

T. C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Trachystemon orientalis (L.) G. Don BİTKİSİNİN GASTROİNTESTİNAL SİSTEM
KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Serkan SOYMAZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK PROGRAMI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Gökem DÜLGER

DÜZCE, 2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

08 Aralık 2022

Serkan SOYMAZ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımlarından dolayı başta çok değerli hocam Doç. Dr. Görkem DÜLGER'e, Dr. Arş. Görevlisi İlker KILIÇCIOĞLU'na manevi desteklerini esirgemeyen babam Muammer SOYMAZ'a, annem Gülseren SOYMAZ'a ve değerli abim İsmail ALGÜN'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi BAP- 2022.04.01.1303 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir

08 Aralık 2022

Serkan SOYMAZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ	vi
SİMGE VE KISALTMALAR.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>TRACHYSTEMON ORIENTALIS</i> (L.) G. DON	3
2.2. <i>TRACHYSTEMON ORIENTALIS</i> 'İN ANTİOKSİDAN ETKİSİ	4
2.3. KANSER	7
2.3.1. Gastrointestinal sistem kanserleri	8
2.3.2. GİS kanserlerinin epidemiyolojisi	8
2.3.3 GİS kanseri risk faktörleri	9
2.4. APOPTOZ	18
2.4.1. Dışsal apoptotik yol	18
2.4.2. İçsel apoptotik yol	19
3.MATERYAL ve METOD	21
3.1. MATERYAL	21
3.1.1. Kullanılan cihazlar	21
3.1.2. Kullanılan sarf malzemeleri	21
3.1.3. Kullanılan kimyasallar	21
3.1.4. Kullanılan kitler	22
3.2. METOD.....	22
3.2.1. Ekstraksiyon	22
3.2.2. İstatistiksel analiz	22
3.2.3. Hücre kültürü	23
3.2.4. Hücre proliferasyon testi (WST-1 yöntemi)	23
3.2.5. Protein izolasyonu ve ELİSA testi	23
4.BULGULAR	25
4.1. <i>TRACHYSTEMON ORIENTALIS</i> (L.) G. DON Bitki EKSTRAKTININ HCT116, AGS VE HEPG2 HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİ	25
4.2. <i>TRACHYSTEMON ORIENTALIS</i> (L.) G. DON Bitki EKSTRAKTININ HCT116, AGS VE HEPG2 HÜCRE HATLARINDA KASPAZ-3, 8 VE 9 EKSPRESYON SEVİYELERİNE ETKİSİ.....	28
5. SONUÇ	31
6. TARTIŞMA	32
6.1. ANTİKANSER AKTİVİTESİ	32
6.2. MİDE KANSERİNE ETKİSİ	33
6.3. KOLEREKTAL KANSERE ETKİSİ	34

6.4. HEPATOSELÜLER KARSİNOMA ETKİSİ.....	35
6.5. FARKLI KANSER HÜCRE HATLARINDA GÖRÜLEN ETKİLER.....	36
7. KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	49



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitkisinin doğal ortamdaki görüntüsü...	3
Şekil 2.2. Apoptozun moleküler mekanizması.....	20
Şekil 4.1. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitki ekstraktının HCT116 hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi (*;p<0.05).	25
Şekil 4.2. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitki ekstraktının AGS hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi (*;p<0.05)..	26
Şekil 4.3. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitki ekstraktının HepG2 hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi (*;p<0.05).	27
Şekil 4.4. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitki ekstraktının HCT116 hücreleri üzerindeki Kaspaz-3, 8 ve 9 ekspresyon seviyelerine etkisi (*;p<0.05)..	28
Şekil 4.5. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitki ekstraktının AGS hücreleri üzerindeki Kaspaz-3, 8 ve 9 ekspresyon seviyelerine etkisi (*;p<0.05).....	29
Şekil 4.6. <i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G. Don bitki ekstraktının HepG2 hücreleri üzerindeki Kaspaz-3, 8 ve 9 ekspresyon seviyelerine etkisi (*;p<0.05).....	30

KISALTMALAR

AGS	Mide adenokarsinom hücre hattı
AIF	Apoptoz indükleyici faktör
APAF1	Apoptotik proteaz aktive edici faktör 1
APC	Ağ geçidi sürücü geni
ARID1A	AT açısından zengin etkileşimli alan içeren protein 1A
Bcl-2	B hücreli lenfoma 2
BRAF	v-Raf Murine sarkoma viral onkogen homologu
CIMP	CpG adası metilatör fenotip
CIN	Kromozomal kararsızlık
Cyt c	Sitokrom c
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FAP	Ailesel adenomatöz polipoz
GİS	Gastrointestinal sistem
GK	Mide kanseri
GPx	Glutasyon peroksidaz
HBV	Hepatit B virüsü
HCT116	Kolorektal karsinoma hücre hattı
HCV	Hepatit C virüsü
HepG2	Hepatoselüler karsinoma hücre hattı
Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
HPH	Hepatik progenitör hücreler
HSK	Hepatoselüler karsinom
IARC	Uluslararası kanser araştırmaları ajansı
IM	İntestinal metaplazi
KRAS	Kirsten sıçan sarkoma viral onkogen homologu
KRK	Kolorektal kanser
LS	Lynch sendromu
MLL	Karışık hücre tipli lösemi
MSI	Mikro uydu kararsız
MSS	Mikro uydu kararlı
PBS	Fosfat tamponlu salin
PIK3CA	Fosfatidil inozitol-3-kinaz katalitik alfa polipetid
RIPA	Radyo İmmünopresipitasyon deney tamponu
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
TCGA	Kanser genom atlası
TME	Total mezorektal eksizyon
TNF	Tümör nekroz faktörü
Tp53	Tümör protein 53
WCRF	Dünya kanser araştırma fonu
WHO	Dünya sağlık örgütü

ÖZET

***Trachystemon orientalis* (L.) G. Don BİTKİSİNİN GASTROİNTESTİNAL SİSTEM KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Serkan SOYMAZ

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Görkem DÜLGER

Aralık 2022, 49 sayfa

Bu çalışmada, Düzce’de yetişen *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitkisinin gastrointestinal sistem kanser hücreleri üzerine etkinliği araştırılmıştır. Bu kapsamda, antikanser etkinliği HCT-116 kolon kanseri, HepG2 hepatoselüler karsinom hücrelerinde ve AGS mide kanseri hücre hatlarında çalışılmıştır. Kanser hücrelerinin antiproliferasyon düzeyi WST-1 kiti ile incelenmiş olup anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Apoptozun önemli bir ölçütü olan Kaspaz aktivasyonu ise Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9 Elisa kitleri ile belirlenmiştir. Antiproliferasyon düzeylerindeki değişimler ve Kaspaz aktivitelerindeki artışlar göze alındığında *Trachystemon orientalis*’in potansiyel olarak kanser araştırmalarında kullanılabilecek bir bitki olduğu gözlemlenmiştir. Hepatoselüler karsinom ve kolorektal kanser hücrelerine nazaran AGS mide kanseri hücrelerinde antiproliferasyon seviyeleri ve özellikle kaspaz 8 aktivasyon seviyeleri arasında farklar görülmüştür. *Trachystemon orientalis*’in mide kanseri üzerine etkileri detaylıca araştırılmalıdır. Bulunan sonuçların daha fazla gözlem ve deney ile desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Antikanser, Apoptozis, *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don.

ABSTRACT

Investigation of the Effect of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don PLANT ON GASTROINTESTINAL SYSTEM CANCER CELLS

Serkan SOYMAZ

Düzce University

Institute of Graduate Studies, Department of Medical Biology

Master's Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gökem DÜLGER

December 2022, 49 pages

In this study, the effectiveness of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don plant grown in Düzce on gastrointestinal system cancer cells was investigated. In this context, anticancer activity was studied in HCT-116 colon cancer, HepG2 hepatocellular carcinoma cells and AGS gastric cancer cell lines. The antiproliferation level of cancer cells was examined with the WST-1 kit and significant results were obtained. Caspase activation, which is an important criterion of apoptosis, was determined with Caspase 3, Caspase 8, and Caspase 9 Elisa kits. Considering the changes in antiproliferation levels and increases in Caspase activities, it has been observed that *Trachystemon orientalis* is a plant that can potentially be used in cancer research. Differences were observed between antiproliferation levels and especially caspase 8 activation levels in AGS gastric cancer cells compared to hepatocellular carcinoma and colorectal cancer cells. The effects of *Trachystemon orientalis* on gastric cancer should be investigated in detail. The results found need to be supported by more observations and experiments.

Keywords: Anticancer, Apoptosis, *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don.

1. GİRİŞ

Kanser, dünyanın her ülkesinde önde gelen ölüm nedeni ve artan yaşam beklentisinin önünde önemli bir engel olarak yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2019 yılı tahminlerine göre kanser, 183 ülkenin 112'sinde 70 yaş öncesi ölümlerin birinci veya ikinci, 23 ülkede ise üçüncü veya dördüncü sırada yer almaktadır¹.

Hastalığın mevcut tedavi seçenekleri sınırlıdır ve çoğu durumda, zamanında tanı ve tedavinin yapılamaması nedeniyle tedavisi zor bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Ayrıca cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi kanser tedavisi için kullanılan yöntemlerin zararlı yan etkileri vardır. Bu nedenle, çalışmaların çoğu kanserin tanı ve tedavisi için yeni yaklaşımlar bulmaya yönelmiştir².

Kansere ilişkin derin ve doğru bilgi, bu durumların olası nedenleri ve nüfus eğilimleri hakkında temel bilgiler sağlar. Bu sayede de önleme, tarama ve teşhis için etkin politikalar geliştirmeyi amaçlayan zamanında ve uygun sağlık hizmeti müdahalelerinin oluşturulması mümkün olur³.

Karsinogenez normal bir hücrenin çoklu mutasyonlarla bir tümör hücresine dönüşme sürecidir. Altı ana özellik ile karakterize edilen karsinogenez, her hücre, doku ve organda meydana gelebilir ve çok sayıda kanserle sonuçlanan patolojik değişimlere yol açabilir. Progresyonu sağlayan başlıca mekanizmalar arasında gelişmiş anjiyogenez, apoptozdan kaçınma, büyüme karşıtı sinyallere direnç, metastaz yapma kapasitesi, kendi büyüme sinyallerinin indüklenmesi ve sınırsız bölünme kapasitesi yer alır⁴.

Solid tümörlerin tanı ve tedavisindeki önemli ilerlemelere rağmen, uzak metastazlar kansere bağlı ölümlerin ana nedeni olarak bilinmektedir. Tümör hücrelerinin erken yayılması, potansiyel olarak etkili müdahaleyi sağlayan yüksek çözünürlüklü görüntüleme teknolojileri tarafından bile genellikle tespit edilemez⁵. Organizmalarda, gelişim sırasında fazla hücreler ve ayrıca patofizyolojik koşullardan kaynaklanan potansiyel olarak zararlı hücreler, çeşitli hücre ölümü modaliteleri ile elimine edilir. Bunlar arasında apoptoz en çok araştırılanıdır. Neredeyse 50 yıl önce hücrelerin tümörijenik potansiyel kazanmasını önleyen büyük bir savunma stratejisi olarak tanımlanıyordu⁶.

Bu alışmada, HCT116 kolon kanseri, AGS mide kanseri ve HepG2 hepatosellüler karsinom hücre hatlarına farklı doz ve sürelerde bitki ekstresi uygulanarak *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstresinin antiproliferatif etki düzeyi araştırılması hedeflenmiştir. Bunun yanında apoptozun önemli aktivasyon belirteçleri olan kaspaz-3, 8 ve 9'un aktivasyonunun bu hücrelerde araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilen veriler ışığında *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstresinin uygulandığı hücre hatlarında antiproliferatif etki AGS hücre hattında, HCT116 ve HepG2 hücre hatlarına kıyasla çok daha etkili sonuçlar vermiştir. Kaspaz seviyeleri söz konusu olduğunda ise kaspaz3 ve 9 seviyeleri bütün hücre hatlarında önemli ölçüde artış gösterirken, kaspaz 8 seviyelerinde anlamlı bir artış yalnızca AGS hücre hatlarında gözlemlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Trachystemon Orientalis*(L.) G. Don

Trachystemon orientalis (L.) G. Don. Boraginaceae soyuna ait bir bitkidir. Bu bitki türü; Doğu Bulgaristan, Batı Kafkasya ve Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde yayılış göstermesiyle bilinmektedir. Bitkinin tüketilmesiyle beraber biyoaktif polifenol kaynağı olarak insan sağlığı üzerinde etki göstermektedir. Yüksek oranda fenolik bileşikler, antosiyaninler ve flavonoid içermektedir. Bunlarla beraber antioksidan özelliği oldukça yüksektir^{7,8}.

T. orientalis 30-40 cm yükseklikte, rizomlu, çok yıllık otsu bir bitkidir. Yaprakları sert, tüylü ve çiçekleri mavi, mor renklidir⁹. Bitkinin yörelere göre yerel isimleri, Hodan, Galdirek, Kaldırık ve Kalduruk (Bolu); Burğı (Artvin); Tamara (Trabzon); ve Zılbit (Karadeniz Ereğlisi, Zonguldak) olarak ifade edilmektedir¹⁰.

T. orientalis'in rizomları çiçekli bir tür olmasına rağmen üreme organı olarak kullanılmaktadır. Tür, ışık yoğunluğunun düşük olduğu habitatlarda bulunur ve bu nedenle yeterli tohum üretmez. Bu türün morfolojisi ile ilgili çalışmalar sınırlıdır¹¹.



Şekil 2.1. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitkisinin doğal ortamdaki görüntüsü¹¹.

2.2. *Trachystemon Orientalis*'in Antioksidan Etkisi

Oksijen, biyolojik sistemler için yaşamsal öneme sahiptir. Ancak bazı koşullarda potansiyel olarak zararlı yan etkilere sahip bir gaz olabilmektedir. Reaktivite, oksijenin yüksek enerjili elektron transferlerine katılmasına izin verir ve dolayısıyla oksidatif fosforilasyon yoluyla büyük miktarlarda adenozin-5-trifosfat (ATP) oluşumunu destekler. Bu, karmaşık çok hücreli organizmaların evrimine izin vermek için gereklidir ancak aynı zamanda oksijen, protein, lipid veya DNA olsun, herhangi bir biyolojik moleküle saldırmaya meyilli haldedir. Sonuç olarak, vücudumuz reaktif oksijen türlerinin sürekli oksidatif saldırısı altındadır¹².

Gıdalardaki lipidlerin oksidasyonu, kötü tatların ve sağlığa zararlı olabilecek istenmeyen kimyasal bileşiklerin oluşumundan sorumludur. Bu yüzden gıda endüstrisinde oksidasyon sürecini geciktirmek için antioksidanlar kullanılmaktadır¹³. Oksidatif stresin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri ciddi bir sorun haline gelmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünya nüfusunun %80'inin temel sağlık ihtiyaçları için geleneksel tıba güvendiğini ve bu tedavinin çoğunun bitki özleri ve aktif bileşenlerinin kullanımını içerdiğini tahmin etmektedir. Stres altında, vücudumuz enzimatik antioksidanlardan, glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz ve non-enzimatik antioksidanlardan daha fazla reaktif oksijen türü (ROS) üretir¹⁴.

Bu dengesizlik hücre hasarına ve sağlık sorunlarına yol açar. Reaktif serbest radikalleri söndürebilen antioksidanların eksikliği, kardiyovasküler hastalıklar, kanserler, nörodejeneratif hastalıklar ve alzheimer hastalığı dahil olmak üzere dejeneratif hastalıkların gelişimini kolaylaştırır¹⁵.

Oksidatif stresin ana hedefleri proteinler, lipidler ve nükleik asitlerdir. Bu moleküllerdeki modifikasyonlar mutajenez olasılığını artırabilir. Özellikle uzun bir süre boyunca aşırı ROS/RNS üretimi, hücresel yapı ve fonksiyonlarda hasara neden olabilir. Bu durumda somatik mutasyonlara ve preneoplastik ve neoplastik dönüşümlere neden olabilir. Daha sonra hücrelerde ve dokularda aşırı ROS üretimi, hızlı bir şekilde azaltılmazsa zararlı olabilir¹⁶.

Doğal olarak türetilen antioksidanların etkinliğine ve kullanımına olan ilginin artmasıyla birlikte, fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler son yıllarda çok dikkat çekmiştir. Diyet bitkilerinden ve geleneksel şifalı bitkilerden elde edilen meyveler,

tohumlar, küspeler ve/veya kabukları besleyici özellikleri ve biyoaktif ilkeleri nedeniyle insan beslenmesi ve sağlığında önemli bir rol oynar. Diyetin önemli bir bileşenini oluşturabildikleri için hem ekonomik yönden faydalı olurlarken, besleyicilik açısından da önemlidirler. Antioksidan kapasiteleri ve beslenme kaliteleri nedeniyle fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler için potansiyel bir kaynaktırlar¹⁷.

Doğal olarak, vücutta üretilen serbest radikallerin miktarı ile vücudu zararlı etkilere karşı korumak için onları temizleyen veya söndüren antioksidanlar arasında dinamik bir denge vardır. Normal fizyolojik koşullar altında mevcut olan antioksidan ilkelerin miktarı, patolojik koşullar altında üretilen serbest radikalleri nötralize etmek için yetersiz olabilir. Bu nedenle, zararlı hastalıklara karşı korunmak için diyetimizi antioksidanlarla zenginleştirmek önemlidir. Bu nedenle, bitkisel materyallerden doğal antioksidanların geliştirilmesinde gıda endüstrisine ve koruyucu hekimliğe artan bir ilgi olmuştur¹⁸.

Trachystemon orientalis'in sulu çözeltisinin antioksidan aktivitesi, indirgeme gücü gibi çeşitli antioksidan testler kullanılarak araştırıldığı bir bilimsel çalışmada Fenolik ve flavonoid içerikleri de belirlenmiştir. Bu çalışma ile içerdiği flavonoid, fenolik ve antosiyanin içeriği nedeniyle *T. orientalis* ekstraktının yararlı bir doğal antioksidan kaynağı olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir.

Gıda ve kozmetik endüstrilerinde, oldukça toksik diğer sentetik antioksidanlara alternatif bir katkı maddesi olarak *T. orientalis* özü kullanılabileceği belirtilmiştir. Tüm bunların yanı sıra ucuz ve erişiminin kolay olması sebebiyle de alternatif bir kaynak olarak hizmet edebilmektedir¹⁹.

Antioksidan savunma mekanizmaları hem enzimatik hem de enzimatik olmayan stratejileri içerir. Yaygın antioksidanlar arasında A, C ve E vitaminleri, glutatyon ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzimleri bulunur.

Diğer antioksidanlar arasında lipoik asit, karışık karotenoidler, koenzim Q10, çeşitli biyoflavonoidler, antioksidan mineraller (bakır, çinko, manganez ve selenyum) ve kofaktörler (folik asit, B1, B2, B6, B12 vitaminleri) bulunur. Birbirleriyle ve farklı serbest radikal türlerine karşı sinerji içinde çalışırlar. E Vitamini, lipid peroksidasyonunun yayılmasını baskılar; C vitamini, E vitamini ile hidroperoksit oluşumunu engeller²⁰.

Fenolik Bileşikler

Bitkiler, kalp hastalıklarını önlemek, iltihabı, kanser ve diyabet insidansını azaltmak ve ayrıca insan hücrelerinde mutajenez oranlarını indirmek için antioksidan görevi görebilen moleküler olarak zengin fenolik bileşik kaynaklarıdır. Meyve, sebze ve baklagiller gibi bitkisel ürünlerin tüketiminin sağladığı koruma, çoğunlukla fenolik bileşiklerin varlığı ile ilişkilidir. Fenolik bileşikler bitkilerde kısmen patojen ve böcek saldırısı, UV radyasyonu ve yaralanma gibi ekolojik ve fizyolojik baskılara yanıt olarak sentezlenir. Fenolik bileşiklerin temel yapısal özelliği, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halkadır. Büyük yapısal değişkenliğe sahip 8000'den fazla fenolik bileşik vardır; iki ana gruba ayrılabilirler: flavonoidler ve flavonoid olmayanlar. Flavonoidler meyve ve sebzelerde en bol bulunan fenolik bileşiklerdir, diyet fenolik bileşiklerinin yaklaşık üçte ikisini oluştururlar; ve grup olarak en biyoaktif olanlardır²¹.

Flavonoidler

Flavonoidler, tüm damarlı bitkilerde bulunan, doğal olarak oluşan, düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin büyük bir grubunu içerir. Meyveler, sebzeler, kuruyemişler, tohumlar, saplar, çiçekler, ağaç kabuğu, çay ve şarapta bulunurlar. Ortalama batı diyeti günde 100 ila 1000 mg içerir. Bu bileşiklerin sergilediği dikkate değer özellikler, bunların doğal hastalık önleyici, sağlığı geliştirici maddeler olarak kabul edilmelerini mümkün kılar. Flavonoidlerin birkaç on yıl boyunca hem in vitro hem de in vivo deneysel sistemlerde antialerjik, antiinflamatuvar, antiviral, antikanser ve antikanserojenik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bazıları güçlü antioksidanlardır²².

Antosiyanin

Antosiyaninler, çok çeşitli çiçek renkleri ve desenlerinden sonbahar yapraklarının canlılığına kadar bitkilere verdikleri kırmızı, mavi ve mor tonlarıyla en iyi bilinen kimyasal bileşiklerdir. Bu bileşikler, potansiyel olarak erken kara bitkilerine kadar uzanan flavonoid özel metabolitler grubunun üyeleridir. Bitkisel dokuda antosiyaninlerin varlığının fazla ışığı emerek fotosentetik mekanizmaları koruduğu kuraklığa, soğuğa, yüksek tuzluluğa ve besin eksikliğine karşı toleransı arttırdığı aynı zamanda otçullara ve patojenlere karşı bitkileri savunduğu öne sürülmüştür. Anjiyospermilerin ortaya çıkmasının ardından, antosiyaninler, çiçek ve meyvelerde tozlayıcıların ve tohum dağıtıcıların çekiciliği için kritik bir rol üstlendi²³.

Antosiyaninler olgunlaşmanın belirteçleridir, çünkü çoğu meyve bu bileşikleri yalnızca olgunlaşma evrelerinde biriktirir. Antosiyaninler ayrıca sağlık için potansiyel faydaları olan bileşikler olarak kabul edilmektedir. Antosiyaninler, bileşiklerin flavonoid sınıfına aittir ve yapısal olarak bir veya daha fazla şeker parçasına bağlı bir antosiyanidin aglikon içerir²⁴.

Çeşitli klinik öncesi ve sonrası çalışmalar bitkisel ürünlerin ve kemoterapötiklerle kombinasyonlarının, apoptozu teşvik etmede, aşırı hücresel proliferasyonu inhibe etmede ve bağışıklık sistemini harekete geçirmede yer alan çeşitli sinyal yollarının modülasyonu yoluyla antikanser etkilerine aracılık ettiğini ortaya koymuştur. Bitkisel ilaçların geleneksel kemoterapötik ilaçlara göre daha az yan etkilerinin yanı sıra biyolojik aktiviteleri nedeniyle kanser tedavisi için kullanımı tüm dünyada artmaktadır²⁵.

2.3. Kanser

Kanser, hücresel homeostazın ve fonksiyonunun geri döndürülemez şekilde bozulmasıyla tetiklenen heterojen bir hastalıktır. Kanser ilerlemesi, kontrolsüz hücre büyümesi ve farklılaşmasının yanı sıra, neoplastik hücre popülasyonunda büyük bir genişlemeye yol açan apoptotik fonksiyonların kaybının bir sonucudur. Kanserlin dahili nedenleri apoptotik fonksiyon eksikliği, genetik mutasyonlar, oksidatif stres ve hipoksi ile ilişkilendirilebilirken, kanserlin dış nedenleri ultraviyole ışınlarına, radyasyona, kirliliğe, sigaraya ve strese aşırı maruz kalma ile bağlantılı olabilir²⁶.

Kanserler 200 milyon yıldan fazla bir süredir çok hücreli canlıları rahatsız etmektedir. Modern insanın atalarının arasında bir milyon yıldan eskiye dayanan kanserlere dair izler bulunmaktadır²⁷.

Kanserlin henüz tedavi edilmediği göz önüne alındığında, geçen yüzyılın başından beri birçok hipotez veya teori öne sürülmüştür. Bu teoriler, kansere virüslerin neden olduğu, kromozomal anormallikler, somatik mutasyonlar, birikmiş çoklu mutasyonlar, immünolojik gözetimler, iyileşmeyen yaralar, mutajenik olmayan mekanizmalar ve doku organizasyonu alan teorilerini içermektedir²⁸. Bütün bu nedenleri belirlememize rağmen çözüm konusunda aynı başarıyı sergilediğimizi söyleyemeyiz. Onkoloji, kardiyovasküler hastalıklardan üç kat daha düşük başarı oranlarıyla, klinik geliştirme aşamasındaki araştırma ilaçları arasında en kötü oranlara sahiptir²⁹.

Kanser başlangıcı, içsel hücrel programları etkileyen bir dizi genetik mutasyona bağlı gibi görüldüğü için, bugüne kadarki kanser araştırmalarının büyük çoğunluğu, kanser hücrelerinin bu genetik ve moleküler özelliklerinin tanımlanması ve karakterizasyonuna odaklanmıştır³⁰. 2020 yılına kadar, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), küresel olarak 15 milyondan fazla insanın kansere maruz kaldığını ve her yıl 10 milyon insanın kanserden öldüğünü bildirmektedir³¹.

Daha fazla araştırma, geleneksel olarak kullanılan bitkilerin yeterli dozlarda uygulanan biyoaktif bileşikler içerdiğini ve sağlık üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. Bu etkiler, bileşiklerin antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve ayrıca antikanser gibi biyolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Günümüzde, antikanser bileşiklerinin kaynağı olarak bitkilerin potansiyeli hem geleneksel tıpta hem de deneysel bulgularda iyi bir şekilde belirlenmiştir³².

2.3.1. Gastrointestinal sistem kanserleri

Yetişkin insan gastrointestinal sistemi ~7 m uzunluğundadır ve yüzeyi vücuttaki en hızlı yenilenen epitel ile kaplıdır³³. Gastrointestinal sistem (GİS) kanserleri, dünya çapında kansere bağlı ölümlerin yaygın bir nedenidir³⁸. GİS kanserleri; yemek borusu, safra kesesi, karaciğer, pankreas, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak, rektum ve anüs dahil olmak üzere sindirim sistemi organlarının kanseri olarak tanımlanır. Mevcut tedaviler sisplatin, mitomisin ve dosetaksel kemoterapi rejimlerini, cerrahi, radyasyon veya bunların kombine uygulamasını içerir³⁴.

Çoğu hastada metastaz, kemoterapiye direnç ve nüks geliştiği için mevcut terapötik tedaviler yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, gastrointestinal kanserli hastalar için tedavi etkilerini iyileştirecek yeni stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır³⁵.

2.3.2. GİS kanserlerinin epidemiyolojisi

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'ndan (IARC) bilim adamları ve ortakları tarafından yapılan bir çalışmaya göre Gastrointestinal kanserler, küresel kanser insidans yükünün %26'sını ve kansere bağlı tüm ölümlerin %35'ini oluşturmaktadır; 2018'de dünya çapında tahmini 4,8 milyon yeni vaka ve 3,4 milyon buna bağlı ölüm meydana gelmiştir³⁶.

Ayrıca, çoklu Gİ (Gastrointestinal) kanserleri insidans ve mortalite açısından ilk 10'da yer almakta ve birçok ülke için ciddi bir yük oluşturmaktadır. Gastrointestinal

kanserlerin yükleri gastrointestinal kanserlerin insidansı ve ölüm oranı da ülkeler ve bölgeler arasında farklılık göstermektedir. Asya yemek borusu, mide ve karaciğer kanserlerinin en yaygın olduğu en fazla sayıda vaka ve ölüm oranından muzdariptir³⁷. Bugüne kadar, araştırmaların çoğu en yaygın Gİ kanseri formları olan mide kanseri ve kolorektal kanserin (KRK) önlenmesine yönelik olmuştur. Küresel Kanser İstatistiklerine göre, KRK kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir ve GK (Gastrik kanser) onu yakından takip eder. GK, 2018’de bir milyondan fazla yeni kanser vakasından ve dünya genelinde her 12 ölümden 1’ine denk gelen tahmini 783 bin ölümden sorumluydu. 2018’de 1,8 milyondan fazla yeni KRK vakası ve 881 bin ölümün meydana geldiği tahmin edilmektedir. Çevresel faktörler, diyet ve yaşam tarzı faktörlerinin yanı sıra aile öyküsü Gİ kanser için en önemli risk faktörleridir³⁸.

2.3.3 GİS kanseri risk faktörleri

Yaş

Yaşlanmanın temel özelliği, ilerleyen fizyolojik bütünlük kaybıdır ve bu da işlev bozukluğuna ve ölüme karşı artan hassasiyete yol açar. Bu bozulma kanser, diyabet, kardiyovasküler bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere insanları etkileyen hastalıkların çoğu için birincil risk faktörüdür. Yaşlı nüfus, günümüzde 65 yaş ve üzeri kişiler olarak tanımlanmaktadır³⁹.

Obezite

2016 yılında Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), 16 kanser türünün muhtemel bir şekilde aşırı yağlanma ile ilişkili olduğunu ve obezitenin sigaradan sonra ikinci önde gelen kanser nedeni olduğunu bildirmiştir. IARC raporu, aşırı vücut yağının yokluğunun çoğu kanser riskini azalttığı sonucuna varmıştır. Obezite ile ilişkili birçok kanserin yağ depolarının içinde veya bitişiğinde ortaya çıktığını ve değişen yağ biyolojisinin yerel ve sistemik olarak kanser gelişimini desteklediği sonucuna varılmıştır. IARC ve Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF) Sürekli Güncelleme Projesi’ne göre, aşırı yağlanma pankreas, karaciğer, yemek borusu, kolorektum, mide ve safra kesesi dahil olmak üzere gastrointestinal kanserler için bir neden veya olası risk faktörüdür. Dünya çapında obezite oranlarındaki hızlı artış, gastrointestinal kanser yükünün artmasına neden olmaktadır⁴⁰.

Diyet

Genel olarak, meyve ve sebzeler gibi lifli gıdaların GI kanser riskini azalttığı, işlenmiş gıdaların, et ve şeker tüketiminin ise riski artırdığı kabul edilmektedir. Akdeniz veya Okinawa gibi belirli diyetlerin, bir popülasyon düzeyinde kanser riskinin azalmasıyla ilişkili olduğuna dair kanıtlar vardır ancak bunları benimsemenin yüksek riskli yerlerde riski azaltıp azaltmadığı tam olarak belli değildir⁴¹.

Alkol kullanımı çeşitli gastrointestinal kanserler için önemli ve potansiyel olarak değiştirilebilir bir risk faktörüdür. Yüksek riskli alkol kullanımını ele almak, gastrointestinal kanser yükünü azaltmak için bir stratejidir. Alkol alımı nedensel olarak gırtlak kanseri, özofagus, mide kanseri, hepatoselüler karsinom, meme kanseri, kolorektal karsinom (KRK) ve büyük olasılıkla pankreas kanseri ile ilişkilidir⁴².

Kalıtım

KRK'nin hastaların %25 kadarında kalıtsal veya ailesel bir yatkınlığa bağlanabileceğine dair kanıtlar vardır. Bununla birlikte, kalıtsal oran, kalıtımın tanımına bağlıdır. Bazı araştırmalar, birinci derece akrabalarında (ebeveyn, kardeş veya çocuk) KRK'li hastaları ailevi bir hastalığa sahip olarak tanımlarken, diğerleri sadece kalıtsal bir kanser sendromu varsa ailesel vakaları içerir. Hastaların yaklaşık %3-5'i Lynch sendromuna (LS) veya kalıtsal polipsiz kolorektal kansere sahiptir. Diğer sendromlar nadirdir ve tüm KRK hastalarının yaklaşık %1'ini oluşturur. Bununla birlikte, tüm vakaların %15-20'sinde KRK'nin ailesel agregasyonunun mevcut olduğu öne sürülmüştür, ancak germ hattı mutasyonları ve genetik varyantlar henüz tanımlanmamıştır. Bu hastalarda altta yatan kalıtsal nedenlerin karmaşık olması ve çeşitli moleküler, epigenetik ve genetik faktörleri içermesi muhtemeldir⁴³.

Kalıtsal yaygın mide kanseri, yaygın mide kanserinin kalıtsal bir şeklidir. Kötü prognoza, geç prezentasyona ve yüksek invaziv tümör özelliklerine sahiptir. Genellikle Hp (*Helicobacter pylori*) ile ilişkili değildir; Bu tür vakaların %30-50'sinde CDH1 mutasyonları vardır⁴⁴.

Kalıtsal hemokromatoz, α 1-antitripsin eksikliği, Wilson hastalığı ve hepatik porfiriya gibi belirli metabolik bozukluklar, hepatoselüler karsinoma gelişimi için yüksek risk ile ilişkilidir. Bu kalıtsal hastalıkların, artan inflamasyon ve hepatoselüler hasarın bir sonucu olarak hepatokarsinogenezi desteklediği bilinmektedir⁴⁵.

2.3.1.1 Kolorektal kanserler

Kolon ve rektum, insan sindirim sisteminin son bölümünü oluşturur, ince bağırsağın sonunu belirleyen ileoçekal valv ile başlar anüste biter ve kabaca 90 santimetre uzunluğundadır⁴⁶.

Kolorektal kanser (KRK), dünya genelinde erkeklerde en sık görülen dördüncü kanser ve kadınlarda en sık görülen üçüncü kanserdir. Kolorektal kanser için risk faktörleri arasında obezite, meyve ve sebzelerde düşük ve doymamış yağlarla kırmızı et açısından zengin bir diyet, fiziksel hareketsizlik ve sigara içmek yer alır. Bu nedenle popülasyonları tipik olarak bu faktörleri sergileyen gelişmiş ülkelerde uzun süredir gözlenen bir hastalıktır. Bununla birlikte, son yıllarda, riskin geçen onyıllarda düşük olduğu dünya çapında ki yeni gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere yüksek kolorektal kanser oranları bildirilmiştir^{47,48}.

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (ülseratif kolit ve Crohn hastalığı) olan hastalarda kolorektal kanser riski daha yüksektir ve yakın klinik takip gerektirir. FAP (ailesel adenomatöz polipoz) ve HPNNC (kalıtsal polipsiz kolorektal kanser) gibi kolorektal kanser gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen kalıtsal sendromlar, hastalık vakalarının %5'ini oluşturur. Ailesel kümelenmenin vakaların diğer %20'sini oluşturduğu varsayılmaktadır. Sporadik kolorektal kanser vakaları büyük çoğunluğu oluşturur (yaklaşık %75)⁴⁹.

Kolorektal bölgede başlayan kanserlerin büyük çoğunluğu (%95'in üzerinde) adenokarsinom olarak sınıflandırılır. Bunlar kolon ve rektumu kaplayan mukus üreten bezlerde başlar. Kolorektal bölgenin daha az görülen diğer kanserleri arasında karsinoid tümörler (hormon üreten bağırsak hücrelerinde başlar), gastrointestinal stromal tümörler (Cajal'ın interstisyel hücreleri olarak bilinen özel kolonik hücrelerde oluşur), lenfomalar (bağışıklık sistemi kanserleri) bulunur⁵⁰.

Abdominal obezite, dolaşımdaki insülin seviyelerindeki değişikliklerle ilişkilidir. İnsülin direncinin ve ardından gelen hiperinsülinemi ve tip 2 diyabetin(T2D), kanser riskini özellikle kolon kanseri, pankreas ve karaciğer kanserleri riskini arttırdığı bildirilmiştir⁵¹. KRK için standart geleneksel tedaviler cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Hastalığın lokalizasyonuna ve progresyonuna bağlı olarak bu tedaviler kombinasyon halinde kullanılabilir. Laparoskopik ve transanal cerrahi yaklaşımlar

yoluyla total mezorektal eksizyon (TME) genellikle lokalize kanser için ve tümör lokasyonuna erişimin kolay olduğu durumlarda kullanılmaktadır⁵².

2.3.1.2 Kolorektal kanserin moleküler mekanizması

Kolorektal kanserin geliştiği üç ana moleküler mekanizma vardır: kromozomal kararsızlık, mikro uydu kararsızlığı ve metilasyon. Bunların her biri farklı klinik fenotiplerle sonuçlanır⁵³.

Kromozomal kararsızlık (CIN), ağ geçidi sürücü geni APC'de etkisizleştirici bir mutasyonla başlayan ve KRAS, SMAD4 ve TP53'teki diğer sürücü mutasyonları boyunca ilerleyen bir şekilde temsil edilir. APC mutasyonu, hücreyi kromozomal kararsızlığa yatkın hale getirir, bu da heterozigosite kaybı (LOH) ve anöploidiye yol açar. Kromozomal kararsız kanserlerin genetik testi bunların CIMP-negatif ve mikro uydu kararlı (MSS) olduğunu gösterir⁵⁴. CIMP (CpG adası metilatör fenotip) DNA hipermetilasyonunun gözlemlendiği CpG adacıklarını yoğun bir şekilde içeren kanser dokuları olarak bildirilmiştir.

Mikrosatelitler, döngü uyumsuzlukları yaratan DNA replikasyonu sırasında kaymaya eğilimli kısa tekrarlayan nükleotid baz dizileridir. Onarılmamış uyumsuzluklar bir tümördeki belirli bir mikro uydunun uzunluğunun normal bir hücredekinden farklı olduğu "kararsız" mikro uydular olarak görülür. Bu, Lynch sendromunda ve başka nedenlerle (bir uyumsuzluk onarım geninin metilasyonu veya bialelik somatik mutasyonları gibi) uyumsuzluk onarım işlevini kaybetmiş kanserlerde görülen kusurlu DNA uyumsuzluğu onarımının bir özelliğidir⁵³. Mikro uydu kararsızlığı (MSI), Lynch sendromu tümörlerinin bir özelliğidir ve genetik testler, bunların CIMP-negatif, MSI-Yüksek olduğunu gösterir⁵⁵.

Metilatör tümörler, kromozomal kararsız kanserlerden tamamen farklı bir genetik ve histolojik yoldan ortaya çıkar. İlk olay, BRAF veya KRAS'ta bir sürücü gen mutasyonudur. Daha sonra çeşitli diğer sürücü genlerin metilasyonu, histolojik olarak hiperplastik polipler, sapsız tırtıklı adenomlar/polipler ve displastik tırtıklı polipler gibi tırtıklı mukozal lezyonlar olarak görünen neoplaziyi ilerletir. Bu kanserler CIMP-pozitifdir⁵⁶.

Bazı CIMP-pozitif kanserler MSI-yüksek'dir (bir uyumsuzluk onarım geni olan hMLH1'in metilasyonundan dolayı), diğerleri ise CIMP-negatiftir. Sporadik kolorektal kanserlerin %15'inde metilatör ve mutator mekanizmalar arasında bir miktar örtüşme

vardır, burada birincil mekanizma hipermetilasyondur ve uyumsuzluk onarım geni hMLH1 metillenir ve mutator fenotip ile sonuçlanır⁵⁵.

Çoğu kanser (%70) kromozomal kararsızdır (MSS/CIMP-negatif). Bu kanserler, bir sürücü APC mutasyonundan kaynaklanan adenomlar yoluyla ortaya çıkar ve diğer kanser genotiplerinden daha sık sol taraflıdır. İkinci bir makalede, bu aynı grup göstermiştir ki hemen hemen tüm rektum kanserleri MSS/CIMP-negatiftir. Sağ taraflı kolon kanserleri ise genellikle metilasyona bağlı olarak CIMP-pozitif/MSI-Yüksek ve CIMP-pozitif/MSS arasında neredeyse eşit dağılım göstermektedir⁵⁷.

2.3.1.3. Hepatoselüler karsinom

Karaciğer kanseri, dünya çapında en yaygın altıncı kanser türü olup, genel kanser vakalarının %5.7'sini oluşturmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde meydana gelen vakaların çoğunluğu (%82, 2002'de erkeklerde 366.000 yeni vaka, kadınlarda 147.000 yeni vaka) gelişmiş ülkelerle (erkeklerde 74.000 yeni vaka ve 36.000 kadın) karşılaştırıldığında, insidanda geniş coğrafi farklılıklar vardır⁵⁸. Hepatoselüler karsinom (HSK), karaciğerin en sık görülen primer malinitiesidir ve gelişmiş batı ülkelerinde görülme sıklığı artmaktadır. Görüntüleme çalışmaları hepatoselüler karsinom tanısında kilit bir rol oynamaktadır ve giderek daha yaygın olarak hastalara asemptomatik bir aşamada tanı konulmaktadır⁵⁹.

Kronik karaciğer hastalığı ve siroz, viral hepatit ve aşırı alkol alımının dünya çapında önde gelen risk faktörleri hepatoselüler karsinom'un gelişimi için en önemli risk olmaya devam etmektedir. Kronik viral hepatit siroza ve/veya hepatoselüler karsinom'a yol açabilir. Hepatit B ve C dünyadaki kronik hepatitin en yaygın nedenleridir⁶⁰. Tedavi, görüntüleme, tıbbi cihaz geliştirme, girişimsel radyoloji, cerrahi teknikler ve karaciğer transplantasyonundaki ilerlemeler hepatoselüler karsinom için lokal (ablasyon teknikleri), bölgesel (radyoembolizasyon) ve cerrahi tedavide önemli gelişmelerle sonuçlanmıştır⁶¹. Aşırı alkol tüketimi karaciğer kanseri için iyi bilinen bir risk faktörü iken daha düşük tüketim düzeylerinin etkisi tam olarak araştırılmamıştır. Prospektif çalışmaların meta-analizinde ağır alkol tüketimi (≥ 3 içecek/gün) hepatoselüler karsinom riskinde %16 artış ile ilişkilendirilmiştir, ancak daha düşük tüketim seviyeleri ile bir ilişkisi bulunmamıştır⁶².

2.3.1.4. Hepatoselüler karsinomun moleküler mekanizması

Hepatoselüler karsinom gelişimi diğer kanser türleriyle benzer şekilde, genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanan karmaşık, çok aşamalı bir süreçtir⁶³. Etiyolojiden bağımsız olarak, hastaların çoğunda siroz HSK'den önce gelir. Siroz sırasında üretilen yenileyici nodüller, normal hepatositlerin displastik hepatositlere, neoplastik lezyonlara dönüşmesi ve ardından genetik ve epigenetik değişikliklerin birikmesi yoluyla HSK ile sonuçlanması için uygun bir mikro ortam sağlar⁶⁴.

Bugüne kadar, preneoplastik lezyondan displastik hepatositlere ve son olarak hepatik neoplazmaya kadar ardışık hepatokarsinogenez gelişimi tam olarak anlaşılamamıştır. Hepatokarsinogenez sürecinin tamamının, tümör mikroçevresindeki değişiklikler, nekroinflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi gibi çeşitli hücresel mekanizmaların ve sitokinlerin, kemokinlerin ve büyümenin transkripsiyonu ve aktivasyonu dahil olmak üzere diğer moleküler mekanizmaların ortak hareketini içerdiği varsayılmaktadır.

Faktörler, DNA hasarı ve DNA metilasyonu. Çok sayıda klinik ve epidemiyolojik çalışma, inflamasyon ve kanser gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koydu. HSK'lerin %90'ından fazlası karaciğer hasarı ve inflamasyon bağlamında ortaya çıktığı için HSK enflamasyonla ilişkili karsinogenezde daha kapsamlı olarak araştırılmaktadır⁶⁵.

HBV veya HCV'nin neden olduğu kronik karaciğer enfeksiyonu veya aflatoksinlere veya alkole maruz kalma kalıcı karaciğer hasarına ve hepatosit hücre ölümüne ve eşzamanlı hepatosit rejenerasyonuna neden olur. Bu nedenle düzensiz hepatosit proliferasyonunu ve ardından hepatik enflamasyonunu tetikler⁶⁶. Premalign ortamda inflamatuvar hücreler çok sayıda sitokin, kemokin, büyüme faktörü, prostaglandin ve proanjyogenik faktör salarak hepatik ortamı bir genetik mutasyon birikimi ile hepatosit transformasyonu için uygun bir bölge haline getirir. Dönüştürülmüş hepatositlerin hayatta kalması, anti-apoptotik yolların aktivasyonu ve immün sürveyansın baskılanması ile mümkündür⁶⁷. Farklı proinflamatuvar (İnterlökin-6 veya IL-6, Tümör Nekroz Faktörü veya TNF- α gibi) ve anti-inflamatuvar sitokinlerin (Dönüştürücü Büyüme Faktörleri α ve β veya TGF- α ve β), farklı transkripsiyon faktörleri (NF- κ B, STAT-3) ve bunların sinyal yolları HSK gelişiminde rol oynar^{65,66}.

IL-6 ve TNF- α

Kronik karaciğer hasarı sırasında IL-6 ve TNF- α 'nın ekspresyonu, karaciğer mikroçevresinde neoplastik dönüşümü yönlendiren STAT3 transkripsiyon faktörünün aşağı akış hedeflerini aktive eder. Ayrıca TNF- α , hepatik tümör büyümesini ve HSK nüksünü destekler. Jing ve arkadaşları TNF- α 'nın aşırı ekspresyonunun, hepatik progenitör hücrelerin (HPH) aktivasyonu yoluyla hepatoselüler karsinoma'yı desteklediğini ve TNF- α 'nın yıkılmasının, HPH aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe ederek tümör oluşumunu azalttığı gözlemlenmiştir. Bu olayların ışığında biz TNF- α 'nın karaciğer hasarı ve prognozunda önemli bir rol oynadığını söyleyebilmekteyiz⁶⁸.

Nükleer Factor- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$)

Nükleer faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), inflamatuvar yanıtın ve hücre ölümünün ana transkripsiyonel düzenleyicisidir. Bir dizi çalışma, hepatoselüler hasar, karaciğer fibrozu ve HSK gelişiminde NF- $\kappa\beta$ 'nin rolünü doğruladı. Aktif NF- $\kappa\beta$, etiyolojiden bağımsız olarak HSK'de sık görülen ve erken bir olaydır ve hepatokarsinogenez sırasında dönüştürülmüş bir fenotipin elde edilmesiyle bağlantılıdır. Bu nedenle, NF- $\kappa\beta$ 'nin karaciğer hasarı, fibrozis ve HSK arasında merkezi bir bağlantı olduğu öne sürülmektedir⁶⁹.

TGF- α

Hücrel proliferasyonu ve transformasyonu destekleyen bir polipeptit olan TGF- α 'nın hepatokarsinogenez ile yakın bir ilişkisi olduğu düşünülmüştür. Normal karaciğer hücrelerinde, düşük bir TGF- α ekspresyonu vardır. Karaciğer hasarını takiben kronik bir inflamatuvar yanıt olarak salgılanan farklı sitokinlerin birleşik eylemleri, karaciğerde TGF- α 'yı ısrarla yukarı regüle eder ve sonuç olarak hepatositlerin rejenerasyonuna, hepatosit proliferasyonuna, hepatosit displazisine ve son olarak HSK gelişimine izin verir. TGF- β ayrıca HSK'de yukarı regüle edilir ve tümör hücresi göçünü ve istilasını indükleyerek HSK ilerlemesinde kritik bir rol oynar⁷⁰.

2.3.1.5. Mide kanseri

Mide kanseri, dünya çapında en sık görülen dördüncü kanser ve kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedeni olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Her yıl

950.000'den fazla yeni tanı konulmaktadır. 2012 yılında tahminen 720 000 hasta mide kanserinden ölmüştür⁷¹.

Kıtalar arasında insidansda büyük farklılıklar vardır. En yüksek insidans (yılda 100.000 kişi başına 69 vakaya kadar) kuzeydoğu Asya'da (Japonya, Kore ve Çin) erkeklerdedir. Orta dereceli vakalar Avrupa ve Güney Amerika'da görülür; Kuzey Amerika, Afrika, Güney Asya ve Okyanusya (Avustralya ve Yeni Zelanda dahil), 100.000 kişi başına 4-10 vaka oranıyla düşük insidanslı bölgelerdir⁷².

Erkekler mide kanserlerinden beş kat daha fazla etkilenir. Mide kanseri insidans oranları siyahlar, düşük sosyoekonomik gruplar ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir⁷³. Gastrik karsinogenez çok aşamalı ve çok faktörlü bir süreçtir. Mide kanserinin bağırsak tipi genellikle *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, diyet ve yaşam tarzı gibi çevresel faktörlerle ilişkilirken, yaygın tip daha çok genetik anormalliklerle ilişkilidir. Moleküler tıptaki son gelişmeler sadece mide kanserinin karsinogenezine ışık tutmakla kalmamış aynı zamanda önleme, teşhis ve tedavi edici müdahale ile ilgili yeni yaklaşımlar da sunmuştur⁷⁴. Ekonomik kalkınmayla bağlantılı iyileştirilmiş yaşam koşulları, mide kanserinin başlıca nedeni olan *Helicobacter pylori* prevalansının azalmasına katkıda bulunmuştur⁷⁵.

Midenin malign tümörlerinin büyük çoğunluğu adenokarsinomlardır. Tarihsel olarak gastrik adenokarsinomlar, Laurén histolojik sınıflandırmasına göre intestinal ve diffüz alt tiplere bölünmüştür. İntestinal tip, bağırsak metaplazisinin gelişmesi ve giderek artan displazi evrelerinden karsinoma geçişle birlikte kronik atrofik gastrit arka planından kaynaklanıyor gibi görünmektedir. İntestinal tip yüksek riskli ülkelerde baskın histolojik tiptir, erkeklerde daha sık görülür ve görülme sıklığı yaşla birlikte önemli ölçüde artar. Diffüz tip belirgin bir coğrafi çeşitlilik göstermez. Atrofik gastrit yokluğunda ortaya çıkabilir. Kadınlarda daha sık görülür ve sıklıkla pozitif aile öyküsü olan genç hastalarda ortaya çıkmaktadır⁷⁶.

Cerrahi tek küratif tedavi olmaya devam ederken, perioperatif ve adjuvan kemoterapinin yanı sıra kemoradyasyon, genişletilmiş lenf nodu diseksiyonu ile rezektabl mide kanserinin sonucunu iyileştirebilir. Bir stratejinin diğerine göre net bir üstünlüğü ortaya çıkmamıştır. Hepsi tek başına cerrahiye göre hayatta kalmada %15'lik bir artışa katkıda bulunur⁷⁷.

Randomize klinik deneyler, metastatik olmayan gastrik ve gastroözofageal adenokarsinomu olan hastalarda kombine tedavisinin etkili olduğuna dair kanıt sağlamaktadır. Perioperatif kemoterapi veya postoperatif kemoterapi artı kemoradyoterapi güncel kılavuzlarda tercih edilen yaklaşımlar olarak listelenmiştir, ancak postoperatif kemoterapi de yeterli bir lenf nodu diseksiyonu sonrası bir seçenek olabilir⁷⁸.

Tütün kullanımı mide kanseri ve kanser öncesi lezyonlar için bir risk faktörüdür. Diyetle yüksek tuz tüketimi kanser riskini artırır. İşlenmiş et tüketimi de yüksek kanser riski ile ilişkilendirilmiştir. Alkol tüketimi ile net bir ilişki bulunamamıştır. Taze meyve ve sebzelerin tüketimi, kanser riskinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir⁷⁹.

2.3.1.6. Mide kanserinin moleküler mekanizması

Tüm genom dizileme çalışmaları, son zamanlarda mide kanserlerinde yer alan yeni molekülleri ve mekanizmaları ortaya çıkarmıştır. Özellikle, RHOA mutasyonları, diffüz tipte tümörlerin en önemlilerinden biri olarak tanımlanmıştır⁸⁰. Kanser genom atlası (TCGA) projesinde yer alan 295 primer mide kanserine ilişkin veriler, mide kanserlerinin dört kademeli moleküler sınıflandırmasına işaret ediyor:

1. Tekrarlayan PIK3CA mutasyonları, aşırı DNA hipermetilasyonu ve JAK2, PD-L1 ve PD-L2 amplifikasyonu gösteren Epstein-Barr virüsü için pozitif mide kanserleri.
2. Yüksek mutasyon oranları gösteren stabil olmayan mikro uydu mide kanserleri.
3. Yaygın histolojik varyant ve RHOA mutasyonları veya RHO-ailesi GTPaz aktive edici proteinleri içeren füzyonlar için zenginleştirilmiş, genomik olarak stabil mide kanserleri
4. Reseptör tirozin kinazların belirgin anöploidi ve fokal amplifikasyonu gösteren kromozomal kararsızlığa sahip mide kanserleri⁸¹.

Tüm ekzom dizileme çalışmaları, mide bağırsak tipi karsinogenezi daha da incelemiştir. Sıklıkla mutasyona uğramış bulunan genler arasında TP53, PIK3CA, FAT4 ve ARID1A bulunur. Son ikisi yeni mide kanseri belirteçleri olarak tanımlanmıştır. FAT4, mide kanserlerinin %5'inde mutasyona uğrayan ve %4'ünde silinen kaderin gen ailesinin bir üyesidir⁸².

ARID1A tarafından kodlanan protein, DNA onarımı, farklılaşması ve gelişimi süreçlerinde ve ayrıca hücre proliferasyonunun homeostazında yer alan SWI-SNF kromatin yeniden modelleme kompleksinin yardımcı bir alt birimidir⁸³. ARID1A, MLL3 ve MLL gibi kromatin remodeling genlerindeki mutasyonlar, mide kanserlerinin %47'sinde bulunmuştur⁸⁴.

TP53 genindeki değişiklikler, gastrik onkogeneze yer alan histolojik lezyonların spektrumu boyunca ilişkilidir. TP53 lokusunda heterozigotluk kaybı bir dizi gastrik IM'nin %14'ünde ve displastik lezyonların %22'sinde gösterilmiştir⁸⁵.

Epigenetik mekanizmaların hem erken değişikliklerde (yani atrofik gastrit ve bağırsak metaplazisi) hem de kanserin ileri evrelerinde merkezi bir rolü olduğu bulunmuştur⁸⁶. *H. pylori* ve Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu üzerine yapılan çalışmalar, bu patojenlerin her ikisinin de kanserojen etkisinin, mide mukozasında metilasyon değişikliklerini indükleyerek güçlendirdiğini göstermiştir^{87,88}.

Tümör dokusundaki metilasyon durumu, serum örneklerinde bulunan paternlere benzer, bu nedenle metilasyon durumu, mide kanserinin erken tanısında yararlanılabilen invaziv olmayan bir onkolojik belirteç ve kanserin önlenmesi için yeni bir hedef olma potansiyeline sahiptir⁸⁹. Aynı zamanda diğer insan kanserlerinde olduğu gibi, anormal miRNA ekspresyonu mide kanserinin de bir özelliğidir⁹⁰.

2.4. Apoptoz

Hücre ölümü, çok hücreli organizmaların gelişimi, doku homeostazı ve bütünlüğünde önemli bir süreçtir. Hücre proliferasyonu ve eliminasyonu, yetişkin organizmada fizyolojik bir homeostaz sürecini sürdürmek için gereklidir. Metamorfoz, embriyogenez, patogenez ve doku döngüsü sırasında istenmeyen hücreler çıkarılır. Hücre ölümü tipik olarak geniş olarak tanımlanmış iki mekanizmayı içerir: programlanmış hücre ölümü yani apoptoz ve programlı olmayan nekroz⁹¹.

2.4.1. Dışsal apoptotik yol

Apoptoz morfolojik bir olgudur. Işık (veya tercihen elektron) mikroskobu ile bakıldığında, apoptotik hücrenin özellikleri arasında kromatin yoğunlaşması ve nükleer parçalanma (piknoz), plazma zarı kabarması ve hücre küçülmesi bulunur. Sonunda hücreler inflamatuvar bir yanıtı teşvik etmeden fagositozla temizlenen küçük zarla çevrili

parçalara (apoptotik cisimler) ayrılır. Apoptotik cisimlerin salınması, antik yunancada uzaklaşmak anlamına gelen ve sonbaharda yaprak döken ağaçlardan yaprakların sararıp düşmesi kavramlarını çağrıştıran apoptoz terimine köken vermektedir⁹².

Dışsal yolak kaynaklı apoptoz, tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesinin üyeleri olan ve “ölüm alanı” içeren transmembran ölüm reseptörleri tarafından tetiklenir. Apoptoz uyarıcı fragman ligandı (FasL)/FasR, TNF- α /TNFR1, TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL)/DR4 ve TRAIL/DR5'i içeren birkaç tipik ligand ve karşılık gelen ölüm reseptörleri, hücre yüzeyinden hücre içi yollara ölüm sinyallerinin iletilmesine yardımcı olmaktadır⁹³.

Membran geçiş reseptörleri (DR)'nin spesifik ölüm ligandları (DL'ler) tarafından bu şekilde tetiklenmesi, ölüme neden olan bir sinyal kompleksinin (DISC) oluşumuyla sonuçlanır. Bu DISC, adaptör molekül olarak DD içeren Fas bağlı ölüm alanından (DD), prokaspaz-8, prokaspaz-10 ve hücresel FLICE inhibitör proteinlerinden (c-FLIP'ler) oluşur⁹⁴.

Daha sonra DISC pro-kaspaz 8'in modifikasyonunu ve aktivasyonunu başlatır. Enzim olan kaspaz 8'in aktive edilmiş formu, apoptozun yürütme fazını oluşturan kaspaz aktivasyonunun kaskadını başlatmak için DISC'den ayrılır⁹⁵. Deneysel kanıtlar, apoptozda kaspazların aktif rolünü göstermektedir⁹⁶.

2.4.2. İçsel apoptotik yol

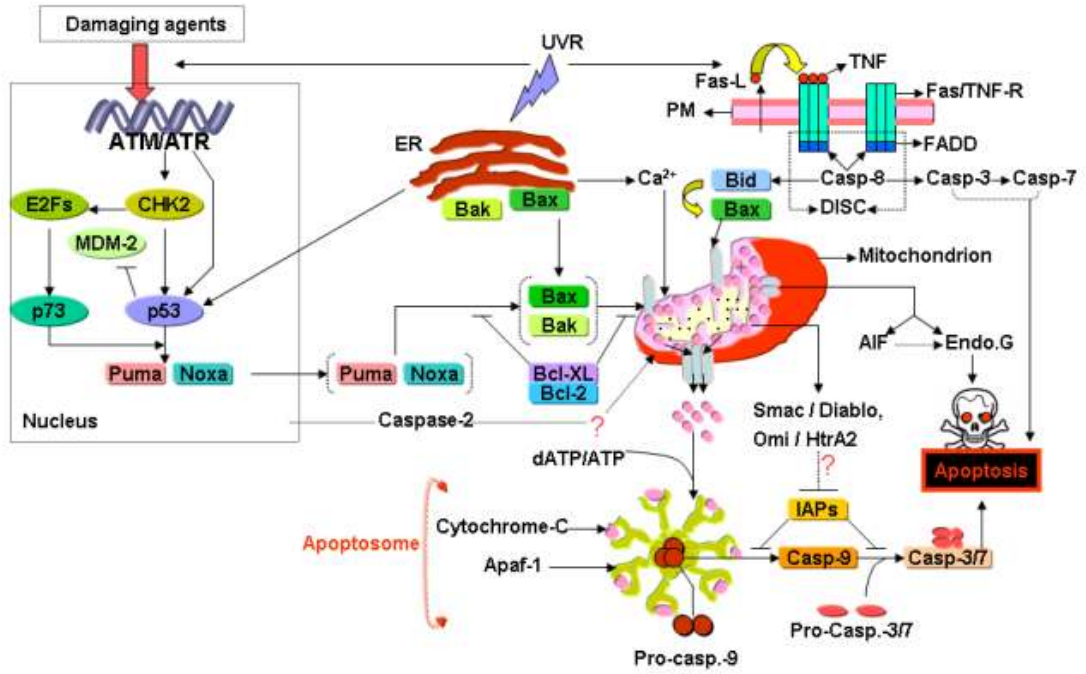
İçsel sinyal yolağı mitokondriyal olarak başlatılır ve ayrıca apoptozu tetikleyebilir. Genellikle hipoksi, hipertermi ve büyüme faktörlerinin yokluğunu içeren uyaranlarla aktive edilir. Bu uyaranlar, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin açılmasını teşvik eder. Mitokondriyal transmembran potansiyelini engeller ve böylece Sitokrom c (Cyt c) ve apoptoz indükleyici faktörü (AIF) içeren proapoptotik proteinlerin membranlar arası boşluktan sitozole salınımını hızlandırır⁹⁷.

Cyt c, Apaf-1'i ve ayrıca prokaspaz-9'u bağlayabilir ve aktive edebilir ve ardından kaspaz-9 aktivasyonu ile sonuçlanır ve bu da kaspaz-3 ve kaspaz-7'yi destekler⁹⁸. Bununla birlikte, AIF, apoptozun geç fazı sırasında kaspazdan bağımsız bir şekilde DNA fragmentasyonunu ve kromatin yoğunlaşmasını indükler⁹⁹.

Özellikle, yukarıdaki mitokondriyal olarak başlatılmış olaylar, dış mitokondriyal zarda bulunan B hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ailesi proteinleri tarafından düzenlenir. Bcl-2 ailesi

proteinleri mitokondriyal membranın geçirgenliğini kontrol eder ve ardından Cyt c'nin salınımını düzenler. Fonksiyonel olarak proapoptotik ve antiapoptotik proteinler olarak sınıflandırılabilirler¹⁰⁰.

İlki Bad, Bax, Bak, Bid, Bim, Puma ve BNIP3'ü içerir. İkincisi Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL ve BAG içerir. Bu Bcl-2 ailesi proteinleri arasında Bax, çekirdekte veya mitokondride tümör baskılayıcı protein p53 tarafından up-regüle olarak düzenlenebilir^{99,101}. Bcl-2 veya Bcl-xL, np53 veya mp53 aracılı apoptozu bloke edebilir¹⁰².



Şekil 2.2. Apoptozun moleküler mekanizması¹⁰³.

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan cihazlar

- Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı (Thermo)
- Dijital Terazı (Radwag)
- Buzdolabı Derin Dondurucu -20⁰C (Altus)
- Scientific -80⁰C Soğutucu (Thermo)
- Biosafety Cabinet Class II (Mikrotest)
- EC160 Karbondioksitli Etüv (Nüve)
- BioTeK Spektrofotometre (Epoch)
- İnverted Mikroskop (Euromex)
- Santrifüj cihazı (OHAUS)
- ELISA okuyucu (Epoch)
- Mikropipet (Thermo)

3.1.2. Kullanılan sarf malzemeleri

- T-75 hücre flaskları
- T-25 flasklar
- 15 ml ve 50 ml falkon tüpleri
- 10-100-1000 µl pipet uçları
- 96-Well plaklar

3.1.3. Kullanılan kimyasallar

- Tripsin EDTA (CAPRICORN, Almanya)
- RPMI 1640 besiyeri (CAPRICORN, Almanya)
- Fetal Bovine Serum (CAPRICORN, Almanya)

- RIPA Buffer (A.B.T, Türkiye)
- Penisilin/Streptomisin antibiyotik (CAPRICORN, Almanya)
- PBS (CAPRICORN, Almanya)
- Etanol (CAPRICORN, Almanya)
- DMSO (CAPRICORN, Almanya)
- Glutamin (CAPRICORN, Almanya)

3.1.4. Kullanılan kitleler

- Hücre Proliferasyon Kiti, WST-1 (Abcam, ABD)
- BCA Protein Tayin Kiti (ABP Biosciences, ABD)
- Kolorimetrik insan kaspaz-3, 8, 9 kitleleri (BT LAB, Çin)

3.2. Metod

Çalışma, Düzce Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan deney maddesi *Trachystemon orientalis* bitkisi Düzce ilinden toplanmıştır. Toplanan *Trachystemon orientalis* bitkisi herbaryum koşullarına uygun olarak kurutulup karanlık ortamda saklanmıştır. Homojen Şekilde bitkinin her bir kısmı öğütücüden geçirilerek toz haline getirilmiştir.

3.2.1. Ekstraksiyon

Toz haline getirilmiş olan bitkiden parçalar halinde 20'şer gramlık tartılıp 180 mL %96'lık etanol ile hazırlanmıştır. Soxhlet ekstraksiyonu için 500 mL'lik steril balonlar hazırlanmıştır. Bitki örneklerini koymak için steril selüloz kartuşlar alınmış ve ayrı ayrı kartuşlara 20'şer gramlık örnekler konulmuştur. Bitki örneklerinin 10 saat süresince soxhlet cihazında ekstrasyonu yapılmıştır. Elde edilen ekstratlar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. İstatistiksel analiz

Çalışmanın verileri istatistiksel olarak Student's t-testi kullanılarak analiz edildi. $p < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi. Bu değerin altında kalan değerler ise anlamsız kabul

edilerek sonuçlardan çıkarımlar yapılırken dikkate alınmadı. Her deney birbirinden bağımsız olarak üç kopya halinde gerçekleştirildi.

3.2.3. Hücre kültürü

Bu çalışmada HCT116 kolon kanseri, AGS mide kanseri ve HepG2 hepatosellüler karsinom hücre hatları kullanıldı. Hücreler, %10 inaktive edilmiş fetal bovin serumu (Fetal Bovine Serum, FBS), 200 mM L-glutamin, 100 U/ml penisilin, 100 pg/ml streptomisin, %95 nem ve %5 ile desteklendi, RPMI-1640 ve DMEM ortamında büyütüldü. CO₂ ortamında 37 C’de inkübatörde kültüre edilerek çoğaltıldı.

3.2.4. Hücre proliferasyon testi (WST-1 yöntemi)

HCT116, AGS ve HepG2 hücre hatları T-75 hücre şişelerinin yaklaşık %70’ini kapladığında ortam çıkarıldı. Hücreler, bir tripsin-EDTA karışımı kullanılarak bazdan ve birbirlerinden ayrıldı ve 1200 rpm’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra pelete, %1 FBS içeren RPMI-1640/DMEM ortamı ilave edildi.

Hücreler, %1 FBS içeren RPMI-1640/DMEM ortamında homojen bir şekilde süspanse edildi ve her bir oyuğa yaklaşık 5000 hücre/100uL çekilerek 96-well hücre kültürü tabaklarına ekildi. Hücreler gece boyunca 37°C’de ve %5 CO₂’de inkübatörde inkübe edildikten sonra ortam çıkarıldı. Belirtilen dozlardaki ekstraktlar hücrelere ilave edildi ve %5 CO₂ ile 37°C’de 24 ve 48 saat %1 FBS içeren bir ortamda inkübe edildi. Belirtilen sürelerin sonunda, her kuyudaki ortam çıkarıldı ve 100 µL phenol-rejection-free RPMI-1640/DMEM ortamı ve 10 µL WST-1 kiti ile değiştirildi. Formazan ürününün neden olduğu renk değişimi, 4 saat sonra mikropilaka okuyucu ile 450 nm dalga boyu aralığında belirlendi. Her deney üç kopya halinde gerçekleştirilmiştir. Hücre canlılığı hesaplamaları Excel programında yapılmıştır.

3.2.5. Protein izolasyonu ve ELİSA testi

Bitki özü 150 µg/mL ve 400 µg/mL dozlarda RIPA tamponu (A.B.T, Türkiye) ile hücrelere uygulandıktan 24 saat sonra uygun protocol adımları izlenerek protein izolasyonu yapıldı. Protein izolasyonundan sonra miktarı ve konsantrasyonu belirlemek için BCA protein tahlil kiti (ABP Biosciences, LLC) kullanıldı. Üreticinin talimatlarına göre bitki özü ile muamele edilmiş hücre süpernatant numunelerinde kaspaz-3, 8 ve 9’un protein ekspresyon seviyelerini belirlemek için Calorimetric human kaspaz-3, 8 ve

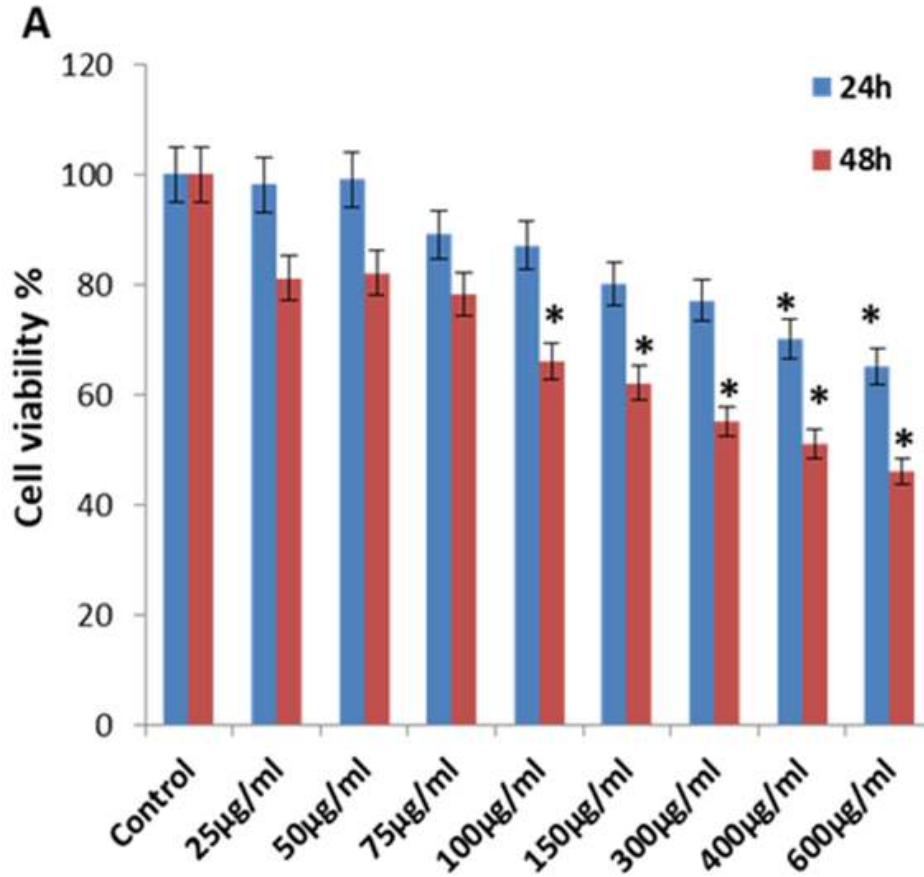
9 ELISA kitleri (BT LAB, Şanghay, Çin) kullanıldı. İşlemlerden sonra sonuçlar, 450 nm Optik Yoğunlukta (OD) ELISA okuyucusu (Epoch Microplate Spectrophotometer, Agilent Technologies, Inc., ABD) kullanıldı.



4.BULGULAR

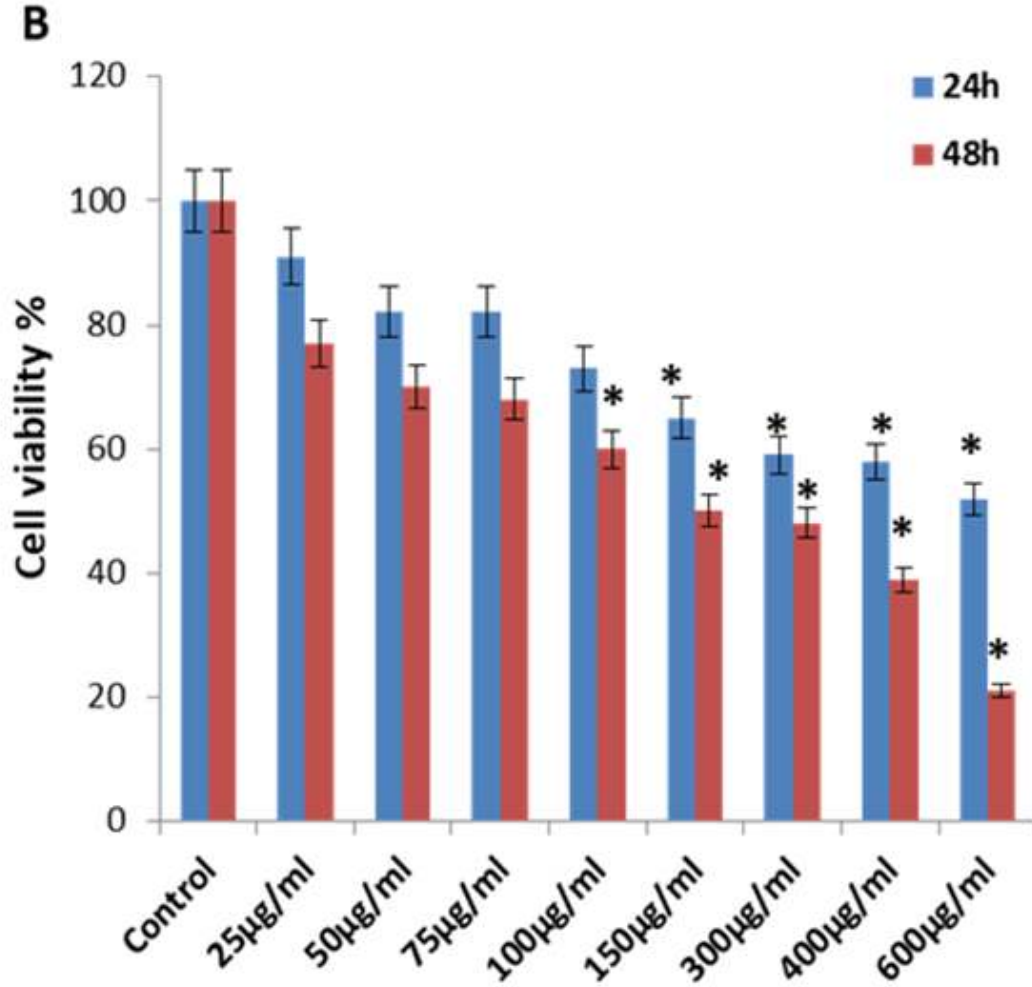
4.1. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don Bitki Ekstraktının HCT116, AGS ve HepG2 Hücreleri Üzerindeki Antiproliferatif Etkileri

Trachystemon orientalis bitki özü, 24 ve 48 saat boyunca 25-600 µg/ml dozlarında üç hücre hattının tümüne uygulandı. HCT116 hücreleri, 24 saatlik uygulama dozlarında proliferasyonda düşük azalma oranları gösterirken, 48 saatlik uygulama dozlarında daha etkili sonuçlara ulaşılmıştır. 600µg/ml’lik en yüksek uygulama dozunda, hücrelerde proliferasyonun %35 inhibisyonu gözlemlendi (Şekil 4.1).



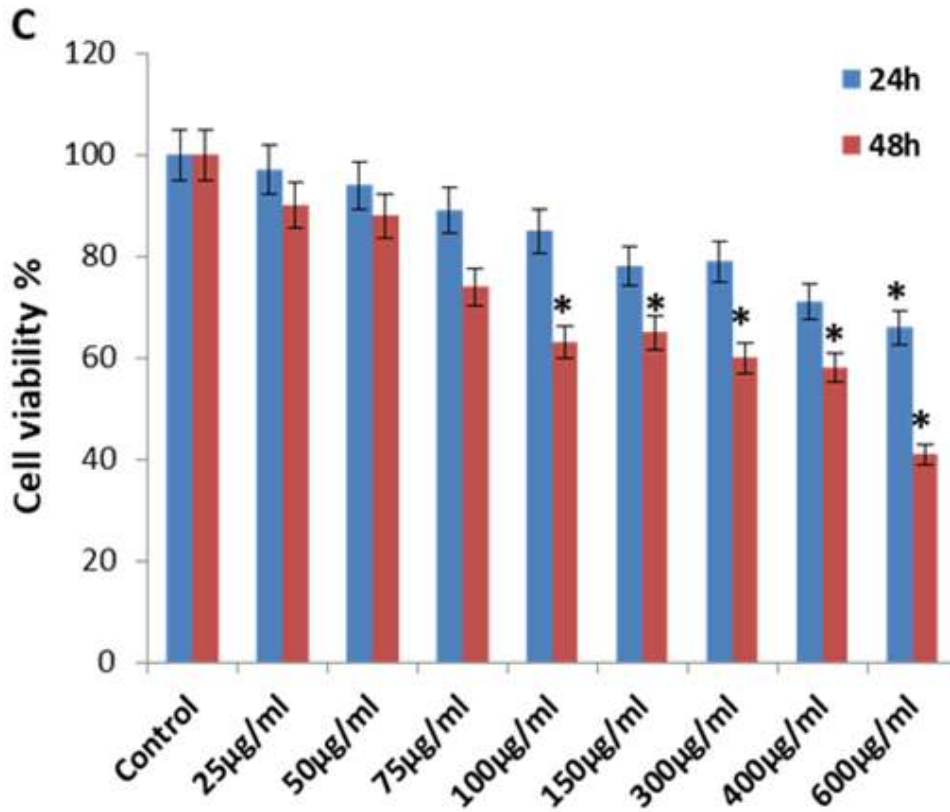
Şekil 4.1. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının HCT116 hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi (*;p<0.05).

AGS hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu oldukça açık bir şekilde gözlemlendi. 24 saat boyunca 600 µg/ml uygulama dozunda hücre proliferasyon oranı %48 idi. İnhibisyon sonuçları, 48 saatlik dozlarda daha dikkat çekiciydi. 150µg/ml uygulama dozunda hücre proliferasyonu inhibisyon oranı %50 iken, 600µg/ml dozda bu oran %79'a çıkmıştır. Kullanılan hücre hatları arasında antiprolaratif etki en yüksek, AGS mide kanseri hücrelerinde gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının AGS hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi (*;p<0.05).

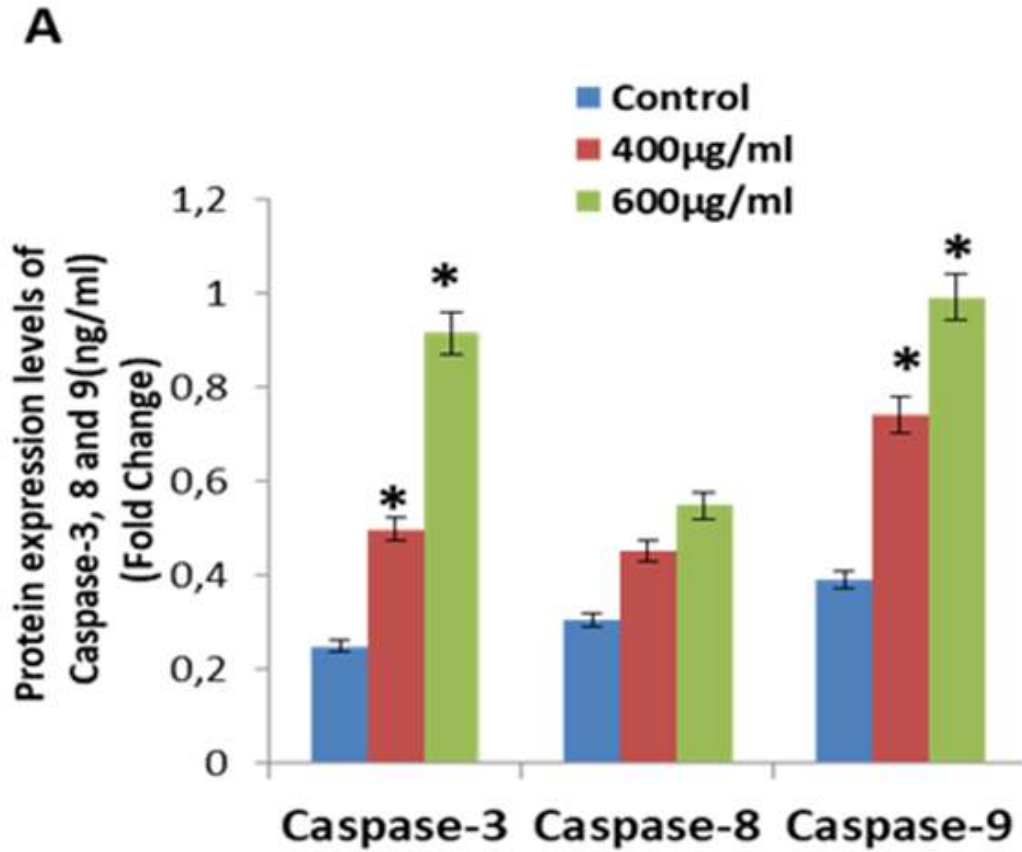
HepG2 hücreleri HCT116 hücre hattına göre daha yüksek inhibisyon oranları gösterirken AGS hücre hattına göre daha düşük düzeylerde hücre inhibisyonu sergilemiştir. 100 µg/ml ekstre dozuna kadar doğrusal bir azalma gözlemlenirken, 100 µg/ml ve 400 µg/ml dozları arasında özellikle 48 saatlik süre bazında önemli bir değişim gözlemlenmemiştir. 600µg/ml uygulama dozunda ise proliferasyon inhibisyonunda önemli bir değişiklik gözlemlenmiştir, bu dozda gözlemlenen inhibisyon oranı %34 olmuştur. 400µg/ml dozda inhibisyon oranı %42 iken, 600µg/ml uygulama dozunda bu oran %59'a çıkmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının HepG2 hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi (*;p<0.05).

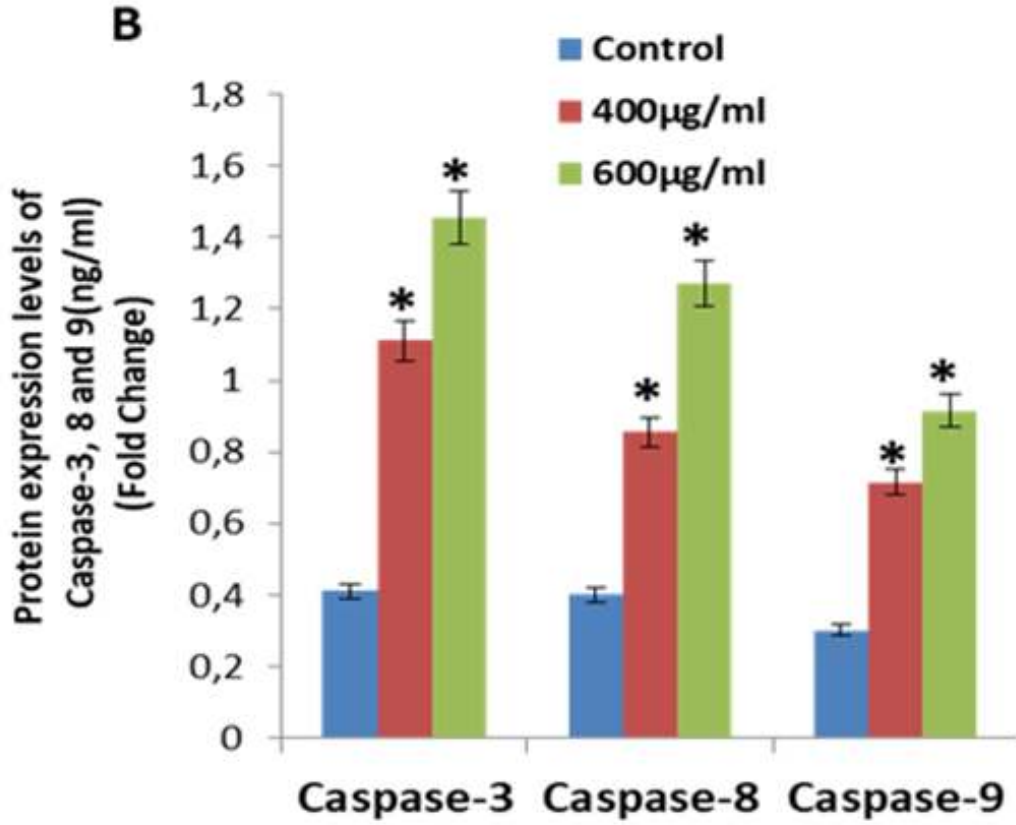
4.2. *Trachystemon Orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının HCT116, AGS ve HepG2 Hücre Hatlarında Kaspaz-3, 8 ve 9 Ekspresyon Seviyelerine Etkisi

Kaspaz-3 aktivasyonu, kontrole kıyasla 24 saat boyunca 400 µg/ml’lik bir dozda HCT116 hücrelerinde iki kat artış gösterdi. 600µg/ml uygulamada bu artış kontrole göre yaklaşık 4 kat olmuştur ($p<0.05$). Kontrole kıyasla her iki dozda da kaspaz-8 aktivasyonunda artışlar vardı, ancak bu artışlar anlamlı değildi ($p>0.05$). Kaspaz-3, 9 ve 8 arasındaki bu farklar muhtemelen iki kaspazın farklı yollar tarafından aktif edilmesiyle ilgilidir. Kaspaz-3 ve 9 içsel apoptotik yol ile aktifleşirken kaspaz-8 dışsal apoptotik yol ile aktifleşmektedir (Şekil 4.4).



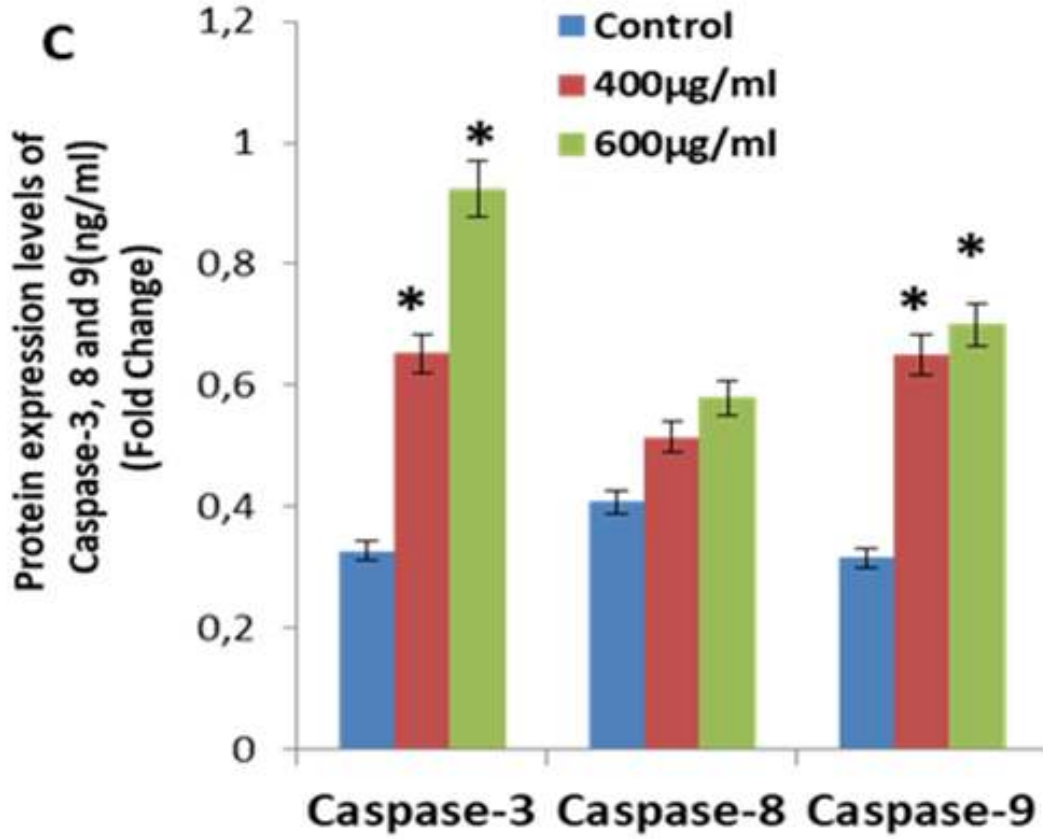
Şekil 4.4. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının HCT116 hücreleri üzerindeki kaspaz-3, 8 ve 9 ekspresyon seviyelerine etkisi (*; $p<0.05$).

Diğer yandan, AGS hücrelerinde üç kaspaz seviyesinin hepsinin önemli aktivasyonu gözlemlendi ve gözlemlenen yüksek seviyede proliferasyon inhibisyonunu doğruladı. 600µg/ml uygulama dozunda kaspaz-3 aktivasyonunda kontrole göre yaklaşık 3.5 kat artış gözlemlenirken, kaspaz-8 ve kaspaz-9 aktivasyonunda yaklaşık 3 kat düzeyinde önemli artışlar gözlemlendi (Şekil 4.5). Kaspaz seviyelerinin hepsinde gözlemlenen bu yükseliş bitki ekstresinin AGS mide kanseri hücrelerinde, hem dışsal hem de içsel apoptotik yolağı harekete geçirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.5. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının AGS hücreleri üzerindeki kaspaz-3, 8 ve 9 ekspresyon seviyelerine etkisi (*; $p < 0.05$).

HCT116 hücrelerinde olduğu gibi HepG2 hücrelerinde de kaspaz-3 ve 9 aktivasyonları önemli ölçüde gözlemlendi. kaspaz-8 ekspresyonu da arttı, ancak anlamlı düzeyde değildi ($p>0.05$). Bunun sebebi olarak muhtemel bir şekilde yine kaspaz-3 ve 9 ile kaspaz-8 arasındaki aktifleşme mekanizmalarındaki farklılıklar gösterilebilmektedir. Kaspaz-9 seviyelerinde 24 ve 48 saatlik bekleme sürelerinde anlamlı düzeyde bir farklılık gözlemlenmemiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitki ekstraktının HepG2 hücreleri üzerindeki kaspaz-3, 8 ve 9 ekspresyon seviyelerine etkisi (*; $p<0.05$).

5. SONUÇ

Çalışmamızda kullanılan hücre dizileri bir bütün olarak GİS kanserlerine ait olsa da aralarında bitki ekstresine verilen yanıt açısından farklılıklar olması doğaldır. Sonuçlarımızda görüldüğü gibi, AGS mide kanseri hücre dizisi üzerinde *Trachystemon orientalis* ekstresi diğer ikisine kıyasla belirgin bir çoğalma önleyici etkiye sahiptir. Ayrıca her üç kaspazın aktivasyonundaki artış da bu sonucu doğrulamada önemlidir.

Mide kanseri konusunda bu bitki ile daha ileri çalışmaların yapılması mantıklı olacaktır. Literatürde *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitkisinin antikanser aktivitesini anlamaya yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yönüyle çalışmamız bu alanda bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Flavonoidler, yüksek antikanser aktivitesine sahip bileşikler olduğundan, elde ettiğimiz yüksek proliferasyon inhibisyonu ve artan kaspaz ekspresyon seviyeleri, bu bitkinin yüksek flavonoid kaynağına bağlanabilir. Bu bitkinin antikanser aktivitesini daha net gösterebilmek için bu zengin flavonoid içeriği daha ileri çalışmalar ve yapısal analizlerle ortaya çıkarılmalıdır.

Trachystemon orientalis (L.) G. Don bitkisinin etkisinin apoptotik yollarla ilgili daha ileri in vivo çalışmalarla belirlenmesi, GİS kanserlerinin moleküler biyolojisini anlamaya yönelik çalışmalara ışık tutacaktır. Ayrıca bölgemizde yaygın olarak bulunan bu bitkinin değerlendirilmesi ve sindirim sistemi üzerine etkilerinin araştırılması literatüre faydalı bilgiler sağlayacaktır.

6. TARTIŞMA

6.1. Antikanser Aktivitesi

Literatürde kayıt altına alınmış önceki çalışmalara bakıldığında, Boraginaceae familyasının üyelerine yapılan analizler sonucunda apoptotik mekanizmaları destekledikleri antikanser, antimitojenik ve aynı zamanda antiproliferatif aktiviteye sahip oldukları gözlemlenmiştir^{104,105}.

Trachystemon orientalis'in antikanser aktivitesi olabileceğine dair birkaç çalışmada gözlemler olmasına rağmen *T. orientalis*'in özellikle antikanser aktivitesinin ölçüldüğü, belirlenmeye çalışıldığı bir antikanser aktivite çalışması bulunamamıştır. Bu nedenle çalışmamız *T. orientalis* bitkisinin antikanser aktivitesinin araştırılması üzerine ilk olma özelliğine sahiptir. *T. orientalis*'in antikanser potansiyeli olduğunu söyleyen çalışmalarda, bitkinin sahip olduğu flavonoid, fenolik bileşik ve antosiyaninler sebebiyle antioksidan özelliğine vurgular yapılmaktadır.

Saçan Ö. tarafından yapılan bir çalışmada *T. orientalis* içerdiği tanen bileşikleri açısından incelenmiştir. Tanenler yapısal olarak polifenollerin en karmaşık grubudur. Geniş halkalıdır, birkaç bitki familyasında bulunurlar. Kanser önleyici aktivite ve antioksidan kapasite sergiledikleri bildirilmektedir. Çalışmadan çıkarılan sonuca göre *T. orientalis* iyi bir tanen kaynağı olarak görülüp, önemli antikanser aktiviteye ve antioksidan potansiyellere sahip olabileceği bildirilmiştir¹⁹.

Polifenolik bileşiklerce zengin beş yerel bitkinin kullanıldığı Kasapoğlu ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada bitkiler, antikarsinojenik ve antimutajenik etkilere sebep olan antioksidan seviyeleri açısından incelenmiştir. Bu çalışmada *T. orientalis* 'de fenolik içerik ve antioksidan seviyeleri açısından yüksek zenginlikte bulunan bitkiler arasına girmiştir¹⁰⁶. Bu yüksek oranlardaki fenolik bileşikler kuvvetle muhtemel olarak *T. orientalis*'in antikanser aktivitesinin sebepleri olarak gösterilebilir.

Bošković ve arkadaşlarının boraginaceae familyasına ait bitkilerle yaptığı bir çalışmada bitki türlerinin antioksidan ve sitotoksik potansiyelleri incelenmiştir. MTT (In vitro sitotoksikite) testi ile sitotoksik aktivitenin test edildiği çalışmada, kanser hücre hatları üzerinde deney yapılmıştır. Yapılan çalışmada HEP 2c (insan gırtlak kanseri) hücre hattı

kullanılmış ve sonuç olarak test edilen bitki özleri, kanser hücreleri üzerinde engelleyici bir etki göstermiştir¹⁰⁷. Bizim çalışmamızda *Trachystemon orientalis* bitki özü, 24 ve 48 saat boyunca 25-600 µg/ml dozlarında üç hücre hattının tümüne uygulandı. HCT116 hücreleri, 24 saatlik uygulama dozlarında proliferasyon seviyelerinde az bir gerileme gösterdi. 600 µg/ml'lik en yüksek uygulama dozunda ise hücrelerde proliferasyonun %35 inhibisyonu gözlemlendi.

AGS hücrelerinde bitki ekstresinin antiproliferatif etkisi oldukça açık bir şekilde gözlemlendi. 24 ve 48 saat boyunca 600 µg/ml uygulama dozunda hücre proliferasyon oranı sırasıyla %48 ve %79 idi.

HepG2 hücrelerinde ise 24 ve 48 saatlik sürelerde 600µg/ml uygulama dozunda %34 ve %59 oranlarında proliferasyon oranlarında inhibisyon gözlemlenmiştir. Hem *T. orientalis*'in hem de Boraginaceae familyasından diğer bitkilerin antiproliferatif etkilerine bakıldığında bu bitki ailesinin bazı türlerinin kanser hücreleri üzerinde inhibe edici özelliğe sahip olduğu söylenebilir. Bu etkinin sebebi olarak familyanın sahip olduğu fenol, antosiyanin, ve flavonoid seviyeleri tahmin edilmektedir.

Rinner ve arkadaşlarının yaptığı farmakolojik bir taramada, *Onosma paniculatum*'un, köklerinden petrol eteri ile elde edilen bitki ekstresi farklı kanser hücre hatlarına karşı güçlü büyüme önleyici aktivite göstermiştir. Bu aynı zamanda kullanılan bitkisel yağ ekstraksiyonlarının kanserle savaşabilen bileşikler içerdiğini de ima eder. Bununla birlikte, geleneksel kaynatmanın kanser hücrelerinin büyümesini engellemede aynı etkiyi göstermediği ortaya çıkarılmıştır. Bu durum da uygulama biçiminin muhtemelen kanserle savaşmada etkili olamayacağını göstermiştir¹⁰⁸.

Bu nedenle *T. orientalis*'in de geleneksel yöntemlerle kullanım şekilleri incelenmelidir. Geleneksel yöntemlerle bitkinin antikanser aktivitesini sürdürmeye devam edip edemediği insanların bitkiden en fazla yararı alabilmesi açısından önemlidir. Eğer varsa *T. orientalis*'in antikanser aktivitesini kaybetmediği bir yöntem önerilmelidir.

6.2. Mide Kanserine Etkisi

Mide kanseri, dünya çapında düzenli malignitelerin çoğunluğu arasında ilk sırada yer almaktadır. Tedavi ve erken tanıda son yıllarda gelişmeler olmasına rağmen ölüm oranları halen yüksektir. Artan kanser oranları da bu tabloyu daha iyi hale getirmemektedir. Radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi gibi kanser tedavilerinde

alışlagelmiş yöntemlerin tek tek yada kombinasyon halinde kullanımı geniş bir yetersizlik ve zararlı sonuçlar dizisi içerir. Malesef bu konudaki onlarca yıllık birikimimiz halen daha istenilen başarıyı gösterememektedir. Bu yüzden de yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır¹⁰⁹.

Boraginaceae familyasından *Onosma dikroanthum* üzerine Hashemi ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada mide kanseri hücre hatları üzerine çalışılmıştır. Yapılan çalışmanın amacı, *O. dichroanthum*'un in vitro sitotoksik ve antikanser etkilerini değerlendirmektir. *O. Dichroanthum*'un taksonomik etkisinin belirlenmesinden sonra, hidroalkolik kök ekstraktının farklı konsantrasyonları çalışmada kullanılmıştır. AGS mide kanseri hücre dizilerini tedavi etmek için üç farklı zaman periyodu (24, 48 ve 72 saat) kullanılmış. 48 saatlik tedavi, hücre sağkalımını etkilerken, 64 µg/mL'lik konsantrasyon, 48 saatlik inkübasyon süresinde IC50 (yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu) olarak belirlendi. 64 µg/mL ile 48 saatlik inkübasyon süresi, normal hücre hattı için güvenli iken kanserli hücre hattı üzerinde en iyi etkinliği göstermiştir¹¹⁰.

Trachystemon orientalis ile AGS hücreleri ile yapılan çalışmamızda, 48 saatlik inkübasyon sürecinde 150µg/ml uygulama dozunda hücre proliferasyonunu inhibisyon oranı %50 olarak bulunmuştur. Yani çalışmamızdaki bitkimizin AGS mide kanseri hücre hatları üzerindeki IC50 oranı 150µg/ml'dir. IC50 seviyesine ulaşmak için gereken ekstre miktarındaki farklılık pek çok mekanizmadan etkilenebilir. Çalışmada kullanılan bitkilerin içeriğindeki farklılıklar bu ayrışmaya sebep olmuş olabilir. Flavonoid, fenol bileşikler ve antosiyaninlerin bitkiler içerisindeki miktar farklılıkları bitkilerin etkinliğini ve etkinlik alanlarını değiştirebilmektedir.

6.3. Kolorektal Kansere Etkisi

Kolorektal kanser dünyada hem erkeklerde hem de kadınlarda teşhis edilen en yaygın kanserlerden biridir. Etkili kanser tarama önlemleri nedeniyle kolorektal kanserin insidansı ve ölüm oranı azalmış olsa da halen daha her yıl yüzbinlerce yeni vaka gözlemlenmektedir. Çevresel ve genetik faktörler ve beslenme kolon kanseri patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Bitkisel gıdalar ağırlıklı, hayvansal gıdalardan, karbonhidratlardan ve trans yağlardan uzak durulduğu bir diyet hastalığının gelişmesini önlemede etkili olacaktır. Bitkilerin ve bitkisel gıdaların ayrıca bunlardan üretilen ürünlerin önemi gün geçtikçe daha da iyi bir şekilde anlaşılmaktadır¹¹¹.

Rosmarinik asit (RA), genellikle Boraginaceae türlerinde ve Lamiaceae'nin Nepetoideae alt familyasında bulunur¹¹². Yapılan çalışmalarda rosmarinik asidin (RA), bir anti-inflamatuvar, anti diyabetik ve anti kanser ajanı olarak kullanıldığı gözlemlenmiştir. RA'nın ayrıca bir anti metastatik etki gösterdiği anlaşılmıştır. Han ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada RA'nın kolorektal kanser hücrelerinin metastatik özelliklerini inhibe edebildiği görülmüştür. RA'nın hücre döngüsü durdurma ve apoptozun indüklenmesi yoluyla KRK hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği anlaşılmıştır. Ayrıca, RA'nın AMPK'yi (aktive edici protein kinaz) aktive ederek KRK hücrelerinin akciğer metastazını inhibe ettiği gözlemlenmiştir¹¹³.

Toplu olarak, bu gözlemler ile bizim KRK hücrelerinde elde ettiğimiz benzerlik düşünüldüğü zaman *Trachystemon orientalis* bitkisinin RA içeriğinin araştırıldığı çalışmalar önem kazanmaktadır. Bulunan sonuçların benzerliği *T. Orientalis*'in de önemli bir rosmarinik asit kaynağı olduğu düşünüldüğünde antiproliferatif etki ve kaspaz seviyelerindeki artış sebebiyle ilgi çekmektedir. Boraginaceae familyasından olan bitkimizin biyomoleküler mekanizmaları daha iyi araştırılmalı ve olası faydalar ilerleyen çalışmalarda gösterilmelidir.

6.4. Hepatoselüler Karsinoma Etkisi

Karaciğer kanseri, yüksek ölüm oranıyla dünya çapında en yaygın kanserlerden biridir. Bununla birlikte, hepatokarsinogenezin biyolojik mekanizması hala belirsizdir. Son yıllarda, tümör kök hücre teorisi kabul edilmiştir. Tümör kök hücreleri kendini yenileme ve plastisite potansiyeline sahiptir ve tümör oluşumunun ve büyümesinin başlamasında belirleyici rol oynarlar. Tümör kök hücreleri, güçlü ilaç direnci ve metastaz özellikleri sergiler, bu nedenle mevcut tedaviler etkisizdir, bu da karaciğer kanserinin tekrarlama ve ilaç direncinin ana nedeni olabilir¹¹⁴.

Bu durum bize karaciğer kanserine karşı yeni ve daha etkili ilaçların araştırılması ve geliştirilmesi konusundaki ihtiyacı göstermektedir. Doğal yollardan elde edilen materyaller ile hazırlanan tedavilerin son yıllardaki artan oranları insanları yeniden doğadan gelen yollara başvurmaya itmektedir. Biz araştırmacılarda doğal terapötik bitkiler ile güncel bilimin bize kazandırdığı bilgileri kullanarak en iyi sonuçları elde etmeye odaklanmalıyız. Bu sebeple çalışmamızda kullandığımız ve coğrafyamızda bolca bulunan *Trachystemon orientalis* bitkisinin antikanser aktivitesi konusunda

olumlu sonuçlar vermesi bizi heyecanlandırırken, çalışmalara devam edilmesi konusunda da itici güç olacaktır.

Poma ve arkadaşlarının Boraginaceae familyasından *Glandora rosmarinifolia* (Ten.) D.C. Thomas bitkisi ile yaptığı bir çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ ile hepatoselüler karsinoma hücre hatlarında çalışılmıştır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda *G. rosmarinifolia*'nın esansiyel yağının, tüm hücre hattı modellerinde konsantrasyona bağlı bir şekilde antiproliferatif etkiye sahip olduğu araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Ayrıca *G. rosmarinifolia* esansiyel yağının sitotoksitesinin, en azından kısmen, bir pro-oksidan mekanizma içerdiği görülmüştür. Poma ve arkadaşlarının sonuçları *G. rosmarinifolia* esansiyel yağının antitümöral ve prooksidan aktivitelerini gösteriyor¹¹⁵.

Boraginaceae familyasında bulunan bitki türlerinin pek çoğu üzerinde buna benzer esansiyel yağlar ile yapılan çalışmalar bulunmaktadır. İlerleyen çalışmalarda *T. orientalis*'in esansiyel yağ bakımından çalışmaları yapılmalı sonuçlar literatüre kazandırılmalıdır. *G. rosmarinifolia* bitkisinde *T. orientalis*'e benzer bir şekilde hepatoselüler karsinom hücre hatlarında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur. Antioksidan aktivitesi ise pro-oksidan seviyesinde gözlemlenmiş ve görece düşük düzeylerde olduğu bildirilmiştir.

6.5. Farklı Kanser Hücre Hatlarında Görülen Etkiler

Barbakadze ve arkadaşlarının Boraginaceae familyasının iki cinsi olan *Symphytum* ve *Anchusa* bitkilerinden elde edilen kafeik asit ile yaptığı bir çalışmada, bu iki türün antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteler ve yara iyileştirici özellik sergilediği belirlenmiş olup, potansiyel bir anti kanser terapötik ajan olarak kabul edilebileceği gözlemlenmiştir. Kanser hücrelerinin metastaz yapma, orijinal tümörlerden kaçma ve vücutta yayılma yeteneği, kanseri inatçı ve ölümcül hale getirir. Yapılan çalışmada bitki türlerinden elde edilen kafeik asit in vitro olarak anti-metastatik özellik göstermiştir. Fare B16 melanom hücrelerinin tümörle aktive olan hepatik sinüzoidal endotele yapışmasını üzerinde saptanabilir herhangi bir etki olmaksızın tamamen ortadan kaldıracıdır¹¹⁶.

Bu çalışmada Boraginaceae familyasından olan türlerden elde edilen asitlerin önemli anti oksidan ve antikanser özellikleri üzerinde durulmuştur. Farklı kanser türlerinde de

Boraginaceae familyasından olan bitkilerin etkilerine güzel bir örnektir. Özellikle metastaz üzerinde gözlemlenen etkiler kanser tedavisinde geliştirilecek yeni tedaviler için önemli bir etmendir. Metastazın önlenmesi veyahut baskılanması terapötik ilaçların en önemli faydalarından biridir. Kendi çalışmamızda gözlemlediğimiz kaspaz seviyelerinde ki yükseliş ve antiproliferatif etkide *T. Orientalis*'in potansiyel olarak benzer özellikler sergileyebilecek olduğunu göstermektedir.

Boraginaceae familyasından *Ehretia microphylla*, öksürük, kanser, alerjiler ve gastrointestinal ve zührevi bozukluklar gibi çok çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için geleneksel bir ilaç olarak yaygın bir Şekilde kullanılmaktadır. Sharma ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada bitkiden elde edilen kloroform ekstresi, HCT-116 (kolon), MCF-7 (göğüs), PC-3 (prostat), A-549 (akciğer) gibi insan kanseri hücre dizilerinden oluşan bir panele karşı in vitro sitotoksik taramaya tabi tutuldu. Bu hücre hatlarında *Ehretia microphylla* kloroform ekstresi kayda değer sitotoksik etki gösterirken. 50 µM'de HL-60 (lösemi) ve MiaPaCa-2 (pankreatik) hücreler güçlü karşı direnç göstermiştir¹¹⁷.

Bu yapılan çalışmada *Ehretia microphylla* HCT-116 (kolon), MCF-7 (göğüs), PC-3 (prostat), A-549 (akciğer) kanserlerinde etkili bir Şekilde antiproliferatif etki gösterirken, HL-60 (lösemi) ve MiaPaCa-2 (pankreatik) kanser hücre hatlarında anlamlı bir değişime neden olamamıştır buda kanserin farklı dokularda farklı hücre tiplerine ve dirençlerine sahip olabileceğini gösteren bir çalışmadır. *T. Orientalis*'in bizim çalışmamızda görüldüğü üzere daha başarılı ve daha az başarılı olduğu hücre hatları vardır. AGS mide kanseri hücre hatlarında en yüksek antiproliferatif etkiyi göstermiştir. Aynı zamanda kaspaz 3-8 ve 9 aktivitelerinin artışında yine AGS mide kanseri hücre hattında en başarılı sonuçlar alınmıştır. Özellikle kaspaz 8 aktivite artışında bu fark gözlemlenmiştir.

Barbakadze ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada *Symphytum asperum*, *S. caucasicum*, *S. officinale*, *S. grandiflorum*, *Anchusa italica*, *Cynoglossum officinale* ve *Borago officinalis*'ten (Boraginaceae) elde edilen suda çözünür yüksek moleküler preparasyonların ana kimyasal bileşeninin yeni bir çeşit poli eter olan poli[3-(3,4-dihidroksifenil)gliserik asit (PDPGA) olduğu bulunmuştur. PDPGA, üç reaktif fonksiyonel grup, iki hidroksil ve bir karboksil grubu içerir. PDPGA antiinflamatuvar ve antioksidan etki göstermektedir. Yapılan çalışmada PDPGA, insan prostat kanseri hücrelerine karşı in vitro ve in vivo antikanser aktivite göstermiştir. PDPGA, kaspazları

aktive ederek apoptotik ölümü indüklemiş ve ayrıca androjen reseptörünü ve prostata özgü antijen ekspresyonunu güçlü bir Şekilde azaltmayı başarmıştır¹¹⁸.

Boraginaceae familyasından farklı bitkilerin birleşik ve benzer etki göstermesi önemli bir bulgudur. Ülkemizde de bolca bulunan bu familyanın üyelerinin biyolojik komponentlerinin araştırılması önemlidir. Kaspazların aktivitesini aktif hale getirerek apoptotik ölümün gerçekleştirilmesi önemli bir anti kanser etkidir. *T. Orientalis*'de farklı kaspaz türlerini indükleyerek anti kanser aktivite göstermiştir. Bu etkide rol oynayan biyolojik mekanizmalar daha iyi araştırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferla J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jema A and Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2021;71(3):209-249.
2. Erdoğan A. Kanser Tanı ve Tedavisinde Manyetik Nanopartikülker. Natural and Applied Sciences Journal. 2018;1(1):23-30.
3. Mattiuzzi C and Lippi G. Current cancer epidemiology. Journal of epidemiology and global health. 2019;9(4):217-222.
4. Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R and Stanisławek A. Breast Cancer—Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies—An Updated Review. Cancers. 2021;13(17):42-87.
5. Pantel K, Alix-Panabières C and Riethdorf S. Cancer micrometastases. Nature reviews Clinical oncology. 2009;6(6):339-351.
6. Olsson M, and Zhivotovsky B. Caspases and cancer. Cell Death & Differentiation. 2011;18(9):1441-1449.
7. Akçin ÖE, Kandemir N and Akçin Y. A morphological and anatomical study on a medicinal and edible plant *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (Boraginaceae) in the Black Sea Region. Turkish Journal of Botany. 2004;28(4):435-442.
8. Özen T. Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. Grasas y aceites. 2010;61(1):86-94.
9. Koca İ, Hasbay İ, ve Bostancı Ş. Samsun ve çevresinde sebze olarak kullanılan bazı yabancı bitkiler ve tüketim Şekilleri. Samsun Sempozyumu. 2011;13:13-16.
10. Özer MÖ and Kibar B. Morphological characterization of kaldırarak (*Trachystemon orientalis* (L.) G. Don.) genotypes collected from Central Black Sea Region. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi. 2018;4(2):178-186.
11. Akçin ÖE, Özbucak T ve Öztürk Ş. Ordu ve Çevresinde Yayılış Gösteren *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (Boraginaceae) Türünün Bazı Mikromorfolojik Özellikleri ve Tüy yapısı. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2019;23(3):787-791.
12. Burton GJ and Jauniaux E. Oxidative stress. Best practice & research Clinical

- obstetrics & gynaecology. 2011;25(3):287-299.
13. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset CLWT. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology. 1995;28(1):25-30.
 14. Peuchant E, Brun JL, Rigalleau V, Dubourg L, Thomas MJ, Daniel JY, Leng JJ and Gin H. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. Clinical biochemistry. 2004;37(4):293-298.
 15. Krishnaiah D, Sarbatly R and Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food and bioproducts processing. 2011;89(3):217-233.
 16. Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MC and Rahu N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. Oxidative medicine and cellular longevity. 2016;2016:1-9.
 17. Huang WY, Cai YZ, Corke H and Sun M. Survey of antioxidant capacity and nutritional quality of selected edible and medicinal fruit plants in Hong Kong. Journal of Food Composition and Analysis. 2010;23(6):510-517.
 18. Amaeze OU, Ayoola GA, Sofidiya MO, Adepoju-Bello AA, Adegoke AO and Coker HAB. Evaluation of antioxidant activity of *Tetracarpidium conophorum* (Müll. Arg) Hutch & Dalziel leaves. Oxidative medicine and cellular longevity. 2011;2011:1-7.
 19. Sacan O. Antioxidant Activity, Total phenol and total flavonoid contents of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. European Journal of Biology. 2018;77(2):70-75.
 20. Maritim AC, Sanders A and Watkins IJB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. Journal of biochemical and molecular toxicology. 2003;17(1), 24-38.
 21. Laura A, Moreno-Escamilla JO, Rodrigo-García Jü and Alvarez-Parrilla E. E. Phenolic compounds. Yahia EM (Ed.). In Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables. England: Woodhead Publishing; 2019: p.253-271.
 22. Middleton EJR. Biological properties of plant flavonoids: an overview. International journal of pharmacognosy. 1996;34(5):344-348.
 23. LaFountain AM and Yuan YW. Repressors of anthocyanin biosynthesis. New Phytologist. 2021;231(3):933-949.

24. Zhang Y, Butelli E and Martin C. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. *Current opinion in plant biology*. 2014;19:81-90.
25. Abdifetah O and Na-Bangchang K. Pharmacokinetic studies of nanoparticles as a delivery system for conventional drugs and herb-derived compounds for cancer therapy: a systematic review. *International journal of Nanomedicine*. 2019;14:56-59.
26. Abotaleb M, Samuel SM, Varghese E, Varghese S, Kubatka P, Liskova A and Büsselberg D. Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*. 2018;11(1):28.
27. Hausman DM. What is cancer?. *Perspectives in biology and Medicine*. 2019;62(4):778-784.
28. Meng X, Zhong J, Liu S, Murray M and Gonzalez-Angulo AM. A new hypothesis for the cancer mechanism. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2012;31(1):247-268.
29. Kamb A, Wee S and Lengauer C. Why is cancer drug discovery so difficult?. *Nature reviews Drug discovery*. 2007;6(2):115-120.
30. Balmain A, Gray J and Ponder B. The genetics and genomics of cancer. *Nature genetics*. 2003;33(3):238-244.
31. Higginson IJ and Costantini M. Dying with cancer, living well with advanced cancer. *European journal of cancer*. 2008;44(10):1414-1424.
32. Garcia-Oliveira P, Otero P, Pereira AG, Chamorro F, Carpena M, Echave J, Fraga-Corral M, Simal-Gandara J and Prieto MA. Status and challenges of plant-anticancer compounds in cancer treatment. *Pharmaceuticals*. 2021;14(2):1-28.
33. Bijlsma MF, Sadanandam A, Tan P and Vermeulen L. Molecular subtypes in cancers of the gastrointestinal tract. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2017;14(6):333-342.
34. Zali H, Rezaei TM, Kariminia A, Yousefi R and Shokrgozar, M. A. Evaluation of growth inhibitory and apoptosis inducing activity of human calprotectin on the human gastric cell line AGS. *Iran Biomed Journal*. 2008;12(1):7-14.
35. Li MM, Yuan J, Guan XY, Ma NF and Liu M. Molecular subclassification of gastrointestinal cancers based on cancer stem cell traits. *Experimental Hematology & Oncology*. 2021;10(1):1-23.
36. Arnold M, Abnet CC, Neale RE, Vignat J, Giovannucci EL, McGlynn KA and Bray F. Global burden of 5 major types of gastrointestinal cancer. *Gastroenterology*. 2020;159(1):335-349.
37. Xie W, Yang T, Zuo J, Ma Z, Yu W, Hu Z and Song Z. Chinese and Global

- Burdens of Gastrointestinal Cancers From 1990 to 2019. *Frontiers in public health*. 2022;10:1-14.
38. Wang LY, Zhao S, Lv GJ, Ma XJ and Zhang JB. Mechanisms of resveratrol in the prevention and treatment of gastrointestinal cancer. *World Journal of Clinical Cases*. 2020;8(12):2425-2437.
 39. Dumic I, Nordin T, Jecmenica M, Stojkovic Lalosevic M, Milosavljevic T and Milovanovic T. Gastrointestinal tract disorders in older age. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019;2019:1-19.
 40. Karczewski J, Begier-Krasińska B, Staszewski R, Popławska E, Gulczynska-Elhadi K and Dobrowolska A. Obesity and the risk of gastrointestinal cancers. *Digestive diseases and Sciences*. 2019;64(10):2740-2749.
 41. Kayamba V. Nutrition and upper gastrointestinal cancers: an overview of current understandings. In *Seminars in Cancer Biology*. 2021;83:605-616.
 42. Scherübl H. Alcohol use and gastrointestinal cancer risk. *Visceral Medicine*. 2020;36(3):175-181.
 43. Tranø G, Wasmuth HH, Sjursen W, Hofslø E and Vatten LJ. Awareness of heredity in colorectal cancer patients is insufficient among clinicians: a Norwegian population-based study. *Colorectal Disease*. 2009;11(5):456-461.
 44. Goral V. Etiopathogenesis of gastric cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2016;17(6):2745-2750.
 45. Suresh D, Srinivas AN and Kumar DP. Etiology of hepatocellular carcinoma: special focus on fatty liver disease. *Frontiers in Oncolog*. 2020;10:1-9.
 46. Markowitz SD, Dawson DM, Willis J and Willson JK. Focus on colon cancer. *Cancer cell*. 2002;1(3):233-236.
 47. Center MM, Jemal A, Smith RA and Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2009;59(6):366-378.
 48. Fearon, E. R. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2011;6:479-507.
 49. Stintzing S. Management of colorectal cancer. *F1000prime reports*. 2014;6:108-120.
 50. Marley AR and Nan H. Epidemiology of colorectal cancer. *International journal of molecular epidemiology and genetics*. 2016;7(3): 105-114.

51. Cirillo F, Catellani C, Sartori C, Lazzeroni P, Amarri S and Street ME. Obesity, insulin resistance, and colorectal cancer: could miRNA dysregulation play a role?. *International journal of molecular Sciences*. 2019;20(12):1-21.
52. Johdi NA, and Sukor NF. Colorectal cancer immunotherapy: options and strategies. *Frontiers in immunology*. 2020;11:1-18.
53. Church J. Molecular genetics of colorectal cancer. In *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. 2016;27(4):172-175.
54. Pino MS and Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2059-2072.
55. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M and Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2012;27(9):1423-1431.
56. Sakai E, Fukuyo M, Ohata K, Matsusaka K, Doi N, Mano Y, Takane K, Abe H, Yagi K, Matsushashi N, Fukushima J, Fukayama M, Akagi K, Aburatani H, Nakajima A and Kaneda A. Genetic and epigenetic aberrations occurring in colorectal tumors associated with serrated pathway. *International journal of cancer*. 2016;138(7):1634-1644.
57. Sanchez JA, Krumroy L, Plummer S, Aung P, Merkulova A, Skacel M, DeJulius KL, Manilich E, Church JM, Casey G and Kalady MF. Genetic and epigenetic classifications define clinical phenotypes and determine patient outcomes in colorectal cancer. *Journal of British Surgery*. 2009;96(10):1196-1204.
58. Ananthakrishnan A, Gogineni V and Saeian K. Epidemiology of primary and secondary liver cancers. In *Seminars in interventional radiology*. 2006;23(01):47-63
59. Befeler AS and Bisceglie AMD. Hepatocellular carcinoma: diagnosis and treatment. *Gastroenterology*. 2002;122(6):1609-1619.
60. Balogh J, Victor III D, Asham EH, Burroughs SG, Boktour M, Saharia A, Li X, Ghobrial RM and Monsour JrHP. Hepatocellular carcinoma: a review. *Journal of hepatocellular carcinoma*. 2016;3:41-53.
61. Yang JD and Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: a global view. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2010;7(8):448-458.
62. McGlynn KA, Petrick JL and El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2021;73:4-13.
63. Cha C and DeMatteo RP. Molecular mechanisms in hepatocellular carcinoma development. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2005;19(1):25-37.

64. Ramakrishna G, Rastogi A, Trehanpati N, Sen B, Khosla R and Sarin SK. From cirrhosis to hepatocellular carcinoma: new molecular insights on inflammation and cellular senescence. *Liver cancer*. 2013;2(3-4):367-383.
65. Bishayee A, The inflammation and liver cancer. Aggarwal BB, Sung B, Gupta SC(Eds.). *Inflammation and Cancer*, USA: Springer Basel, 2014: p.401-435.
66. Villanueva A and Luedde T. The transition from inflammation to cancer in the liver. *Clinical liver disease*. 2016;8(4):89-93.
67. Yu LX, Ling Y and Wang HY. Role of nonresolving inflammation in hepatocellular carcinoma development and progression. *NPJ precision oncology*. 2018;2(1):1-10.
68. Jing Y, Sun K, Liu W, Sheng D, Zhao S, Gao L and Wei L. Tumor necrosis factor- α promotes hepatocellular carcinogenesis through the activation of hepatic progenitor cells. *Cancer letters*. 2018;434:22-32.
69. Luedde T and Schwabe RF. NF- κ B in the liver—linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2011;8(2):108-118.
70. Zhang J, Wang WL, Li Q and Qiao Q. Expression of transforming growth factor- α and hepatitis B surface antigen in human hepatocellular carcinoma tissues and its significance. *World Journal of Gastroenterology*. 2004;10(6):830-833.
71. Cutsem EV, Sagaert X, Topal B, Haustermans K and Prenen H. Gastric cancer. *The Lancet*. 2016;388(10060):2654-2664.
72. Hartgrink HH, Jansen EP, van-Grieken NC and van de Velde CJ. Gastric cancer. *The Lancet*. 2009;374(9688):477-490.
73. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, Braud FD and Cutsem EV. Gastric cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2009;71(2):127-164.
74. Hu B, Hajj NE, Sittler S, Lammert N, Barnes R and Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *Journal of gastrointestinal oncology*. 2012;3(3):251-261.
75. Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, Grieken NCV and Lordick F. Gastric cancer. *The Lancet*. 2020;396(10251):635-648.
76. Lochhead P and El-Omar EM. Gastric cancer. *British medical bulletin*. 2008;85(1):87-100.
77. Oditura M, Galizia G, Sforza V, Gambardella V, Fabozzi A, Laterza MM, Andreozzi F, Ventriglia J, Savastano B, Mabilia A, Lieto E, Ciardiello F and Vita

- FD. Treatment of gastric cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2014;20(7):1635-1649.
78. Joshi SS and Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):264-279.
79. Correa P. Gastric cancer: overview. *Gastroenterology Clinics*. 2013;42(2):211-217.
80. Kakiuchi M, Nishizawa T, Ueda H, Gotoh K, Tanaka A, Hayashi A, Yamamoto S, Tatsuno K, Katoh H, Watanabe Y, Ichimura T, Ushiku T, Funahashi S, Tateishi K, Wada I, Shimizu N, Nomura S, Koike K, Seto Y, Fukayama M, Aburatani H and Ishikawa S. Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma. *Nature genetics*. 2014;46(6):583-587.
81. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014;513(7517):202-209.
82. Zang ZJ, Cutcutache I, Poon SL, Zhang SL, McPherson JR, Tao J, Rajasegaran V, Heng HL, Deng N, Gan A, Lim KH, Ong CK, Huang DC, Chin SY, Tan IB, Ng CCY, Yu W, Wu Y, Lee M, Wu J, Poh D, Wan WK, Rha SY, So J, Salto-Tellez M, Yeoh KG, Wong WK, Zhu Y, Futreal PA, Pang B, Ruan Y, Hillmer AM, Bertrand D, Nagarajan N, Rozen S, Teh BT and Tan P. Exome sequencing of gastric adenocarcinoma identifies recurrent somatic mutations in cell adhesion and chromatin remodeling genes. *Nature genetics*. 2012;44(5):570-574.
83. Weissman B and Knudsen KE. Hijacking the chromatin remodeling machinery: impact of SWI/SNF perturbations in cancer. *Cancer research*. 2009;69(21):8223-8230.
84. Yamamoto H, Watanabe Y, Maehata T, Morita R, Yoshida Y, Oikawa R, Ishigooka S, Ozawa S, Matsuo Y, Hosoya K, Yamashita M, Taniguchi H, Nosho K, Suzuki H, Yasuda H, Shinomura Y and Itoh F. An updated review of gastric cancer in the next-generation sequencing era: insights from bench to bedside and vice versa. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2014;20(14):3927-3937.
85. Dong B, Xie YQ, Chen K, Wang T, Tang W, You WC and Li JY. Differences in biological features of gastric dysplasia, indefinite dysplasia, reactive hyperplasia and discriminant analysis of these lesions. *World Journal of Gastroenterology: WJ*. 2005;11(23):3595-3600.
86. Zou XP, Zhang B, Zhang XQ, Chen M, Cao J and Liu WJ. Promoter hypermethylation of multiple genes in early gastric adenocarcinoma and precancerous lesions. *Human pathology*. 2009;40(11):1534-1542.

87. Compare D, Rocco A, Liguori E, D'Armiento FP, Persico G, Masone S, Coppola-Bottazzi E, Suriani R, Romano M and Nardone G. Global DNA hypomethylation is an early event in *Helicobacter pylori*-related gastric carcinogenesis. *Journal of clinical pathology*. 2011;64(8):677-682.
88. Fukayama M. (2010). Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Pathology international*. 2010;60(5):337-350.
89. Zheng Z, Andersson AF, Ye W, Nyren O, Normark S and Engstrand L. A method for metagenomics of *Helicobacter pylori* from archived formalin-fixed gastric biopsies permitting longitudinal studies of carcinogenic risk. *PLoS One*. 2011;6(10):1-7.
90. Fassan M, Croce CM and Rugge M. miRNAs in precancerous lesions of the gastrointestinal tract. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2011;17(48):5231-5239.
91. Jan R. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2019;9(2):205-218.
92. Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *The American journal of pathology*. 2000;157(5):1415-1430.
93. Dong Y, Chen H, Gao J, Liu Y, Li J and Wang J. Molecular machinery and interplay of apoptosis and autophagy in coronary heart disease. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2019;136:27-41.
94. Jan R. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2019;9(2):205-218.
95. Medema JP, Scaffidi C, Kischkel FC, Shevchenko A, Mann M, Krammer PH and Peter ME. FLICE is activated by association with the CD95 death-inducing signaling complex (DISC). *EMBO J*. 1997;16:2794-2804.
96. Los M, Craen MVD, Penning LC, Schenk H, Westendorp M, Baeuerle PA, Droge W, Krammer PH, Fierst W and Schulze-Osthof K. Requirement of an ICE/CED-3 protease for Fas/APO-1-mediated apoptosis. *Nature*. 1995;375(6526):81–83.
97. Saelens X, Festjens N, Walle LV, Gurr MV, Loo GV and Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene*. 2004;23(16):2861-2874.
98. Schuler M and Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochemical Society Transactions*. 2001;29(6):684-688.

99. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CYJ, Sasaki T, Elia AJ, Cheng HYM, Ravagnan L, Ferri KF, Zamzami N, Wakeham A, Hakem R, Yoshida H, Kong YY, Mak TW, Zúñiga-Pflücker JC, Kroemer G and Penninger JM. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*. 2001;410(6828):549-554.
100. Wei MC, Zong WX, Cheng EHY, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ, Roth KA, Macgregor GR, Thompson BC and Korsmeyer SJ. Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science*. 2001;292(5517): 727-730.
101. Cory S and Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*. 2002;2(9):647-656.
102. Li PF, Dietz R and Harsdorf VR. p53 regulates mitochondrial membrane potential through reactive oxygen species and induces cytochrome c-independent apoptosis blocked by Bcl-2. *The EMBO journal*. 1999;18(21):6027-6036.
103. Rastogi RR. Apoptosis: molecular mechanisms and pathogenicity. *Experimental and clinical sciences*. 2009;8:155-181.
104. Shahat AA, Hidayathulla S, Khan AA, Alanazi AM, AlMeanazel OT, Alqahtani AS, AlSaid MS and Hussein AA. Phytochemical profiling, antioxidant and anticancer activities of *Gastrocotyle hispida* growing in Saudi Arabia. *Acta tropica*. 2019;191:243-247.
105. Erdoğan MK, Geçibesler İH and Behçet L. Chemical constituents, antioxidant, antiproliferative and apoptotic effects of a new endemic Boraginaceae species: *Paracaryum bingoelianum*. *Results in Chemistry*. 2020;2:1-9.
106. Kasapoğlu KN, Kocyigit A, Yenigün VB, Balkan E, Demircan E, Karbancıoğlu-Güler F and Özçelik B. In vitro antioxidant and anticancer activities of some local plants from Bolu Province of Turkey. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings [Electronic Journal]*. <https://www.mdpi.com/journal/proceedings> November 2017;1(10).
107. Bošković I, Đukić D, Mandić L, Mašković P and Govedarica-Lučić A. Antioxidant and Cytotoxic Potential of Selected Plant Species of The Boraginaceae Family. *Poljoprivreda i Sumarstvo*. 2021;67(2):53-61.
108. Rinner B, Kretschmer N, Knausz H, Mayer A, Boechzelt H, Hao XJ, Heuble G, Efferth T, Schaidt H and Bauer R. A petrol ether extract of the roots of *Onosma paniculatum* induces cell death in a caspase dependent manner. *Journal of*

- ethnopharmacology. 2010;129(2):182-188.
109. Tang Q, Xia H, Liang W, Huo X and Wei X. Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Morus nigra* and its anticancer activity of AGS gastric cancer cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2020;202:1-8.
 110. Hashemi MM, Marjani M, Poursharifi N and Marjani A. Effects of *Onosma dichroanthum* Boiss. root extract on AGS human gastric cancer cell-line. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2022;33(4):487-492.
 111. Thanikachalam K and Khan G. Colorectal cancer and nutrition. *Nutrients*. 2019;11(1):1-11.
 112. Petersen M and Simmonds MS. Rosmarinic acid. *Phytochemistry*. 2003;62(2):121-125.
 113. Han YH, Kee JY and Hong SH. Rosmarinic acid activates AMPK to inhibit metastasis of colorectal cancer. *Frontiers in pharmacology*. 2018;9:68-82.
 114. Bai KH, He SY, Shu LL, Wang WD, Lin SY, Zhang QY, Li L, Cheng L and Dai YJ. Identification of cancer stem cell characteristics in liver hepatocellular carcinoma by WGCNA analysis of transcriptome stemness index. *Cancer Medicine*. 2020;9(12):4290-4298.
 115. Poma P, Labbozzetta M, Notarbartolo M, Bruno M, Maggio A, Rosselli S, Sajeve V and Zito P. Chemical composition, in vitro antitumor and pro-oxidant activities of *Glandora rosmarinifolia* (Boraginaceae) essential oil. *PLoS One*. 2018;13(5):1-11.
 116. Barbakadze V, Gogilashvili L, Amiranashvili L, Merlani M and Mulkijanyan K. Novel biologically active phenolic polymers from different species of genera *Symphytum* and *Anchusa* (Boraginaceae). *J Chem Eng Chem Res*. 2014;1:47-53.
 117. Sharma P, Shri R and Kumar S. Phytochemical and In Vitro Cytotoxic Screening of Chloroform Extract of *Ehretia microphylla* Lamk. *Stresses*. 2022;2(4):384-394.
 118. Barbakadze V, Gogilashvili L, Amiranashvili L and Merlani M. Carbohydrate-based biopolyethers: Anticancer poly [3-(3, 4-dihydroxy-phenyl) glyceric acid] from medicinal plants (Boraginaceae). *International scientific-practical symposium*. 2021;2:22-22.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Serkan SOYMAZ

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Düzce Üniversitesi	2022
Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2019
Lise	Hüseyin Yıldız Anadolu	Lisesi	2013

YAYINLAR