S., Zalzman, G., Milleron, B., Morin, F., Souquet, Pierre-Jean. (2012). Lung cancer in never smokers—a review. *European journal of cancer*, 48(9), 1299-1311.
- Couzin-Frankel, J. (2013). Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy. *Science*, 342, 1432-3.
- Cushnie, T.P.T. ve Lamb, A.J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 38(2), 99-107.
- Dabeek, W.M., Marra, M.V. (2019). Dietary Quercetin and Kaempferol: Bioavailability and Potential Cardiovascular-Related Bioactivity in Humans. *Nutrients*, 11(10), 2288.
- Dai, J. ve Mumper, R.J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
- D'Arcy M.S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*, 43(6), 582-592.
- De Martel, C., Ferlay, J., Franceschi, S., Vignat, J., Bray, F., Forman, D., Plummer, M. (2012). Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The lancet oncology*, 13, 607-15.
- Deepika ve Maurya, P.K. (2022). Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules*, 27(8), 2498.
- Desai, A.G., Qazi, G.N., Ganju, R.K., El-Tamer, M., Singh, J., Saxena, A.K., Bedi, Y.S., Taneja, S.C., Bhat, H.K. (2008). Medicinal plants and cancer chemoprevention. *Current Drug Metabolism*, 9(7), 581-91.
- Dogan, M. (2022). Assessment of mechanism involved in the apoptotic and anti-cancer activity of Quercetin and Quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Medical Oncology*, 39(11), 176.
- Düzen, K. Ö. ve Korkmaz, M. (2015). Kanser hastalarında, semptom kontrolü ve tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi (DEUHFED)*, 8(2), 67-76.
- Ehrlich, P. (1909). Über den jetzigen Stand der Karzinomforschung. Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. 1909, 117-164
- Ekmekçi, A., Konaç, E., Önen H.İ. (2008). Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, 21(3), 282-295.
- Esteghlal, S., Mokhtari, M. J. ve Beyzaei, Z. (2021). Quercetin Can Inhibit Angiogenesis via the Down Regulation of MALAT1 and MIAT LncRNAs in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *International journal of preventive medicine*, 12, 59.

- Ferlay, J., Shin, Hai-Rim., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., Parkin, D.M., (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, 127(12), 2893-917.
- Ferlay, J. Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J.W.W., Comber, H., Forman, D., Bray, F. (2013). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*, 49(6), 1374-403.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D. M., Forman, D., Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136:E359-E86.
- Fernández-Blanco, C., Font, G., Ruiz, M.J. (2016). Role of quercetin on Caco-2 cells against cytotoxic effects of alternariol and alternariol monomethyl ether. *Food and Chemical Toxicology*, 89, 60-6.
- Fidler, I.J. (2002). Critical determinants of metastasis. *Seminars in Cancer Biology*, 12(2):89-96.
- Florek, E., Ignatowicz, E., Wrzosek, J., Piekoszewski, W. (2005). Effect of Rutin on Total Antioxidant status of Rats Exposed to Cigarette Smoke. *Pharmacological Reports*, 57(1), 84-89.
- Forman, H.J. ve Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 20(9), 689-709.
- Foti, M.C. (2015). Use and Abuse of the DPPH(•) Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(40), 8765-76.
- Fu, J., Huang, J., Lin, M., Xie, T. ve You, T. (2020). Quercetin Promotes Diabetic Wound Healing via Switching Macrophages From M1 to M2 Polarization. *The Journal of surgical research*, 246, 213-223
- Ganesan, K. ve Xu, B. (2017). Molecular targets of vitexin and isovitexin in cancertherapy: a critical review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1401(1), 102-113.
- Ganeshpurkar, A. ve Saluja, A. K. (2017). The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journey*, 25(2), 149-164.
- Georgea, V.C., Dellaire, G., Rupasinghea H.P.V. (2017). Plant flavonoids in cancer chemoprevention: role in genome stability. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 45, 1-14
- Global Cancer Observatory (GLOBOCAN), International Agency for Research on Cancer (IARC), (2018). Küresel Kanser Gözlem Kurumu

- Global Cancer Observatory (GLOBACAN), International Agency for Research on Cancer (IARC), (2020). Küresel Kanser Gözlem Kurumu
- Grootaert, C., Gonzales, G. B., Vissenaekens, H., Van de Wiele, T., Raes, K., Smagghe, G. ve Van Camp, J. (2016). Flow Cytometric Method for the Detection of Flavonoids in Cell Lines. *Journal of biomolecular screening*, 21(8), 858–865
- Güller B. (2005). Görüntü analizi yöntemi ile milimetre karedeki traheid sayısının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 1, 132-142.
- Güneş, H. (1999). Sitokinlerin Hücre Döngüsü Üzerinde Etkileri. *Turkish Journal of Biology*, 23(3), 283–292
- Haghi, G. ve Hatami, A. (2010). Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in plant materials by a newly developed isocratic high-performance liquid chromatography approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 10812-6.
- Hajighasemi, F. ve Tajik, S. (2017). Assessment of Cytotoxicity of Dimethyl Sulfoxide in Human Hematopoietic Tumor Cell Lines. *Iranian Journal of Blood and Cancer : IJBC*, 9(2), 48-53.
- Hanahan, D. ve Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Hashemzaei, M., Delarami Far, A., Yari, A., Heravi, R. E., Tabrizian, K., Taghdisi, S. M., Sadegh, S. E., Tsarouhas, K., Kouretas, D., Tzanakakis, G., Nikitovic, D., Anisimov, N. Y., Spandidos, D. A., Tsatsakis, A. M. ve Rezaee, R. (2017). Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo. *Oncology reports*, 38(2), 819–828.
- Hosseinzadeh, E., Hassanzadeh, A., Marofi, F., Alivand, M.R., Solali, S. (2020) Flavonoid-Based Cancer Therapy: An Updated Review, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 20, 1398-1414.
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Zhang, Y. (2010). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. *Nutrition Cancer*, 62, 1-20.
- Iriti, M., Kubina, R., Cochis, A., Sorrentino, R., Varoni, E.M., Kabała-Dzik, A., Azzimonti, B., Dziedzic, A., Rimondini, L., Wojtyczka, R.D. (2017). Rutin, a Quercetin Glycoside, Restores Chemosensitivity in Human Breast Cancer Cells. *Phytherapy Research :PTR*. 31, 1529-1538.
- Irimie, A.I., Braicu, C., Zanoaga, O., Pileczki, V., Gherman. C., Berindan-Neagoe, I., Campian, R.S. (2015). Epigallocatechin-3-gallate suppresses cell proliferation and promotes apoptosis and autophagy in oral cancer SSC-4 cells. *Onco Targets Therapy*, 8, 461-70.
- Irimie, A.I., Braicu, C., Pileczki, V., Petrushev, B., Soritau, O., Campian R.S., Berindan-Neagoe, I. (2016). Knocking down of p53 triggers apoptosis and autophagy,

- concomitantly with inhibition of migration on SSC-4 oral squamous carcinoma cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 419(1-2), 75-82.
- Iwashina, T. (2000). The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *Journal of Plant Research; Tokyo*, 113, 287-299.
- Jamalzadeh, L., Ghafoori, H., Sariri, R., Rabuti, H., Nasirzade, J., Hasani, H., Aghamaali, M.R. (2016). Cytotoxic effects of some common organic solvents on MCF-7, RAW-264.7 and human umbilical vein endothelial cells. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*, 4(10), 33453.
- Justus, C.R., Leffler, N., Ruiz-Echevarria, M., Yang, L.V. (2014). In vitro Cell Migration and Invasion Assays. *Journal of Visualized Experiments*, (88), 51046.
- Kalagatur, N.K., Abd Allah, E.F., Poda, S., Kadirvelu, K., Hashem, A., Mudili, V., Siddaiah, C. (2021). Quercetin mitigates the deoxynivalenol mycotoxin induced apoptosis in SH-SY5Y cells by modulating the oxidative stress mediators. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1):465-477.
- Karaman, A. (2003). Role of the p53 tumor suppressor gene in gastric cancer. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 23(1), 67-73.
- Kayaalp, O.,(2018) Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji,13. Basım, Pelikan Yayıncılık, Ankara,s .335-337
- Khan, A.U., Dagur, H.S., Khan, M., Malik, N., Alam, M., Mushtaque, M. (2021). Therapeutic role of flavonoids and flavones in cancer prevention: Current trends and future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 3, 100010.
- Khan, F., Pandey, P., Upadhyay, T.K., Jafri, A., Jha, N.K., Mishra R., Singh, V. (2020). Anti-Cancerous Effect of Rutin Against HPV C33A Cervical Cancer Cells via G0/G1 Cell Cycle Arrest and Apoptotic Induction. *Endocrine Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 20(3), 409-418.
- Khan, N., Afaq, F., Mukhtar, H. (2008). Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: Progress and promise. *Antioxidants & Redox Signaling*, 10, 475–510.
- Khoja, K. K., Howes, M. R., Hider, R., Sharp, P. A., Farrell, I. W., & Latunde-Dada, G. O. (2022). Cytotoxicity of Fenugreek Sprout and Seed Extracts and Their Bioactive Constituents on MCF-7 Breast Cancer Cells. *Nutrients*, 14(4), 784.
- Kligerman, S. ve White, C. (2011). Epidemiology of lung cancer in women: risk factors, survival, and screening. *AJR American Journal Roentgenology*, 196, 287-95.
- Kocic, B., Kitic, D., Brankovic, S. (2013). Dietary flavonoid intake and colorectal cancer risk: evidence from human population studies. *Journal of the Balkan Union of Oncology*, 18(1), 34-43.
- Kopustinskiene, D.M., Jakstas, V., Savickas, A., Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2), 457.

- Krusinska, B., Hawrysz, I., Wadolowska, L., Slowinska, M.A., Biernacki, M., Czerwinska, A., Golota, J.J. (2018). Associations of mediterranean diet and a posteriori derived dietary patterns with breast and lung cancer risk: A case-control study. *Nutrients*, 10, 470.
- Kumar, S. ve Pandey, A.K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
- Lee, J.H., Lee, H.B., Jung, G.O., Oh, J.T., Park, D.E., Chae K.M. (2013). Effect of quercetin on apoptosis of PANC-1 cells. *Journal of the Korean Surgical Society*, 85(6), 249-60.
- Lewandowska, A.M., Rudzki, M., Rudzki, S., Lewandowski, T., Barbara, Laskowska, B. (2019). Environmental risk factors for cancer. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM*, 26(1), 1-7.
- Li, S., Lv, H., Chen, Y., Song, H., Zhang, Y., Wang, S., Luo, L., Guan X. (2022). N-trimethyl chitosan coated targeting nanoparticles improve the oral bioavailability and antioxidant activity of vitexin. *Carbohydrate Polymers*, 286, 119273.
- Li, X., Zhou, N., Wang, J., Liu, Z., Wang, X., Zhang, Q., Liu, Q., Gao, L., Wang, R. (2018). Quercetin suppresses breast cancer stem cells (CD44+/CD24-) by inhibiting the PI3K/Akt/mTOR-signaling pathway. *Life Sciences*, 196, 56-62.
- Li, Y., Sun, Q., Li, H., Yang, B., & Wang, M. (2020). Vitexin suppresses renal cell carcinoma by regulating mTOR pathways. *Translational andrology and urology*, 9(4), 1700-1711.
- Lialiuiska, T., (2012) *Investigation of the Role of Dietary Flavonoids on Cell Death: Evidence to Support a Non-Classical Apoptotic Mechanism*. Master's Theses. California: San Jose State University.
- Lin, C.W., Hou, W.C., Shen, S.C., Juan, S.H., Ko, C.H., Wang, L.M., Chen, Y.C. (2008). Quercetin inhibition of tumor invasion via suppressing PKC δ /ERK/AP-1-dependent matrix metalloproteinase-9 activation in breast carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 29(9), 1807-1815.
- Liu, X., Jiang, Q., Liu, H., Luo, S. (2019). Vitexin induces apoptosis through mitochondrial pathway and PI3K/Akt/mTOR signaling in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biological Research*, 52(1), 7
- Liu, Y., Zhao, X., Zhang, Q., Wang, L., Li, Y., Li Y. (2020). Characterization and Evaluation of the Solubility and Oral Bioavailability of Rutin-Ethanolate Solvate. *AAPS PharmSciTech*, 21(7), 241.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-26.
- López-Alarcón, C., Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1-10.

- Luca, S.V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoia, A.C., Trifan A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(4), 626-659.
- Mackay, J., Jemal, A., Lee, N.C., Parkin, D.M. (2006). The Cancer Atlas. Atlanta: American Cancer Society; 2006.
- Malyla, V., Paudel, K.R., Shukla, S.D., Donovan, C., Wadhwa, R., Pickles, S., Chimankar, V., Sahu, P., Bielefeldt-Ohmann, H., Bebawy, M., Hansbro, P.M., Dua, K. (2020). Recent advances in experimental animal models of lung cancer. *Future Medicinal Chemistry*, 12(7), 567-570.
- Marcarini, J.C., Tsuboy, M.S.F., Luiz, R.C., Ribeiro, L.R., Hoffmann-Campo, C.B., Mantovani, M.S. (2011). Investigation of cytotoxic, apoptosis-inducing, genotoxic and protective effects of the flavonoid rutin in HTC hepatic cells. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63(5), 459-65.
- Marder, M., Viola, H., Bacigaluppo, J.A., Colombo, M.I., Wasowski, C., Wolfman, C., Medina, J.H., Rúveda, E.A., Paladini, A.C. (1998). Detection of benzodiazepine receptor ligands in small libraries of flavone derivatives synthesized by solution phase combinatorial chemistry. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 249(2), 481-5.
- Maris J.M. (2010). Recent advances in neuroblastoma, *The New England Journal of Medicine*, 362(23), 2202-11.
- Masoudiyekta, L., Bayatinyani, H.R., Dashtbozorgi, B., Gheibizadeh, M., Malehi, A.S., Moradi, M. (2018). Effect of education based on health belief model on the behavior of breast cancer screening in women. *Asia Pacific Journal of Oncology Nursing*, 5(1), 114-120.
- Mentella, M.C., Scaldaferri, F., Ricci, C., Gasbarrini, A., Miggiano, G.A.D. (2019). Cancer and Mediterranean Diet: A Review. *Nutrients*, 11(9), 2059.
- Midha, S., Chawla, S., Garg, P.K. (2016). Modifiable and non-modifiable risk factors for pancreatic cancer: A review. *Cancer Letters*. 381(1), 269-277
- Müsellim, D.B. (2007). Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi. 2007, 113-8.
- Nakagawara, A., Li, Y., Izumi, H., Muamori, K., Inada, H., Nishi, M. (2018). Neuroblastoma *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 48(3), 214-241.
- Navya, P.N., Kaphle, A., Srinivas, S.P., Bhargava, S.K., Rotello, V.M., Daima, H.K. (2019). Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterial. *Nano Convergence*, 6(1), 23.
- Newman, D.J. ve Cragg, G.M., (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70(3), 461-477.

- Niazvand, F., Orazizadeh, M., Khorsandi, L., Abbaspour, M., Mansouri, E., Khodadadi, A. (2019). Effects of Quercetin-Loaded Nanoparticles on MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Medicina (Kaunas)*, 55(4), 114.
- Nikitovic, D., Corsini, E., Kouretas, D., Tsatsakis, A., Tzanakakis, G. (2013). ROS-major mediators of extracellular matrix remodeling during tumor progression. *Food and Chemical Toxicology*, 61, 178-86.
- Papi, A., Farabegoli, F., Iori, R., Orlandi, M., De Nicola, G. R., Bagatta, M., Angelino, D., Gennari, L., & Ninfali, P. (2013). Vitexin-2-O-xyloside, raphasatin and (-)-epigallocatechin-3-gallate synergistically affect cell growth and apoptosis of colon cancer cells. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1521–1530.
- Parks, R.M., Derks, M.G.M., Bastiaannet, E., Cheung, K.L. (2018) Breast Cancer Epidemiology. In: Wyld L, Markopoulos C, Leidenius M, Senkus-Konefka E. (Eds) Breast Cancer Management for Surgeons Springer 2018, 19-29.
- Patel, J.D. (2005). Lung cancer in women. *Journal of Clinical Oncology*, 23, 212-8.
- Perez-Vizcaino, F. ve Fraga, C.G. (2018). Research trends in flavonoids and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 646, 107–112.
- Pisoschi, A.M. ve Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress. *Europieon Journal of Medical Chemistry*, 97, 55-74.
- Pistritto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A., D'Orazi, G. (2016). Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*, 8(4), 603-19.
- Planchard, D., Lorient, Y., Goubar, A., Commo, F., Soria, Jean-Charles. (2009). Differential expression of biomarkers in men and women. *Seminars in Oncology*, 36(6), 553-65.
- Qiu, B. ve Matthay K.K. (2022). Advancing therapy for neuroblastoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 19(8), 515-533.
- Rahib, L., Smith, B.D., Aizenberg, R., Rosenzweig, A.B., Fleshman, J.M., Matrisian, L.M. (2014). Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Research*, 74(11), 2913-21.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23, 519-34.
- Rodriguez-Garcia, C. ve Sanchez-Quesada, C. (2019). Dietary Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents: An Updated Review of Human Studies. *Antioxidants*, 8(5), 137.
- Rosner, K., Röpke, C., Pless, V. ve Skovgaard, G. L. (2006). Late type apoptosis and apoptosis free lethal effect of quercetin in human melanoma. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 70(9), 2169-2177.

- Roy, P.S. ve Saikia, B.J. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian Journal of Cancer*, 53(3), 441-442.
- Saghaiera, M.B., Paganob, A., Mousslimb, M., Ammari, Y., Kovacic, H., Luis, J. (2016). Rutin inhibits proliferation, attenuates superoxide production and decreases adhesion and migration of human cancerous cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1972-1978.
- Saleh, A., ElFayoumi, H.M., Youns, M., Barakat, W. (2019). Rutin and orlistat produce antitumor effects via antioxidant and apoptotic actions. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology*. 392(2), 165-175.
- Satari, A., Ghasemi, S., Habtemariam, S., Asgharian, S. ve Lorigooini, Z. (2021). Rutin: A Flavonoid as an Effective Sensitizer for Anticancer Therapy; Insights into Multifaceted Mechanisms and Applicability for Combination Therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 9913179.
- Selvakumar, P., Badgeley, A., Murphy, P., Anwar, H., Sharma, U., Lawrence, K., Lakshmikuttyamma, A. (2020). Flavonoids and Other Polyphenols Act as Epigenetic Modifiers in Breast Cancer. *Nutrients*, 12(3), 761.
- Sghaier M.B., Pagano A., Mousslim M., Ammari Y., Kovacic H., Luis J. (2016). Rutin inhibits proliferation, attenuates superoxide production and decreases adhesion and migration of human cancerous cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 84, 1972-1978.
- Sharma, P., Mehta, M., Dhanjal, D.S, Kaur, S., Gupta, G., Singh, H., Thangavelu, L., Kumar, S.R., Tambuwala, M., Bakshi, H.A. (2019). Emerging trends in the novel drug delivery approaches for the treatment of lung cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 309, 108720.
- Siegel, R.L., Miller, K. D., Jemal, A. (2017). Cancer Statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 67(1):7-30.
- Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A. (2018). Canser Statistics. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 68(1), 7-30.
- Silva, M.M., Santos, M.R., Caroço, G., Rocha, R., Justino, G., Mira, L. (2002). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids: a re-examination. *Free Radicical Research*, 36(11), 1219-27.
- Singh, P., Arif, Y., Bajguz, A., Hayat S. (2021). The role of quercetin in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 166, 10-19.
- Singhal, S.S., Singhal, S., Singhal, P., Singhal, J., Horne, D., Awasthi, S. (2017). Didymin: an orally active citrus flavonoid for targeting neuroblastoma. *Oncotarget*, 8(17), 29428-29441.
- Şener, G., Gören, Z., Okuyan, B., Yeğen, B. (2022). Güncel Farmakoloji Fizyoloji Temelinde Hasta Odaklı Yaklaşım, Güneş Tıp Kitapevleri. S.795-796.

- Tan, B. J., Liu, Y., Chang, K. L., Lim, B. K. ve Chiu, G. N. (2012). Perorally active nanomicellar formulation of quercetin in the treatment of lung cancer. *International journal of nanomedicine*, 7, 651-661.
- Taraphdar, A. K., Roy, M., Bhattacharya, R. (2001). Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention. *Current Science*, 80, 1387-96.
- Tárraga López, P.J., Albero, J.S., Rodríguez-Montes, J.A. (2014). Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Clinical Medicine Insights, Gastroenterol*, 14(7), 33-46.
- Torre, L.A. ve Siegel, R.L. (2016). Jemal A. Lung cancer statistics. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 893, 1-19
- Tortajada, J.F., Ortega García, J.A., García i Castell, J., López Andreu, J.A., Tornero, O.B., E Crehuá Gaudiza, E. (2005). Risk factors for neuroblastoma. *Anales de Pediatría (Barc)*, 63(1), 50-60.
- Tummala, T., Lou, W., Gao, A.C., Nadiminty, N. (2017). Quercetin targets hnRNPA1 to overcome enzalutamide resistance in prostate cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutic*, 16(12):2770–2779, 56–62.
- Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2018
- Ugusman, A, Zakaria, Z, Hui, C.K., Nordin, N.A., Mahdy, Z.A. (2012). Flavonoids of Piper sarmentosum and its cytoprotective effects against oxidative stress. *Excli Journal*, 9(11), 705-714.
- Vargas, A. ve Burd, R. (2010). Hormesis and synergy: path_ ways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. *Nutrition Reviews*, 68, 418-428.
- Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M.J., Spencer, J.P. (2010). Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*, 2, 1106-1131.
- Veiko, A.G., Lapshina, E.A. ve Zavodnik, I.B. (2021). Comparative analysis of molecular properties and reactions with oxidants for quercetin, catechin, and naringenin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476, 4287-4299.
- Wang, P., Zhang, K., Zhang, Q., Mei, J., Chang-jie, C., Feng, Z. Z., Yu, D. H. (2012). Effects of quercetin on the apoptosis of the human gastric carcinoma cells. *Toxicology In Vitro*, 26(2), 221-8.
- Wang, L., Lee, I.M., Zhang, S.M., Blumberg, J.B., Buring, J.E., Sesso, H.D. (2009). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 905-912.

- Winters, S., Martin, C., Murphy, D., Shokar, N. K. (2017). Chapter One-Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 151, 1-32.
- Wong, R.S.Y. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30(1), 87.
- Woo, Y., Shin, S.Y., Hyun, J., Lee, S.D., Lee, Y.H., Lim, Y. (2012). Flavanones inhibit the clonogenicity of hct116 colorectal cancer cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 29, 403-408.
- World Health Organization (WHO), 2017.
- Wu, C., Li, M., Meng, H., Liu, Y., Niu, W., Zhou, Y., Zhao, R., Duan, Y., Zeng, Z., Li, X., Li, G., Xiong, W., Zhou, M. (2019). Analysis of status and countermeasures of cancer incidence and mortality in China. *Science China. Life Sciences*, 62(5), 640-647.
- Wu, Q., Kroon, P.A., Shao, H., Needs, P.W., Yang, X. (2018). Differential effects of Quercetin and Two of Its Derivatives, Isorhamnetin and Isorhamnetin-3-glucuronide, in Inhibiting the Proliferation of Human Breast-Cancer MCF-7 Cells. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 66(27), 7181-7189.
- Yokuş, B. ve Ülker, D.Ü. (2012). Kanser Biyokimyası Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi. 1(2):7-18
- Youlden, D.R., Cramb, S.M., Baade, P.D. (2008). The International Epidemiology of Lung Cancer: geographical distribution and secular trends. *Journal of Thoracic Oncology*, 3(8), 819-31.
- Yuan, Z., Luan, G., Wang, Z., Hao, X., Li, J., Suo, Y., Li, G., Wang, H. (2017). Flavonoids from *Potentilla parvifolia* Fisch. and Their Neuroprotective Effects in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells in vitro. *Chemistry & Biodiversity*, 14, 1600487.
- Zafar, A., Wang, W., Liu, G., Wang, X., Xian W., McKeon F., Foster J., Zhou J., Zhang, R. (2021). Molecular targeting therapies for neuroblastoma: Progress and challenges. *Medicinal Research Reviews*, 961-1021.
- Zaimy, M.A., Saffarzadeh, N., Mohammadi, A., Pourghadamyari H., Izadi P., Sarli, A., Moghaddam, L.K., Paschepari, S.R, Azizi, H., Torkamandi, S., Tavakkoly-Bazzaz, J. (2017). New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. *Cancer Gene Therapy*, 24(6), 233-243.
- Zhang, G., Li, D., Chen, H., Zhang, J., & Jin, X. (2018). Vitexin induces G2/M-phase arrest and apoptosis via Akt/mTOR signaling pathway in human glioblastoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 17, 4599-4604.
- Zhang, H.W., Hu, J.J., Fu, R.Q., Liu, X., Zhang Y.Z., Li, J., Lei Liu, L., Li, Y.N., Deng, Q., Luo Q.S., Ouyang, Q., Ning Gao N. (2018). Flavonoids inhibit cell proliferation and induce apoptosis and autophagy through downregulation of PI3Kγ mediated

PI3K/AKT/mTOR/p70S6K/ULK signaling pathway in human breast cancer cells. *Scientific report*, 8, 11255

Zhang, Y., Tie, X., Bao, B., Wu, X., Zhang, Y. (2007). Metabolism of flavone C-glucosides and p-coumaric acid from antioxidant of bamboo leaves (AOB) in rats. *The British Journal of Nutrition*, 97(3), 484-94.

Zhaorigetu, Farrag, I. M., Belal, A., Al Badawi, M.H., Abdelhady, A.A., Abou Galala, F.M.A., El-Sharkawy, A., EL-Dahshan A.A. ve Mehany, A.B.M. (2021). Antiproliferative, Apoptotic Effects and Suppression of Oxidative Stress of Quercetin against Induced Toxicity in Lung Cancer Cells of Rats: In vitro and In vivo Study. *Journal of Cancer* 12(17): 5249-5259.

Ziaullah ve Rupasinghe H.P.V. (2015). Application of NMR spectroscopy in plant phenolics associated with human health. *Application of NMR spectroscopy in food sciences*, 1, 2014,000-000.

http-1: <https://www.cancer.gov/> (national cancer institute –NIH) (Erişim tarihi 12.07.2022)

http-2: <http://farukaykan.com/kanser-olusum-mekanizmalari/> (Erişim tarihi 05.10.2022)

http-3: <https://www.drozdogan.com/kanser-nedir-neden-ve-nasil-olusur-ozetle-tum-surec/> (Erişim tarihi 20.08.2022)

http-4: <https://bilimweb.wordpress.com/2017/03/10/haftanin-posteri-hucre-dongusu-ve-kanser/> (Erişim tarihi 12.07.2022)

http-5: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/55301/mod_resource/content/0/Karsinogenez%20ve%20Metastaz%20Biyolojisi.pdf (Erişim tarihi 13.08.2022)

http-6: <https://www.bezelyedergi.net/post/apoptoz-programl%C4%B1-h%C3%BCcre-%C3%B6l%C3%BCm%C3%BC> (Erişim tarihi 14.07.2022)

http-7: <https://www.cancer.gov/> (national cancer institute –NIH) (Erişim tarihi 19.08.2022)

http-8: <https://hsqm.saglik.gov.tr/kanser-tedavisi> (Erişim tarihi 23.08.2022)

http-9: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitexin> (Erişim tarihi 26.07.2022)

http-10: <https://www.chemwhat.info.tr/vitexin-cas-3681-93-4/> (Erişim tarihi 30.07.2022)

http-11: <https://www.scbt.com/fr/p/quercitrin-522-12-3> (Erişim tarihi 02.09.2022)

http-12: <http://www.chemnet.com/cas/tr/153-18-4/Rutin.html> (Erişim tarihi 06.09.2022)

http-13 : <https://ab.org.tr/ab13/bildiri/63.pdf> (Erişim Tarihi: 09.12.2022)

http-14: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf> (Erişim Tarihi: 02.12.2022)

http-15: <https://imagej.nih.gov/ij/download.html> (Erişim tarihi 12.07.2022)

http-16: <https://ab.org.tr/ab13/bildiri/63.pdf> (Erişim tarihi 12.07.2022)

http-17: <https://imagej.nih.gov/ij/> (Erişim tarihi 05.10.2022)

http-18 : <https://nhiso.com/wp-content/uploads/2018/05/ISO-10993-5-2009.pdf> (Erişim tarihi 20.12.2022)



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Tuğba İBİŞOĞLU

Yabancı Dil : İngilizce,

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2021-devam ediyor, Eczacı, Ankara Sosyal Güvenlik İl Müdürlüğü İbn-i Sina Sağlık Sosyal Güvenlik Merkezi, GSS Reçete Kontrol ve İnceleme
- 2016-2021, Eczacı, Ankara Sosyal Güvenlik İl Müdürlüğü Ertuğrul Gazi Sağlık Sosyal Güvenlik Merkezi, Sağlık Hizmet Sunucuları İnceleme ve Ödeme Servisi
- 2010-2015, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

- **Cengiz Tugba**, Kaya Ecem, Yilmaz Didem, Özakca Isil, Bayatli Nur, Karabay Arzu Zeynep, Ensari Altun Tugba, Karahan Süleyman Tuna, Yilmaz Enis, Gur Serap(2017). Intracavernous Injection of Human Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells Improves Erectile Dysfunction in Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. The Journal of Sexual Medicine, 14(1), 50-58.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

- Cengiz Tugba**, Yilmaz Didem, Kaya Ecem, Karabay Arzu Zeynep, Gur Serap, Altun Ensari Tugba, Bayatli Nur, Karahan Suleyman Tuna, Ozakca Isil, Yilmaz Enis (2016). Intracavernous Injection of Human Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells Improves Erectile Dysfunction in Streptozotocin Induced Diabetic Rats.(Oral presentation, American Diabetes Association's 76th Scientific Sessions.)

- Gur Serap, Yilmaz Didem, Kaya Sezginer Ecem, Bayatli Nur, Özakca Işil, **Cengiz Tugba** (2017). Therapeutic effects of human umbilical cord blood mononuclear cell transplantation on bladder dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. The International Society for Stem Cell Research 2017 Annual Meeting
- Yilmaz Didem, Kaya Ecem, Yilmaz Enis, Bayatlı Nur, **Cengiz Tugba**, Özakca Isil, Gür Serap (2017).The Beneficial Effect of Hydrogen Sulfide Donor, Sodium Hydrosulfide on Erectile Dysfunction in L-Name-Induced Hypertensive Rats. (Oral Presentation, 19th

Congress of the European Society for Sexual Medicine) Journal of Sexual Medicine, 14(4), 117-118. Doi: 10.1016/j.jsxm.2017.03.103

- Enis Yılmaz, Ecem Kaya Sezginer, Didem Yılmaz Oral, **Tugba Cengiz**, Nur Bayatlı, Serap Gur (2019). Effects of hydrogen sulphide donor, sodium hydrosulphide treatment on the erectile dysfunction in L-NAME-induced hypertensive rats. Andrologia, 51(5), e13240.

Mesleki Birlik/Dernek/Kuruluş Üyelikleri:

- 2015-devam ediyor, TEB 2. Bölge Ankara Eczacı Odası, Ankara

