



T.C.
BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜRÜNÜCÜ HOROZ İBİĞİ (*Amaranthus blitoides*) BİTKİSİ
MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTIOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK,
ANTİKANSER ve GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

CİHAN KARAMAZAK

DANIŞMAN

DOÇ. DR. SEVGİ ÜNAL KARAKUŞ

BARTIN 2023



T.C.
BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SÜRÜNÜCÜ HORUZ İBİĞİ (*Amaranthus blitoides*) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN
ANTIOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER ve GENOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CİHAN KARAMAZAK

BARTIN 2023

KABUL VE ONAY

Cihan KARAMAZAK tarafından hazırlanan “SÜRÜNÜCÜ HORUZ İBİĞİ (*Amaranthus blitoides*) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTIOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER ve GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, 29.11.2023 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../2023 tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa Sabri GÖK

Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ danışmanlığında hazırlamış olduğum “SÜRÜNÜCÜ HOROZ İBİĞİ (*Amaranthus blitoides*) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTIOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER ve GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

29.11.2023

Cihan KARMAZAK

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tezimin tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen; tecrübe, bilgi ve birikimlerini hoşgörü ile paylaşan ve yardımcı olan danışmanım Sayın Doç Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ hocama ve ortak tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL (Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi)'e;

Antikanser aktivite deneylerinde ve bulguların istatistiksel analiz aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARAKUŞ'a;

Antioksidan aktivitesi çalışmasında ve bulguların değerlendirilmesinde destek olan Sayın Doç. Dr. Parham TASLİMİ'ye;

Tez çalışmalarım sırasında ve yazım aşamasında yardımcı olan arkadaşım Sayın Kubilay ŞAHİN'e;

Son olarak her zaman bana destek ve yardımcı olan, yüksek lisans eğitimim boyunca bazen kendisine zaman ayıramadığımda anlayış gösteren, her zaman yanımda hissettiğim biricik sevgili eşim Setenay KARAMAZAK'a, bugünlere gelmemde büyük katkısı olan, maddi/manevi desteğini esirgemeyen değerli aileme;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Cihan KARAMAZAK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SÜRÜNÜCÜ HOROZ İBİĞİ (*Amaranthus blitoides*) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTIOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER ve GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Cihan KARAMAZAK

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ

Bartın-2023, sayfa: 63

Sürünücü horoz ibiği (*Amaranthus blitoides*), *Amaranthaceae* familyasına ait tek yıllık bir bitkidir. Ülkemizde Marmara, Batı ve Orta Karadeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Ege Bölgeleri'nde kumlu-tınlı ve killi topraklarda yetişebilen istilacı bir türdür. Dünyada ise Orta ve Doğu Amerika Birleşik Devletleri'nin yerli bir türü olduğuna inanılmaktadır ancak neredeyse tüm ılıman bölgelerde doğallaşmıştır.

Ülkemizde ve dünyada birçok kişinin ölümüne neden olan kanser, tedavisi tam olarak geliştirilememiş ve mevcut tedavi yöntemleri ise olumsuz yan etkilerle sonuçlanan bir hastalıktır. Kanser tedavisinde ve olumsuz yan etkilerinin ortadan kaldırılmasında tamamlayıcı ve alternatif tıpta birçok bitkisel yöntem kullanılmakta ve araştırmacılar bu alanda çalışmalarını sürdürmektedir. Bitki kökenli tedavilerin doğal ve etkili olduğu düşüncesiyle birçok dünya ülkesinde fitoterapi kaynaklı tedaviler araştırılmakta ve olumlu etkilerinden dolayı tercih edilmektedir.

Meme kanseri, dünya çapında kadınlarda en sık rastlanan kanser çeşididir, kanser sebepli ölümler arasında da ikinci sıradadır. Meme kanseri hastalığı, ülkelerin genelinde en sık tanı konan kanser türüdür ve 110 ülkede kanser ölümlerinde ilk sırada yer almaktadır. Ülkemize

baktığımızda ise tıpkı dünya çapında olduğu gibi en sık rastlanan kanser çeşidi meme kanseridir. Bu kanser çeşidi, çok az da olsa erkeklerde de görülmektedir, kadınlarda her 100 ila 200 yeni meme kanseri vakasına karşılık erkeklerde bu sayı sadece birdir.

Bu çalışmada, sürünücü horoz ibiğinden elde edilen bitki ekstraktının antioksidan ve antikolinergik özellikleri ayrıca MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkileri incelenmiştir. Bitkinin antioksidan özelliklerini araştırmak amacıyla Kuprak testi uygulanmıştır, antikolinergik etkilerini araştırmak amacıyla kolinesterazlar (AChE ve BChE) kullanılıp standart inhibitör Takrin ile karşılaştırılmıştır. Bitkinin sitotoksik etkilerini incelemek amacıyla WST-1 testi, genotoksik etkilerini incelemek amacıyla ise Komet testi uygulanmıştır.

Bitkinin antioksidan özelliklerini araştırmak amacıyla yapılan Kuprak testinde ölçülen absorbans değerleri incelendiğinde *Amaranthus blitoides* bitki özütünün bakır iyonlarını indirgeme kapasitesinin konsantrasyona bağlı olarak doğru orantılı bir şekilde yükseldiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ekstraktın ve standart antioksidanlardan bazılarının kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitelerinin sıralanışı Butillendirilmiş hidroksianisol (BHA) > Butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) > α -Tokoferol > Troloks > *Amaranthus blitoides* şeklindedir.

Bitkinin antikolinergik etkilerini araştırmak amacıyla yapılan kolinesterazların Takrin ile karşılaştırılmasında *Amaranthus blitoides*'in AChE ve BChE enzimlerinin klasik inhibitörü Takrin ile karşı inhibisyon etkisi karşılaştırılmış ve her iki enzime göre de daha yüksek etkinlik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Sitotoksik etkilerini araştırmak için yapılan WST-1 testinden elde edilen sonuçlara göre 1 ve 5 ppm'lik konsantrasyonlarda hücre canlılığının çok az da olsa arttığı (1 ppm: %104,4; 5ppm: %102,64), daha sonraki konsantrasyonlarda ise konsantrasyonun artmasına bağlı olarak yüzde canlılığının giderek azaldığı görülmüştür. *Amaranthus blitoides*'e ait IC_{50} değeri ise 63,73 μ g/mL olarak hesaplanmıştır.

Genotoksik etkilerini araştırmak için yapılan Komet testindeki görüntülerde ekstrakt konsantrasyonunun arttıkça MCF-7 hücrelerindeki DNA hasarının da doğru orantılı şekilde arttığı gözlemlenmiştir ve bitkinin yüksek konsantrasyonlarda genotoksik bir etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Amaranthus blitoides*, Antikolinergik, Antioksidan, Fitoterapi, Genotoksisite, MCF-7, Sitotoksisite.

Bilim Alan Kodu: 20325



ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT, ANTICHOLINERGIC, ANTI-CANCER AND GENOTOXIC EFFECTS OF THE CREEPING COCK'S COMB (*Amaranthus blitoides*) PLANT FRUIT EXTRACT

Cihan KARAMAZAK

Bartın University

Graduate School

Department of Biology

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ

Bartın-2023, pp: 63

Creeper amaranth (*Amaranthus blitoides*) is an annual plant belonging to the *Amaranthaceae* family. It is an invasive species that can grow in sandy-loam and clay soils in Marmara, Western and Central Black Sea, Central Anatolia, Eastern Anatolia and Aegean Regions in our country. Around the world, it is believed to be a native species of the Central and Eastern United States but has naturalized in nearly all temperate regions.

Cancer, which causes the death of many people in our country and in the world, is a disease whose treatment has not been fully developed and current treatment methods result in negative side effects. Many herbal methods are used in complementary and alternative medicine in cancer treatment and elimination of its negative side effects, and researchers continue their studies in this field. With the thought that plant-based treatments are natural and effective, phytotherapy-based treatments are being researched in many world countries and are preferred because of their positive effects.

Breast cancer is the most common type of cancer in women worldwide and is the second leading cause of cancer-related death. Breast cancer is the most frequently diagnosed type of cancer in all countries and ranks first in cancer deaths in 110 countries. When we look at our country, the most common type of cancer is breast cancer, just as it is around the world. This type of cancer is also seen in men, although very rarely, for every 100 to 200 new cases of breast cancer in women, this number is only one in men.

In this study, the antioxidant and anticholinergic properties of the plant extract obtained from the creeping rooster ibik, as well as the cytotoxic and genotoxic effects of the MCF-7 cell line were investigated. In order to investigate the antioxidant properties of the plant, the Cuprac test was applied, cholinesterases (AChE and BChE) were used to investigate their anticholinergic effects and compared with the standard inhibitor Tacrin. In order to study the cytotoxic effects of the plant, the WST-1 test was applied, and the Comet test was applied to study the genotoxic effects of the plant.

Those who can contain the right ones with the ability of reducing copper ions of the *Amaranthus blitoides* extract, which uses the absorbance values that measure in the Kuprak test, which is carried out to investigate the antioxidant properties of the plant. According to the results obtained, the order of the cupric ions (Cu^{2+}) reduction services of the extract and some of the standard antioxidants is Butylated hydroxyanisole (BHA) > Butylated hydroxytoluene (BHT) > α -Tocopherol > Trolox > *Amaranthus blitoides*.

When the inhibition effect of *Amaranthus blitoides* against Tacrin, which is the standard inhibitor of AChE and BChE enzyme, was examined in comparison of cholinesterases made to investigate the anticholinergic effects of the plant, it was observed that *Amaranthus blitoides* has higher activity than the two enzymes.

According to the results obtained from the WST-1 test conducted to investigate its cytotoxic effects, cell viability increases slightly at 1 and 5 ppm concentrations (1 ppm: 104,45 %, 5ppm: 102,65%) and at later concentrations, depending on the increase in concentration. It was observed that the percent vitality gradually decreased. The IC_{50} value of *Amaranthus blitoides* was calculated as 63,73 $\mu\text{g/mL}$.

In the Comet test performed to investigate its genotoxic effects, it was observed that as the extract concentration increased, DNA damage in MCF-7 cells increased in direct proportion, and it was observed that the plant showed genotoxic effects at high concentrations.

Keywords: *Amaranthus blitoides*, Anticholinergic, Antioxidant, Cytotoxicity, Genotoxicity, MCF-7, Phytotherapy.

Science Field Code: 20325



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
BEYANNAME	iii
ÖNSÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLOLAR DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Amaranthus blitoides</i> Bitkisinin Genel Özellikleri	4
2.1.1. <i>Amaranthaceae</i> Familyası.....	4
2.1.2. <i>Amaranthus blitoides</i> (Sürünücü Horoz İbiği)	4
2.1.2.1. <i>Amaranthus blitoides</i> 'in Bilimsel Sınıflandırması.....	7
2.2. Kanser ve Tarihi	7
2.3. Kanser Hastalığında Fitoterapi	13
2.4. Meme Kanseri	14
2.4.1. Meme Kanserinin Tipleri	17
2.4.2. Meme Kanseri Hastalığında Kullanılan Tedavi Yöntemleri	18
2.4.2.1. Lokal (Bölgesel) Tedavi.....	18
Cerrahi tedavi	18
Radyoterapi	19
2.4.2.2. Sistemik Tedavi.....	19
Kemoterapi	19
Endokrin tedavi.....	21
2.5. Serbest Radikaller Hakkında Bazı Genel Bilgiler	21
2.6. Antioksidanlar Hakkında Bazı Genel Bilgiler	22
2.6.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	23
2.6.2. Antioksidanların Etkisi.....	24
2.6.3. Antioksidan Aktivitesi Belirlemede Kullanılan Bazı Yöntemler	25
2.6.3.1. Kuprak Metodu	25

2.7. Antikolinerjik Aktivite	26
2.8. Antikanser Aktivite.....	27
2.8.1. Sitotoksik Aktivite	27
2.8.1.1. Sitotoksisite Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	28
WST-1 Testi Yöntemi	28
2.9. Genotoksik Aktivite	29
2.9.1. Genotoksisite Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	29
2.9.1.1. Komet Testi	30
2.10. Çalışmanın Amacı.....	31
3.LİTERATÜR ÖZETLERİ	33
4. MATERYAL VE METOT	35
4.1. <i>Amaranthus blitoides</i> Örneklerinin Toplanması ve Bitki Materyalinin Hazırlanması	35
4.2. Ekstrakt Hazırlanması ve Çözelti Elde Edilmesi.....	35
4.3. Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi.....	36
4.3.1. Kuprak Metodu	36
4.4. Antikolinerjik Aktivite	36
4.4.1. Asetilkolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi	36
4.4.2. Bütirikolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi...	37
4.5. Sitotoksik Etkilerin İncelenmesi.....	38
4.5.1. WST-1 Testi	38
4.6. Genotoksik Etkilerin İncelenmesi	39
4.6.1. Komet Testi.....	39
5. BULGULAR.....	41
5.1. Kuprak Metodu.....	41
5.2. Asetilkolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi	41
5.3. Bütirikolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi	42
5.4. WST-1 Testi.....	43
5.5. Komet Testi	45
6. TARTIŞMA	49
7.SONUÇ VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
2.1: <i>Amaranthus blitoides</i>	5
2.2: <i>Amaranthus blitoides</i> 'in dişi ve erkek çiçekleri.....	6
2.3: <i>Amaranthus blitoides</i> 'in tohum görünümü	6
2.4: Tümörlü bir hücre.....	8
2.5: Dünya genelinde 2020 yılında kadın ve erkek bireylerde yeni kanser vakalarının yüzdeleri.	11
2.6: Dünya genelinde 2020 yılında kadın ve erkek bireylerde yeni kanser ölümlerinin yüzdeleri	11
2.7: Ülkemizde erkek bireylerde en çok görülen bazı kanserlerin yüzde dağılımları.....	12
2.8: Ülkemizde kadın bireylerde en çok görülen bazı kanserlerin yüzde dağılımları.....	13
2.9: Kadın bireylerde meme kanserinin yaşa bağlı hızları(Türkiye Birleşik Veri Tabanı)..	16
2.10: Meme kanseri gelişimini etkileyen risk faktörleri.....	17
2.11: Meme kanserinin tipleri	17
2.12: Komet yöntemi genel basamakları.....	31
4.1: Soxhlet ekstraksiyon cihazı.....	35
4.2: Asetilkolinesteraz aktivitesinin Ellman metoduyla tayini.....	37
5.1: <i>Amaranthus blitoides</i> (AB) ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitelerinin standart antioksidanlar (α -tokoferol, troloks, Butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), Butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ile karşılaştırılması.....	41
5.2: AChE için grafikler	42
5.3: BChE için grafikler	43
5.4: <i>Amaranthus blitoides</i> 'e ait hücre canlılığı grafiği.....	44
5.5: <i>Amaranthus blitoides</i> 'e ait IC_{50} değerlendirmesi.....	44
5.6: 1 ppm konsantrasyonda farklı derecelerdeki DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü	45
5.7: 10000 ppm konsantrasyonda farklı derecelerdeki DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü.	46

5.8: 50000 ppm konsantrasyonda farklı derecelerdeki DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü. 47



TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
No	No
2.1: <i>Amaranthus blitoides</i> bitkisinin bilimsel sınıflandırması	7
2.2: Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan, kadınlarda en çok görülen beş kanser çeşidinin dağılımı.....	15
2.3: Endojen antioksidanlar	23
2.4: Eksojen antioksidanlar	24
4.1: Kontrol küvetinde ve bitki özütünün bulunduğu küvetteki kimyasal maddeler ve miktarları	37
5.1: <i>Amaranthus blitoides</i> 'e ait hücre canlılık oranları	44
5.2: <i>Amaranthus blitoides</i> 'e ait genotoksisite (Komet Testi) değerlendirme sonuçları	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: yüzde
cm	: santimetre
dk	: dakika
g	: gram
M	: mol
mA	: mikroamper
mL	: mililitre
mm	: milimetre
mM	: milimol
nm	: nanometre
°C	: santigrat derece
ppm	: parts per million (milyonda bir)
px	: piksel
V	: volt
µg	: mikrogram
µL	: mikrolitre

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AJCC	: Amerika Birleşik Kanser Komitesi
APG II	: Evrimsel Kapalı Tohumlu Gelişimi Topluluğu II

BT	: Bilgisayarlı tomografi
CO ₂	: Karbondioksit
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
FBS	: Fetal Sığır Serumu
GLOBOCAN	: Küresel Kanser Gözlemevi (Global Cancer Observatory)
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IC ₅₀	: İnhibitör Konsantrasyon 50
LMP	: Düşük kaynama dereceli
MÖ	: Milattan önce
MCF-7	: İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı (Michigan Cancer Foundation-7)
MR	: Manyetik rezonans görüntüleme
NMP	: Normal kaynama dereceli
PBS	: Fosfat Tampon Solüsyonu
pH	: Power of Hydrogen
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SR	: Serbest radikaller
TAT	: Tamamlayıcı alternatif tıp
TNM	: Tümör-lenf nodu-metastaz
vb.	: ve benzeri
WST-1	: 2- (4-iyodofenil) -3- (4-nitrofenil) -5- (2,4-disülfopenil) -2 H tetrazolyum monosodyum tuzu hücre proliferasyon testi

1. GİRİŞ

Bitkiler birçok fitokimyasal madde içermektedir ve bazıları da modern ilaçların ham maddesini oluşturmaktadır. Doğada on binlerce bitki vardır ve bu bitkilerin her biri onlarca bileşik içermektedir. Bu bağlamda filozof ve aynı zamanda doktor olarak bilinen İbn-i Sina: “Şifasız hastalık yoktur irade eksikliğinden başka, değersiz bitki yoktur tanınmamasından başka” diyerek bitkilerdeki bu potansiyele dikkat çekmiştir.

Günümüzde hastalıkların önlenmesi ve terapötik amaçlarla doğal ürünler ve tıbbi bitkilerin kullanılması gittikçe artmaktadır. Bitkisel ürünler kolaylıkla erişilebilmekte ve maddi olarak ucuz olmaktadır bunlara ek olarak doğadan gelen zararsızdır diye düşünülmesi bu doğal ürünlerin ve bitkilerin kullanım miktarlarındaki artışın en önemli nedenlerindedir. Yapılan araştırmalara göre bitkisel çay ve ekstraktlar tıbbi amaçlı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. “Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp” (TAT) terimi tedavide daha farklı uygulamaları ve doğal/bitkisel ürünleri kullanmayı tanımlamak için kullanılmaktadır. TAT uygulamaları dünyada birçok ülkede artış göstermektedir ve ülkemizde de özellikle kanser gibi belirli hastalıklarda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bazı bitkisel ürünlerin deney hayvanlarındaki tümörlü hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiği ve kansere karşı kullanılabileceği iddia edilmiştir. Polifenollerin tümörlü hücrelerle muamele edildiklerinde kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkilerinin görüldüğü dolayısıyla da bu bileşiklerin kanser tedavisinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Özkan vd., 2018).

Sürünücü horoz ibiği, *Amaranthaceae* familyasına ait tek yıllık bir bitkidir. Boyu genellikle 20-80 cm kadardır ancak 1 metreye kadar da büyüyebilir. Gövdesi yatık olan bu bitki genellikle kırmızı renkli olup çok dallanır, yaprakları tüysüzdür. Ülkemizde Marmara, Batı ve Orta Karadeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Ege Bölgeleri’nde kumlu-tınlı ve killi topraklarda yetişebilen istilacı bir türdür (URL-1, 2020). Dünyada ise Orta ve Doğu Amerika Birleşik Devletleri’nin yerli bir türü olduğuna inanılmaktadır ancak neredeyse tüm ılıman bölgelerde doğallaşmıştır (Everitt vd., 2007).

Amaranthus blitoides tohumları bazı yerli Amerikan halkı tarafından bir besin kaynağı olarak kullanılmıştır (URL-2, 2020). Zuni halkı başlangıçta tohumlarını çiğ olarak yemiştir ancak daha sonra tohumlarını öğütürerek un haline getirip yemişlerdir (Coxe, 1915).

Ülkemizde ise özellikle Batı Karadeniz Bölgesi'nde yöresel olarak "Darı Mancarı" olarak bilinen *Amaranthus blitoides* yemek olarak tüketilmektedir.

Oksidasyonun engellenmesine veyahut gecikmesine neden olan bileşen grubuna çoğunlukla antioksidan adı verilmektedir (Berger, 2005). Oksidatif stres, oksidanın üretiminin ve yıkımının dengesizliği sonucu meydana gelmektedir. Antioksidan adı verilen maddeler, vücutta yapısal ve fonksiyonel olarak bulunan moleküllerin (protein, lipit, karbonhidrat ve DNA vs.) zarar görmesini engelleyen, düşük konsantrasyonlarda dahi oksidan adı verilen substratlara karşı etkisini gösteren maddelerdir (Vinson, 2006). Antioksidanlar, radikallerle çok hızlı olarak reaksiyona girerler ve otooksidasyonun ilerlemesine engel olurlar (Dündar vd., 1999). Antioksidanların görev ve işlevlerine örnek olarak SR'lerin fazla miktarını etkisizleştirilmesi, SR'lerin verdiği toksik etkilere karşı hücreleri koruması ve hastalıkları önlemeye yardımcı olması sayılabilir (Pham-Huy vd., 2008).

Toksikoloji; zehir bilimi anlamına gelmektedir, zehir ise canlı organizmaya zarar veren herhangi bir maddedir. Uygun şekilde ve yeterli miktarda alınmayan her madde organizmada zehirli bir etki yaratır. Bu etki, herhangi bir yapı değişikliğine yol açabilmekte veyahut biyokimyasal nedenli bir doku bozukluğuna da yol açabilmektedir (Saygı, 2003). Sitotoksikite ise, bir maddenin hücreler için ne kadar toksik olduğunu veyahut olabileceğini tanımlar. Başka bir ifadeyle canlı hücreler üzerindeki toksik etki oranıdır. Sitotoksik maddelere maruz kalma sonucunda kalıcı hücre hasarı ve hatta hücre ölümü meydana gelebilir. Sitotoksik olarak ifade edilebilecek maddeler bazı kimyasalları ve hatta bazen de diğer hücre tiplerini içerebilmektedir (URL-3, 2023).

Genotoksikite; bir hücrenin çekirdeğinde, kromozom ve DNA'nın yapısında oluşan hasarlardır. Bu hasarlara; DNA kırıkları, DNA eklentileri, gen mutasyonları, klastojenite, kromozom anormallikleri ve anöploidi vb. örnek olarak gösterilebilir. Genotoksik etki ise; DNA ve/veya genomun bir kopyasının oluşturulmasına yardımcı olan enzimlerle etkileşim haline girerek mutasyona sebebiyet veren genotoksik maddelerin DNA'da bir hasar meydana getirmesi veyahut bazı değişimlere sebep olması olarak tanımlanabilir (Mortelmans, 2004; Zeiger, 2004; Şekeroğlu vd., 2011).

Bu çalışmada *Amaranthus blitoides* (Sürünücü Horoz İbiği)'in ekstraktının Kuprak yöntemi ile antioksidan, kolinesterazlar Takrin ile karşılaştırılarak antikolinergik etkileri ayırtan

MCF-7 kanserli hücre hattında, WST-1 testi ile sitotoksik, Komet testi ile genotoksik etkilerinin incelenmesi ve bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Amaranthus blitoides* Bitkisinin Genel Özellikleri

2.1.1. *Amaranthaceae* Familyası

Türkçe karşılığı olarak ıspanakgiller olarak bilinen *Amaranthaceae* familyası, 160 cinse ve 2400 türe sahiptir. Bu türlerin çoğu ot ve çalıdan ibaret olmakla birlikte çok azı ağaç ya da sarmaşıktır. Dünyanın hemen hemen her bölgesinde bulunan bu familyaya, başlıca subtropik ve tropik bölgelerde rastlanılır ama genelde pek çok türüne daha serin ya da ılıman bölgelerde de rastlanılmaktadır. *Amaranthaceae* familyası APG II sisteminde *Caryophyllales* takımına yerleştirilmiştir, daha önceden *Chenopodiaceae* içinde yer alan bitkileri de kapsamaktadır (URL-4, 2022).

Amaranthaceae familyasında yapraklar basittir, genellikle karşılıklı olmakla birlikte bazen de birbirine zıttır. Stipüle sahip değildir, şekilleri; düz ya da yuvarlaktır, dişli kenar boşlukları olanlar da mevcuttur bu nedenle son derece değişkenlik gösterir. Yapraklar bazı türlerde ise çok küçük pullar şeklindedir. Genel olarak bazal veya terminal kümelenmeler görülmez (URL-5, 2022).

Çiçekler tek başına bulunabildiği gibi salkım, başak veyahut bileşik salkım gibi toplu halde de bulunabilir. Genellikle çift eşeyli ve aktinomorfiktirler, birkaç türe ait çiçekler ise tek evcikli. Brahtede 4 ila 5 tane petal bulunur ve genelde kaynaşmış haldedir. 1 ila 5 arası stamene sahiptirler, alt durumlu ovaryumun 3 ila 5 birleşik halde bulunan çanak yaprağı vardır. Bu familyanın meyveleri aken, nus veya kapsül şeklinde olmakla birlikte az da olsa agregat meyve şeklinde olabilir (URL-4, 2022).

2.1.2. *Amaranthus blitoides* (Sürünücü Horoz İbiği)

Sürünücü Horoz İbiği, *Amaranthaceae* familyasına ait tek yıllık bir bitkidir. Boyu genellikle 20-80 cm kadardır ancak 1 metreye kadar da büyüyebilir. Gövdesi yatık olan bu bitki genellikle kırmızı renkli olup çok dallanır, yaprakları tüysüzdür (Şekil 2.1). Ülkemizde Marmara, Batı ve Orta Karadeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Ege Bölgeleri'nde kumlu-tınlı ve killi topraklarda yetişebilen istilacı bir türdür (URL-1, 2020). Dünyada ise Orta ve

Doğu Amerika Birleşik Devletleri'nin yerli bir türü olduğuna inanılmaktadır ancak neredeyse tüm ılıman bölgelerde doğallaşmıştır (Everitt vd., 2007).



Şekil 2.1: *Amaranthus blitoides*

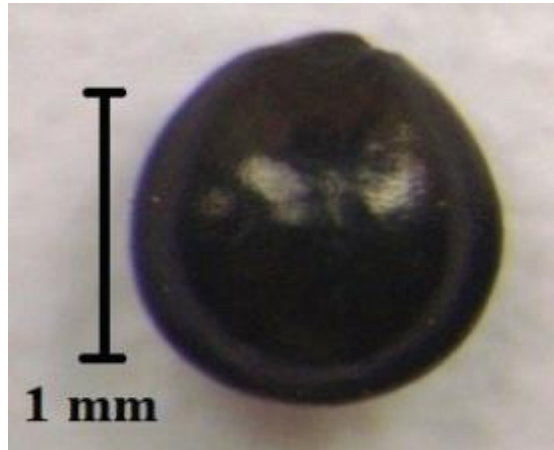
Amaranthus blitoides tohumları bazı yerli Amerikan halkı tarafından bir besin kaynağı olarak kullanılmıştır (URL-2, 2020). Zuni halkı başlangıçta tohumlarını çiğ olarak yemiştir ancak daha sonra tohumlarını öğütürerek un haline getirip yemişlerdir (Coxe, 1915). *Amaranthus blitoides*, *Amaranthaceae* familyasının yenilebilir bir bitkisidir. Yüzyıllardır hem insanlar hem de hayvanlar tarafından önemli yan etkileri olmadan besin olarak kullanılmıştır. Avrupa'dan Almanya, İtalya, Fransa, Hırvatistan, Sırbistan, Karadağ gibi birçok ülkede popüler bir besindir ayrıca Amerika'da da sağlıklı ve organik gıda mağazalarında çeşitli şekillerde yaygın olarak bulunur. Genellikle tohumları un haline getirilir ve bu unlar ekmek, makarna ve diğer unlu mamuller yapmak için kullanılır. Sürünücü horoz ibiğinde gluten bulunmaz (Audino ve Ridge, 2016). Ülkemizde ise özellikle Batı Karadeniz Bölgesi'nde yöresel olarak "Darı Mancarı" olarak bilinen *Amaranthus blitoides* yemek olarak tüketilmektedir.

Amaranthus blitoides, tek evcikli ve ayrı ayrı erkek ve dişi çiçeklere sahiptir (Şekil 2.2). Erkek çiçeklerde 4 ila 5 tane sepal, 3 tane stamen bulunur ve taç yapraklar bulunmaz. Dişi çiçeklerde ise 4 ila 5 tane sepal, 3 stilde bir yumurtalık bulunur ve bunlarda da taç yaprak

bulunmaz. Hem erkek hem de dişi çiçeklerin çanak yaprakları dikdörtgen mızrak şeklindedir. Genellikle güneşli bölgelerde ve nemli topraklarda yetişirler. Yazlık bitkilerdir ve rüzgar yardımıyla tozlaşır. Çiçekler üç tane stigmaya sahiptir, her çiçek bir kapsül oluşturur ve oluşan her kapsül bir tohum bırakır. Tohumlar, yuvarlak, yassı diskler şeklinde, parlak koyu kahverengiden siyaha dönük, yaklaşık 1,1 ila 1,7 mm çapındadır (Şekil 2.3) (Audino ve Ridge, 2016).



Şekil 2.2: *Amaranthus blitoides*'in dişi ve erkek çiçekleri, F: dişi; M: erkek (Mahklouf vd., 2016)



Şekil 2.3: *Amaranthus blitoides*'in tohum görünümü (Mahklouf vd., 2016)

Sürünücü horoz ibiğinin; yapılan çalışmalarda yüzde ağırlık bazına göre süttten daha fazla protein içerdiği, buğdaydan üç kat daha yüksek lif ve beş kat daha yüksek demir içerdiği, yüksek seviyelerde A ve C vitaminleri, potasyum, kalsiyum ve fosfor içerdiği elde edilmiştir. Ayrıca tohumlarının diğer tahıllarda bulunmayan oldukça yüksek seviyede lizin içerdiği de

elde edilen sonuçlar arasındadır. Ek olarak bu bitki karoten, nişasta, proteinler, yağlar, şeker, selüloz, flavonoidler, tanenler, betanin, saponinler, glikoproteinler, β -sitosterol, TRF, demir, mangan, bakır, kobalt, sodyum, potasyum, çinko, kamesterol, stigmasterol gibi birçok makro ve mikro besin içermektedir. Bu makro ve mikro besinler sayesinde analjezik, antiphlogistik ve spazmolitik özellikleri ile uzun zamandır bilinen bir bitkidir. Örnek olarak; flavonoidler serbest radikalleri bağlar ve anti-inflamatuvar, antimikrobiyal ve antiviral etki göstermektedir. Saponinler, anti-inflamatuvar özellik göstermektedir. Bitkide bulunan proteinler ve glikoproteinler ise antimikrobiyal ve ödem önleyici etkilerinin olduğu yapılan çalışmalar neticesinde bulunmuştur. β -sitosterol, prostaglandin metabolizmasına etki ederek anti-inflamatuvar özellik gösteren bir fitosteroldür ve anti-benign prostat hiperplazisi aktivitesine sahip olduğu da yapılan çalışmaların sonuçları arasındadır. Son olarak ise içeriğinde bulunan kamesterol ve stigmasterolün kandaki kolesterol seviyelerini düşürdüğü ve periferik arter ve koroner arter gibi kalp rahatsızlıklarından muzdarip olanlara az da olsa iyi geldiği yapılan çalışmalar sonucu bildirilmiştir (Audino ve Ridge, 2016).

2.1.2.1. *Amaranthus blitoides*'in Bilimsel Sınıflandırması

Amaranthus blitoides'in bilimsel sınıflandırması aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: *Amaranthus blitoides* bitkisinin bilimsel sınıflandırması (URL-6, 2023)

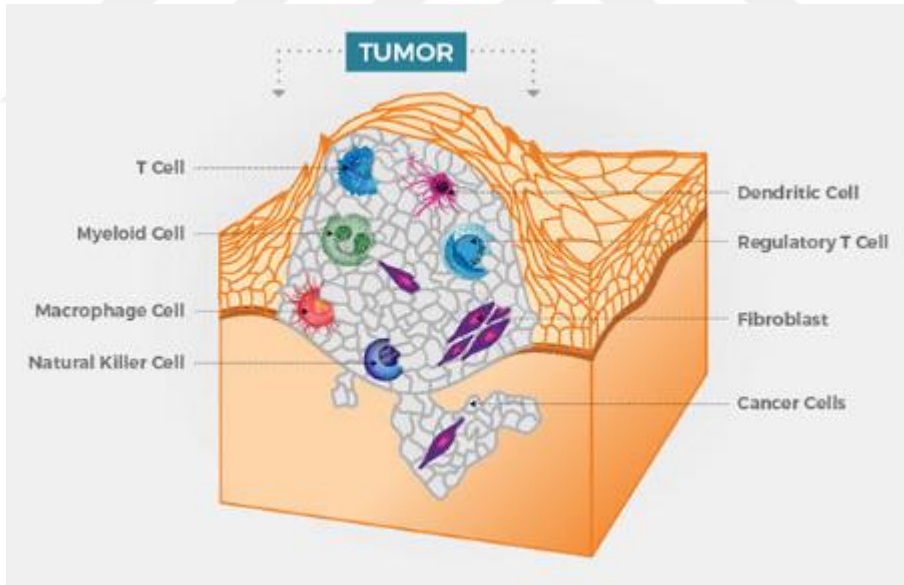
Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i> / Bitkiler
Şube	<i>Tracheophyta</i> / Damarlı Bitkiler
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i> / Çift Çenekliler
Takım	<i>Caryophyllales</i> / Çiçekli Bitkiler
Aile	<i>Amaranthaceae</i> / Ispanakgiller
Cins	<i>Amaranthus</i> L.
Tür	<i>Amaranthus blitoides</i>

2.2. Kanser ve Tarihi

Vücuttaki bazı hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalıp vücudun diğer kısımlarına yayıldığı hastalığa kanser adı verilmektedir. Kanser, birçok hücreden meydana gelen insan vücudunda

rastgele bir bölgede başlayabilmektedir. Normal koşullarda insan hücreleri, vücudun ihtiyacına göre yeni hücreleri oluşturmak (hücre bölünmesi adı verilen süreç) amacıyla oluşur ve çoğalır. Hücreler yaşlandıklarında ya da hasara uğradıklarında ölürlere ve ölen hücrelerin yerine yenileri gelmektedir. Bu yenilenme sürecinde bazen anormal veyahut hasara maruz kalmış hücreler oluşur ve çoğalır; bu hücreler de bir araya gelerek tümörleri oluşturabilmektedir (Şekil 2.4). Oluşan bu tümörler, kanserli (malign: kötü huylu) ya da kanserli değildir (benign: iyi huylu) (URL-7, 2019).

Kanserli tümörler yakın dokulara yayılırlar ayrıca vücudun diğer uzak bölgelerine yayılıp metastaz adı verilen bir süreçle oluşturabilirler. İyi huylu tümörler yakın dokulara yayılmazlar ve cerrahi işlem tümörler ile alındıklarında tekrar oluşmazlar fakat kötü huylu tümörler bazen tekrar oluşabilmektedir. Ancak iyi huylu tümörler bazen oldukça büyürler ve bu aşırı büyüme sonucu yaşamı tehdit eden semptomlara neden olabilirler. Örneğin iyi huylu beyin tümörleri aşırı büyüdüklerinde insan yaşamını ciddi bir şekilde tehdit ederler (URL-7, 2019).



Şekil 2.4: Tümörlü bir hücre (URL-7)

Kanser, insanlar ve hayvanlar için tarih boyunca kayıt altına alınmıştır. Bu nedenle tarihin başlangıcından itibaren insanların kanser hakkında yazmış olmalarına şaşırılmamalıdır. En eski kanser kanıtlarına bakıldığında ise eski Mısır'daki mumyalara, fosilleşmiş haldeki kemik tümörlerine ve eski el yazmalarına rastlanılmaktadır. Mumyalarda osteosarkom

adında bir kemik kanserini akla getiren bir büyümenin olduğu görülmüştür. Baş ve boyun kanserlerinde görülen bir kemik kafatası yıkımı da bulunmuştur. En eski kanser tarifi, MÖ 3000’li yıllarda Mısır’da keşfedilmiştir ancak bu tarifte kanser kelimesi kullanılmamıştır. Bu tarife Edwin Smith Papirus denilen travma cerrahisi üzerine yazılmış eski bir Mısır ders kitabının bir kopyasında rastlanılmıştır. Kitapta memeden koterizasyon yolu ile çıkarılan sekiz adet tümör vakası anlatılmaktadır ve hastalık hakkında “*tedavisi yok*” denilmektedir (URL-7, 2022).

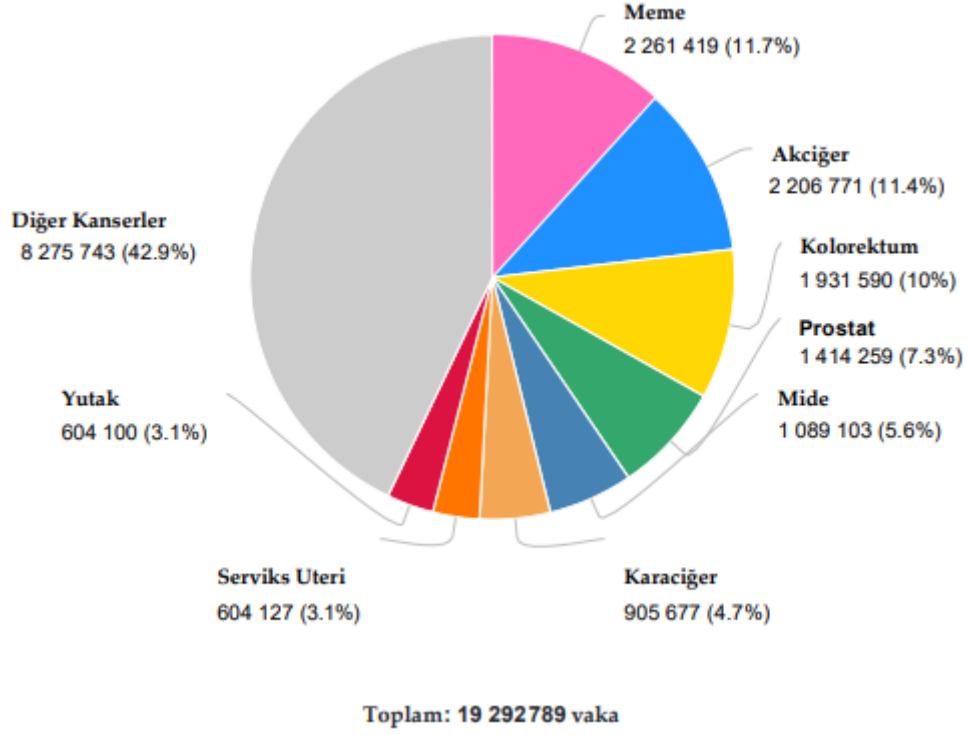
Kanser kelimesinin temeli, “*Tıbbın Babası*“ olarak adlandırılan ve kabul görülen Yunan hekim Hipokrat’a dayandırılmaktadır. Hipokrat’ın, ülser oluşturmayan ya da ülser oluşturan tümörleri adlandırmak için karsinoz ve karsimo terimlerini kullandığı görülmektedir. Yunanca’da bu kelimelerin anlamı yengeç demektir. Büyük olasılıkla kanserden dolayı parmak benzeri yayılmalar yengece benzetildiği için hastalık adı olarak kullanılmıştır. Romalı hekim Celsus (MÖ 25- MÖ 50) daha sonra Yunanca anlamı yengeç olan bu terimi, Latince olarak cancer (kanser) kelimesine çevirmiştir. Daha sonra ise Yunan hekim Galen tümörleri tanımlamak için Yunanca oncos (şişlik) terimini kullanmıştır. Günümüzde bu terimlere baktığımızda Hipokrat ve Celsus’un yengeç benzetmelerinin kötü huylu tümörlerin tanımlanmasında hala kullanıldığını, Galen’in teriminin ise kanser uzmanları: onkologlar tarafından kullanıldığını görmekteyiz (URL-8, 2022).

Kanser, popülasyonlarda ölüm sebeplerinden en tehlikeli sağlık problemlerinden biridir (URL-8, 2022). Belirlenmiş risk faktörleri ırk, yaş, cinsiyet, genetik, vücut kitle indeksi, ailede kanser öyküsü, tütün kullanım öyküsü, fiziksel aktivite eksikliğidir. Ancak yine de bunların birçoğunun nedensel etkisi belirsizliğini korumaktadır. Risk faktörlerinin tanımlanması, çoğunlukla bireysel risk faktörlerinin etkisi, doktorlara düşük risk, orta risk ve yüksek risk kategorilerine ayırma konusunda rehberlik edecek ve önleyici stratejiler ortaya çıkaracaktır. Hastalar genel olarak önerilere uymakta güçlük çekerler ve birçok kişi, özellikle kentleşmeden dolayı obezdir, sigara içmektedir ve fiziksel aktivite eksikliği yaşamaktadır. Önleyici stratejiler büyük ölçüde yaşam tarzına odaklanmaktadır ve ilaçlar, vitaminler veya diğer gıda bileşenleriyle yapılan takviye çalışmaları yeni başlayan kanseri azaltma konusunda sonuçsuz kalmaktadır (Wouter vd., 2019).

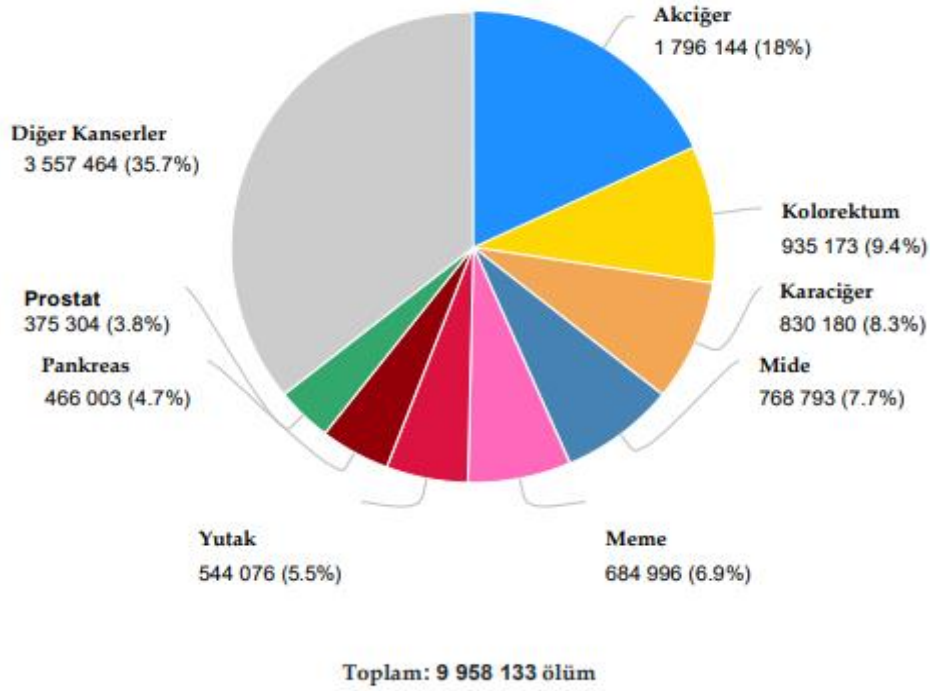
Tümörlerin sınıflandırılması, konumlandıkları ya da orijin aldıkları dokuya göre yapılmaktadır. Kökeni meme, deri, ürogenital dokular gibi epitel hücreler olan tümörler

karsinom; kemik, kırık ve kas gibi mezoderm hücreler sarkom; salgı dokuları olanlar ise adenokarsinom olarak adlandırılmaktadır. Lökosit ve lenfositlerin kontrolsüz çoğalması sonucunda ise lösemi ve lenfoma oluşmaktadır (Dilsiz, 2009).

Kanser türlerinin çoğu, hücredeki düzenleyici yolları ve DNA uygunluğunu etkilemektedir. Yapılan çalışmaların çoğunda, kanser hücrelerinin ve tümör kütlelerinin neden olduğu moleküler bozuklukların düzeltilmesine odaklanılmıştır. 2020'de dünya genelinde 19,3 milyona yakın yeni kanser teşhisi konulmuştur, kanser teşhisi konan hastalarda yaklaşık olarak 10 milyon vaka ölümle sonuçlanmıştır. Yine aynı yılda yaklaşık olarak tahmin edilen 2,3 milyona yakın yeni vaka (tüm yeni teşhislerin %11,7'sini oluşturmaktadır) ile kadınlarda görülen meme kanseri, önceki yıllarda yeni teşhis konulan kanser türlerinde ilk sırada yer alan akciğer kanserinin (%11,4), önüne geçmiştir. Daha sonraki sıralama ise %10 ile kolorektal, %7,3 ile prostat ve %5,6'lık oranla mide kanserleri şeklindedir (Şekil 2.5). Akciğer kanseri, kanser ölümlerinin başlıca nedenidir ve toplam kanser ölümlerinin %18'i bu kanser türünden kaynaklıdır, daha sonra akciğer kanserini %9,4 ile kolorektal, %8,3 ile karaciğer, %7,7 ile mide ve %6,9'luk bir oranla kadın meme kanserleri izlemektedir (Şekil 2.6). Erkek bireylerde en fazla görülen kanser türü akciğer kanseri olup kansere bağlı ölümlerde ilk sıradadır. İnsidans sıralamasında akciğer kanserinden sonra ise prostat ve kolorektal kanseri gelmekte olup, mortalite sıralamasında ise akciğer kanserini karaciğer ve kolorektal kanseri takip etmektedir. Kadın bireylerde ise en fazla görülen kanser çeşidi meme kanseridir ve kansere bağlı ölümlerde ilk sırada yer almaktadır. Kadın bireylerdeki kanser insidans sıralaması meme kanseri, kolorektal ve akciğer kanseridir, mortalite sıralaması ise meme, akciğer ve kolorektal kanseri şeklindedir. Rahim ağzı kanserinin ise insidans ve mortalite olarak dördüncü sırada olduğu görülmektedir. En fazla teşhis konan kanser vakaları ve bu vakalara bağlı ölümlerin en temel nedenleri arasında ekonomik gelişme dereceleri ve sosyal yaşam tarzlarına bağlı olarak ülkeler arasında büyük farklılıklar gözlenmektedir (Sung vd., 2021).



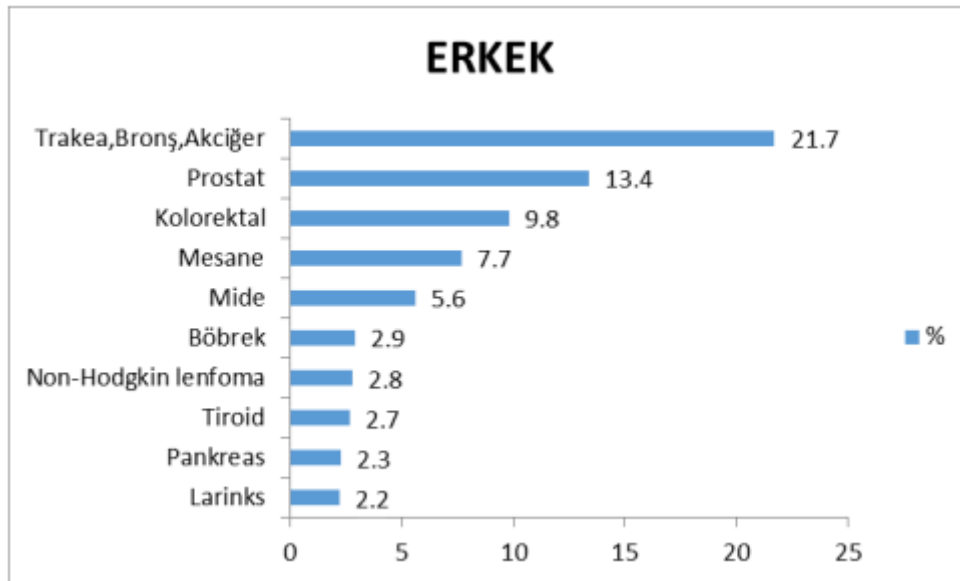
Şekil 2.5: Dünya genelinde 2020 yılında kadın ve erkek bireylerde yeni kanser vakalarının yüzdeleri. Kaynak: GLOBOCAN 2020 (Sung vd., 2021)



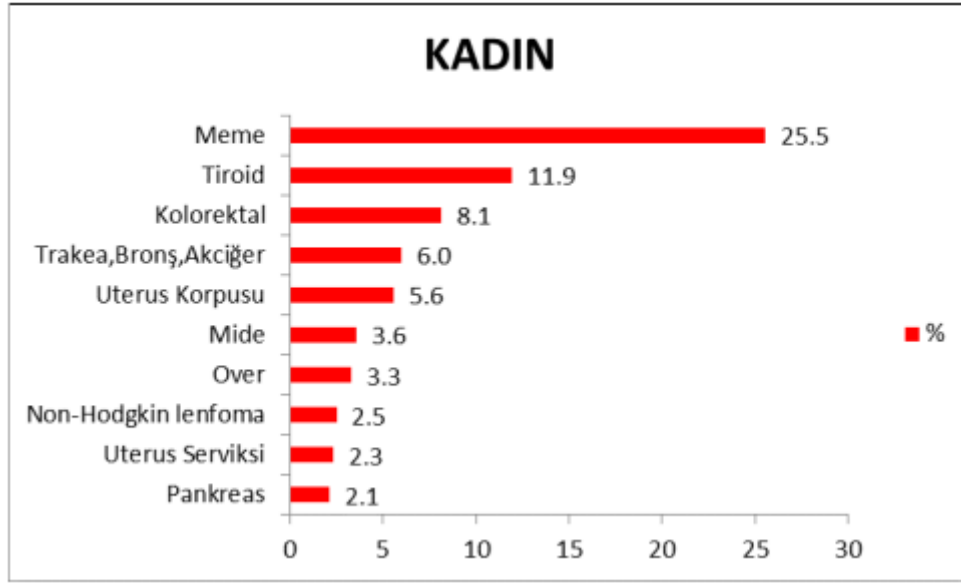
Şekil 2.6: Dünya genelinde 2020 yılında kadın ve erkek bireylerde yeni kanser ölümlerinin yüzdeleri. Kaynak: GLOBOCAN 2020 (Sung vd., 2021)

Kanser hastalığı, dünyada ve ülkemizde görülen ölüm sebepleri arasında ikinci sırada bulunmaktadır. Dünya çapında yaklaşık olarak görülen her altı ölüm vakasından biri, ülkemizde ise her beş ölüm vakasından biri kanser hastalığı sebebiyledir (URL-9; URL-10, 2022). Kansere bağlı ölümlerin yaklaşık olarak üçte biri tütün ve alkol kullanımı, yetersiz fiziksel aktivite, yüksek beden-kütle endeksi (obezite), meyve ve sebze az tüketme gibi risk faktörlerinden kaynaklanmakta olup bu risk faktörlerinden kanser için en önemlisi ve kanser ölümlerinin yaklaşık olarak %22'sinden sorumlu olan tütün kullanımıdır (URL-9, 2022).

Kanserin insidans hızlarına ve profillerine değinecek olursak, gelişmiş ülkeler ile az gelişmiş ülkeleri kıyasladığımızda değişiklik gösterebilir. Örneğin, Orta ve Doğu Avrupa'da erkek bireylerde en çok akciğer kanseri ve prostat kanseri görülürken, kadın bireylerde ise meme kanseri ve kolorektal kanseri görülmektedir; ABD'de erkek bireylerde en fazla prostat ve akciğer kanseri, kadınlarda ise en çok meme kanseri ve akciğer kanseri görülmektedir. Batı Asya ülkelerinde ise erkek bireylerde sıralama akciğer, prostat ve kolorektal kanseri iken, kadın bireylerde meme kanseri ve kolorektal kanseri en çok görülmektedir. Ülkemize bakacak olursak erkeklerde en fazla akciğer, prostat ve kolorektal kanseri görülürken (Şekil 2.7), kadınlarda ise daha çok meme kanseri, tiroit ve kolorektal kanseri görülmektedir (Jemal vd., 2006; URL-10, 2022) (Şekil 2.8).



Şekil 2.7: Ülkemizde erkek bireylerde en çok görülen bazı kanserlerin yüzde dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)



Şekil 2.8: Ülkemizde kadın bireylerde en çok görülen bazı kanserlerin yüzde dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)

2.3. Kanser Hastalığında Fitoterapi

Günümüzde hastalıkların önlenmesi ve terapötik amaçlarla doğal ürünler ve tıbbi bitkilerin kullanılması gittikçe artmaktadır. Bitkisel ürünler kolaylıkla erişilebilmekte ve maddi olarak ucuz olmaktadır bunlara ek olarak doğadan gelen zararsızdır diye düşünülmesi bu doğal ürünlerin ve bitkilerin kullanım miktarlarındaki artışın en önemli nedenlerindedir. Yapılan araştırmalara göre bitkisel çay ve ekstraktlar tıbbi amaçlı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. “*Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp*” (TAT) terimi tedavide daha farklı uygulamaları ve doğal/bitkisel ürünleri kullanmayı tanımlamak için kullanılmaktadır. TAT uygulamaları dünyada birçok ülkede artış göstermektedir ve ülkemizde de özellikle kanser gibi belirli hastalıklarda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bazı bitkisel ürünlerin deney hayvanlarındaki tümörlü hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiği ve kansere karşı kullanılabileceği iddia edilmiştir. Polifenollerin tümörlü hücrelerle muamele edildiklerinde kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkilerinin görüldüğü dolayısıyla da bu bileşiklerin kanser tedavisinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Özkan vd., 2018).

Fitoterapi, tümörün semptomatik tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır bu nedenle araştırmacıların, araştırmalarını bitki kökenli antikanserojenik alanda yapmaya sevk etmiştir (Pandey vd., 2017).

Fitoterapide kullanılan bitkilerin, kanserde maligniteye karşı savunmada etkili olan detoksifikasyonun artırılmasında, bazı hormonların, enzimlerin olumsuz etkilerinin, kemoterapinin ve/veya radyoterapinin olumsuz etkilerinin ve komplikasyonların azaltılmasında, ayrıca vücudun bağışıklık fonksiyonunu iyileştiren hücrelerin biyolojik etkilerinde etkili olduğu görülmektedir (Lopes, Dourado ve Oliveira 2017).

Fitoterapötik ürünlerin kullanım nedenleri arasında, hastalığın semptomlarını ortadan kaldırmak ve hastalığı önlemek gibi yaklaşımlar söz konusudur.

2.4. Meme Kanseri

Meme kanseri hastalığı, genellikle lobül ile terminal duktusun (süt aktaran kanal sistemi) birleşme yerinde bulunan epitelden köken alarak oluşan bir adenokanser türüdür. Meme kanserinin bir çeşidi olan invaziv duktal kanser oluşana kadar ilk olarak duktus epiteli, daha sonra atipik duktal hiperplazi ve son olarak duktal karsinoma insitu gibi evrelerden geçer. Bu dönüşüm onlarca yılda gerçekleşir. İlk zamanlarda duktus içerisinde sınırlı halde bulunan kanser hücreleri, daha sonra kendi bazal membranlarından ilerleyerek bağ dokunun içerisine girmektedirler. Bu süreçte kanserli hücreler, lenfoidlerle ve kan damarları ile karşılaşarak metastaz yapabilecek yeteneğe sahip olurlar (başka doku ve organlara yayılırlar). Bir gram meme kanserli dokunun oluşabilmesi için gereken sürenin sekiz yıl olduğu yapılan tahminler arasındadır, fakat bu durum her tümör için geçerli değildir. Tümörden bazıları çok daha küçükken metastaz yapabilme özelliğinde iken bazılarının ise metastaz yapabilmesi için 3-4 cm çapa ulaşmaları gerekmektedir. Bu durum meme kanserinin tek bir hastalığın yanı sıra bir hastalık topluluğu olmasına neden olmaktadır. Eğer meme kanseri tedavi edilmezse, biyolojik özelliğine göre uzak organlara doğru metastaz yaparak ölümle sonuçlanmaktadır. Klinik tanı konulduktan sonra ortalama yaşam süresi beş yıldır ve ölümler genelde organ metastazlarından kaynaklanır. Kemik metastazlarında yaşam süresi daha uzun olduğu halde akciğer, karaciğer, beyin gibi organlara doğru metastaz görüldüğüne yaşam süresi çok daha kısadır hatta ayları geçmez. Ayrıca uzak organlara doğru metastaz görüldüğünde günümüzde kesin bir tedavisi yapılamamaktadır (Aydıntuğ, 2004).

Meme kanseri, yüksek mortalite ve morbidite oranı nedeniyle kadınlar arasında önde gelen bir sağlık sorunudur. Metastatik meme kanserinde beş yıllık sağkalım oranı, adjuvan kemoterapiyle bile %30'un altındadır (Riggio vd., 2021).

2020 yılında dünya çapında yeni tanı konulan meme kanseri vakaları yaklaşık olarak 2,3 milyon ve kadınlar arasında görülen yaklaşık olarak kanser vakalarının dörtte birini oluşturmaktadır. Meme kanseri hastalığı, ülkelerin genelinde en sık tanı konan kanser türüdür ve 110 ülkede kanser ölümlerinde ilk sırada yer almaktadır (Sung vd., 2021). Ülkemize baktığımızda ise tıpkı dünya çapında olduğu gibi en sık rastlanan kanser çeşidi meme kanseridir (Tablo 2.2) (URL-10, 2022). Meme kanseri, çok az da olsa erkekler bireylerde de görülmekte olup, kadın bireylerdeki yeni vakalara göre kıyaslandığında bu oran %0,5 ila %1'dir (Aydıntuğ, 2004).

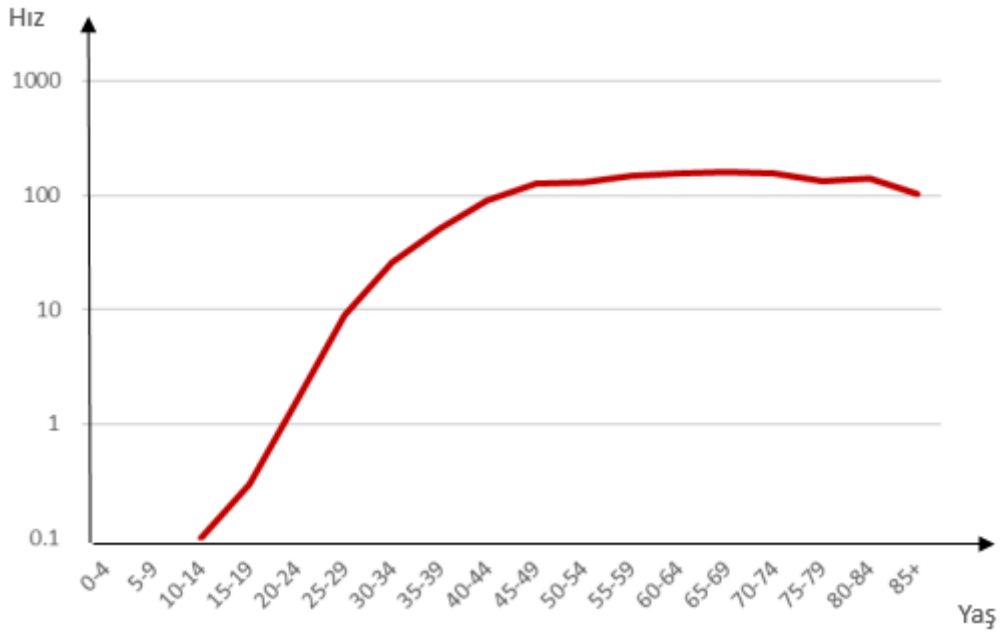
Tablo 2.2: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan, kadınlarda en çok görülen beş kanser çeşidinin dağılımı (GLOBOCAN, 2018)

	Türkiye	Dünya	Batı Asya	Orta ve Doğu Avrupa	ABD
1	Meme kanseri	Meme kanseri	Meme kanseri	Meme kanseri	Meme kanseri
2	Tiroit	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
3	Kolorektal	Akciğer	Tiroit	Uterus korusu	Kolorektal
4	Uterus korusu	Uterus serviksi	Uterus korusu	Uterus serviksi	Tiroit
5	Akciğer	Tiroit	Akciğer	Akciğer	Uterus korusu

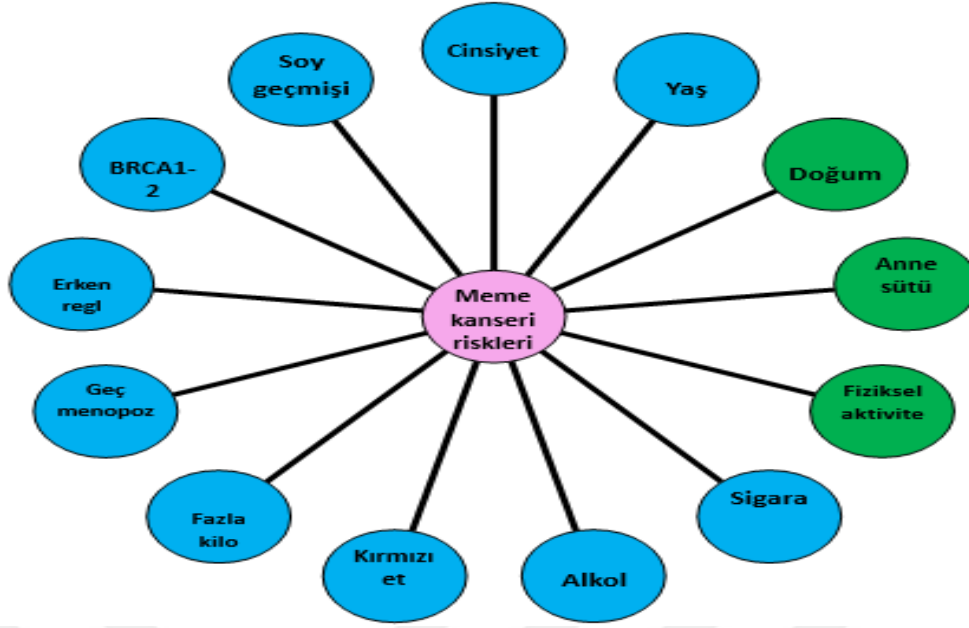
Meme kanserinin görülme riskinin, BRCA1 ile BRCA2 genlerini taşıyan kadınlarda arttığı görülmüştür. Bu genlerin anormal olanlarını taşımakta olan meme kanserli kadınların aile öykülerine bakıldığında meme kanseri veyahut yumurtalık kanserinin olduğu hatta bazen her ikisinin birden olduğu görülmektedir. Meme kanserindeki diğer risk faktörleri ise şöyle sıralanmaktadır (Şekil 2.10) (Karabekir, 2017):

- ❖ Ailede meme kanseri öyküsünün olması,
- ❖ Genetik yatkınlık,
- ❖ Alkol,

- ❖ Vücuda düşük dozda radyasyon alınması,
- ❖ Vücudun pestisitlere maruz kalması,
- ❖ Erken yaşta adet görülmesi,
- ❖ Menopoza geç girilmesi,
- ❖ Şeker hastalığı,
- ❖ Yaşın ilerlemesi (Şekil 2.9),
- ❖ Obezite,
- ❖ Doğum kontrol ilaçları,
- ❖ Geç yaşta yapılan ilk doğum,
- ❖ Çocuk doğurmamış olmak.



Şekil 2.9: Kadın bireylerde meme kanserinin yaşa bağlı hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)



Şekil 2.10: Meme kanseri gelişimini etkileyen risk faktörleri (Mavi renkli kutular artan risk faktörlerini, yeşil renkli kutular azalan risk faktörlerini göstermektedir) (Chiuh, 2013).

2.4.1. Meme Kanserinin Tipleri

Meme kanseri, tek bir hastalık türü olmayıp tedavileri ile birbirinden ayrılan ve farklılık gösteren alt türlere ayrılmaktadır (Şekil 2.11). Hangi tedavinin doğru olduğunu anlayabilmek için, meme kanserinin hangi tür olduğunun tespit edilmesi gerekmektedir (URL-11, 2023).

MEME KANSERİ TİPLERİ

İnvaziv Meme Kanseri

1. İnvaziv Duktal Karsinom, %90
2. İnvaziv Lobüler Karsinom, %10
3. Meme Başının Paget Hastalığı, %1
4. İnflamatuvar Meme Kanseri, %1-3
5. Filloides Tümör (sistosarkoma filloides,
6. Nadir meme kanserleri (skuamoz hücreli, adenoid kistik, apokrin karsinom; sarkomlar, lenfomalar

Noninvaziv Meme Kanseri (Karsinoma in situ)

1. Duktal karsinoma in situ (DCIS)
2. Lobüler karsinoma in situ (LCIS)

İnvaziv Duktal Karsinom
NST(no special type), %80
Medüller karsinom, %4
Müsinöz karsinom, %2
Papiller karsinom, %2
Tübüler karsinom, %2
Kribiriform karsinom

Şekil 2.11: Meme kanserinin tipleri

Meme kanseri hem karsinom hem de adenokarsinom özellik göstermektedir. Epitel hücrelerden kaynaklanana karsinom adı verilirken, salgı bezlerinden kaynaklanana ise adenokarsinom adı verilmektedir. Nadiren de olsa meme kanserinin memedeki kas, yağ ve bağ dokusundan da kaynaklandığına rastlanılmaktadır. Bu oluşumlara ise sarkom adı verilmektedir (URL-12, 2023).

2.4.2. Meme Kanseri Hastalığında Kullanılan Tedavi Yöntemleri

Meme kanseri tedavisinin başarısı ve hastanın iyileşme olasılığı hastalığın ne kadar ilerlemiş olduğuna, başka bir deyişle hastalığın hangi evrede olduğuna bağlıdır. Günümüzde meme kanseri tedavileri hem bölgesel hem de sistemsel kontrolü sağlamak amacıyla kullanılır. Bölgesel olan kontrolü sağlamak amacıyla cerrahi müdahale ile memenin alınması ve postoperatif radyoterapi kombinasyonu kullanılır; sistemsel kontrolü sağlamak amacıyla ise kemoterapi, hormonal terapi, hedef moleküler tedaviler kullanılabilir. Sistemik kontrolü sağlamak amacıyla yapılan tedaviler ayrı ayrı ya da kombine olarak uygulanabilmekte olup meme kanserinde en etkili tedavi yöntemi ise cerrahi yöntemdir. Hastalığın hangi evrede olduğu, hastanın premenopozal dönemde mi yoksa postmenopozal dönemde mi olduğu, lenf nodunun metastaz yapıp yapmaması ve hormon reseptörlerinin durumuna bakılarak uygulanacak sistemsel tedavi seçenekleri de değişkenlik gösterir (Goldhirsch vd., 2003; Saurel vd., 2010).

2.4.2.1. Lokal (Bölgesel) Tedavi

Cerrahi tedavi ve radyoterapi olarak iki alt gruba ayrılmaktadır.

Cerrahi tedavi

Günümüzde bilinen en etkili meme kanseri tedavisi tümörün cerrahi olarak çıkarılması ve tümörden ayrılarak kopan hücrelerin yayılmış olduğu lenf nodlarının cerrahi işlem ile müdahale edilerek çıkarılmasıdır. Tümörün cerrahi olarak çıkarılması; total mastektomi (memenin tamamen çıkarılması), meme koruyucu cerrahi ve onkoplastik cerrahi olmak üzere üç şekilde yapılmaktadır.

Radyoterapi

Kanserli hücreleri öldürmek ya da çoğalmalarına engel olmak amacıyla yapılan yüksek enerjili x-ışınlarının veyahut farklı türdeki radyasyonların kullanıldığı bir tedavi çeşididir. Bu tedavinin amacı hastalıklı dokuların yapısını bozarak sağlıklı dokuların düşük seviyede zarar görmesidir (Rubin, 1992). Eksternal (dış) radyoterapi ve internal (iç) radyoterapi olmak üzere iki türü vardır. İlki olan eksternal radyoterapi tedavisinde, vücut dışından makine ile kanserli bölgeye ışın gönderilirken ikinci yöntem olan internal radyoterapi tedavisinde, kanserli dokuya doğrudan veyahut biraz yanına içinde radyoaktif bir maddenin bulunduğu kateter veyahut iğne yerleştirilmektedir. Bunlardan hangisinin uygulanacağı kanserin türüne ve hangi evrede olduğuna göre belirlenmektedir.

2.4.2.2. Sistemik Tedavi

Kemoterapi ve endokrin tedavi olarak iki alt gruba ayrılmaktadır.

Kemoterapi

Kanserin ilaçla tedavi edilmesine kemoterapi adı verilmektedir. Bu ilaçlar, hızla bölünüp büyüyerek çoğalan kanser hücrelerinin büyümesini durdurmaktadır veyahut yavaşlatmaktadır. Kullanılma nedenleri arasında kanseri tedavi etmek, tekrar etme riskini azaltmak ve ağrı veya başka şikayetlerin giderilmesi amacıyla tümör hücreleri küçültmek vardır. Kemoterapi, kanserin birçok çeşidinde kullanılabilir ancak genellikle kemoterapiden önce ya da sonra cerrahi tedavi ve radyoterapi tedavisi kullanılmaktadır.

Kemoterapi hastaya birçok yolla verilebilmektedir:

- ❖ Oral (ağızdan): Hap, kapsül ya da sıvı olarak verilebilir.
- ❖ Damar yoluyla: İlaç toplardamar içerisinden verilmektedir, en sık kullanılan yöntemdir.
- ❖ Enjeksiyon: İlaç kol, kalça içerisindeki kasa ya da cilt altına enjekte edilerek verilmektedir.
- ❖ İntraperitoneal: İlaç karın boşluğu içerisine direkt verilmektedir.
- ❖ İntratekal yöntem: İlacın beyin ile omurilik arasındaki boşluğa verilmesidir.
- ❖ İntraarteryel yöntem: İlaç atardamar içerisinden verilmesidir (URL-13, 2023).

Kemoterapi prensiplerini ve etkilerini anlayabilmek için hücre siklusunun bilinmesi gerekmektedir. Hücre siklusunun beş fazı vardır:

- ❖ G0 fazı: Mitoz bölünme sonrasında hücrelerin dinlenme durumuna geçtikleri ve hücre bölünmesine aktif bir şekilde katılmadıkları fazdır. Burada kemoterapötik ajanların etkisi oldukça azdır. Normal yapıdaki hücreler zamanlarının büyük çoğunluğunu bu fazda geçirmektedirler ancak herhangi bir uyarıcıyla etkileşime geçerek bölünme sonucu çoğalan hücre haline dönüşürler.
- ❖ G1 fazı: Hücreler bu faza bir uyarılma sonucunda başlamaktadırlar. Hücrenin çoğalması için gerek duyduğu RNA, enzimler ve diğer proteinler sentezlenir. G1 fazında hücreler kemoterapiye hassas yapıdadırlar.
- ❖ S fazı: Bu fazda hücrede yeni DNA sentezlenir ve hücre bölünmek amacıyla hazırlanır ve hücre bu fazı etkileme özellikli kemoterapi ilaçlarına hassastır.
- ❖ G2 fazı: Bu fazda mitoz bölünmenin gerçekleşmesi için gerekli olan RNA ve protein sentezi hızlanmaktadır.
- ❖ M fazı: Mitoz bölünmenin olduğu fazdır. Bu fazda dört aşamada iki yeni hücre oluşmaktadır. Oluşan bu yeni iki hücre, hücre döngüsüne başlar (G1 fazı) veya G0 fazında dinlenerek kemoterapiye dirençli halde olurlar.

Kemoterapi ilaçlarının bazı yan etkileri bulunmaktadır. En sık görülen yan etkiler arasında mide bulantısı, kusma, saç kaybı ve yorgunluk yer almaktadır. Bunlardan başka şu yan etkiler de görülebilmektedir. Bunlar;

- ❖ Enfeksiyon riskinin artması,
- ❖ Ağızda yaralar oluşması,
- ❖ Tat alma duyusunda değişimler meydana gelmesi,
- ❖ İştahta azalma,
- ❖ Dışkılamada anormallik (ishal ya da kabızlık),
- ❖ Karıncalanma ya da yanma hissi,
- ❖ Ellerde, ayaklarda uyuşukluk,
- ❖ Deride değişimler (kızarıklık, döküntü, akne vb.)
- ❖ Tırnaklarda koyululuk görülmesi, kırılması veyahut çatlaması,
- ❖ Böbrek ve mesane enfeksiyonları,
- ❖ Kemoterapiden sonra görülen nezle gibi belirtilerdir (URL-14, 2023).

Endokrin tedavi

Bazı kanser türlerinin gelişmesinde hormonların oldukça önemli bir rolü bulunmaktadır ve meme kanseri de bunların başlıcalarından biridir. Meme kanserinin tedavisinde en yeni olan tedavi türü endokrin yani hormonal tedavidir, çünkü, meme kanserinin gelişmesinde östrojen ve progesteron hormonları etkilidir (Piccart vd., 2002).

Endokrin tedavinin amacı; lokal tedaviler ve kemoterapi ile gerçekleştirilen tedaviden sonraki süreçte vücudun diğer bölgelerinde kalabilme riskine karşı tümörlü hücrelerin ortadan kaldırılmasıdır (Buzdar vd., 1998).

2.5. Serbest Radikaller Hakkında Bazı Genel Bilgiler

Kısaca SR olarak adlandırılan serbest radikaller, en dış orbitalinde kararsız yapıda bulunan çok sayıda eşi olmayan elektron içeren ve kendi kendine meydana gelebilen kimyasal türlerdir (Gülçin vd., 2006b). Diğer bir ifadeyle; atom veya moleküllerde bulunan elektronlar, çekirdeğin etrafında yer alan ve orbital denilen bölgelerde hareket halindedirler. Her yörüngede ve birbirine zıt yönlü olarak hareket eden iki elektron bulunmaktadır. Bir atomun ya da molekülün dış orbitallerinde bulunan bir veyahut birden fazla ortaklanmamış/eşlenmemiş elektron bulunuyorsa bu durum SR olarak adlandırılır. Bu tipte olan moleküller, eşlenmemiş elektronlarından ötürü oldukça reaktif durumdadırlar (Halliwell vd., 1990).

SR hakkında yapılan ilk çalışmalar 1900'lü yıllarda Gomberg adlı bilim insanının trifenilmetil ($\text{Ph}_3\text{C}\cdot$) radikalini keşfetmesi ile başlamıştır (Gomberg, 1900). 1950'li yıllarda ise reaktif oksijen çeşitlerinin hücre içerisinde sentezlendiği keşfedilmiştir. Commoner ve çalışma arkadaşları (Commoner vd., 1954), elektron spin rezonans yöntemi ile hücrenin içinde SR oluşumunu ilk kez keşfetmişlerdir. Üretilen serbest radikallerin yaşlanmaya ve hatta hücre ölümlerine sebebiyet verdiği ise 1953 yılında Denham Harman tarafından bildirilmiştir (Beckman vd., 1998).

SR, endojen ve eksojen maddeler tarafından üretilebilmektedir. En bilinen endojen kaynaklar arasında mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve iltihaplı hücreler yer almaktadır (Valko vd., 2007). Alınan besinler, havanın kirli olması, tütün ve türevleri, aşırı şekilde yapılan fiziksel aktiviteler, iyonize radyasyon, güneş ve kızılötesi ışınlar eksojen kaynaklara örnek olarak verilebilmektedir (Vinson, 2006). Bunlara ek olarak

da oksidatif stres, çeşitli enfeksiyonlar, alkol tüketmek, soğuğa maruz kalmak, ilaç tedavisi görülmesi, travma geçirmek, toksinlere maruz kalmak ve yetersiz beslenmek gibi bazı faktörler de eksojen kaynaklara maruz kalmaya örnek olarak verilebilir (Singh, 2004). Ayıryeten etil alkol, demir vb. gibi bazı kimyasal maddelere maruz kalmanın da insanda serbest radikal miktarının artışında etkili olduğu da yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (De Zwart vd., 1999).

En basit halde bulunan serbest radikal 1 elektrondan ve 1 protondan meydana gelen hidrojen (H) atomudur. SR'lerde eşlenmemiş durumdaki elektron, atom veya molekülün sağ üst tarafına bir nokta konularak gösterilir (Onat vd., 2002). SR'ler üç temel yolla oluşur:

- ❖ Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Bu oluşumda kovalent bağın kopması esnasında bağ yapısındaki iki elektron iki ayrı atomlar üzerinde kalmaktadır.
- ❖ Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile: Bu oluşumda radikal özellik göstermeyen bir molekülden elektron kaybı esnasında dış orbitalinde eşlenmemiş elektron kaldıysa radikal formu oluşmaktadır.
- ❖ Normal bir moleküle tek bir elektron transferi ile: Bu oluşumda radikal özellik göstermeyen bir moleküle, bir tane elektronun transferi sonucunda dış orbital kısmında eşlenmemiş elektron meydana gelmesi ile radikal forma geçmektedir.

Oksijen radikalleri, var oldukları ortamda bazı fiziksel ve kimyasal etkenlere maruz kalarak ve bunun sonucunda zorunlu olarak metabolik reaksiyonlara girmeleri sonucu oluşan en önemli serbest radikaller türleridir. Bunlara örnek olarak süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali (OH^{\bullet}) ve radikal özellik göstermeyen hidrojen peroksit (H_2O_2) verilebilir. Bu SR'ler reaktif oksijen türleri (ROT) olarak bilinmektedirler ve biyolojik sistemlerde bulunan oksijenden oluşmaktadırlar (Eren, 2011).

2.6. Antioksidanlar Hakkında Bazı Genel Bilgiler

Oksidasyonun engellenmesine veyahut gecikmesine neden olan bileşen grubuna genel anlamda antioksidan denilmektedir (Berger, 2005). Oksidatif stres, oksidan üretimi ile yıkımının dengesizliği sonucunda meydana gelmektedir. Antioksidanlar, vücutta genellikle protein, karbonhidrat, lipit ve DNA gibi yapısal ve fonksiyonel moleküllerin hasara uğramasını önleyen, çok küçük konsantrasyonlarda dahi oksidan adı verilen substratlara karşı etkisini gösteren maddelerdir (Vinson, 2006). Antioksidanlar, radikallerle çok hızlı olarak reaksiyona girerler ve otooksidasyonun ilerlemesine engel olurlar (Dündar vd., 1999). Antioksidanların görev ve işlevleri arasında SR'lerin fazla miktarını etkisizleştirmek,

SR'lerin verdiği toksik etkilere karşı hücresini korumak ve hastalıkları önlemeye yardımcı olmak da vardır (Pham-Huy vd., 2008).

2.6.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen antioksidanlar ve eksojen antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Tablo 2.3; Tablo 2.4, Aydemir vd., 2009; Sen vd., 2011).

Tablo 2.3: Endojen antioksidanlar

Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin

Tablo 2.4: Eksojen antioksidanlar

Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kal- siyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
	Nötrofil adezyon inhibitörleri
	Sitokinler (TNF ve IL-1)
	Barbitüratlar
	Demir şelatörleri

2.6.2. Antioksidanların Etkisi

Antioksidan özellik gösteren bütün maddeler dört şekilde etki gösterirler (Gülçin, 2012).

- ❖ Serbest oksijen radikallerini etkilerler, tutarlar ve onlardan daha da zayıf olan yeni bir moleküle dönüştürürler. Antioksidanlar böyle bir etkiye sahiptir.
- ❖ Serbest radikallerden dolayı oluşan zararı gidererek onarıcı etkiye sahiptirler.
- ❖ Serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girip bir hidrojen verirler. Böylelikle aktiviteleri azalır veyahut in aktif şekle dönerek bastırıcı etki gösterirler. Vitaminler ve flavonoidler de böyle bir etkiye sahiptir.

- ❖ Serbest oksijen radikallerini bağlayarak oluşan radikal zincirinin kırarlar. Böylelikle de engelleyici veyahut zincir kırıcı etki gösterirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller de böyle bir etkiye sahiptir.

Antioksidan olarak adlandırılan maddelerin antioksidan seviyelerinde yalnızca yapısal özellikleri ile girdiği reaksiyonların etkisi yoktur ayrıyeten konsantrasyon, sıcaklık, ışık seviyesi, fiziksel durum, sistemin yüzeysel özellikleri, oksidan özellik gösteren fazla sayıda küçük parçalar ve sinerjist etkiler gibi birçok faktör de etkilidir (Gülçin vd., 2010).

2.6.3. Antioksidan Aktivitesi Belirlemede Kullanılan Bazı Yöntemler

Antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan deney çalışmalarında sıklıkla kullanılan antioksidan tayin yöntemleri arasında; Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi, FRAP metoduna göre indirgeme kapasitesi, kuprak metodu ile kuprik iyonları (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi, süperoksit anyon radikali ($O_2 \cdot^-$) giderme, 1,1- difenil-2-pikril-hidrazil serbest radikal (DPPH \cdot) giderme, 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) radikal (ABTS \cdot^+) giderme, N,N-dimetil-p-fenilendiamin radikal (DMPD \cdot^+) giderme etkinlikleri, ferrozin ve bipiridil reaktifleri ile ferröz iyonları (Fe^{2+}) şelatlama etkinlikleri ve ferrik tiyosiyanat yöntemine göre toplam antioksidan etkinliği tayini gibi yöntemler vardır (Taslimi, 2017).

2.6.3.1. Kuprak Metodu

Kuprak metodu ilk kez Apak ve çalışma arkadaşları tarafından 2006 yılında geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Bu metot ilerleyen dönemlerde hem yağda hem de suda çözünen antioksidanlar içeren çeşitli materyallerde de kullanılmıştır.

Kuprak metodu, tüm antioksidanların birleştirildiği etki ile veya su, etil alkol ve pH'ın 7 olduğu nötr bir ortamda neokuproin (2,9-dimetil-1,10- fenantrolin) varlığında polifenollerle indirgeme yolu ile Cu^{2+} iyonlarının Cu^+ 'ya indirgenmesi olayına dayanmaktadır. Cu^+ kompleksleri 450 nm'de en yüksek absorpsiyona sahiplerdir (Gülçin, 2008). Bu metot, kromojenik (pigment veyahut renk verici madde oluşturan) radikal reaktif olarak Cu^{2+} -neokuproin ile bitki ekstraktı ya da besin bileşeninin antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla kullanılır. Cu^{2+} 'nın neokuproin içeriğinde bir indirgeme ajanı sayesinde indirgenerek, 450 nm dalga boyunda en yüksek absorpsiyona sahip olan bir Cu^+ kompleksi verir (Tutem vd., 1991).

Kuprak metodunda kullanılan reaktif, kromojenik radikal reaktiflerinden çok daha kararlı ve rahatlıkla erişilebilen bir reaktiftir ayrıyeten çok iyi lineer absorban-konsantrasyon eğrileri ortaya çıkarırlar. Bu metotta, serbest halde bulunan protonlar daha yüksek konsantreye sahip asetat tamponu ile de tamponlanabilmektedir. Kuprak metodu; maliyeti uygundur, hızlıdır, kararlıdır, seçicidir ve kimyasal türü veya hidrofobikliği farketmeksizin birçok antioksidan tayini için uygun bir yöntemdir. Ayrıyeten, *in vitro* kuprik iyon (Cu^{2+}) indirgeme ölçümleri neticesinde ortaya çıkan sonuçların, antioksidanların olası *in vivo* reaksiyonlarında daha etkili sonuç ortaya çıkaracağı düşünülmektedir (Gülçin ve Daştan, 2007; Karaman vd., 2009). Kuprak metodu için olması gereken en elverişli pH 7'dir ve fizyolojik pH olan 7.4'e en benzerdir bu nedenle normal şartlar altındaymışçasına antioksidan sonucunu gösterir (Apak vd., 2008).

2.7. Antikolinerjik Aktivite

Antikolinerjikler, merkezi ve periferik sinir sistemi sinapslarında nörotransmitter madde olan asetilkolinin (ACh) aktivitesini durdururlar ya da inhibe ederler. Bu işlemi yaparken ACh'nin reseptörlerine bağlanmasını seçici olarak durdurarak parasempatik sinir sisteminin işlevlerini inhibe ederler. Bu işlevler; gastrointestinal sistem, akciğerler, idrar yolu ve vücudun diğer bölgelerinde bulunan düz kasların istemsiz hareketlerini içermektedir (Liver, 2017).

Antikolinerjiklerin dolaşım, solunum, uyanıklık ve görme üzerindeki etkiler de dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik etkileri vardır (Abrams vd., 2006; Gosens vd., 2018). Antikolinerjik aktiviteye sahip ilaçlar, solunum bozuklukları (astım, KOAH), parkinson hastalığı, kardiyovasküler hastalık, acil idrar kaçırma, psikiyatrik bozukluklar, depresyon, midriyazis ve alerjilerin tedavisinde faydalıdır (De Wilde vd., 2007; Chew vd., 2008). 600'den fazla ilaç belirli bir düzeyde antikolinerjik aktiviteye sahiptir ve birkaç ilaç haricinde uzmanlar genellikle antikolinerjik özelliklerin tedavi edici etkilerden ziyade olumsuz etkilerin nedeni olduğunu düşünmektedir (Chew vd., 2008).

Antikolinerjik ilaçların olumsuz etkileri merkezi ve periferik etkiler olarak ikiye ayrılmaktadır. Merkezi etkiler, merkezi sinir sistemi içindeki kolinerjik reseptörlerin aşırı blokajından kaynaklanır ve periferik olumsuz etkiler, ekzokrin glandüler sekresyonun, kas kasılmasının ve periferik parasempatik sinir sisteminin uç organ hedeflerinin bloke edilmesinden kaynaklanır. Yaygın görülen merkezi antikolinerjik yan etkiler arasında düşük

dozlarda baş ağrısı, hafıza bozukluğu, bilişsel işlevlerde azalma, davranış bozuklukları, anksiyete ve uykusuzluk yer almaktadır (Gerretsen vd., 2011).

Asetilkolin (ACh), nöronların yapı veya fonksiyon kayıpları sonucunda meydana gelen durumlarda hafıza işlevinin kiplemesine yardım eden iyi bir nörotransmitter maddedir. Kolinesteraz enzimleri (ChE'ler), asetilkolin ve kolinerjik sinyal iletiminin hazırlanmasında kilit rol üstlenirler. Asetilkolin'in asetat ve koline ayrılması, sinaptik bir boşlukta asetilkolinesteraz (AChE) katalizörü ile yapılır. BChE ve AChE enzimleri, asetilkolin düzeyinin ayarlanmasında, sinaptik boşlukta ikiye ayrılmasında ve nörotransmitter etkisinin sona erdirilmesinde çok önemlidir. Nörotransmitter maddelerin tekrar oluşturulması, ChE enzimlerine baskı uygulayarak görevli kolinesteraz inhibitörleri kullanılarak yapılır. Böylelikle nörotransmitterlerin seviyesi yükselir ayrıyeten nörotransmitter etkisinin süresi uzar (Gülçin vd., 2019). Rivastigmin, donepezil ve galantamin gibi AChE inhibitörleri, ChE'ler şeklinde kullanılırlar fakat çok uzun vadede kullanılması durumunda bazı yan etkiler görülebilmektedir. Bu yüzden, bitki ekstraktlarından alınan doğal bileşikler, ChE inhibe etme özelliği göstermesi amacıyla incelenmiş ve günümüzde bazı bitkilerin, Alzheimer hastalığının tedavisi için önemli etkiye sahip ChE inhibisyonunu sağladığı görülmüştür (Tan vd., 2014).

Kronik hastalıkların önlenmesi veyahut etkisinin azaltılması amacıyla doğal kaynakların tıpta kullanılmasında fenolik bileşiklerin üstlendiği görev çokçadır. Bu fitokimyasal maddeler; serbest radikalleri temizlerler, çeşitli enzimlerin kataliz edilmesini engellerler ve sinyal iletimini ayarlayarak hücrelerdeki bazı işlevlere müdahil olabilirler. Bu yüzden, bitkinin ya da doğal bir maddenin tedavi etme potansiyeli bulunduğu, fenolik bileşikler bulunduran fitokimyasal içerikleri de incelenmelidir (Gülçin, 2012).

2.8. Antikanser Aktivite

2.8.1. Sitotoksik Aktivite

Toksikoloji; zehir bilimi anlamına gelmektedir, zehir ise canlı organizmaya zarar veren herhangi bir maddedir. Uygun şekilde ve yeterli miktarda alınmayan her madde organizmada zehirli bir etki yaratır. Bu etki, herhangi bir yapı değişikliğine yol açabilmekte veyahut biyokimyasal nedenli bir doku bozukluğuna da yol açabilmektedir (Saygı, 2003). Sitotoksik terimi, hücrenin ölümüne neden olan anlamına gelir; sitotoksisite araştırmaları bir maddenin sitotoksik özellik taşıyıp taşımadığını belirlemek için yapılmaktadır. Hücrelerde yapılan bu sitotoksik çalışmalar hem uygulama kolaylığı hem de *in vivo* çalışmalarla elde edilen

sonuçlarla uyumlu olması nedeniyle hayvan deneylerine alternatif olarak ortaya çıkarılmış ve toksikoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılır hale gelmiştir. Sitotoksosite ise, incelenen maddenin miktarına ve maruz kaldığı sreye göre hücelere farklı derecelerde zarar veren bir olaydır. Hceler sitotoksik bir maddeye maruz kaldıklarında apoptozis, nekroz, otofaji gibi olaylar neticesinde ölebilirler ya da proliferasyon özelliklerini yitirebilirler (Tokur vd., 2017).

2.8.1.1. Sitotoksosite Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Sitotoksitenin veyahut hücre canlılığının belirlenmesi amacı ile *in vitro* olarak kullanılmakta olan birçok yöntem vardır. Bu yöntemler bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Yöntemlerden bazıları; metabolik aktivitenin llmesine dayalı yöntemler (WST-1, MTT, MTS, XTT vb.), membran geçirgenlik yöntemi testleri (Tripan mavisi, nötral kırmızısı), Alamar mavisi yöntemi, Slforodamin B (SRB) yöntemi, Laktat Dehidrogenaz (LDH) yöntemi, Kristal Viyole yöntemidir.

WST-1 Testi Yöntemi

WST-1 (2- (4-iyodofenil) -3- (4-nitrofenil) -5- (2,4-dislfofenil) -2 H tetrazolyum monosodyum tuzu) hücre proliferasyonu ölçüm yöntemi, bağlı değeri ölçmek amacıyla tasarlanan kolorimetrik/reng değişimine dayalı basit bir testtir. Wst-1 reaktifi, 96 kuyucuklu bir plaka kullanılarak hücrenin proliferasyonunun, büyümesinin, yaşayabilirliğinin ve kemosensitivitesinin spektrofotometrik ölçülmesi amacıyla tasarlanmıştır. Bu test, tetrazolyum tuzlarının hücresel enzimler aracılığıyla formazana dönüşmesine dayanmaktadır. Canlı hücre sayısındaki artış mitokondriyal dehidrogenazları da artırır ve sonuç olarak formazan artışı da canlı hücrelerin sayısıyla da doğru orantılıdır (Arago, 2014).

WST-1 testinde herhangi bir uygulama yapılmayan hücrelerin canlılığı yüzde yüz kabul edilirken uygulama yapılan hücrelerin canlılığı negatif kontrol hücrelerine göre yüzde olarak belirlenir. Bu testin avantajları; hızlı ve güvenilir olması, basit ve kolay uygulanabilir olması, çok kez tekrarlanabilir olmasıdır. Ayrıca hücrelerde bulunana mitokondriyal dehidrogenazların metabolik aktivitesi sonucu meydana gelen formazanlar suda znr olduğundan DMSO'da znme işlemi yapılmaz. Bu nedenle testin güvenilirliği yüksektir. Medyumda bulunan fenol kırmızısı indikatörleri bu maddelerle reaksiyona girmez, diğer sitotoksosite testlerine göre hem hassasiyeti hem de dinamik aralıkları yüksektir. WST-1 testinin dezavantajları ise; diğer sitotoksosite testlerine göre daha pahalı olması, inkübasyon

süresinin uzun olması nedeniyle hücre canlılığını etkileyebilmesinin tam olarak bilinmemesidir (Erkekoğlu vd., 2021).

2.9. Genotoksik Aktivite

Genotoksisite; bir hücrenin çekirdeğinde, kromozomunda ve DNA'nın yapısında oluşan hasarlardır. Bu hasarlara; gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, DNA eklentileri, DNA kırıkları, anöploidi, klastojenite vb. örnek olarak gösterilebilir. Genotoksik etki ise; DNA ve/veya genomun bir kopyasının oluşturulmasına yardımcı olan enzimlerle etkileşim haline girerek mutasyona sebebiyet veren genotoksik maddelerin DNA'nın yapısında hasar meydana getirmesi veyahut birtakım değişikliklere sebebiyet vermesi şeklinde tanımlanabilir (Mortelmans, 2004; Zeiger, 2004; Şekeroğlu vd., 2011).

DNA'nın yapısında bulunan, bazı mutasyonlara neden olan genotoksik ajanlar, ya direkt olarak DNA'nın yapısına saldırırlar veyahut yakından bağı olan enzimlere ve proteinlere bağlanıp hasara neden olurlar (Kirsch-Volders vd., 2003). Böylelikle DNA'da oluşan bu hasar çok az ise ya hücre siklusu duraklatılır veyahut duraklatılmaya gerek kalmadan tamir edilebilmektedir. Eğer oluşan hasar çok daha fazla ise apoptozis mekanizması uyarılmakta ve programlı bir hücre ölümü gerçekleşmektedir. DNA'nın bozulmasına neden olan bu mutasyonlar ve mekanik bozukluklar insanda erken yaşlanma, kanser, infertilite gibi birçok hastalığa sebebiyet vermektedir (Mateuca vd., 2006).

Kısacası genotoksik aktivite çalışmaları ile mutajenleri tespit ederek insanlardaki maruz kalabilecekleri riskleri belirleyerek onları bu bileşiklere gereksiz maruziyetten korumak amaçlanmaktadır (Zeiger, 2004).

2.9.1. Genotoksisite Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Genotoksisite testleri; çeşitli ajanların insanlarda oluşturdukları etkileri araştırarak oluşabilecek risk faktörlerinin belirlenmesinde, bazı maddelerin zehir etkilerinin ve güvenilir olup olmadıklarının araştırılmasında ayrıyeten kanserden korunmada sıklıkla tercih edilmektedir (Bedir vd., 2004; Şekeroğlu, 2011).

Genotoksisitesi tayin edilmek istenen maddelerin kansere veyahut mutasyona yol açma potansiyellerini belirlemeyi ve araştırmacılara bir fikir oluşturulmasını sağlayan, sık olarak ve yaygın bir şekilde kullanılan *in vitro* ve *in vivo* genotoksisite testlerine; Komet testi, Mikronükleus (MN) testi, Ames testi, Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi, Kromozom anormallikleri (KA) testi örnek olarak verilebilir (Şekeroğlu vd., 2011).

2.9.1.1. Komet Testi

Komet testi, ilk kez 1988'de Singh ve arkadaşlarının geliştirdiği ve DNA'da hem tek hem de çift zincir kırıklarının belirlenmesine yarayan bir genotoksisite testidir (Singh vd., 1988). Komet yönteminin; basit, hızlı, ucuz, güvenilir ve oldukça hassas bir yöntem olması tercih edilme sebepleridir. Ayrıca radyoaktif işaretlemeye gerek duyulmadığı için de DNA hasarının belirlenmesinde tercih sebeplerindedir (Andrazsek vd., 2014). Çalışılma alanı olarak çok fazla alana sahip bu yöntem "tek hücre jel elektroforezi", SCGE (single cell gel electrophoresis) veya "mikrojel elektroforetik teknik" gibi farklı isimlerle de telaffuz edilmektedir (Fidan, 2005; Durmaz vd., 2010). Komet yönteminin uygulama alanları ana başlıklar halinde şu şekilde sıralanabilir (Başbayraktar, 2009):

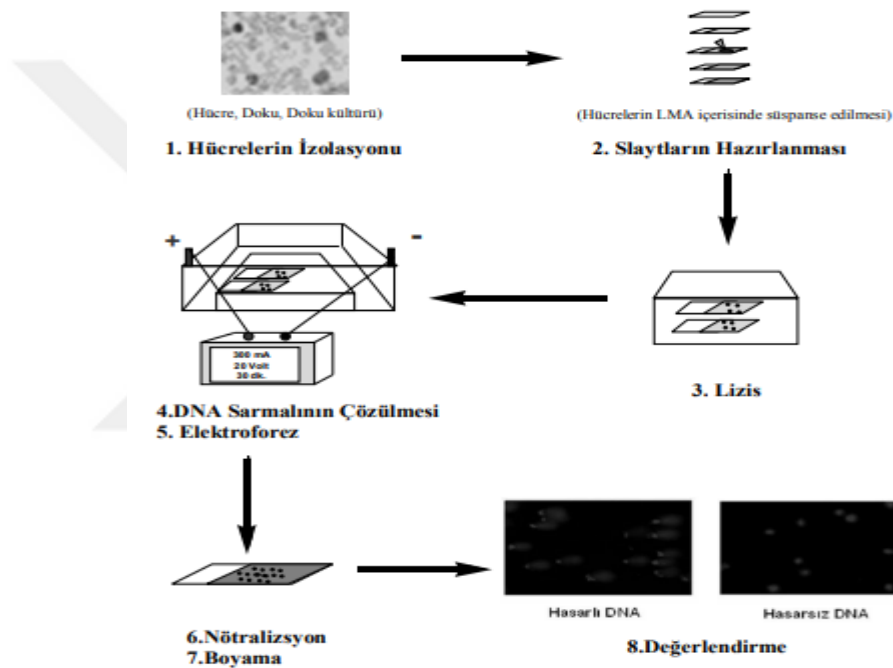
- ❖ Genotoksisite belirlenmesi amacı ile,
- ❖ Kliniksel çalışmalarda,
- ❖ DNA'nın onarımı amacıyla yapılan çalışmalar,
- ❖ Çevre biyogözlemi,
- ❖ İnsan biyogözlemi,
- ❖ Gıdalara uygulanan çalışmalar.

SCGE tekniğini farklı uygulamak sonuçları da etkilemektedir. Farklı uygulamalara örnek olarak; elektroforez şartları (belirlenen süre, uygulanan voltaj), lizis solüsyonu şartları (tuzun konsantrasyonu, uygulama süresi ve ortam pH'ı) bu yöntemin hassaslığını da etkiler, bu yüzden yapılan çalışmada koşullar farklılık göstermemelidir. Ayrıyeten insanlara yönelik yapılan çalışmalarda genotoksik etkiyi artırdığı düşünülen faktörler SCGE yöntemini de etkileyebilmektedir (Karakükçü, 2008).

Bu yöntemde, çalışılacak hücreler lam üzerinde agaroz jelin içerisine gömülerek lizis işlemi yapılır. Böylelikle hücre zarı parçalanmakta ve çekirdekte yer alan DNA serbest kalmaktadır. Bazik ortamda süpersarmal yapı gevşedikten sonra açılır ve bu da oluşmuş kırıkların ortaya çıkmasını sağlar. Sonrasında elektroforez uygulanarak kırılan bu DNA zincirleri artı uca doğru hareket ederek komet (kuyruklu yıldız) görünümünü meydana getirirler (Collins, 2004).

Komet yönteminde uygulanan prosedür çalışılan laboratuvara göre değişkenlik gösterse de (Tice vd., 2000) bu yöntemin çalışma prosedürünü şu şekilde bildirmişlerdir (Şekil 2.12):

- ❖ Çalışılacak hücrelerin izole edilmesi,
- ❖ Preparatların hazırlanması,
- ❖ Lizis işlemi,
- ❖ DNA sarmalının çözülmesi,
- ❖ Elektroforez,
- ❖ Nötralizasyon,
- ❖ Boyama,
- ❖ Değerlendirme.



Şekil 2.12: Komet yöntemi genel basamakları (Fidan, 2005)

2.10. Çalışmanın Amacı

Yaptığımız bu çalışma ile sürünücü horoz ibiği ekstraktının antioksidan, antikolinerjik özellikleri ile MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Özellikle kadınlarda sıklıkla görülen meme kanserinin önlenmesinde ya da etkilerinin azaltılmasında ülkemizde çok yetişen ve elde edilmesi kolay olan bir bitki olan *Amaranthus blitoides* 'in kullanılmasının olumlu sonuçlarını literatüre kazandırabilmektir.

Ayrıca çevreye zararlı ve pahalı olan kimyasal yöntemlerde kullanılan toksik indirgen ajanların yerine hem daha çevreci hem de daha ucuz bir yöntem olan fitoterapi olarak adlandırılan bitki özütlerinin kullanılması yönteminin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan literatür taramasında *Amaranthus blitoides* bitkisinden elde edilen ekstraktın antioksidan ve antikolinergik özelliklerinin, MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkilerinin incelenmediği görülmüştür.

Amaranthus blitoides bitkisinin; Kuprak testi ile antioksidan özellikleri, asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki etkisi Ellman metoduna göre incelenerek antikolinergik özellikleri incelenmiş ve değerlendirilmiştir. WST-1 testi ile sitotoksitesi ve son olarak Komet testi ile genotoksitesi incelenmiştir ve çıkan sonuçlar değerlendirilmiştir.

Fitoterapi tedavi yöntemi diğer kanser tedavilerine göre daha ucuz ve yan etkileri çok daha az olan bir yöntemdir. Bu nedenle çalışmamız hem fitoterapi yönteminin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılması için hem de bu bitkinin literatüre kazandırılması için önem arz etmektedir.

3. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Amaranthus gangeticus bitki özütünün karaciğer, meme ve kolon kanserine karşı antikanser aktivite özelliği gösterdiği bildirilmektedir. *Amaranthaceae* familyasına ait bitkilerin 43 adet aminoasit bulunan bir peptit olan lunasin içerdiği ve cilt kanserli farelerin bir hücre kültüründe tümör baskılayıcı özellik gösterdiği belirtilir, *Amaranthaceae* familyasına ait tüm bitkilerin alternatif bir lunasin kaynağı olabileceği ayrıyeten *Amaranthaceae* familyasına ait bitkilerin içerdiği proteinlerde biyolojik olarak aktif başka peptitlerin de olabileceğinden bahsedilmektedir (Silva-Sánchez vd., 2008). *Amaranthus mantegazzianus*'tan izole edilen proteinlerin dört farklı tümör hücresinde farklı oranlarda antiproliferatif etki gösterdiği, bu nedenle *Amaranthus mantegazzianus* tanelerinin antikanser aktivitesinin yüksek olduğu ve kanser riskini azaltabilmek için alternatif bir gıda olarak kullanılması gerektiğine dikkat çekilmektedir (Barrio ve Añón, 2010).

Akkafa vd. (2022) yaptıkları çalışmada Pikan cevizi (*Carya illinoensis*) dış yeşil kabuğunun sitotoksitesini MTT testiyle incelediler. Elde edilen sonuçlara göre, Pikan cevzinin dış yeşil kabuğunun Hekzan çözücüsü ile hazırlanan ekstraktının prostat kanseri (PC-3) üzerinde seçici etki göstererek hücre proliferasyonunu yavaşlattığı bulundu. PC-3 hücresinde IC₅₀ değeri 40.32 µg/mL olarak hesaplandı. Sonuç olarak Pikan cevizi dış yeşil kabuğunun zengin fenolik madde içeriği ve antioksidan bolluğu sebebiyle kanser tedavisinde kullanılmaya aday bir bitki olabileceğini önerdiler.

Gezici vd. (2022) yaptıkları çalışmada *Clinopodium serpyllifolium subsp. serpyllifolium* bitkisinin sitotoksitesini A549 (akciğer karsinoma), H1299 (küçük hücreli olmayan akciğer kanseri) ve C6 (beyin glioma) kanser hücre hatları ile kanserli olmayan HUVEC (insan göbek ven endotel hüceleri) kontrol hücre hattında MTT testi ile incelediler. *C. serpyllifolium subsp. serpyllifolium* bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen bitki ekstraktlarının A549, H1299 ve C6 kanser hücre hatlarına karşı sitotoksitesini doz ve zamana bağlı olarak analiz ettiler. Elde edilen sonuçlara göre IC₅₀ değerlerini hesapladılar. Buna göre 5.28±0.10 µg/ml ile 37.92±1.18 µg/ml arasında değişen IC₅₀ değerleriyle güçlü sitotoksik etkiye sahip oldukları ve A549, H1299 ve C6 olmak üzere her üç kanser hattında, hücre canlılık aktivitelerini azalttıkları ve kanserli hücrelerin ölümüne katkı sağladıkları gözlenmiştir (A549 hücre hattında IC₅₀=5.28±0.10–10.20±0.51 µg/ml, C6 hücre hattında IC₅₀=25.63±0.40–37.92±1.18 µg/ml, H1299 hücre hattında IC₅₀=14.05 ± 0.76-20.98 ± 0.24 µg/ml).

Sreelatha vd. (2012) yaptıkları çalışmada DPPH yöntemi ile *Amaranthus paniculatus*'un antioksidan özelliklerini incelediler. Ekstraktın 1 ml'sine 0,5 ml ve 0,15 mM olacak şekilde DPPH ve metanol ilave ederek bir çözelti hazırladılar. Hazırlanan çözeltiyi iyice karıştırdıktan sonra 20 °C'de 30 dk beklettiler ve daha sonra 517 nm absorbansta okutup IC₅₀ değerini hesapladılar. Elde edilen sonuçlara göre IC₅₀ değerini 68.184 ± 0.51 µg / ml olarak buldular. Bu sonuç bitkinin yaprak özlerinin DPPH radikallerini önemli ölçüde azalttığını ve bu bitkinin doğal bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir.

Rjeibi vd. (2018) yaptıkları çalışmada *Amaranthus spinosus* yapraklarının etil asetat ekstraktından polifenollerin HPLC-DAD tanımlanması ve bunların antioksidan etkilerini araştırdılar. Bitkinin fenol, tanen ve yüksek seviyede flavonoid içerdiği ve yapılan DPPH testinin sonuçlarına göre *A.spinusus*'un yeni bir antioksidan ajan olduğu sonucuna varmışlardır.

Sani vd. (2004) yaptıkları çalışmada *Amaranthus gangeticus* bitkisinin MTT testi ile antikanser aktivitesini araştırmışlar ve elde ettikleri sonuçlara göre, *A. gangeticus*'un sulu ekstraktının, karaciğer kanseri hücre dizisinin (HepG2) ve meme kanseri hücre dizisinin (MCF-7) çoğalmasını inhibe ettiğini gösterdi. IC₅₀ değerlerini HepG2 ve MCF-7 için sırasıyla 93,8 µg/ml ve 98,8 µg/ml olarak hesapladılar. İnhibitör etki kolon kanseri hücre dizisinde de (Caco-2) gözlemlendi, ancak HepG2 ve MCF-7 ile karşılaştırıldığında daha düşük bir düzeydeydi. Sonuç olarak *A. gangeticus in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda antikanser potansiyeli göstermiştir.

Prajhita vd. (2017) yaptıkları çalışmada *Amaranthus spinosus* L. ekstraktının sitotoksik aktivitelerini incelemişlerdir. *A. spinosus*'un sulu ekstraktının apoptoz indüksiyonu ve sitotoksik aktiviteler sergilediği sonucuna varmışlardır.

Sandoval-Sicairos vd. (2021) yaptıkları çalışmada *Amaranthus hypochondriacus* bitkisinin çimlendirilmiş ve bu bitkinin *in vitro* simüle edilmiş gastrointestinal sindiriminin (SGD) antioksidan ve antiinflamatuvar peptitlerin salınımı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada SGD sırasında üretilen çimlenmiş amaranth peptitleri, pankreatin ile 90 dakikalık inkübasyonun ardından serbest bırakılmıştır ve F1 (>10 kDa), F2 (3-10 kDa) ve F3'e (<3 kDa) bölünmüştür. Test edilen filizlenmiş amaranth peptit fraksiyonları arasında F2 en yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, F1 ve F2, RAW 264.7 makrofajlarında lipopolisakkarit kaynaklı yüksek bir anti-inflamatuvar özellik gösterdiğini bulmuşlardır.

4. MATERYAL VE METOT

4.1. *Amaranthus blitoides* Örneklerinin Toplanması ve Bitki Materyalinin Hazırlanması

Amaranthus blitoides örnekleri, Bartın ilinin Karamazak köyünün İmamoğlu mahallesindeki bir tarladan (41° 34' 37,4" K, 32° 13' 07,1" D) tarafımca toplandı (15.06.2020). Toplanan bitki örnekleri distile su ile yıkanıp oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulan bitkiden 25 g tartılarak öğütücü yardımıyla parçalanıp toz haline getirildi.

4.2. Ekstrakt Hazırlanması ve Çözelti Elde Edilmesi

Sıvı ekstraktını elde edebilmek için Soxhlet ekstraksiyon cihazı (Şekil 4.1) kullanıldı, ekstraksiyon işlemine, geri akıtılan çözücü renksiz bir hal alana kadar devam edildi. Elde edilen ekstrakt filtre kağıdından süzülerek altta biriken özüt bir buharlaştırıcı yardımıyla 30 °C'de buharlaştırılarak kurutuldu. Bu işlem sonrası elde edilen kuru tortu ise vidalı kapaklı Erlenmeyer şişesine konularak üzerine 250 mL su ilave edilip ağzı kapatıldıktan sonra karıştırmak için çalkalayıcıya konuldu. Son olarak elde edilen bu çözelti de 50 mL'lik bir falkon tüpüne konularak +4 °C'de saklamak için buzdolabına konuldu.



Şekil 4.1: Soxhlet ekstraksiyon cihazı

4.3. Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

4.3.1. Kuprak Metodu

Kuprak yöntemi ile indirgeme kapasitesi tayini yapmak için hazırlanıp bu tayinde kullanılan çözeltiler;

- ❖ 0,01 M'lık CuCl_2 çözeltisi hazırlamak için 47 mg CuCl_2 bileşiği 50 mL distile su ile çözüldü,
- ❖ $7,5 \times 10^{-3}$ M'lık etanolik neokuprin çözeltisi: 156 mg Neokuprin, 100 mL etanol ile çözüldü,
- ❖ 1 M'lık $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözelti (pH: 6,5): 15,4 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ bileşiği 180 mL distile su ile çözüldü ardından pH metre yardımı ile pH'ı ölçüldü ve 6,5'e ayarlanıp distile su ile hacmi 200 mL'ye tamamlandı.

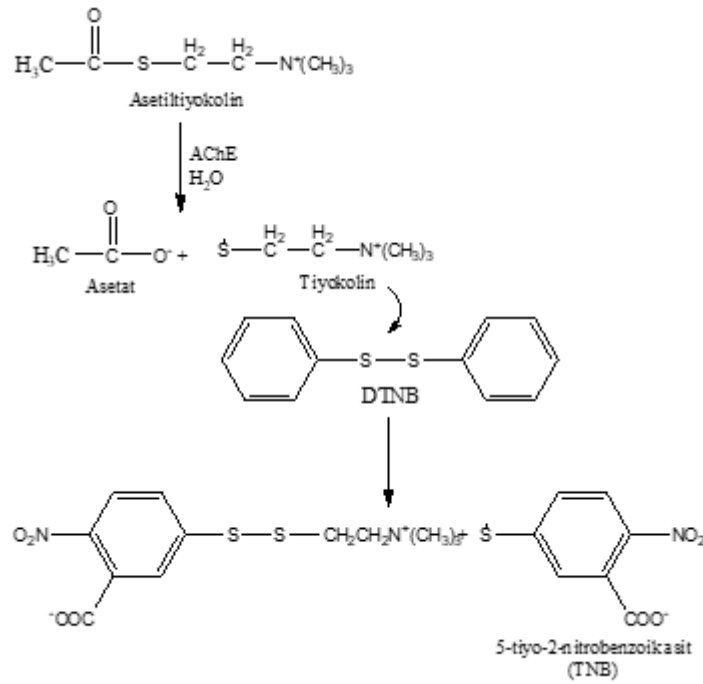
Amaranthus blitoides'in Cu^{2+} indirgeme aktiviteleri bakır iyonları indirgeme deney protokolünün (Apak vd., 2006) hafif bir değiştirilmesi sonucunda yapıldı. Buna göre; farklı konsantrasyonlarda hazırlanan numunelerin (10-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$) tüplerine 0,01 M ve 0,25 mL CuCl_2 çözeltisi, $7,5 \times 10^{-3}$ M ve 0,25 mL etanolik neokuprin çözeltisi ve 1 M, 0,25 mL $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözeltisi teker teker ilave edildi. Otuz dakika sonra 450 nm'de köre karşı absorbans değerleri ölçüldü (kör olarak distile su kullanıldı). *Amaranthus blitoides* ekstraktının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme grafiği çizildikten sonra her bir standart antioksidan, olivetol için 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'ye karşılık gelen absorbans değerleri birbirleriyle karşılaştırıldı.

4.4. Antikolinergik Aktivite

4.4.1. Asetilkolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

Amaranthus blitoides bitki özütünün asetilkolinesteraz enzimine karşı etkisi Ellman yöntemi esas alınarak incelendi. Bu inceleme için öncelikle IC_{50} değerleri saptandı ve inhibisyon tipleri belirlendi. Bu metodun temeli; kolinesterazların asetilkolinin tiyokolin ve asetata ayrılması tepkimesini kataliz etmesidir. Ürün olarak ortaya çıkan tiyokolin ve DTNB'nin tepkimesi sonucunda meydana gelen sarı renge sahip 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit meydana gelir. Meydana gelen bu asit 412 nm'de absorbans verdi. Bitki ekstraktı ve kör küvetlerinin 412 nm dalga boyunda ve 5 dakika süre ile absorbansları ölçüldü (Şekil 4.2). Kontrol

küvetinde ve çalışılan bitki ekstraktının bulunduğu küvetteki kimyasal maddeler ve miktarları Tablo 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Asetilkolinesteraz aktivitesinin Ellman metoduyla tayini (Ellman, 1961)

Tablo 4.1: Kontrol küvetinde ve bitki özütünün bulunduğu küvetteki kimyasal maddeler ve miktarları

Kullanılan Maddeler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris-HCl	100	100
Distile su	790	780
Bitki ekstraktı	-	10
DTNB	50	50
Enzim çözeltisi	10	10
Asetilkolintiyoyodür	50	50

4.4.2. Bütirilkolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

Amaranthus blitoides bitki özütünün BChE üzerindeki etkisi incelendi. Yöntem bütirilkolinin, tiyokolin ve asetata ayrılması tepkimesini kataliz etmesidir. Ürün olarak ortaya çıkan tiyokolin ve DTNB'nin tepkimesi sonucunda meydana gelen sarı renge sahip 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit meydana gelir. Kontrol küvetinin içerisinde 100 µL Tris-HCl, 790

μL distile su, 50 μL DTNB, 10 μL enzim çözeltisi ve 50 μL Bütilrilkolintiyoyodür bulunmaktadır. Bitki ekstraktının bulunduğu küvetin içerisinde de 100 μL Tris-HCl, 780 μL distile su, 50 μL DTNB, 10 μL enzim çözeltisi, 50 μL Bütilrilkolintiyoyodür ve 10 μL ekstrakt bulunmaktadır. Ekstrakt içerisinde oluşan renk ve kör küvetlerinin 412 nm'de, 5 dakika süre ile absorbans değerleri ölçüldü.

4.5. Sitotoksik Etkilerin İncelenmesi

4.5.1. WST-1 Testi

Sitotoksikite testi *Amaranthus blitoides* bitki özütünün MCF-7 hücre hattına uygulama yapılmasıyla analiz edildi. *Amaranthus blitoides* numunelerinden 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 ve 50000 ppm olmak üzere on farklı konsantrasyon hazırlandı ve daha sonra MCF-7 hücreleri %10'luk FBS, %1'lik DMEM (penicilin/streptomisin) bulunan bir ortamda kültürlendi. Hücreler yaklaşık %80 ila %90 oranında bir konfluense ulaştıklarında çalışmaya başlandı. Daha sonra hücreler 96 kuyucuk bulunan bir mikropalakada kuyucuk başına 1×10^4 hücre olacak şekilde ekildi. Daha sonra 24 saat boyunca 37°C ve %5 CO_2 bulunan bir ortamda inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde bu hücreler test ajanlarına maruz bırakıldı ve tekrar 24 saat boyunca 37°C 've %5 CO_2 bulunan bir ortamda inkübe edildi. Bu inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra ise hücrelerin yüzde canlılığını değerlendirmek üzere WST-1 hücre canlılığı test prosedürü uygulandı.

WST-1 testi, 96 kuyucuklu bir plaka formatı kullanılarak hücre popülasyonunda; hücre proliferasyonu, hücrenin büyümesi, canlılığı ve kemosenitivitesinin (kanserli hücrelerin kanser tedavilerine karşı duyarlılığının/dirençliliğinin değerlendirilmesi) radyoaktif olmayan spektrofotometrik ölçümü amacıyla kullanılır. Suda çözdürülen tuz, hücre kültürü ile muamele edildikten sonra inkübe süresinin içerisinde reaksiyon, hücre kültüründe bulunan mitokondriyal dehidrojenazın ölçüsü ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişikliğine uğramaktadır.

Testi uygulamak için, çalışmaya hazır halde bulunan WST-1 reaktifi, daha önce 96 kuyucuklu mikropalakalarda kültürü yapılan hücrelerin bulunduğu ortama direkt olarak eklendi. Daha sonra reaktifi, boya formuna indirgemek amacıyla 90 dakika boyunca inkübe edildi. Daha sonra plaka, referans okuması 630 nm dalga boyunda, 450 nm'de okundu. Elde edilen veriler ELISA mikropalate okuma sonuçlarına göre değerlendirilip IC_{50} değerleri

GraphPad Prism 9.4.1 (GraphPad Software, Inc., San Diego) yazılımı yardımı ile hesaplanmıştır.

4.6. Genotoksik Etkilerin İncelenmesi

4.6.1. Komet Testi

Komet testi, DNA sarmal kırıklarını tespit etmek için kullanılan hızlı, ucuz ve oldukça duyarlı bir metottur. Komet testi, çok az düzeyde olan DNA hasarlarını bile gösterebilmesi, küçük sayılarda hücre ile bile çalışmanın yapılabilmesi, çok sayıda ekipmana gerek duyulmaması, kolay uygulanabilir olması, farklı hücre ve doku grupları ile çalışma yapılabilmesi, sonuçlara saatler içinde ulaşılabilmesi sonrasında değerlendirilebilmesi, güvenilirliğinin yüksek olması, ekonomik olması vb. gibi nedenlerden ötürü oldukça tercih edilmektedir.

Yapılan hücre kültürü çalışmasında IC₅₀ değerlerine bakılarak IC₅₀ değerinin altı ve üstü olan farklı konsantrasyonlar belirlendi. MCF-7 hücreleri, *Amaranthus blitoides* için 1 ppm, 10000 ppm ve 50000 ppm konsantrasyonları ile 37 °C sıcaklıkta ve %5 CO₂'li ortamda 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sona erdikten sonra hücreler, yüzeyden alındı ve santrifüj edildikten sonra oluşan süpernatant ortamdan alındı. Sonra tüpte kalan hücrelere PBS eklenerek hücre süspansiyonu hazırlandı.

Preparatları hazırlamak için PBS içerisinde olan %1'lik normal kaynama dereceli (NMP) agaroz jelden 80 µL alındıktan sonra buzla soğutulan lamın üzerine damlatıldı ve lamel ile kapatılıp 4°C'de 5 dk bekletildi, jel donduktan sonra lamel kaldırıldı ve nemli kutularda bekletildi. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 50 µL alınarak, 100 µL %0,7'lik düşük kaynama dereceli (LMP) agaroz jel ile karıştırıldı ve ilk hazırlanan agarozlu lamın üzerine tabakalandırıldı, üzerine lamel kapatılıp donması için buzdolabına konuldu. Bu da donduktan sonra son olarak LMP agaroz jel, üzerinde ince bir tabaka oluşturacak şekilde konuldu ve çalışılacak preparatlar hazır hale getirildi.

Hücreyi ve çekirdek zarını eritmek suretiyle DNA zincirlerinin agaroz içerisinde serbest halde kalmasını sağlamak amacıyla hazırlanan preparatlar bir saat boyunca yüksek konsantrasyonlu bir tuz ve deterjan (100 mM EDTA-Na₂, 2,5 M NaCl, 10 mM Trisma base,

%1'lik Triton X-100, %10'luk DMSO pH:10,0 olacak) bulunan soğuk lizis solüsyonunda bekletildi.

Preparatlar, DNA'daki zincirlerini ayırmak amacıyla alkali olan elektroforez tamponunda (1 mM EDTA-Na₂, 300 mM NaOH, pH:13) 30 dk inkübe edildi. Bu işlemden sonra DNA'lar bu tampon çözeltinin içinde 300 mA ve 20 V elektriksel alanda 25 °C'de 30 dk yürütüldü.

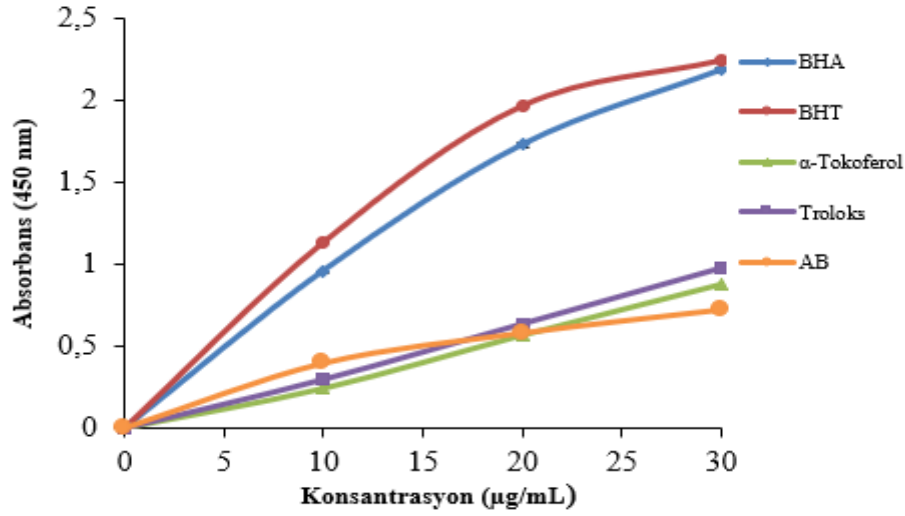
Elektroforezde yürütme işleminden sonra, preparatlardan alkali çözeltiyi uzaklaştırmak için 3'er dakikadan üç kez her preparata 5 ml olacak şekilde nötralize tamponu olan 0,4 M Tris-HCl (pH:7,5 olacak) ile yıkama işlemine tabi tutuldu. Bu işlem de tamamlandıktan sonra preparatlar SafeView ile boyandı. Floresans mikroskopa fotoğraflandırılarak sayım işlemi yapıldı. Hasar bulunmayan DNA'lara 0, hasar bulunanlara ise hasar derecesine göre 1 ila 4 arasında puan verildi ve değerlendirme yapıldı. Yapılan testin değerlendirmesi, TriTek CometScore 2.0 SoftWare (TriTek Corporation, Sumerduck, VA, USA) yazılımı ile yapılmıştır.



5. BULGULAR

5.1. Kuprak Metodu

Ölçülen absorbans değerleri incelendiğinde *Amaranthus blitoides* özütünün Cu^{2+} iyonlarını indirgeme kapasitesinin konsantrasyon ile aynı orantılı bir şekilde arttığı saptanmıştır. *Amaranthus blitoides* ekstraktının ve bazı standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme grafiği çizilip aşağıdaki Şekil 5.1’de gösterilmiştir.

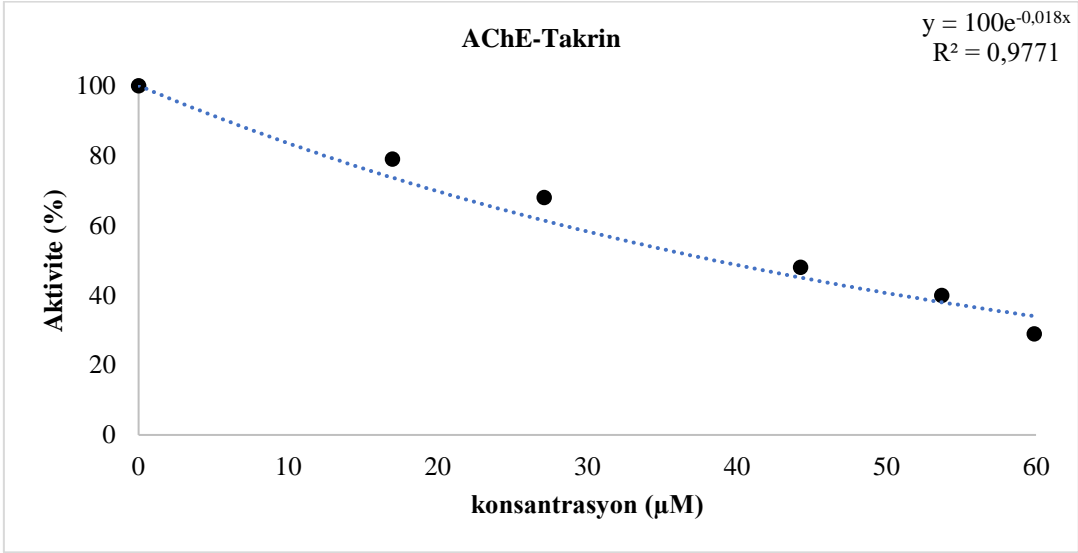
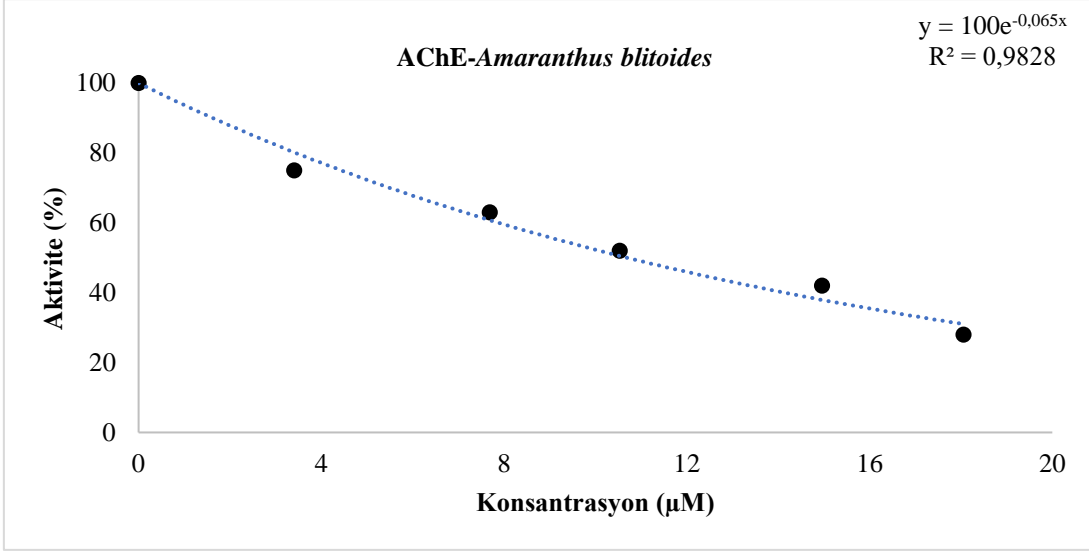


Şekil 5.1: *Amaranthus blitoides* (AB) ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitelerinin standart antioksidanlar (α -tokoferol, troloks, Butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), Butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ile karşılaştırılması

Elde edilen sonuçlara göre oluşturulan grafik incelendiğinde ekstraktın ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitelerinin sıralanışı BHA>BHT > α -Tokoferol > Troloks > *Amaranthus blitoides* şeklinde olduğu saptanmıştır.

5.2. Asetilkolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

Doymuş substrat derişiminde AChE enziminin klasik inhibitörü olan Takrin ve bitki ekstraktı ile inhibisyon etkisi incelendi ve aktivite (%)-konsantrasyon grafikleri çizildi. Çizilen grafiklerden bitki ekstraktının ve Takrin’in IC_{50} değeri hesaplandı (Şekil 5.2).

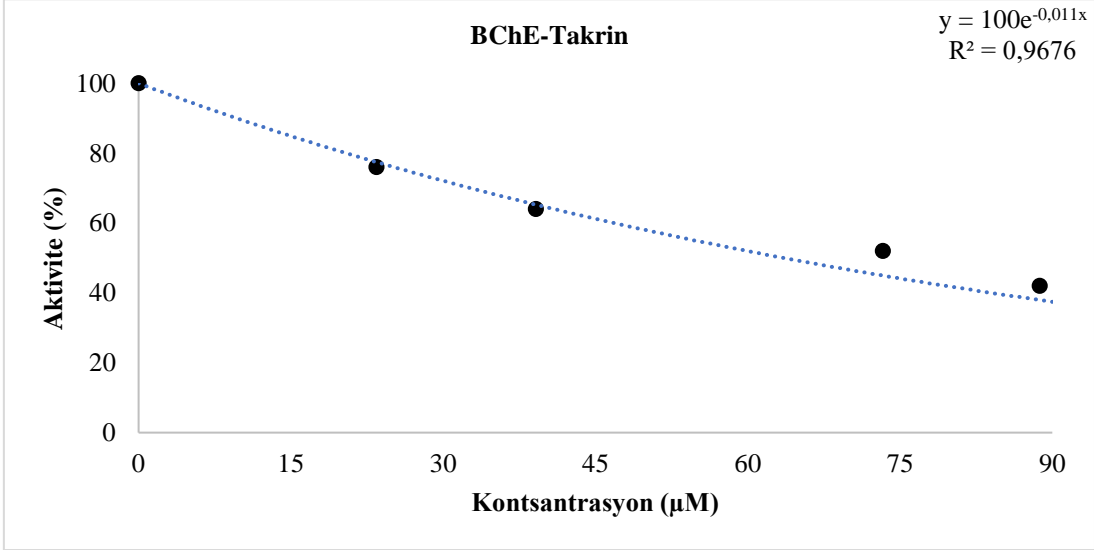
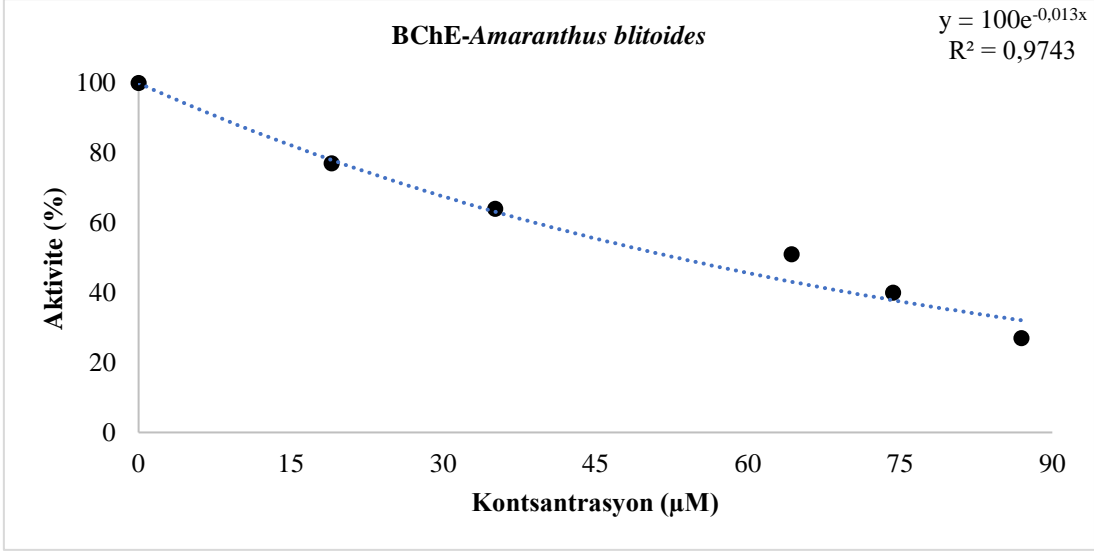


Şekil 5.2: AChE için grafikler

Amaranthus blitoides'in IC_{50} değeri $10,66 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı. Bu değeri Takrin ile kıyasladığımızda bu bitkinin daha iyi bir inhibitör olduğu söylenebilir. Çünkü yaptığımız çalışmadaki AChE için Takrin'in IC_{50} değeri $38,50 \mu\text{g/mL}$ elde edilmiştir. (IC_{50} değerinin düşük olması iyi bir inhibitör olduğunu göstermektedir).

5.3. Bütirilkolinesteraz Enzimine Karşı İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

Doymuş substrat derişiminde BChE enziminin klasik inhibitörü olan Takrin ve bitki ekstraktı ile inhibisyon etkisi incelendi ve aktivite (%)-konsantrasyon grafikleri çizildi. Çizilen grafiklerden bitki ekstraktının ve Takrin'in IC_{50} değeri hesaplandı (Şekil 5.3).



Şekil 5.3: BChE için grafikler

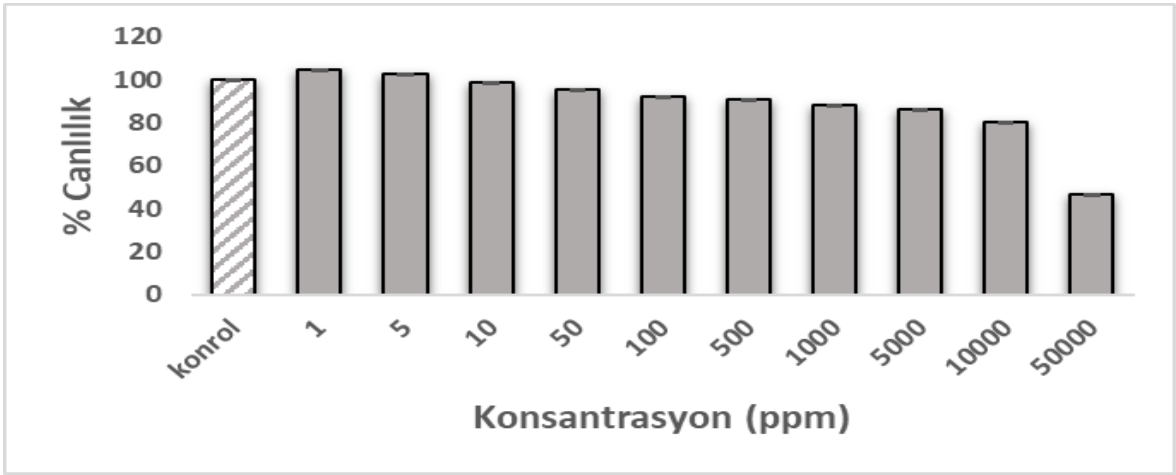
BChE enzimi için ise *Amaranthus blitoides*'in IC_{50} değeri 53,31 µg/mL elde edildi. Bu değeri Takrin ile kıyasladığımızda bu bitkinin biraz daha iyi bir inhibitör olduğu söylenebilir. Çünkü yaptığımız çalışmadaki AChE için Takrin'in IC_{50} değeri 63,01 µg/mL elde edilmiştir.

5.4. WST-1 Testi

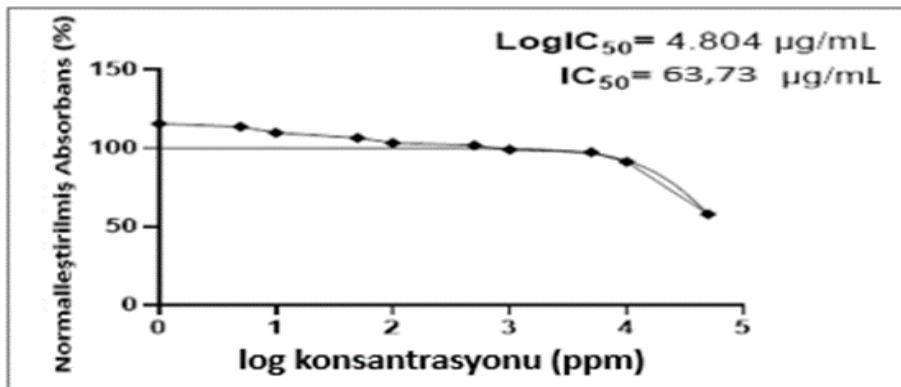
ELISA mikropate okuma sonuçları incelendiğinde negatif kontrol olarak tanımlanan grup yüzde yüz canlı olarak kabul edilip farklı konsantrasyonlardaki yüzde canlılık hesaplamaları yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıda gösterilmektedir (Tablo 5.1; Şekil 5.4, Şekil 5.5)

Tablo 5.1: *Amaranthus blitoides*'e ait hücre canlılık oranları

Konsantrasyonlar (ppm)	% Canlılık
Negatif kontrol	100
1	104,45
5	102,64
10	98,71
50	95,50
100	92,25
500	90,72
1000	87,95
5000	86,31
10000	80,20
50000	46,84



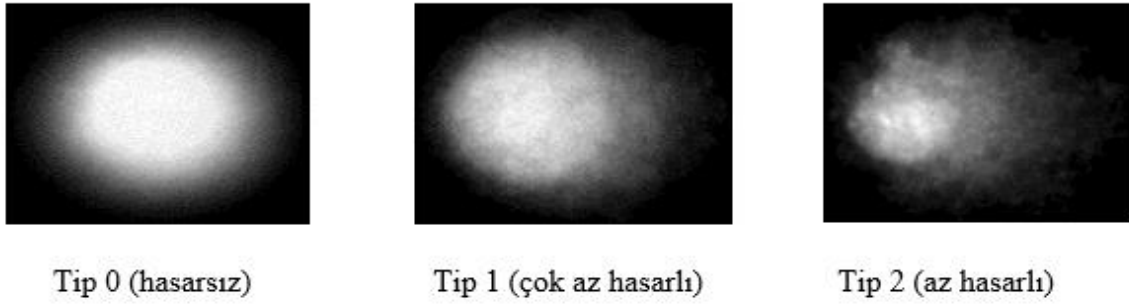
Şekil 5.4: *Amaranthus blitoides*'e ait hücre canlılığı grafiği



Şekil 5.5: *Amaranthus blitoides*'e ait IC₅₀ değerlendirmesi

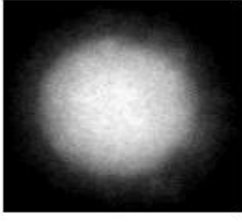
5.5. Komet Testi

Görüntüler incelendiğinde 1 ppm ekstrakt ile muamele edilen hücrelerde çok sayıda hücrenin DNA'sının Tip 0 (hasarsız) olduğu, az sayıda da olsa Tip 1 (çok az hasarlı) ve Tip 2 (az hasarlı) olduğu saptanmıştır (Şekil 5.6).

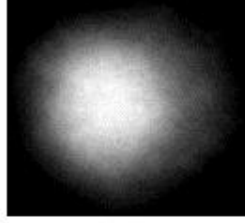


Şekil 5.6: 1 ppm konsantrasyonda farklı derecelerdeki DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü

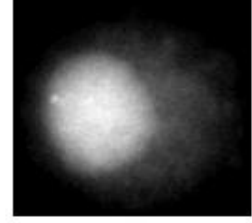
10.000 ppm bitki ekstraktı ile çalışılan hücrelerin komet görüntüleri incelendiğinde ise Tip 4 (çok hasarlı) hariç hemen hemen bütün hasar dereceleri görülmekte olup 1 ppm'lik konsantrasyondan farklı olarak azımsanmayacak derecede Tip 3 (hasarlı) dereceli DNA hasarları da görülmüştür (Şekil 5.7).



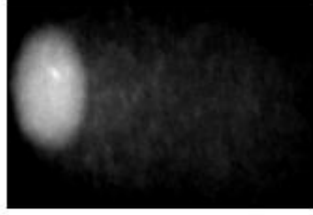
Tip 0 (hasarsız)



Tip 1 (çok az hasarlı)



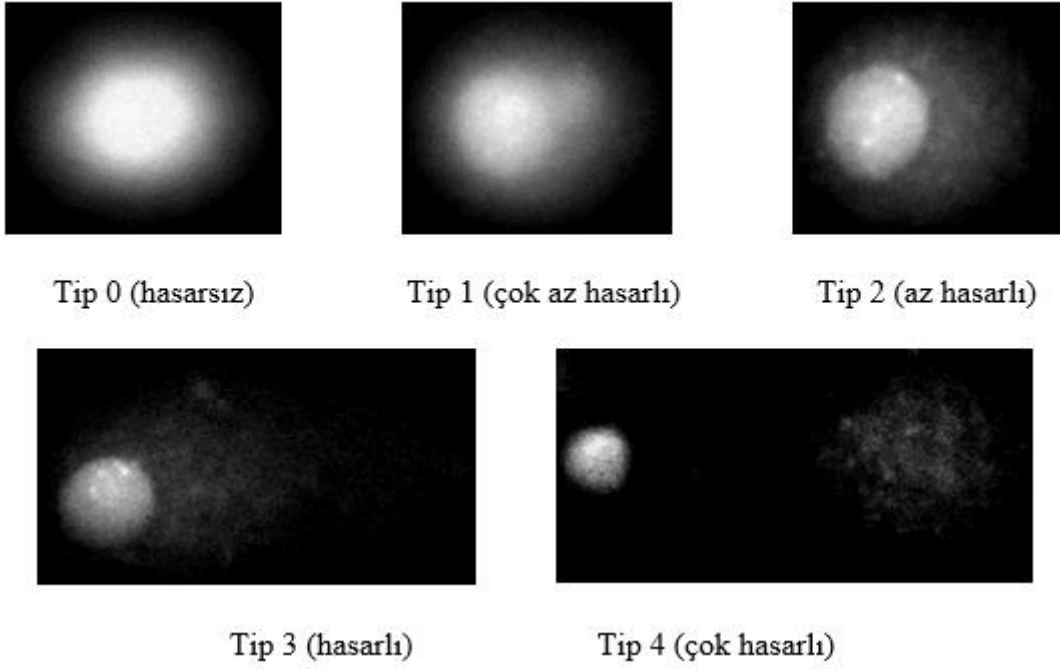
Tip 2 (az hasarlı)



Tip 3 (hasarlı)

Şekil 5.7: 10000 ppm konsantrasyonda farklı derecelerdeki DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü.

Son olarak 50000 ppm ekstrakt ile muamele edilen hücrelerde ise bütün DNA hasar derecelerinin görüldüğü saptanmıştır (Şekil 5.8).



Şekil 5.8: 50000 ppm konsantrasyonda farklı derecelerdeki DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü.

Tablo 5.2: *Amaranthus blitoides*'e ait genotoksisite (Komet Testi) değerlendirme sonuçları

Numune Adı	Kuyruk Uzunluğu (px)	DNA Kuyruğu (%)	Kuyruk Momenti	Kuyruklu Çekirdek Momenti
Negatif Kontrol	12.691.083	7.981.535	9.719.895	3.530.256
<i>Amaranthus</i>				
<i>blitoides</i> 1 ppm (0,0001)	28.514.706	11.689.779	27.336.902	8.456.455
<i>Amaranthus</i>				
<i>blitoides</i> 10000 ppm (%1)	78.600.897	22.297.994	47.833.345	21.293.886
<i>Amaranthus</i>				
<i>blitoides</i> 50000 ppm (%5)	131.511.111	31.730.993	85.966.432	43.545.308

Tablo 5.2'yi incelediğimizde, negatif kontrolün kuyruk uzunluğunun 12,69 px iken; 1 ppm'de 28,51 px, 10000 ppm'de 78,6 px, 50000 ppm'de ise 131,51 px olduğu görülmektedir. Kuyruk yoğunluklarını (kuyruktaki DNA parçalarının yüzdesi) incelediğimizde ise negatif kontrol grubunun yoğunluğu %7,98 olduğu görülürken bu değer 1, 10000 ve 50000 ppm ekstraktlarda sırasıyla %11,68, %22,29 ve %31,73 olarak görülmüştür. Kuyruk momentini inceleyecek olursak negatif kontrolün 9,71; 1, 10000 ve 50000 ppm'lik konsantrasyonlarda ise sırasıyla 27,33, 47,83 ve 85,96 olarak saptanmıştır. Son olarak kuyruk çekirdek momenti değerlerinde negatif kontrolün 3,53; 1, 10000 ve 50000 ppm'lik konsantrasyonlarda ise sırasıyla 8,45, 21,29 ve 43,54 olduğu görülmüştür.

Bütün sonuçlar değerlendirildiğinde *Amaranthus blitoides* ekstraktına tabi tutulan MCF-7 hücrelerinin komet görüntülerinde ekstrakt konsantrasyonunun arttıkça MCF-7 hücrelerindeki DNA hasarının da doğru orantılı şekilde arttığı gözlemlenmiştir.

6. TARTIŞMA

Meme kanseri, yüksek mortalite ve morbidite oranı nedeniyle kadınlar arasında önde gelen bir sağlık sorunudur. Metastatik meme kanserinde beş yıllık sağkalım oranı, adjuvan kemoterapiyle bile %30'un altındadır (Riggio vd., 2021). 2020 yılında dünya çapında yeni tanı konulan meme kanseri vakaları yaklaşık olarak 2,3 milyon ve kadınlar arasında görülen yaklaşık olarak kanser vakalarının dörtte birini oluşturmaktadır. Meme kanseri hastalığı, ülkelerin genelinde en sık tanı konan kanser türüdür ve 110 ülkede kanser ölümlerinde ilk sırada yer almaktadır (Sung vd., 2021). Ülkemize baktığımızda ise tıpkı dünya çapında olduğu gibi en sık görülen kanser çeşidi meme kanseridir (URL-12, 2022).

Günümüzde hastalıkların önlenmesi ve terapötik amaçlarla doğal ürünlerin ve tıbbi bitkilerin kullanımı giderek artmaktadır. Fitoterapi uygulamaları dünyada birçok ülkede artış göstermektedir ve ülkemizde de özellikle kanser gibi belirli hastalıklarda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bazı bitkisel ürünlerin deney hayvanlarındaki tümörlü hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiği ve kansere karşı kullanılabilmesi iddia edilmiştir.

Fitoterapi, tümörün semptomatik tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır bu nedenle araştırmacıların, araştırmalarını bitki kökenli antikanserojenik alanda yapmaya sevk etmiştir (Pandey vd., 2017).

Fitoterapide kullanılan bitkilerin, kanserde maligniteye karşı savunmada etkili olan detoksifikasyonun artırılmasında, bazı hormonların, enzimlerin olumsuz etkilerinin, kemoterapinin ve/veya radyoterapinin olumsuz etkilerinin ve komplikasyonların azaltılmasında, ayrıca vücudun bağışıklık fonksiyonunu iyileştiren hücrelerin biyolojik etkilerinde etkili olduğu görülmektedir (Lopes vd., 2017).

Amornrit vd. (2015), *Amaranthus lividus* L. ve *Amaranthus tricolor* L. ekstraktlarını insan nöroblastoma SH-SY5Y hücrelerinde hücre canlılığını tespit etmek amacıyla MTT testini kullandılar. SH-SY5Y hücreleri farklı konsantrasyonlardaki (0–1000 µg/mL) A. lividus L. ve A. tricolor L. bitki ekstraktları ile 24 saat boyunca inkübe ettiler. Elde ettikleri verilere göre bu bitki ekstraktlarının hücre canlılığını %80 azalttığını buldular.

Baghani vd. (2019), *Amaranthus cruentus*-biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesini ve MCF-7 meme kanseri hücre hattına yönelik sitotoksik etkilerini incelediler. Sitotoksik etkileri için MTT testini, antioksidan aktivitesi için DPPH ve ABTS yöntemlerini kullandılar. Elde ettikleri verilere göre ekstrakt çözeltisinin MCF-7 hücrelerine

karşı zamana ve doza bağlı sitotoksosite gösterdiğini, 80 µg/mL konsantrasyonu ile 24 saat maruz bırakıldığında, kanserli hücrelerin canlılığı 48 saat ve 72 saat sonra sırasıyla %19'dan %2,03'e ve %1,9'a düştüğünü buldular. Yaptıkları antioksidan aktivitesi çalışmalarına göre ise ekstraktın IC₅₀ değerini 500 µg/mL (DPPH) ve 400 µg/mL (ABTS) olarak elde ettiler. Bu veriler ışığında genel olarak bitki ekstraktını, metal nanopartiküllerin sentezi için tehlikeli yöntemlere karşı kolay ve çevre dostu alternatifler olarak hizmet edebileceğini, dolayısıyla *A. cruentus*'un biyosentezlediği gümüş nanopartiküllerinin düşük toksisite ve uygun antioksidan aktiviteleri nedeniyle tıpta çeşitli amaçlarla kullanılabilirliği sonucuna vardılar.

Şafii vd. (2023), *Amaranthus caudatus* L. ekstraktının insan Hepatosit hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini MTT testi nötral kırmızısı testi ile incelediler. MTT testini gerçekleştirmek için; 24 saatlik inkübasyonun ardından, her bir kuyucuğa 0,05 mg MTT ilave ettiler ve inkübatörde iki saat beklettiler. Daha sonra kuyucuklardaki sıvının tamamını boşalttılar ve her kuyucuğa 100 mikrolitre dimetil sülfoksit (DMSO) eklediler. Mor boyanın iyi bir ortamda tamamen dağılması için plakayı birkaç kez hafifçe çalkaladılar. Sonunda kuyucuklarda oluşan mor boyanın absorbansını 490 nm dalga boyunda bir ELISA okuyucusu ile okudular. Tüm adımları beş kez tekrarladılar ve ortalama absorbans, mitokondriyal aktivite olarak kabul ettiler. Elde ettikleri absorbans değerleri ile hücre canlılık yüzdesini hesapladılar. Bu hesaplamalara göre 10,50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda hücre canlılığının önemli ölçüde azalmadığını, 200 µg/mL konsantrasyonunda ise hücre canlılığının %40'a düştüğünü elde ettiler. Nötral kırmızısı yöntemini uygulamak için 24 saatlik inkübasyonun ardından kuyucukların içeriklerini boşalttılar, her kuyucuğa 200 µL desorbing solüsyonu ilave ettiler ve hücrelerden nötr kırmızı boyayı çıkartarak kuyucuklarda biriktirdiler. Daha sonra 96 oyuklu bir plakayı, yaklaşık on dakika boyunca bir çalkalayıcıya yerleştirdiler. Sonunda kuyucukların absorbansını ELISA ile 540 nm'de okudular. Elde ettikleri absorbans değerleri ile hücre canlılık yüzdesini hesapladılar. Bu hesaplamalara göre hücrelerin canlılığının 10 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarda önemli ölçüde azalmadığını, 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığının yarı yarıya (%50) düştüğünü, 200 µg/mL seyreltmede hücre konsantrasyonda hücre canlılığının bundan daha düşük (%30) olduğunu elde ettiler. Bu yöntemle aynı zamanda bu bitkinin doza bağlı sitotoksitesini de doğruladılar.

Amaranthus spinosus yapraklarının metanolik ham ekstraktlarının 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerini temizlediği ve linoleik asit oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Yazarlar ayrıca toplam fenolik ve toplam flavonoid aktivitesini de bildirdiler (Amabye, 2015). Organik amaranth ununun antioksidan aktivitesi, DPPH radikallerine karşı serbest ve bağlı formu kullanılarak değerlendirildi, bağlı formun antioksidan aktivitesinin serbest forma göre çok daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bağlı ve serbest antioksidan aktiviteleri sırasıyla %91,01 ile %98,70 ve %1,30 ile %8,90 arasında değişmektedir (Inglett, 2015). *Amaranthus caudatus*'un çiçeklerinden, tohumlarından ve yapraklarından metanol ve sıcak su ile ekstrakte edilen tanenin ABTS, DPPH radikallerini temizlediği ve indirgeme gücüne sahip olduğu gösterilmiştir. Ek olarak 1 mg/mL'de azaltılmış antioksidan güç tahlili değerleri 0,1 ile 1,14 arasında değişmektedir. 100 µg/mL'de tanen, insan promyelositik lösemi (HL-60) hücre hattında süperoksit radikalının %41'ini ve makrofaj (RAW 264.7) hücrelerindeki nitrik oksit (NO) seviyelerini %43,4 oranında inhibe etti. Ayrıca tanen uygulanan RAW 264.7 hücrelerinde süperoksit dismutaz (SOD) ekspresyonu arttı. Bulgular, Amaranth tanenin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve makul bir antitümör ajanı olabileceğini düşündürmektedir (Jo, 2015). *Amaranthus lividus* ve *Amaranthus hybridus*'un kök ve tohumlarının metanolik ekstraktlarının, standart olarak bütillenmiş hidroksitoluen kullanılarak DPPH radikallerini temizlediği gösterilmiştir. *A. lividus* ve *A. hybridus* için IC₅₀ değerleri sırasıyla 93 ± 2,4 ve 28 ± 1,8 µg/mL bulunmuştur (Mamun vd., 2016).

Biz de yaptığımız bu tez çalışmamızda Türkiye'nin Bartın ilinden toplanan *Amaranthus blitoides* bitkisinin antioksidan ve antikolinerjik aktivitelerini, MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkilerini literatüre kazandırmayı amaçladık.

Yapılan bu çalışmada *Amaranthus blitoides* (sürünücü horoz ibiği) bitkisinden elde edilen ekstraktın antioksidan, antikolinerjik, antikanser ve genotoksik etkileri incelenmiştir. Bitki örnekleri toplandı, kurutuldu ve daha sonra öğütücü ile toz haline getirildi. Toz haline getirilen numuneden 25 gr tartıldı ve Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakt elde edildi.

Bitkinin antioksidan etkilerini incelemek amacıyla kuprak metodu kullanıldı ve elde edilen sonuçlara göre 30 µg/mL *Amaranthus blitoides* ekstraktının standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) bakır iyonlarını indirgeme etkinliğinin en düşük olduğu saptanmıştır.

Bitkinin antikolinerjik etkilerini incelemek amacıyla kolinesterazlar (AChE ve BChE) ile çalışılmıştır. *Amaranthus blitoides*'in AChE ve BChE enziminin klasik inhibitörü Takrin'e

karşı inhibisyon etkisi incelendi ve her iki enzime göre de daha iyi bir inhibitör olduğu sonucuna varılmıştır.

Bitkinin sitotoksik etkilerini incelemek amacıyla yapılan WST-1 testinde hazırlanan çok sayıda farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraktlarının MCF-7 hücre hattındaki etkileri incelendi. Elde edilen sonuçlara göre 1 ve 5 ppm'lik konsantrasyonlarda hücre canlılığının çok az da olsa arttığı (1 ppm: %104,45, 5ppm: %102,64), daha sonraki konsantrasyonlarda ise konsantrasyonun artmasına bağlı olarak yüzde canlılığının giderek azaldığı görülmüştür. *Amaranthus blitoides*'e ait IC₅₀ değeri ise 63,73 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu bitkinin toksik dozlarda hücre canlılığını azaltarak toksik etkilere sahip olduğu bulunmuştur; yani 50000 ppm konsantrasyonda hücre canlılık oranı yarımın altına iner bu da sarılık ve akut yetmezliğe neden olabilir. Dolayısıyla bu bitkinin yaygın kullanımını nedeniyle yararları ve olumlu etkilerinin yanı sıra hepatotoksik etkileri de dikkate alınmalı ve keyfi tüketimi sınırlandırılmalıdır.

Bitkinin genotoksik etkilerini incelemek amacıyla Komet testi kullanıldı ve elde edilen sonuçlara göre; 1 ppm *Amaranthus blitoides* ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde çok sayıda hücrenin DNA'sının Tip 0 (hasarsız) olduğu, az sayıda da olsa Tip 1 (çok az hasarlı) ve Tip 2 (az hasarlı) olduğu saptanmıştır. 10000 ppm'lik ekstrakta maruz bırakılan hücrelerin komet görüntülerinde ise Tip 4 (çok hasarlı) hariç hemen hemen bütün hasar dereceleri görülmekte olup 1 ppm'lik konsantrasyondan farklı olarak azımsanmayacak derecede Tip 3 (hasarlı) dereceli DNA hasarları da görülmüştür. Son olarak 50000 ppm ekstrakt ile muamele edilen hücrelerde ise genel olarak DNA hasar derecelerinin Tip 3 (hasarlı) ve Tip 4 (çok hasarlı) oldukları saptanmıştır. Negatif kontrolün kuyruk uzunluğunun 12,69 px iken; 1 ppm'de 28,51 px, 10000 ppm'de 78,6 px, 50000 ppm'de ise 131,51 px olduğu görülmektedir. Kuyruk yoğunluklarına bakıldığında negatif kontrol grubunun %7,98'lik bir yoğunluğu varken 1, 10000 ve 50000 ppm'lik konsantrasyonlarda sırasıyla %11,68, %22,29 ve %31,73 yoğunluğa sahip olduğu görülmüştür. Kuyruk momentini inceleyecek olursak negatif kontrolün 9,719; 1, 10000 ve 50000 ppm'lik konsantrasyonlarda ise sırasıyla 27,33, 47,83 ve 85,96 olarak saptanmıştır. Son olarak kuyruk çekirdek momenti değerlerinde negatif kontrolün 3,53; 1, 10000 ve 50000 ppm'lik konsantrasyonlarda ise sırasıyla 8,45, 21,29 ve 43,54 olduğu görülmüştür.

Bütün genotoksisite sonuçları değerlendirildiğinde *Amaranthus blitoides* ekstraktına tabi tutulan MCF-7 hücrelerinin komet görüntülerinde ekstrakt konsantrasyonunun arttıkça

MCF-7 hücrelerindeki DNA hasarının da doğru orantılı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle bu bitkinin kullanımını kontrol altında tutulmalı ve keyfi olarak çok tüketilmemelidir.



7.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmanın planlanması sırasında Sürünücü horoz ibiği (*Amaranthus blitoides*)’nden elde edilen ekstrakta ait antioksidan ve antikolinerjik aktivite çalışmaları ile MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkilerine dair bir çalışmaya yapılan literatür taramalarında rastlanılmamıştır. Bu çalışmada *Amaranthus blitoides* bitkisinin; kuprak testi ile antioksidan özellikleri, kolinesterazlar (AChE ve BChE) kullanılıp standart inhibitör Takrin ile karşılaştırılarak antikolinerjik aktivitesi, WST-1 testi sitotoksitesisi ve son olarak komet testi ile genotoksitesisi incelenmiştir ve çıkan sonuçlar değerlendirilmiştir.

Yaptığımız çalışmada çevreye zararlı ve pahalı olan kimyasal yöntemlerde kullanılan toksik indirgen ajanların yerine hem daha çevreci hem de daha ucuz bir yöntem olan fitoterapi olarak adlandırılan bitki özütlerinin kullanılması yönteminin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılması amaçlanmıştır.

Yaptığımız çalışmadaki *Amaranthus blitoides* bitkisi ile yapılan kuprak metodunun sonuçları değerlendirildiğinde bu bitkinin az da olsa antioksidan özellik gösterdiği; AChE ve BChE enziminin klasik inhibitörü Takrin’e karşı inhibisyon etkisi incelendi ve her iki enzime göre de daha iyi bir inhibitör olduğu; WST-1 testinin sonuçları değerlendirildiğinde MCF-7 hücre canlılığının düşük konsantrasyonlarda arttığı ancak daha yüksek konsantrasyonlarla muamele edilince hücre canlılığının azaldığı görülmüştür. Komet testinin sonuçları değerlendirildiğinde ise *Amaranthus blitoides* ekstraktının konsantrasyon yüzdesinin arttıkça MCF-7 hücre hattında DNA hasarının da doğru orantılı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz bu veriler *Amaranthus blitoides* ekstraktının antioksidan ve antikolinerjik özellikleri, sitotoksik ve genotoksik etkileri hakkında yeni bilgiler vermiştir. Çalışılan bu bitkinin amaçladığımız özellik ve etkilerini belirlemek için ek araştırmalar gerekli olsa da elde ettiğimiz bu veriler ışığında meme kanseri tedavisi için fitoterapötik bir ajan olarak ayrıyeten az da olsa antioksidan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu nedenle *Amaranthus blitoides* ekstraktının MCF-7 hücrelerindeki bu etkileri *in vivo* deneylerde de gösterilerek bu bulguların desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Bilindiği üzere yapılan her biyolojik çalışmada, kullanılan bitkilerinin biyolojik aktivitelerini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Örneğin, yapılan çalışmanın test sentezinin hangi yöntem ile yapıldığı, çalışılan konsantrasyonların değeri, bitki ekstraktının

elde edilme şekilleri, saklama koşulları gibi farklı çalışmalarda değişkenlik gösterebilen bu faktörlere bağlı olarak önceden yapılan ya da sonradan yapılacak olan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilebilmektedir/edilebilecektir.

Kısaca, yapılan literatür taramasında *Amaranthus blitoides* bitkisinden elde edilen ekstraktın antioksidan ve antikolinergik özelliklerinin, MCF-7 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkilerinin incelenmediği görülmüştür. Yapılan bu çalışmada bitkinin bu özellikleri incelenmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda bu bitki ekstraktının sağlık ve gıda endüstrilerinde değerlendirilebileceği görülmüştür. Farklı çalışmalarda bu bitkiden daha iyi sonuçlar elde edebilmek için daha farklı ekstraksiyon yöntemleri, daha yüksek konsantrasyonlar ya da bitkinin etken maddelerinin hangi kanser türüne olumlu etki gösterdiği araştırılarak farklı kanser hücre hatlarında kullanılabilir. Böylelikle antioksidan, sitotoksik ve genotoksik özelliklerinde daha verimli sonuçlar elde edilebileceği öngörülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abrams, P., Andersson, K.E., Buccafusco, J.J., Chapple, C., De Groat, W.C., Fryer, A.D., Kay, G., Laties, A., Nathanson, N.M., Pasricha, P.J., Wein, A.J. (2006). Muscarinic receptors: their distribution and functions in body systems and implications for the treatment of overactive bladder. *British Journal of Pharmacology*, 148 (5): 565-78.
- Akkafa, F., Hayırlı, Z., Temiz, E., Koyuncu, İ. (2022). Pikan Cevizi (*Carya illinoensis*) Kabuğunun Antikanser Aktivitesinin İncelenmesi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19 (1): 131-136.
- Al-Mamun, M.A., Husna, J., Khatun, M., Hasan, R., Kamruzzaman, M., Hoque, K., Reza, M.A., Ferdousi, Z. (2016). Assessment of antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of two vegetable species of *Amaranthus* in Bangladesh. *BMC Complement Alternative Medical*, 16: 157.
- Amabye, T.G. (2015). Evaluation of physiochemical, phytochemical, antioxidant and antimicrobial screening parameters of *Amaranthus spinosus* leaves. *Natural Products Chemistry Research*, 4: 1–5.
- Amornrit, W., Santiyanont, R. (2015). Effect of *Amaranthus* on Advanced Glycation End Products-Induced Cytotoxicity and Proinflammatory Cytokine Gene Expression in SH-SY5Y Cells. *Molecules*, 20: 17288-17308.
- Andraszek, K., Banaszewska, D., Czubaszek, M., Wójcik, E., Szostek, M. (2014). Comparison of different chromatin staining techniques for bull sperm, *Archives Animal Breeding*, 57 (1): 1-15.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S.E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160: 413–419.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. ve Erça, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57: 292–304.
- Aragão, L. (2014). WST-1 assay Protocol for adherent cells. *Standard Operation Procedure (SOP): WP 3-Number 2, Santiago*.
- Audino, D., Park, R. (2016). Patent Application Publication. Public No.: US 2016/0331796 A1, *United States*.
- Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2): 56-60.
- Aydıntuğ, S. (2004). Meme Kanserinde Erken Tanı. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 13(6):226.
- Baghani, M., Es-haghi, A. (2019). Antioxidant activity and cytotoxic effects of *Amaranthus cruentus*-biosynthesized silver nanoparticles towards MCF-7 breast cancer cell line. *International Journal of Medical*, 4 (1): 17.
- Barrio, D.A., Añón, M.C. (2010). Potential antitumor properties of a protein isolate obtained from the seeds of *Amaranthus mantegazzianus*. *European Journal of Nutrition*, 49: 73-82.

- Başbayraktar, V. (2009). Soğutma ve Radurizasyonun Tavuk Eti Kalitesine Etkisinin DNA Comet Assay Yöntemi ile Belirlenmesi, *Doktora Tezi (yayınlanmış), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği, Ankara.*
- Beckman, K.B., Ames, B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78 (2): 547-579.
- Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B.Ş., Alvir, M. (2004). DNA hasarı analizinde μ -fadu ve comet yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2 (3): 97-103.
- Berger, M.M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24: 172-183.
- Buzdar, A.U. (1998). Update on endocrine therapy for breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 4 (3): 527-34.
- Chew, M.L., Mulsant, B.H., Pollock, B.G., Lehman, M.E., Greenspan, A., Mahmoud, R.A., Kirshner, M.A., Sorisio, D.A., Bies, R.R., Gharabawi, G. (2008). Anticholinergic activity of 107 drugs commonly used by older adults. *Journal of the American Geriatrics Society*, 56 (7): 1333-1341.
- Chihuh, W.C. (2013). Evaluation Of Thymoquinone For Cytotoxic Activity Against Human Breast Cancer Cell Lines And Tumor Xenograft In Nude Mice, *PhD Thesis, National University Of Singapore Department of Pharmacology, Singapore.*
- Collins, A.R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Molecular Biotechnology*, 26 (3): 249.
- Commoner, B, Townsend, J., Pake, G.E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174: 689–691.
- Coxe, S.M. 1915. Ethnobotany of the Zuni Indians. *In Thirtieth annual report of the Bureau of American Ethnology*, 31–102.
- De Wilde, S., Carey, I.M., Harris, T., Richards, N., Victor, C., Hilton, S.R., Cook, D.G. (2007). Potentially inappropriate prescribing trends among older primary care patients in the UK. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 16(6):658-67.
- De Zwart, L.L, Meerman, J., Commandeur, J., Vermeulen, N. (1999). Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 26 (1/2): 202-226.
- Dilsiz, N. (2009). Moleküler Biyoloji (2. Baskı), Palme Yayıncılık, Ankara.
- Durmaz, A., Dikmen, N., Gündüz, C. (2010). DNA hasar analizinde tek hücre jel elektroforezi. *Dergi Park Akademik*, 19 (4): 236-243.
- Dündar, Y, Aslan, R. (1999). Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2 (2): 134-142.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr., V., FeatherStone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88-95.

- Eren, E. (2011). Bazı Soğanslı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi (yayınlanmıştır), Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.*
- Erkekoğlu, P., Baydar, T. (2021). Current In Vitro Cytotoxicity Tests. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 41 (1): 45-63.
- Everitt, J.H., Lonard, R.L., Little, C.R. (2007). Grasses in South Texas and Northern Mexico. Lubbock: Texas Tech University Press. 0-89672-614-2.
- Fidan, A.F. (2005). DNA hasar tespitinde tek hücre jel elektroforezi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (1): 41-52.
- Gerretsen, P., Pollock, B.G. (2011). Drugs with anticholinergic properties: an updated perspective on use and safety. *Expert Opinion on Drug Safety*, 10(5):751-65.
- Gezici, S., Koçum, D., Yayla, F., Şekeroğlu, N. (2020). *Clinopodium serpyllifolium subsp. serpyllifolium* Bitkisinin Akciğer Kanseri ve Beyin Glioma Hücre Hatlarında Antikanser, Antiproliferatif ve Apoptotik Hücre Ölümü Üzerine Etkilerinin Araştırılması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 5 (25): 974 – 985.
- Goldhirsch, A., Wood, W.C., Gelber, R.D., Coates, A.S., Thürlimann, B. (2003). Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 21 (17): 3357-3365.
- Gomberg, M. (1900), An incidence of trivalent carbon trimethylphenyl. *Journal of the American Chemical Society*, 22: 757-771.
- Gosens, R., Gross, N. (2018). Mode of action of anticholinergics in asthma. *European Respiratory Journal*, 52: (4).
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86: 345–391.
- Gülçin, İ. ve Daştan, A. (2007). Synthesis of dimeric phenol derivatives and determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 22: 685–695.
- Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M., Aboul-Enein H.Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3: 43-53.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. ve Elias, R. (2006). Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β -Dglucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20: 130–134.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*, 186: 1-85.
- Inglett, G.E., Chen, D., Liu, S.X. (2015). Antioxidant activities of selective gluten free ancient grains. *Food Science and Nutrition*, 6: 612.
- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., Smigal, C., Thun, M. (2006). Cancer Statistics, 2006. *CA Cancer Journal*, 56 (2): 106-130.

- Jo, H.J., Chung, K.H., Yoon, J.A., Lee, K.J., Song, B.C., An, J.H. (2015). Radical scavenging activities of tannin extracted from amaranth (*Amaranthus caudatus* L.). *Journal Microbiology Biotechnology*, 25: 795–802.
- Karabekir, G. (2017). Examining the apoptotic effect of resveratrol on MCF-7 cell strain. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine*, 3 (1): 27–34.
- Karakükçü, Ç. (2008). Sarılıklı yeni doğanlarda bilirubin ve fototerapiden kaynaklanabilecek genotoksik etkilerin alkali comet tekniği ile değerlendirilmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi (yayınlanmıştır)*, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Kayseri.
- Karaman, S., Tütem, E., Başkan, K.S. ve Apak, R. (2009). Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC CUPRAC assay. *Food Chemistry*, 120: 1201–1209.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U. ve Decordier, I. (2003). Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicology Letters*, 140: 63-74.
- Liver, T. (2017). Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; Bethesda*.
- Lopes, C. M., Dourado, A., Oliveira, R. (2017). Phytotherapy and Nutritional Supplements on Breast Cancer. *BioMed Research International*.
- Mahklouf, M.H., Abuhadra, M., Essokne, R.S. (2016). A New Record *Amaranthus blitoides* S. Watson. (Amaranthaceae) For the Flora of Libya. *American Journal of Life Science Researches*, 4: 89-91.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I. (2006). Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88(11), 1515-1531.
- Mortelmans, K, Rupa, D.S. (2004). Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists. *Advances in Applied Microbiology*, 56: 379–401.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y. (2002). İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Özkan Vardar, D., Mollahaliloğlu, S., Öztaş, D. (2018). Examining the effects of phytochemicals used in phytotherapy on public health. *Journal of Health Sciences and Medicine*, 99–105.
- Pandey, S. (2017). Selective anti-proliferative activities of *Carica papaya* leaf juice extracts against prostate cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89: 515–23.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89-96.
- Piccart, M.J., Cardoso, F., Atalay, G., Biganzoli, L. (2002). Progress in systemic therapy for breast cancer. *European Journal of Cancer*, 38(3): 23-24.
- Prajitha, V., Thoppil, J.E. (2017). Cytotoxic and apoptotic activities of extract of *Amaranthus spinosus* L. in *Allium cepa* and human erythrocytes. *Cytotechnology*, 69 (1):123-133.
- Riggio, I.A., Varley, K.E., Welm, A.E. (2021). The lingering mysteries of metastatic recurrence in breast cancer. *British Journal of Cancer*, 124: 13-26.

- Rjeibi, I., Ben Saad, A., Sdayria, J. (2019). HPLC-DAD identification of polyphenols from ethyl acetate extract of *Amaranthus spinosus* leaves and determination of their antioxidant and antinociceptive effects. *Inflammopharmacol*, 975–984.
- Rubin, P. (1995). Special isolate effects of normal tissues LENT Consensus conference; including RTOG/EORTG SOMA scales. *San Francisco, California, International Journal of Radiation Oncology-Biology*, 31: 1035-1360.
- Sandoval-Sicairos, E.S., Milán-Noris, A.K., Luna-Vital, D.A., Milán-Carrillo, J., Montoya-Rodríguez, A. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant effects of peptides released from germinated amaranth during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*. 2021 May 1;343:128394. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128394. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33097329.
- Sani, H.A., Rahmat, A., Ismail, M., Rosli, R., Endrini, S. (2004). Potential anticancer effect of red spinach (*Amaranthus gangeticus*) extract. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13 (4):3 96-400.
- Saurel, C.A., Patel, T.A., Perez, E.A. (2010). Changes to adjuvant systemic therapy in breast cancer: a decade in review. *Clinical Breast Cancer*, 10 (3): 196-208.
- Saygı, Ş. (2003). Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 45 (3): 291-298.
- Sen, S., Chakraborty, R. (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. *American Chemical Society, Oxidative Stress, Diagnostics, Prevention and Therapy*. Chapter, 1: 1-37.
- Silva-Sánchez, C., Barba De La Rosa, A.P., León-Galván, M. F., De Lumen, B. O., De LeónRodríguez, A., González De Mejía, E. (2008). Bioactive Peptides in Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Seed. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56: 1233-1240.
- Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, *Experimental Cell Research*, 175 (1): 184-191.
- Singh, R.P., Sharad, S., Kapur, S. (2004). Free radicals and oxidative stress neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, 5 (3): 218-225.
- Sreelatha, S., Dinesh, E., Uma, C. (2012). Antioxidant Properties of Raihira (*Amaranthus paniculatus*) Leaves and Potential Synergy in Chemoprevention Asian Pasific. *Journal of Cancer Prevention Asian Pasific Organization for Cancer Prevention*.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2021) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 0: 1-41.
- Şafii, M. (2023). Cytotoxic effects of *Amaranthus caudatus* extract on human hepatocyte cell lines. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 25 (2): el20348.
- Şekeroğlu, Z.A., Şekeroğlu, V. (2011). Genetik Toksikite Testleri. *Türk Bilim Araştırma Vakfı Dergisi*, 4 (3): 221–229.

- Tan, C.C., Yu, J.T., Wang, H.F., Tan, M.S., Meng, X.F., Wang, C., Jiang, T., Zhu, X.C., Tan, L. (2014). Efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and metaanalysis. *Journal of Alzheimers Disease*, 41, 615–631.
- Taslimi, P. (2017). Olivetol'ün Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi ve Bazı Metabolik Enzimler Üzerinde İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi (yayınlanmış), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum*.
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y.F. (2000). Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35: 206- 221.
- Tokur, O., Aksoy, A. (2017). *In Vitro* Sitotoksisite Testleri. *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6 (1): 112-118.
- Tutem, E., Apak, R., Baykut, F. (1991). Spectrophotometric determination of trace amounts of copper(I) and reducing agents with neocuproine in the presence of copper(II). *Analyst*, 116: 89–94.
- URL-1: Agrobase website, Türkiye'de yabancı otlar: Sürünücü Horoz İbği <https://agrobasesapp.com/turkey/weed/surunucu-horoz-ibigi> (12/09/2020).
- URL-2: Native American Ethnobotany [BRIT - Native American Ethnobotany Database](#) (16/09/2020).
- URL-3: <https://www.analizistek.com/sitotoksisite-nedir> (05.08.2023).
- URL-4: <https://www.turkcebilgi.com/ispanakgiller> (04.03.2023).
- URL-5: <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/orders/caryophyllalesweb.htm#Amaranthaceae> (04.03.2023).
- URL-6: https://tr.wikipedia.org/wiki/Amaranthus_blitoides (05.03.2023).
- URL-7: www.cancer.gov (24.12.2022).
- URL-8: <https://www.cancer.org/treatment/understanding-your-diagnosis/history-of-cancer/what-is-cancer.html> (30.12.2022).
- URL-9: <http://www.who.int> (25.12.2022).
- URL-10: <http://hsgm.saglik.gov.tr> (26.12.2022).
- URL-11: <https://www.drozdogan.com/meme-kanseri-cesitleri-nelerdir/> (08.02.2023).
- URL-12: <https://www.turkcerrahi.com/makaleler/meme/meme-kanseri/tipleri-cesitleri/> (08.02.2021).
- URL-13: <https://www.trsgo.org/files/toplum-icin/kemoterapi-nedir.pdf> (20.01.2023).
- URL-14: <https://cdn.istanbul.edu.tr/statics/onkoloji.istanbul.edu.tr/wpcontent/uploads/2015/06/kemoterapikitap%C3%A7C4%B1%C4%9F%C4%B1.pdf> (20.01.2023).

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
- Vinson, J.A. (2006). Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*, 13: 151-162.
- Wouter, C.M., Rudolf, B. (2019). Common risk factors for heart failure and cancer, *Cardiovascular Research*, 115 (5): 844–853.
- Zeiger, E. (2004). History and rationale of genetic toxicity testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 44(5):363–71.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı :

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi :

Yüksek Lisans Öğrenimi

İş Deneyimi

Stajlar :

Çalıştığı Kurumlar

İletişim

E-posta Adresi :

Tarih