

**YAYGIN VEYA ENDEMİK OLAN BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN
ANTİPROLİFERATİF VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Sina ROSTAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEMMUZ 2013

ANKARA

Sina ROSTAMI tarafından hazırlanan “YAYGIN VEYA ENDEMİK OLAN BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİPROLİFERATİF VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Belma ASLIM

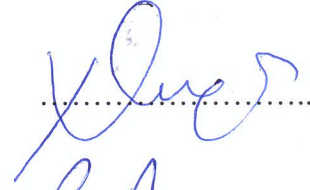
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı



Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Belma ASLIM

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Zeki AYTAÇ

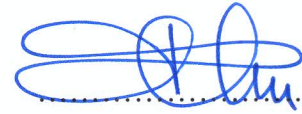
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi



Tez Savunma Tarihi: 05.07.2013

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU



Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü Y.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sina ROSTAMI

**YAYGIN VEYA ENDEMİK OLAN BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN
ANTİPROLİFERATİF VE ANTIİNFLAMATUAR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Sina ROSTAMI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Temmuz 2013**

ÖZET

Kolorektal kanser gelişmekte olan ülkelerde sık rastlanılan bir kanser türüdür. Proinflamatuvar sitokinlerin aşırı ve uzun süreli salınımı Gastrointestinal Sistem’de inflamasyona bağlı oksidatif hasarı arttırarak, inflamatuvar bağırsak hastalıkları veya kolon kanserine yol açabilmektedir. Kolon kanseri ve kolorektal kanser oluşumunda beslenme tarzının etkisi büyük olduğundan, bitkisel kaynaklı doğal besinlere olan rağbet de gün geçtikçe artmaktadır. Yapılacak yeni araştırmalarda antikanserojenik etkisi olduğunu belirttiğimiz bitkilerin yeni ve ekonomik türlerinin üzerinde durulması önemlidir. Bu araştırmada Türkiye’de yetişen yaygın bitkiler olan *Ormoscadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium origanifolium* ve endemik olan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina*’dan elde edilen metanol ve su ekstraktları ile çalışılmıştır. Ekstraktların 10-1000 µg/ml konsantrasyon aralığında insan kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı (Caco-2), insan kolorektal kanser hücre hattı (CCL-221) üzerinde antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, bitki ekstraktlarının, kontrol hücresi olarak sağlıklı insan gingival fibroblast (HGF-1) hücrelerine sitotoksik etkisi denenmiştir. Sağlıklı hücrede bitki ekstraktları sitotoksik etki belirlenmemiştir. Tüm bitki ekstraktlarının 250, 500, 1000 µg/ml konsantrasyonlarda, her iki kanser hücre hattında da antiproliferatif etkisi

tespit edilmiştir. *P. platychloena* bitkisinin su ekstraktı en iyi antiproliferatif etkiyi CCL-221 hücrelerine göstermiştir (% 72 hücre ölüm).

Bitkilerin metanol ve su ekstraktlarının, TNF- α ile uyarılmış kanser hücre hattında interlökin (IL)-6 ve IL-8 salınımlarının baskılanmasına göre antiinflamatuvar etkileri belirlenmiştir. Tüm bitki ekstraktlarının her iki kanser hücre hattında da IL-6 ve IL-8 salınımını baskıladığı belirlenirken, baskılamanın artan ekstrakt konsantrasyonuna göre arttığı gözlenmiştir. Caco-2 kanser hücre hattında *P. platychloena* su ekstraktının 1000 μ g/ml konsantrasyonuna IL-8 (20 kat) ve IL-6 (32 kat) salınımını en yüksek oranda baskıladığı tespit edilmiştir. Antiproliferatif etki ile antiinflamatuvar etki arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Tüm bitkilerin antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkisi araştırıldığında en iyi sonucu bitkilerin su ekstraktları ve 1000 μ g/ml konsantrasyonda gözlenmiştir. HPLC ile iyi sonuç veren *P. platychloena* ve *V. lycica* flavonoidler bakımından araştırılmıştır. 7 farklı flavonoid bakımından incelenen bitki ekstraktlarında en fazla flavonoid (6 farklı flavonoid) *P. platychloena* metanol ekstraktında belirlenmiştir. *P. platychloena*'nın metanol ekstraktında kersetin ($5,25\pm0,04$) ve Kemferol ($4,02\pm0,02$) yüksek oranda tespit edilmiştir. *P. platychloena* ekstraktının inflamatuvar bağırsak hastalıklarında ve bağırsak kanserinde önleyici veya tedavi edici amaçla kullanılabileceği düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 203.1.023

Anahtar Kelimeler : Kanser, antiproliferatif, antiinflamatuvar, endemik ve yaygın bitkiler, sitokin, flavonoid

Sayfa Adedi : 92

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Belma ASLIM

**INVESTIGATION OF ANTIPROLIFERATIVE AND
ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF COMMON AND ENDEMIC
SPECIES OF PLANTS
(M.Sc. Thesis)**

Sina ROSTAMI

**GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
July 2013**

ABSTRACT

Colorectal cancer is one of common cancer types among developing countries. Excessive and longtime secretion of pro-inflammatory cytokines, increase the oxidative damage which is the result of inflammation of gastrointestinal system and causes colon cancer and inflammatory bowel diseases. Considering great effect of eating style on formation of colon cancer and colorectal cancer, great demand for herbal source based nutrients increases day by day. Emphasis on new and economic types of plants which have anti carcinogenic effect is of great importance in new investigations. In this study, methanol and water extracts of common plants that are growing in Turkey, such as *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium* and endemic plants such as *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina* has been studied. Anti-proliferative effect of extracts between 10-1000 µg/ml concentrations has been investigated on human colorectal adenocarcinoma cancer cell line (Caco-2) and human colorectal cancer cell line (CCL-221). On the other hand, the cytotoxic effect of plant extracts as control cells is studied on healthy human gingival fibroblasts (HGF-1) cells. Cytotoxic effect of plants extracts has not been found in healthy cells. Anti-proliferative effect of all plants extracts has been

determined in both cancer cell lines. The water extract of *P. platychloena* plant has shown the best anti proliferative effect on CCL-221 cell (%72 cell death).

Secretion of IL-6 and IL-8 from cancer cell lines which has been stimulated by TNF- α is repressed by methanol and water extracts of plants. Besides determining the repression activity of all plant extracts on secretion of IL-6 and IL-8 of all cancer cell lines, it has been shown that repression level will increase as extract concentration increases. It is defined that *P.platychloena* water extracts of 1000 μ g/ml concentration repress secretion of IL-8 (20 times) and IL-6 (32 times) in Caco-2 cancer cell line in greatest levels. A positive convolution exists between anti-proliferative and anti-inflammatory effects of all plants; the best result was obtained through the water extracts of plants along with 1000 μ g/ml concentration. *P. platychloena* and *V. Lycica* which have been mentioned as the best results by HPLC, are analyzed through their flavonoids. The highest flavonoid was found in methanol extract of *P. platychloena* among plant extracts which has been investigated through 7 different flavonoids. High amount of Quercetin ($5,25\pm0,04$) and Kaempferol ($4,02\pm0,02$) has been determined in methanol extract of *P. platychloena*. *P. platychloena* extracts can be considered as prevention and treatment factors for bowel diseases and cancer.

Science code : 203.1.023

Keywords : Cancer, antiproliferative, antiinflammatory, endemic and common plants, cytokine, flavonoid

Page number : 92

Supervisor : Prof. Dr. Belma ASLIM

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli katkılarıyla ve bilgileriyle beni yönlendiren sayın hocam Prof. Dr. Belma ASLİM'a; kıymetli bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan ve bu tez çalışmasında kullanılan bitki materyallerinin temin edilmesini sağlayan, değerli hocam sayın Prof. Dr. Zeki AYTAÇ'a; bilimsel destekleriyle beni yüreklendiren Doç. Dr. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında eşsiz tecrübeleri ve bilgileriyle kendilerinden çok şey öğrendiğim Moleküler Biyoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi ve Biyoteknoloji Laboratuvarı çalışanlarına, değerli arkadaşlarım, Parastoo POORNASROLLAH ve Saba FARAHMAND'a ve Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Öğrenci İşleri personeli Doğan KARA'ya teşekkür ederim.

Bugüne kadar attığım her adımda sonsuz sevgisiyle yanımda olan maddi ve manevi her türlü desteğiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan canım aileme Abbas ROSTAMI, Nahid SARHANGI, Mina ROSTAMI'ye en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Hayatım boyunca manevi desteğini hep içimde hissedeceğim dayım Naser SARHANGI'ye sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Bitkilerin Halk Arasında Kullanım Alanları	5
2.1.1. <i>Prangos platychloena</i> Boiss. ex Tchihat. (Apiaceae, Çakşır Otu)	5
2.1.2. <i>Ajuga bombycina</i> Boiss. (Lamiaceae, Mayasıl Otu)	7
2.1.3. <i>Veronica lycica</i> E. Lehm. (Scrophulariaceae, Fethiye mavişi)	9
2.1.4. <i>Cyclotrichium origanifolium</i> (Labill.) Manden. et Scheng. (Lamiaceae, Nane ruhu)	11
2.1.5. <i>Stachys obliqua</i> (Lamiaceae, Dağ çayı)	11
2.1.6. <i>Ormosciadium aucheri</i> Boiss. (Apiaceae, Ayıeli)	12
2.2. Kanser	13
2.2.1. Kanserin biyolojisi	14
2.3. Bağırsak ve Bağırsak Kanseri	14

Sayfa

2.3.1. Bağırsak.....	14
2.3.2. Bağırsak kanserin tedavisinde kullanılan ilaçlar	16
2.3.3. Bitkisel ilaçlar	17
2.3.4. Kolon ve kolorektal kanseri	18
2.4. Antiproliferatif ve Antiinflamatuvar Etki.....	23
2.4.1. Sitokinler	27
2.4.2. Sitokin reseptörleri ve özellikleri	26
2.4.3. Tümör nekrosis faktör	26
2.4.4. İnterlökin-6.....	27
2.4.5. İnterlökin-8 ve küçük kemokin ailesi.....	28
2.4.6. Adipokinler ve inflamatuvar sitokinler	28
2.4.7. İnflamatuvar sitokinler ve kolorektal kanser.....	29
2.4.8. GİS mukozal immün dengesi	30
2.4.9. Sitokinlerin metabolizmadaki görevleri	31
2.5. Flavonoidler ve Etki Mekanizmaları.....	32
2.5.1. Kanser ile ilişkisi olan bazı flavonoidler.....	35
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Materyal.....	37
3.1.1. Bitki materyali.....	37
3.2. Metot	38
3.2.1. Bitki ekstraktlarının elde edilmesi.....	38
3.2.2. Araştırmada kullanılan hücre hatları	39

	Sayfa
3.3. Hücrelerin Geliştirilmesi İçin Kullanılan Besiortamları Ve Gelişme Şartları.....	39
3.3.1. CCL-221 (DLD-1) kolorektal kanser hücre hattı.....	39
3.3.2. Caco-2 (HTB-37) kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı	40
3.3.3. HGF-1 (CRL-2014) İnsan gingival fibroblast.....	40
3.4. Bitki Ekstraktlarının Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi.....	41
3.4.1. Bitki ekstraktlarının fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.....	42
3.5. Bitki Ekstraktlarının Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması.....	42
3.6. HPLC Analizi.....	44
3.7. İstatiksel Analizleri.....	45
4. ARAŞTIRMA BULGULAR	46
4.1. Bitki Ekstraktların Verimleri.....	46
4.2. Bitkilerin Antiproliferatif Etkisinin Araştırılması.....	46
4.2.1. Bitkilerin Caco-2 Ve CCL-221 hücreleri üzerinde antiproliferatif etkisinin araştırılması	46
4.3. Bitkilerin Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması	52
4.4. Bitkilerin Flavonoidlerinin Araştırılması	61
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	63
6. ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	90

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. <i>Prangos platychloena</i> 'nın genel özellikleri	5
Çizelge 2.2. <i>Ajuga bombycina</i> 'nın genel özellikleri	7
Çizelge 2.3. <i>Veronica lycica</i> 'nın özellikleri.....	9
Çizelge 2.4. <i>Cyclotrichium organifolium</i> 'nın genel özellikleri	10
Çizelge 2.5. <i>Ormosciadium aucheri</i> 'nin genel özellikleri	13
Çizelge 3.1. Tez kapsamında kullanılan bitkiler, lokaliteleri, toplanma yılları	37
Çizelge 4.1. Bitki ekstraktların verimleri (% w/w)	45
Çizelge 4.2. <i>P.platychloena</i> ve <i>V.lycica</i> 'nın metanol ve su ekstraktlarında araştırılan flavonoidlerin (mg/g) sonuçları	61

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Türkiye’de yaşa göre kanser olgu sayıları.....	2
Şekil 2.1. İnsan sindirim sistemi	15
Şekil 4.1. <i>Prangos platychloena</i> bitkisi HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi.....	47
Şekil 4.2. <i>Ormosciadium aucheri</i> bitkisi HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi.....	48
Şekil 4.3. <i>Stachys obliqua</i> bitkisi HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi.....	48
Şekil 4.4. <i>Veronica lycica</i> bitkisi HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi.....	49
Şekil 4.5. <i>Cyclotrichium origanifolium</i> bitkisi HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi.....	50
Şekil 4.6. <i>Ajuga bombycina</i> bitkisi HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi.....	50
Şekil 4.7. <i>Prangos platychloena</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi	52
Şekil 4.8. <i>Prangos platychloena</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan Etkisi.....	52
Şekil 4.9. <i>Ormosciadium aucheri</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi	53
Şekil 4.10. <i>Ormosciadium aucheri</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi	54
Şekil 4.11. <i>Stachys oblique</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi	55

Şekil	Sayfa
Şekil 4.12. <i>Stachys oblique</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi	55
Şekil 4.13. <i>Veronica lycica</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi	56
Şekil 4.14. <i>Veronica lycica</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi	56
Şekil 4.15. <i>Cyclotrichium origanifolium</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi	57
Şekil 4.16. <i>Cyclotrichium origanifolium</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi	58
Şekil 4.17. <i>Ajuga bombycina</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkis	59
Şekil 4.18. <i>Ajuga bombycina</i> bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi	59

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Prangos platychloena</i> 'nın herbaryum örneği	6
Resim 2.2. <i>Ajuga bombycina</i> 'nın gövde ve yaprağı	8
Resim 2.3. <i>Veronica lycica</i> 'nın çiçekleme durumu	9
Resim 2.4. <i>Veronica lycica</i> 'nın çiçekleme durumu	10
Resim 2.5. <i>Stachys oblique</i> 'nin çiçekleme durumu	12
Resim 2.6. <i>Ormosciadium aucheri</i> 'nin çiçekleme durumu	13
Resim 3.1. Soxhlet cihazı.....	38
Resim 3.2. Evaporator cihazı	39
Resim 3.3. Bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda sitotoksite çalışması	42
Resim 3.4. IL-6 ve IL-8 uygulamasında renk değişimi	43
Resim 3.5. IL-6 ve IL-8 uygulamasında renk değişimi	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
Mm	Milimetre
Cm	Santimetre
Mg	Mikrogram
G	Gram
PH	Asitlik bazlık birimi
Kısaltmalar	Açıklama
<i>A. b</i>	<i>Ajuga bombycina</i>
B Ç	Bel Çevresi
<i>C.o</i>	<i>Cyclotrichium origanifolium</i>
Eks.	Ekstraktlar
GGKT	Gaitada Gizli Kan Testi
İBH	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
HGF-1	İnsan gingival fibroblast
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8

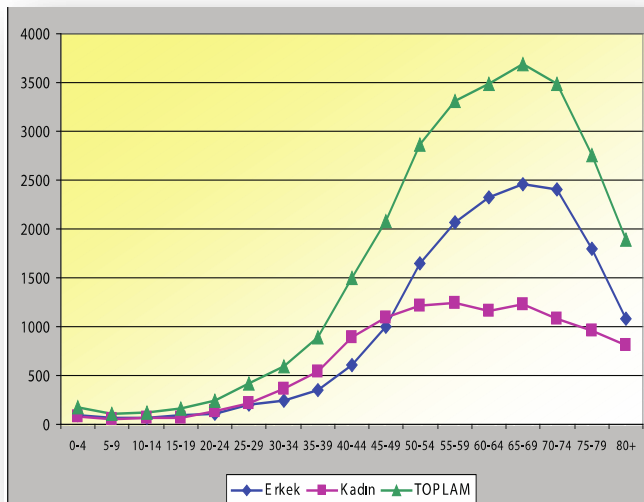
Kısaltmalar	Açıklama
Caco-2	Kolorektal Adenokarsinoma Kanseri
CCL-221	Kolorektal Kanseri
KRK	Kolorektal kanseri
MS	Metabolik sendrom
<i>O.a</i>	<i>Ormosciadium aucheri</i>
<i>P.p</i>	<i>Prangos platychloena</i>
<i>S.o</i>	<i>Stachys oblique</i>
TM	Tripan mavisi
TNF- α	Tümör nekroz faktör-alfa
ÜK	Ülseratif kolit
<i>V.l</i>	<i>Veronica lycic,</i>
VKİ	Vücut kitle indeksi

1. GİRİŞ

Alternatif tıp, dünya çapında kanser hastaları için yaygın biçimde uygulanan bir tedavi yöntemidir. Bilimsel tıbbi tedavi yöntemleri olan kemoterapi, cerrahi tedavi, radyoterapi ve hormon terapi belirli yan etkileri bulunması ve başarı şansının nisbeten düşük olması sebebiyle hastalar alternatif tıp yöntemlerini tercih etmektedirler. Amerika'da bölgeler üzerrinde yapılmış bir araştırmada hastaların kanserin türüne göre % 25 ile % 84 oranları arasında alternatif tıp yönteminin uygulandığı tespit edilmiştir [Vapiwala ve ark, 2006]. Avrupa'da ise bu oranın % 13 ile % 73 arasında değiştiği gözlenmiştir [Molassiotis ve ark, 2005]. Türkiye Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Onkoloji Polikliniği'nde yapılan bir diğer araştırmaya göre hastaların % 57,9'unun alternatif tedavi yöntemine başvurduğu görülmektedir. Aynı hastaların % 70'inin alternatif tıbbi tedavi yöntemini geleneksel ve olağan tıbbi yöntemlerin yanında almaya devam etmişlerdir [Yıldız, 2006].

Bitki, sebze ve köklerin içerisinde bulunan doğal bileşiklerin, hastalar üzerinde kullanması demek olan ve alternatif tıp yöntemleri arasında sayılan fitoterapinin, tarihin eski zamanlarından beri uygulanageldiği bilinmektedir. Bitki ve ekstraktlarının antikanserojenik etkileri bulunmuş ve antikanserojenik ilaçların % 63'ünün bitkilerden elde edildiği, ayrıca tedavi de tesiri yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerden elde edilen bu ilaçların yan etki riskinin az olması ve tedavide başarı oranının yüksek olması, yeni araştırmalarda bitki kaynaklarının odak noktası olmasını sağlamıştır. yeşil çay, ginseng vb. bitkilerin antikanserojenik etkileri olduğu kanıtlanmış ve bu sonuca göre bitkilerin üretildiği ülkelere büyük ekonomik kazançlar sağlamaktadır. Kolon ve kolorektal kanseri oluşumunda beslenme tarzının etkisi büyük olduğundan, bitkisel kaynaklı doğal besinlere rağbet de gittikçe artmaktadır. Yapılacak yeni araştırmalarda antikanserojenik etkisi olduğunu belirttiğimiz bu bitkilerin yeni ve ekonomik türlerinin üzerinde durulması önemlidir. Yeni yapılan antikanserojenik ilaç araştırmaların sonucunda bulunan bitkilerin sitotoksite testleri ile kanserli hücreler üzerinde ne kadar etkili olduğu gözlemlenmelidir. Antikanser ilaçları tümör hücrelerine karşı seçici olması gerekirken, bunun yanında sağlıklı hücreleri de öldürebilmektedir. Bu yüzden

bileşiklerin kanser hücre hatlarına karşı göstereceği toksik etki yanında bu bileşiklerin sağlıklı hücre hatlarına karşı ise herhangi bir toksik etki göstermemesi gereklidir. İşte bu sebeple sitotoksite araştırmaları bu noktada önemlidir. Türkiye, bitki florası yönünden zengin olmasına rağmen tıbbi ve ekonomik bitkilerin antikanserojenik niteliği ve işlevi henüz fazla araştırılmamıştır [Peres ve ark, 2009; Loizzo ve ark, 2009; Newman ve ark, 2007]. Bu tez çalışmasında, Türkiye’de yetişen yaygın bitkiler olan *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium organifolium* ve endemik bitkiler olan *Prangos platychloena* [Güner ve ark, 2000], *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina*’dan elde edilen metanol ve su ekstraktlarının insan kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı (Caco-2), insan kolorektal kanser hücre hattı (CCL-221) ve insan gingival fibroblast (HGF-1) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri tripan mavisi (TM) yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Aynı zamanda Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ile inflamasyon ortamı yaratılmış kanser hücre hatlarında proinflamatuvar sitokin olan interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-8 (IL-8) seviyeleri belirlenmiştir. Sağlık Bakanlığı’nca 2012 yılında yapılan kanser istatistiklerine göre (Şekil 1.1) yaşlılarda kanser vakasına daha çok rastlanmaktadır. Erkek hastalarda daha çok solunum sistemi kanserleri, prostat ve mesane kanseri görülmektedirken, kadın hastalarda meme, tiroid ve kolorektal kanserleri daha yaygın görülüyor [Sağlık Bakanlığı, 2012].



Şekil 1.1. Türkiye’de yaşa göre kanser olgu sayıları [Sağlık Bakanlığı, 2012]

Yine Sağlık Bakanlığı'ndan alınan bilgilere göre, her iki cinsiyet içinde yıldan yıla artan bir oran mevcuttur. Buna ek olarak Türkiye'de milli düzeyde kadınlarda ve erkeklerde kanser vakasına bağlı beklenen ölüm sayıları erkeklerde 2010, 2020 ve 2030 yıllarında sırasıyla 44 616, 61 076, 89 117 olarak tahmin edilmektedir. Kadınlarda ise yine sırasıyla 25 307, 31 099, 39 094 olarak tahmin edilmektedir [T.C. Sağlık Bakanlığı, 2007; Türkiye Hastalık Yüğü Çalışması, 2007].

Ulusal Kolorektal Kanser Tarama Standartları

- 50-70 yaş arası tüm bireylerde her yıl Gaitada Gizli Kan Testi (GGKT) yapılmalı
- Her 10 yılda bir kolonoskopi yapılmalı
- GGKT poliklonal veya monoklonal antikorlar kullanarak gaitada hemoglobin varlığını kantitatif olarak gösterebilmeli ve testlerde kullanılacak antijenler sadece insan hemoglobinine hassas olmalıdır [Smith ve ark, 2010].

Kolorektal kanser gelişmekte olan ülkelerde sık rastlanan bir kanser türüdür [Puccive ark, 2009]. Tümör mikroçevresi, çeşitli sinyal molekülleri aracılığı ile tümör ilerlemesine aracılık eden farklı hücre tiplerinden meydana gelmektedir. Mikroçevrede tümörün ilerlemesinde önemli rol oynayan moleküller sitokinlerdir. Aynı zamanda sitokinler kompleks ve birbiri ile ilişkili çalışan sinyal yolağı içinde yer almakta, ayrıca diğer sitokinlerin ve onların reseptörlerinin sentezlenmesine aracı olmaktadır [Dranoff, 2004]. Bunların içerisinde IL-6 ve IL-8, gastrointestinal epitel hücreler ve tümör hücreleri tarafından salgılanmakta ve akut inflamatuvar reaksiyonların gerçekleşmesi ve yayılmasına neden olmaktadır. Bu sitokinlerin aşırı ve uzun süre salınımı, kanser, inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), ülseratif kolit (ÜK) gibi kronik inflamatuvar hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [Xie, 2001; Becker ve ark, 2005].

İnflamatuvar ortamında IL-6 ve IL-8 seviyelerinin düştüğünü ortaya koyan çalışmalar kolorektal kanser hücre hatları ve periferik kan mononükleer hücrelerinde gösterilmiş olmakla birlikte [Morita ve ark, 2002; Zhang ve ark, 2005; Gackowska ve Dzierzanowska, 2006], mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır.

Organizmada proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin üretilmesi ve denge halinde bulunmasının bitkisel ilaçlar vesilesiyle düzenlenebileceği düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda oksidatif stres ile epitel hücre hasarı arasındaki ilişki gözlenmiştir. İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) olan kişilerden alınan biyopsi örneklerinde, epitel hücrelerinde oksidatif hasar saptanmıştır [Rochat ve ark, 2007]. Tüm bu bilgiler ışığında oluşturduğumuz araştırmamızın amacı; Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda bulunan bitkilerin (6 adet) metanol ve su ekstraktlarında;

-10-1000 µg/ml konsantrasyon aralığında insan gingival fibroblast (HGF-1) hücrelerinde sitotoksik aktivitesinin olup olmadığının belirlenmesi,

-10-1000 µg/ml konsantrasyon aralığında kolorektal adenokarsinoma kanser (Caco-2) ve kolorektal kanser (CCL-221) olmak üzere iki farklı kolon kanser hücre hattında antiproliferatif etkilerinin sitotoksik aktivitesi tespit edilmesi,

-TNF- α ile inflamasyon ortamı yaratılmış kanser hücre hatlarında proinflamatuvarsitokin olan IL-6 ve IL-8'in seviyelerinin belirlenmesi, 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarda antiinflamatuvar etkinin belirlenmesi,

-En iyi antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkisi belirlenen bitkilerin metanol ve su ekstraktlarında antikanser etkisi olduğu düşünülen flavonoidler bakımından araştırılması,

- Flavonoid içeriği ile antiinflamatuvar ve antiproliferatif etki arasında ilişki olup olmadığının ve bu antikanser mekanizmalarında denediğimiz bitki ekstraktlarının flavonoid içeriklerinin nasıl etkili olabileceğinin ortaya koyulması planlanmıştır.

Araştırmamız, Türkiye'de ve Dünya'da bu bitkilerin antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkilerinin birlikte çalışıldığı ilk çalışma olması nedeni ile; elde edilen sonuçlar bundan sonra bu alanda yapılacak yeni projelere kaynak teşkil edecek ve konuyu daha ileri düzeye taşımada önemli rol oynayacaktır. Çalışmamızda

kullanılan bitkilerin antiproliferatif ile antiinflamatuvar etkisinin ortaya konması daha sonra klinik preparatlarda kullanımını da mümkün kılacaktır. Kullanılan bitkilerin Türkiye kaynaklı olması da ayrıca çalışmaya farklı bir yön kazandırmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitkilerin Halk Arasında Kullanım Alanları

2.1.1. *Prangos platychloena* Boiss. ex Tchihat. (Apiaceae, Çakşır Otu)

Prangos (Çizelge 2.1) cinsinin bazı türleri halk arasında uzun süredir emoliyen, tonik, antifungal, antihelmentik olarak tedavi amaçlı kullanılmaktadır [Çoruh ve ark, 2007]. Bu bitkinin kurutulmuş ve toz haline getirilmiş halı afrodiziyak olarak tüketildiği bilinmektedir [Baser ve ark, 2000]. Ekstraktlarının Orta Asya’da haricen kanamayı durdurucu ve yara izlerini iyileştirici olarak kullanıldığı da görülmüştür [Tada ve ark, 2002]. İran’da ve Kafkasya’da halk arasında sindirim sistemi bozukluklarının tedavisinde başvurulmuş bir ilaç olduğu, ayrıca Sırbistan ve civarında ise bağırsak yaralarının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir [Kazeroni ve ark, 2006]. Özbekistan’da, *Prangos*’un toprak üstü kısımlarının cilt hastalığı olan Leukoplakik’in iyileştirilmesinde de kullanıldığı görülmüyor [Shikishima ve ark, 2001].

Prangos platychloena (Resim 2.1, Çizelge 2.1) çok yıllık, kuvvetli, genelde 100-150 cm boyunda, gövdesi tüysüz bitkilerdir. Taban ve gövde yaprakları 30-60 cm, spinnat popillalı, bölme lopları (15) 20-50 × 0,5-1 mm, yaprak tabanı bazen konit bazende lopları ayrılmış olarak oluşmaktadır. Brakteeleri geniş, 12-15 × 6-10 mm. Brakteoller ovet, genişcedir. Petel açık sarı, tüysüzdür [Herrnstadt ve Heyn, 1972].

Çizelge 2.1. *Prangos platychloena*’nın genel özellikleri [Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013] D:Doğu, KD: kuzey Doğu

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	5-7
Habitat	Kayalık kireçtaşlı yamaçlar, çağılıklar
Yükseklik	1000-3000
Endemik	Endemik
Element	İran-Turan
Türkiye dağılımı	KD. Anadolu ve D. Anadolu
Genel Dağılımı	Türkiye



Resim 2.1. *Prangos platychloena*'nın herbarium örneği [Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013]

2.1.2. *Ajuga bombycina* Boiss. (Lamiaceae, Mayasıl Otu)

Türkiye’de endemik türlerden biri olan *Ajuga bombycina* (Çizelge 2.2) Akdeniz bölgesinde yoğun olarak bulunmaktadır. *Ajuga bombycina* (Resim 2.2) Mart ve Mayıs dönemini çiçekli geçirmektedir. Flora kayıtlarına göre, bu türün deniz seviyesinden 1500 m'lere kadar olan yüksekliklerde yetişmektedir. Çiçekleri sarı

renkli olup oval durumlarda toplanmıştır. Anadolu'da çiçekleme durumu çay şeklinde ya da haricen kullanılmaktadır [Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013]

Ajuga bombycina çok yıllık, zayıf odunsu köklüdür. Bitkinin tamamı tüylerle kaplanmıştır. Gövde 3-15 cm boyundadır. Taban yapraklar obovat-ovate oblong krenatdır. Çiçekleme topuz şeklinde, çiçeklenme yaprakları, kuneat-oblong, 3 fit, korolla sarı, 12-16 mm meyveler rugulose, çiçeklenme 4-5 (6) [Davis, 1982].

Çizelge 2.2. *Ajuga bombycina* 'nın genel özellikleri [Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013]

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	4-5
Habitat	Kireçtaşı kayalar ve kayalık yamaçlar
Yükseklik	50-1350
Endemik	Endemik
Element	D. Akdeniz
Türkiye dağılımı	Orta Anadolu
Genel Dağılımı	Türkiye



Resim 2.2. *Ajuga bombycina* 'nın gövde ve yaprağı [Türkiye Bitkisel Veri Servisi 2013]

2.1.3. *Veronica lycica* E. Lehm. (Scrophulariaceae, Fethiye mavişi)

Veronica lycica (Çizelge 2.3, Resim 2.3 ve Resim 2.4) bitkisi sürünücü, yarı dik, bir yıllık, genelde çok dallanmış, gövdesi ve yaprakları tüylü bitkilerdir. Gövde yaprakları hafifçe loblu, brakteleri 3 loblu veya derin üç parçalı, üstelikle aşağı braktelerden daha küçük, korolla beyaz, orta da sarı benekli, tohumları pürüzsüzdür [Fischer, 1978].

Çizelge 2.3. *Veronica lycica* 'nın genel özellikleri [Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013]

Ömür	Tek yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	3-7
Habitat	Cedrus ormanları, kireçtaşı kayalıklar ve çağillıklar
Yükseklik	0-1800
Endemik	Endemik
Element	D. Akdeniz
Türkiye dağılımı	GB. Anadolu
Genel Dağılımı	Türkiye



Resim 2.3. *Veronica lycica* 'nın çiçekleme durumu



Resim 2.4. *Veronica lycica*'nın çiçekleme durumu

**2.1.4. *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. et Scheng.
(Lamiaceae, Nane ruhu)**

Cyclotrichium organifolium (Çizelge 2.4) bitkisi saplı veya sapsızdır. Yumuşak tüylü, yarı dik, yapraklar ovat, çiçeklenme durumu düğümler halinde, sepaller hafifçe kıvrık ve iki dudaklı, üst dudak 3 dişli, çiçekler mavi veya pembe, nadiren beyazdır [Leblebici, 1982].

Çizelge 2.4. *Cyclotrichium origanifolium* 'nın genel özellikleri
[Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013]

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Odunsu ot
Çiçeklenme	7-9
Habitat	Dağlarda kuru yerler, taşlı kireçtaşı yamaçlar ve çağlıklar
Yükseklik	1300-2200
Endemik	Endemik
Element	D. Akdeniz (Dağ)
Türkiye dağılımı	GB. ve G. Anadolu
Genel Dağılımı	Türkiye

Bu bitki değişik ve sapsız tümörlere sahiptir. Saplar yükseğe doğru kıvrımlı ya da bükülmüş halde, orta yapraklar (6) 8-15 × (4) 5-13 mm, tamamı yumurta şeklinde, çanaklar hafifçe eğimli ve 4,5-7,5 mm'de, genelde tüysüz olmaktadır [Davis, 1982].

2.1.5. *Stachys oblique* (lamiaceae, Dağ çayı)

1 metreye kadar boylanabilen, açık yeşil renkte yaprakları olan, aromatik otsu bir bitkidir. *Stachys oblique* (Resim 2.5) çiçeklenen saplar dik ve 25-75 cm, çiçekli yapraklar yumurta şeklinde ve 1-9 × 0,8-1,5 cm boyunda, uçları keskin ve sapsızdır. Bürgüler dik, mızrak şeklinde doğru ve 5-10 mm boyundadır [Davis, 1982].



Resim 2.5. *Stachys oblique* 'nın çiçekleme durumu (Dağ çayı)

2.1.6. *Ormosciadium aucheri* Boiss. (Apiaceae, Ayıeli)

Ormosciadium aucheri (Resim 2.6) genel özellikleri Çizelge 2.5’de gösterilmiştir. Her yıl lifli yaka eksikliği görülmektedir. Yaprakları son bölüme doğru keskin biçimde, yaprak sapları temeli geniş zarf kenarlarına sahiptir ve üst yapraklar, alt yapraklar ile aynı ama daha küçük şekildedirler. Bürgüleri çok sayıda ama uzun ve keskinlerdir. Çiçekleri beyaz renkte, sünger ve buruşuk şekilde olmaktadır. Sapları 15-30 cm ve çizgilidirler. Yaprak sapları 2-3 cm olmaktadır [Davis, 1972].



Resim 2.6. *Ormosciadium aucheri*’nin çiçekleme durumu

Çizelge 2.5. *Ormosciadium aucheri*’nin genel özellikleri [Türkiye Bitkisel Veri Servisi, 2013]

Ömür	Tek yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	5-7
Habitat	Kireçtaşı çağılık, şistli yamaçlar
Yükseklik	800-1600
Endemik	Yaygın
Element	Bilinmiyor
Türkiye dağılımı	D. Anadolu
Genel Dağılımı	K. Irak, Suriye Çöl, B. İran

2.2. Kanser

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu durumundadır. Ölüm nedeni olarak, kalp ve dammar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Batı toplumlarında her yıl 250-350 kişiden biri kansere tutulmaktadır. 60 yaşın üzerindeki grupta ise kanser sıklığı çok artmakta 300 kişide 4-5 civarına yükselmektedir. Türkiye’de kesin istatistikler bulunmamakla birlikte insidansın bunun yarısı kadar olduğu tahmin edilmektedir ve en sık görülen kanserler erkeklerde akciğer, prostat, kalın barsak, rektum, mide ve pankreas; kadınlarda meme, akciğer, kalın barsak, rektum, serviks, over, mide ve pankreas kanserleri olarak sıralanabilir. Deri kanseri sıklığı her iki cinste de yüksek olmakla birlikte, habis melanom dışındaki deri kanserleri tedaviye iyi cevap verdiklerinden ölüm oranı çok düşüktür.

2.2.1. Kanserin biyolojisi

Kanser, bazı etkilerle değişime uğramış hücrelerin, gerek yerel ve gerek uzak noktalarda kontrolsüz olarak çoğalıp büyümelerinin sonucu oluşan habis hastalıklar grubudur. Normalde hücreler belli bir kontrol altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar. Hücreler bir taraftan programlı ölüm ya da "apoptoz" denen olay ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalır. Büyüme faktörleri normalde DNA'daki çeşitli genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler mutasyona (değişime) uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine sebep olurlarsa, o zaman kanser oluşur ve bu genlere de "onkogen" denir. Kanserin Tedavisi ve tanısı bir çok uzmanlık dallarının işbirliğini gerektirmektedir. Erken tanı önemlidir. Cerrahi ve radyoterapi lokal tedavi yöntemleri olup, onların arkasından kemoterapi ve immünoterapi gibi sistemik tedaviler uygulanmaktadır. Kemoterapi sitotoksik ilaçlarla yapıldığı için özel bir ihtisas konusudur. Etkili dozlarda, fakat hastayı yan etkilerden koruyarak yapılması gereklidir. Moleküler biyolojinin verdiği yeni bilgiler kanser tedavisi için umut vermektedir. Onkogenleri ve onların ürünlerini baskılayan özel maddeler halen araştırılmaktadır. Kanserde belki tedaviden daha önemli olan husus kanserin önlenmesidir. Önlemede karsinojenik (kansere yapıcı) maddelerden

uzak durmak, temiz ve sağlıklı yaşamak ve uygun bir diyet uygulamak gibi hususlara uyulması kanser sıklığını rahatça yarıya indirebilmektedir.

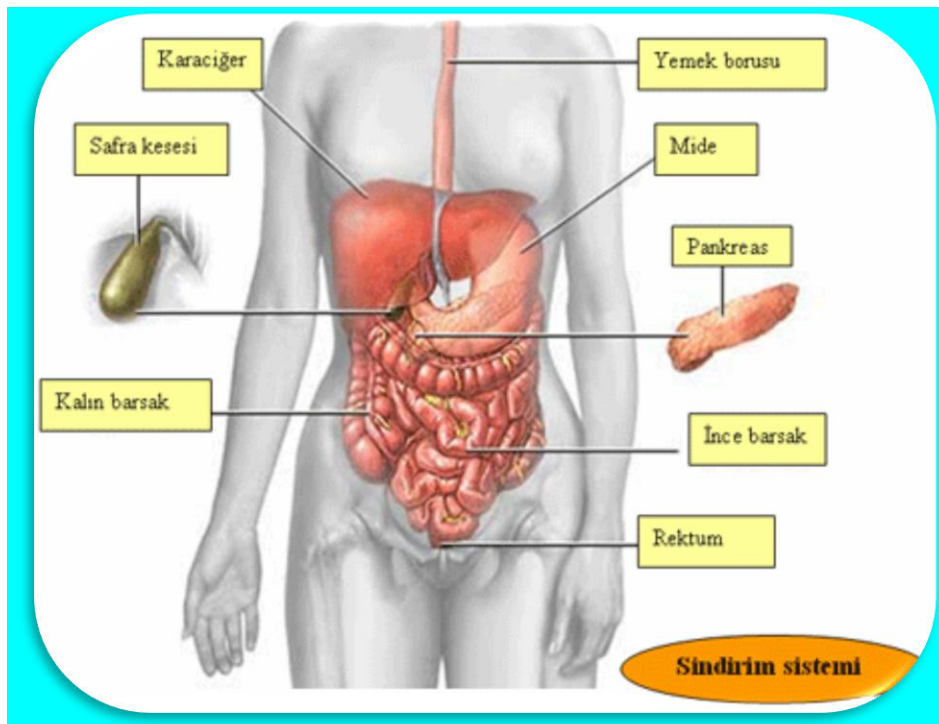
2.3. Bağırsak ve Bağırsak Kanseri

2.3.1. Bağırsak

Bağırsaklar, sindirim sisteminin bir parçasıdır. Bağırsakların görevi, besinlerin içindeki su ve besleyici maddeleri özümleyerek sindirimi tamamlamaktır.

Bağırsaklar üç ana kısımdan oluşmaktadır:

- 1) *İnce bağırsak*: başlıca işlevi, öğütülmüş besinlerdeki besleyici maddeleri özümsemektir.
- 2) *Kolon*: ilk görevi, suyu özümsemektir.
- 3) *Rektum*: fazla maddelerin, anüs yoluyla vücuttan atılınca kadar bekletildiği yerdir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. İnsan sindirim sistemi [yukarıdaki resimler ilgili internet yayınından izin alınarak eklenmiştir]

Ayrıca kolon ve rektum, ikisi beraber kalın bağırsak olarak da bilinmektedir. Yanlış beslenme alışkanlığı , stres, fazla antibiyotik kullanımı ve kemoterapi ilaçları kullanımı florada mikroflora dengesinin bozulmasına, böylece epitel bariyer bütünlüğünde bozulmasına sebep olmaktadır. Zayıflayan epitel bariyer sıkı bağların bozulmasına bunun sonucunda geçirgenliğin artmasına ve son aşamada inflamasyon sürecinin başlamasına neden olmaktadır. Chron's hastalığı, ülseratif kolit, çölyak gibi inflamatuvar tarzdaki bağırsak hastalıklarının, bağırsak geçirgenliğinin artmasıyla oluştuğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalar neticesi bağırsak kanserinin, daha çok kalın bağırsakta görülen kötü huylu (habis, malign) büyümeler olarak tanımlanmaktadır. Bu kanser türüne, kolorektal kanser adı da verilmektedir. İnce bağırsak kanserine kolorektal kanserine nisbeten daha az rastlanmaktadır [Wollowski ve ark, 2001; Saito, 2004; Limdi ve Mclaughlin, 2006; Sartor, 2004; Reid ve Bruce, 2006; Sheil ve ark, 2007].

2.3.2. Bağırsak kanserin tedavisinde kullanılan ilaçlar

Kolorektal kanseri'nin etyolojisine bakıldığında temelde kolon mukozasındaki epitelyal hücrelerin genetik değişim süreci söz konusudur. Kalın bağırsak kanserini tetikleyen faktörler arasında mutajen etkilere yatkınlık, fekal mutajenler, kırmızı et tüketimi, safra asitleri, yetersiz vitamin ve mineral alımı sayılabilir [Skibber ve ark, 2001]. Bu faktörlerin yanı sıra ailesel adenomatöz polipoziskoli (FAP) ve Herediter non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC) gibi genetik yatkınlık durumları da söz konusudur [Asmis ve ark, 2008]. Esas tedavisi cerrahi olmakla beraber sadece cerrahi tedavi ile hastaların önemli bir kısmında cerrahiyi takibeden ilk 3 yıl içinde nüksler ortaya çıkar. Son yıllarda metastatic kanser tedavisinde kullanılmaya başlanan irinotekan, oksaliplatin gibi yeni kemoterapi ajanları ve bevacizumab ve cetuximab gibi monoklonal antikorlar hastaların sağkalımında önemli ilerlemeler sağlamıştır [Doğan ve ark, 2009]. Kolorektal kanseri 'de kullanılan kemoterapi ilaçlarına bakıldığında 5-FU'nin 1957 yılında ilk kez keşfinden beri sıklıkla kullanılmakta olduğunu görmekteyiz [Skibber ve ark, 2001].

Son on yıldır 3 sitotoksik ajan: oksaliptatin, irinotekan ve katesitabin ve 3 biyolojik ajan: bevasizumab, cetuximab ve panitumumab tedaviye eklenmiştir. Metastatik hastalıkta standart tedavi fluoropirimidin temelli kombinasyon tedavisidir. Sıklıkla 5-FU, Lökovorin ve Oksaliptatin kombinasyonu: FOLFOX yada 5-FU, Lökovorin ve İrinotekan kombinasyonu (FOLFİRİ) kullanılmaktadır. Genellikle KRK, kemoterapi ilaçlara karşı direnç göstermektedir. [Zuckerman ve ark, 2008]. Kolorektal kanser tedavisi kemoterapi ile yetersiz kalmakta ve başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan yöntemler yetersiz olduğu için yeni araştırmalara ve bitkisel kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.3. Bitkisel ilaçlar

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan bir araştırmaya göre dünya nüfusunun %70-80'inin temel sağlık hizmetleri uygulamalarında bitkisel ilaçlardan yararlandıkları, ürünleri kullandıkları söz konusudur [Chan, 2003].

Türkiye’de gittikçe artan bir şekilde çeşitli bitkilerin yapraklarından, çiçeklerinden, kabuklarından veya diğer kısımlarından farklı yöntemlerle elde edilen genelde sıvı şeklinde formlar, kanserden diyabete kadar, her türlü hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu tür yaklaşımları genelde aktarlar sergilemesine rağmen, zaman zaman tıp mensuplarının da, eğitimleriyle kazanmış olması gereken kavramları bir yana bırakarak, bu tür uygulamalara ortak oldukları görülmektedir. Bu tür uygulamaların yanında, medyada zaman zaman bu uygulamaları özendirici yayınlar dikkati çekmektedir. İlaçlar inorganik maddeler, mikroorganizma ve mantarlar, bitkiler ve hayvanlar gibi doğal kaynaklardan veya sentetik olarak elde edilir [Who, 2005]. Çeşitli kaynaklar yanında, bitkilerden de oldukça fazla sayıda ve kanser tedavisinde kullanılan bazı antineoplastik ilaçlar da dahil, çok önemli ilaçlar elde edilmektedir. Türkiye’de bu açıdan bir avantajı, çok zengin bir flora ya sahip olması ve ilaç elde edilebilecek bitkilerin yetişmesidir. Bitkilerden ilaç etken maddesinin elde edilmesinin ötesinde, zaman zaman etken maddeyi saf olarak değil, olası etken maddeyi de içeren bir karışım halinde (ekstrakt) veya bitkilerin alkol veya eterde eriyebilen kısımlarını içeren sıvı ilaç şeklinde (tentür) kullanılabilmeleri gündeme

gelmektedir. Bitkisel ilacın elde edildiği bitkinin yetiştiği yer, mevsim koşulları, bitki yapraklarının veya diğer kısımlarının toplandığı mevsim gibi çok çeşitli faktör, bitkisel ilacın içindeki etken maddenin miktarını ve dolayısıyla etkililiğini değiştirebilmektedir. Bu gerekçeyle bu tür bitkisel ilaçların standardize edilmesi son derece önemlidir. Bugün herkesin hayatında en az bir kere kullandığı aspirinin keşfiyle ilgili ilk gözlemler, söğüt ağacı kabuklarının ateşi düşürmesiyle yapılmıştır. Bilimdeki gelişmelerin ışığında söğütten asetil salisilik asit (aspirinin etken maddesi) izole edilmiş, yapısı aydınlatılarak ve tamamen sentetik olarak elde edilerek 1890 yılında insanların hizmetine sokulmuştur. Bu örnek dahi, bitkilerin ilaç elde edilmesinde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir [Keller, 1992].

2.3.4. Kolon ve kolorektal kanseri

Jemal ve arkadaşları (2006) yaptıkları bir çalışmada kolon kanserlerinin, kadınlardaki kanser ölümlerinde akciğer ve meme , erkeklerdeki kanser ölüm vakalarında ise akciğer ve prostat kanserlerinden sonra 3. sırada yer aldığı belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada kolon kanserleri % 9,3 oranında, akciğer-larinks (% 23,8) ve meme (% 22,9) kanserlerinden sonra üçüncü sırada yer aldığı görülmektedir. Obezitenin de kolon, meme ve serviks kanserleri ile ilişkisi kanıtlanmış ve bu kanser türlerinin vücuda alınan besin maddeleriyle ilişkili olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır. Başka bir araştırmada ise katılımcıların % 33,9'u obez olup, bitkisel ağırlıklı beslendiğini söyleyenlerin oranı % 8,4 olup oranın çok düşük olması dikkat çekmektedir [Arvas ve Gezer, 2007; Sertkaya, 2005; Bodurl ve Garcia-Closas, 2011].

Dünya Sağlık Örgütü verilerine baktığımız zaman kolorektal kanserin (KRK) kadınlarda ve erkeklerde en sık karşılaşılan üçüncü kanser türü olduğu bildirilmiştir [Jemal ve ark, 2006]. Diğer bir tesbite göre kanserle ilişkili en sık ölüm nedenleri arasında erkeklerde ikinci ve kadınlarda ise üçüncü sırada yer aldığını görmekteyiz [Dube ve ark, 2007]. Her sene yaklaşık bir milyon kişi KRK'ye yakalanmakta ve beş yüz bin civarında kişi KRK sebebiyle hayatını kaybetmektedir [Boyle ve Leon, 2002].

Türkiye’de ise en sık görülen 7. Kanser türüdür. Yılda ortalama yaklaşık 5000 yeni vaka görülmekte ve yaklaşık 3200 kolorektal kansere bağlı ölüm gerçekleşmektedir [T.C.Sağlık Bakanlığı, 2008]. Kolorektal kanser sebebiyle erkeklerde ölüm oranının, yaşa bağlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır [Hawk ve ark, 2002].

Aynı zamanda hastalığın etiyolojisinde, erkeklerde, [Boyle ve Leon, 2002] ileri yaş, [Karahansanoğlu ve ark, 2001] adenomlar, [Göral, 2003] genetik faktörler ve aile hikayesi (familial adenomatöz polipozis ve diğer otozomal dominant gastrointestinal polipozis sendromları), [Kinzler ve Vogelstein, 1996] obezite, yaşam tarzı ve dengesiz beslenme alışkanlıkları, [Giovannucci ve ark, 1995] kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları, [Lakatos ve ark, 2006] radyasyon [Kendal ve Nicholas, 2007] diyabetes mellitus (DM) gibi eşlik eden bazı kronik hastalıkların varlığı [Giovannuchi, 2001] etkili olmaktadır.

Kanser tedavisinde mortaliteyi azaltmak ve sağkalımı artırmak için farklı birçok tedavi modaliteleri kullanılmaktadır. Bunlar; cerrahi, radyoterapi, kemoterapi-hormon tedavisi ve yeni tedavi yöntemlerinden immunoterapi, sinyal ileti sistemi inhibitörleri, gen tedavisi ve anjiyogenez inhibitörleri olarak sayılabilmektedir [Dellabona ve ark, 1999; Terrero, 2004].

Kanser tedavisi için son yıllarda çok sayıda ilaç ve yeni tedavi yöntemleri geliştirilmiş olmasına karşın günümüzde ilerlemiş kanser vakalarında şifa sağlayıcı tedavi seçenekleri hemen hemen yok gibidir. Bu durum özellikle kanser gelişim sürecinin karmaşıklığı ve henüz aydınlatılması gereken çok sayıda noktaların olması ile kısmen açıklanabilir. Kemoterapi esas olarak kanser hücrelerinin öldürülmesini hedefleyen bir tedavi şeklidir. Ancak mevcut kemoterapi ajanlarının değişik kanser türlerindeki etkinliği sınırlıdır. Bazı kemoterapi ilaçları ise, örneğin paklitaksel , düşük dozlarda kullanıldıklarında tümörlerin damarlanmasını azaltarak hastalığın kontrol edilmesine yardımcı olabilmektedir [Vincenzi ve ark, 2007].

Kanser genetik bir hastalıktır. Kanser gelişimi ile ilgili değişik teoriler olmakla birlikte hücreler karsinogenez sürecinde genetik değişikliklerin ve çevresel

faktörlerin etkisiyle çok basamaklı bir süreç içinde bazı temel özellikler kazanır. Kanseri hastalığının ortaya çıkabilmesi için tümör hücrelerinde mutlaka bulunması gereken özellikler başlıca otonomi (bağımsız çoğalabilme), kontrolsüz çoğalma (kontak inhibisyon kaybı), apoptozisin baskılanması, anjiyogenez, ölümsüzlük, invazyon ve metastaz yeteneğidir. Bu özelliklere sahip olan hücrelerin çoğalması ile kanser hastalığı ortaya çıkar [Akbulut H. ve Akbulut K.G, 2005].

Yapılan son araştırmalarda kolorektal kanserin insidansı ve özellikle metabolik sendrom (MS) bileşenleri [lipid düzeyleri, bel çevresi (BÇ), vücut kitle indeksi (VKİ), glikozile hemoglobin A1c (HbA1c) ve plazma glukoz] arasındaki ilişki incelenmiştir. İtalya’da seçilen 21,311 erkek ve 15,991 kadın üzerinde , 1978-87 yılları arasında yapılan , Risk Faktörleri ve Yaşam Beklentisi incelemesinde , epidemiyolojik dokuz çalışmanın birleştirilmiş verilerine göre; düşük HDL ve yüksek trigliserid düzeyi, HT ve plazma glukoz düzeyleri, metabolik sendrom’nin bileşenleri olarak tespit edilmiştir [Pais ve ark, 2009].

2002-2003 yılları arasında, Garow ve arkadaşlarının 58,000 olgunun katıldığı Ulusal Sağlık Görüşme Anketi çalışmasında , metabolik sendrom tanısı konan 1200 olgunun 350’sinde kolorektal kanser görülmüştür. Bunun yanında metabolik sendromlu olguların cinsiyet , yaş, ırk, sigara, obezite ve alkol gibi çeşitli faktörlerin kontrolünden sonra kolon ya da rektum kanseri için riskin %75 oranında arttığı gözlenmiştir [Garow, 2008].

Avrupa Prospektif Kanseri ve Beslenme İncelenmesi (EPIC) kurumunun yaptığı incelemede, Plazma glukoz düzeyleri ve kolorektal kanseri insidansı arasındaki ilişki prospektif tarzda bir analiz ile ortaya konulmuştur [Khaw ve ark, 2004]. 45 - 79 yaşları arasında değişen 9605 olgunun katılımıyla ile yapılan bir incelemede, 67 olguda kolorektal kanseri teşhisi konmuştur. Yüksek HbA1c düzeyleri ve kolorektal kanseri arasındaki artan risk aynı zamanda Clue II kohort çalışmasında da tespit edilmiştir [Saydah ve ark, 2004].

Kolon kanserine yakalanmış 984 olgu üzerinde yapılan son EPIC çalışmasında, vücut

kitle indeksi ve kolorektal kanser arasındaki ilişki incelenmiştir . Vücut kitle indeksinin düşük ve yüksek dilimleri arasındaki erkeklerin %55'inde kolon kanseri riskinde artış olduğu, kadınlardaysa bu tarzda bir ilişkinin bulunmadığı gözlenmiştir [Pischon ve ark, 2006].

Moore ve arkadaşlarının [Erarslan ve ark,2009] yaptığı retrospektif bir çalışmada 7556 vakadan 306'sında rastlantısal olarak kolorektal kanserin bulunmuş ve bel çevresi ölçüsünün 99 cm'den fazla olan kadınlarda ve bel çevresi'nin 101cm'den fazla olan erkeklerde, KRK'ya yakalanma ihtimalinin 2 kat ve bu ihtimalin bel çevresi artışı ile doğrusal olarak arttığı gözlenmiştir . Epidemiyolojik kanıtlar ile birlikte, obezite ve kanser sebebiyle ölüm vakalarındaki artma arasında bir ilişkinin bulunduğu gösterilmiştir [Pais ve ark, 2009; Lee ve ark, 2008; Giovannucci, 2001].

Türkiye'de 40 yaş ve üzeri kolorektal adenomlu ve kanserli 54 hasta üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise kolorektal karsinogenez ile VYA ve serum adiponektin ilişkisi değerlendirilmeye tabi tutulmuştur . Çalışmanın sonucunda VYA seviyesinin, kolorektal kanser'li hastalarla kontrol vakaları arasında farklı olmadığı ayrıca adiponektin düzeyinin VYA ile korele olmadığı belirlenmiştir [Jee ve ark, 2005].

Son dönemde yapılan çeşitli araştırmalarda hiper insülinemi ve/veya diyabetin, kolorektal karsinogenezde önemli bir etken olduğu gösterilmiştir. İnsülin direnci kolorektal kanser'de ölüm riski artışı ile bağlantılıdır . İnsülin direnci ve /veya hiper insülinemi metabolik sendrom'nin gelişiminde önemli katkısı bulunduğu için metabolik sendrom ve kolorektal kanser arasında da benzer bir ilişkinin varlığı muhtemeldir [Pais ve ark, 2009; Lee ve ark, 2008; Giovannucci, 2001]. Bir başka çalışmada metabolik sendrom komponentleri ile kolorektal kanser riskinin doğrusal olarak arttığı gözlenmiştir [Pais ve ark, 2009]. Bunun yanında hem erkeklerde hem kadınlarda obezite ile kolon kanseri arasında ilişkinin varlığı belirtilmiştir [Gönüllü, 2010; Kozan ve ark, 2007; Saydah ve ark, 2004].

Kolorektal kanserler, kansere bağlı ölüm oranlarında % 10 düzeyinde etkindir.

Obezitenin kolon kanserinin gelişimindeki olumsuz mekanizmalarından birisi, obez kişilerde insülin ya da insülin ile alakalı büyüme faktörlerinin tümör gelişimine katkıda bulmasıdır [Giovannucci, 2001; Ealey ve Archer, 2009; Caan ve ark, 1998]. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda abdominal yağlanmanın iki göstergesi olan bel çevresi ve kolon kanseri ilişkisi, vücut kitle indeksi ile kanser arasındaki ilişkiden daha güçlü olduğu tespit edilmiştir [Moore ve ark, 2004; Erarslan ve ark, 2009; Ealey ve archer, 2009].

Vücut kitle indeksi'nin yüksek olduğu erkeklerde kolon kanseri riskinin artış gösterdiği görülmüşse de kadınlarda bu ilişki daha zayıf olduğu belirtilmiştir . Erkeklerde artmış VKİ 'nin abdominal yağlanma ile ilişkili olduğu tes pit edilmiştir [Trevisan ve ark, 2001; Murphy ve ark, 2000; Wei ve ark, 2005].

Metabolik Sendrom (MS) ve Kolorektal Kanser Arasındaki Fizyopatolojik İlişkiler: İnsülin direnci (İD)'nin metabolik sendromun en önemli mekanizması olduğu ifade edilmiştir. İnsülin, normal mukozada apoptozu azaltma yoluyla, kolorektal adenomdan kanserin gelişmesi zincirini uyarabilir [Pais ve ark, 2009; Lee ve ark, 2008; Onat ve ark, 2007].

Kolon mukozasındaki kanser hücrelerinde de insülin ve IGF -1 reseptörlerinin olduğu gösterilmiştir. İnsülin bu hücrelerin büyümesini doğrudan ya da dolaylı olarak İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) yoluyla etki ederek in vitro ve deneysel modellerde mitojenik tesir göstermektedir [Pais ve ark, 2009; Giovannucci, 2001; Onat ve ark, 2007; Ealey ve archer, 2009].

Hiperinsülinemi, dolaşımdaki IGF bağlanan protein -1'in (IGFBP-1) düzeylerini azaltarak ve serbest IGF-1 düzeylerinin artmasına yol açarak kolorektal kanser riskini artırmaktadır denebilir. Hiper insülinemi IGFBP-1, IGFBP-2 ve IGFBP-3 üretimini inhibe edebilir [Giovannucci, 2001; Onat ve ark, 2007; Ealey ve Archer, 2009]. IGF-1 tek zincirli 70 aa'ten oluşan bir polipeptiddir . Ayrıca IGF-1 fizyolojik olarak, büyüme hormonunun (GH) etkisinden sorumlu major mediatördür. IGF-1 önemli bir mitojendir ve hücre proliferasyonu ve apoptoz üzerinde parakrin, otokrin

ve endokrin etkileri mevcuttur [Giovannucci, 2001; Ealey ve Archer, 2009]. İlave olarak, IGF-1 kanser gelişiminde etkili bir anjiogenik etken olan vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) üretimini artırmaktadır. IGF-1, kolorektal kanserinde dahil olduğu birçok kanser türüyle ilişkili görülmüştür [Pais ve ark, 2009; Giovannucci, 2001; Ealey ve Archer, 2009].

Aynı zamanda çok sayıda epidemiyolojik incelemede obezite, dislipidemi ve bozulmuş glukoz toleransı gibi metabolik sendrom komponentlerinin kolorektal karsinogenez gelişimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir . Metabolik sendrom bileşenlerinin farklı patofizyolojik yollar vasıtasıyla kolon kanseri gelişimine aditif etkide bulunduğu anlaşılmıştır. Yüksek kalorili diyet ile beslenen aşırı kiloya sahip bireylere çokça rastlanılan sanayileşmiş toplumlarda ortak özelliğin hiper insülinemi ve İnsülin direnci'nin sıkça görülmesidir.

Metabolik sendrom ve bileşenlerinin kolorektal karsinogenez ile ilişkisinin patofizyolojik mekanizmalarını anlamak hem korunma hem de tedavide yeni stratejilerin geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir. Metabolik sendrom bileşenlerinin bir ya da iki komponentinin kontrol edilmesi bile , daha uzun, sağlıklı ve kansersiz bir hayatla sonuçlanabilir.

2.4. Antiproliferatif ve Antiinflatuar Etki

Antikanserojenik etki : Kansere genel olarak hücre gelişimini ya da bölünmesini kontrol eden genlerin aktivasyonu ve/veya mutasyonu ile oluşan anormal hücreler neden olmaktadır. İmmün sistem , oluşan anormal hücreleri teşhis etmekte ve yok etmektedir. Ancak bazı durumlarda, anormal hücre oluşumu pek çok proses ve dışsal faktör ile artış göstermektedir. Dış faktörlere maruz kalmanın önüne geçmek, kanser oluşum riskini aza indirmekte önemlidir.

Konak immün yanıtının artırılması: Tümör mikroçevresi, tümörün yayılmasında ve yayılmasında yer alan pek çok farklı hücreden ve bunların salgıladıkları sinyal moleküllerinden meydana gelmektedir. Bu moleküllerin içerisinde tümör

oluşumunda ve yayıl masında en fazla rolü olan sitokinlerdir. Kendileri ve diğer sitokin ile reseptörlerinin de sentezlenmesini sağlayan karmaşık bir sinyal ağının koordinasyonundan ve oluşumundan sorumludurlar. Bunların içerisinde IL -8 normal hücrelerden olduğu kadar tümör hücrelerinden de salınmakta ve akut inflamatuvar reaksiyonların tetiklenmesinde rol oynamaktadır. Tümör mikroçevresinde artmış IL -8, tümörün gelişiminde ve metastazda önemli bir etkindir. Antiinflamatuvar sitokinlerden IL-10'un antimetastatik ve antitümör faaliyete sahip olduğu in vivo olarak kanıtlanmıştır [Kundu, 1996; Huang, 1999].

2.4.1. Sitokinler

Sitokinler bağışıklık sisteminde görev alan hormonlardır. Sitokinler immün hücreler arasındaki kimyasal iletiler olarak tanınmakta, inflamatuvar ve immün yanıtlarda önemli role sahiptir. Aynı zamanda sitokinler beyinle sinyalleşmekte , immün ve sinir hücreler arasında arabulucu (mediator) işlevine sahiptir [Kronfol ve Remick, 2000]. Sitokinler immün yanıtların başlaması, düzenlenmesi ve sürdürülmesinde rol almaktadırlar [Raison ve ark, 2005].

Aynı zamanda sitokine; lenfositler, monositler, iltihabi hücreler ve endotelial hücreler gibi immün sistem hücreleri arasındaki etkileşiml eri düzenleyen ve aktivitelerini yönlendiren polipeptid yapısındaki moleküllerdir diyebiliriz. Sitokinler yapılan birçok çalışmada hastalığın patogenezi ve ya tedavisinde etkili olduğunu kanıtlamıştır [Lewis, 1998].

Yaşam için birinci derecede önemli olan ve organizmanın immün sistemini düzene sokan sitokinlerin vücuttaki seviyesi, yaşlanmaya bağlı olarak azalmakta ve neticede vücut basit bir enfeksiyondan kansere kadar geniş bir yelpazede birçok hastalık riskine açık hale gelmektedir. Salgılandıkları zaman organizmada sistemik (endokrin), hücre etrafındaki diğer hücrelere (parakrin) veya direk salgılandıkları hücreler üzerine (otokrin) etkisi bulunmaktadır [Lewinson ve Jawetz, 1998].

Sitokinler lenfositlerce salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar

tarafından salgılandığı zaman monokinler ve lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin olarak adlandırılmaktadır. Kemokin, makrofaj ve monositleri enfeksiyon noktasına çekebilen bir sitokin türüdür [Abbas ve Lichtman, 2005].

Sitokinler görevlerine göre 5 gruba ayrılır:

- 1) Lenfoid hücrelerinin aktivasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenlenmektedirler (IL-2;4;5;12;13;14;15;16).
- 2) İmmün yanıtı arttırmak yada baskılamak suretiyle düzene sokmaktadırlar (IL-10, (sitokin sentez inhibitör faktör).
- 3) TGF- β ; İnflamasyona katılan hücreleri aktive eder ve kemotaksisini sağlar (interlökinler (IL-1-5-6-8), interferonlar (IFN- α ve IFN- γ) ve tümör nekrozis faktör (TNF) gibi proinflamatuvar sitokinler).
- 4) Kemik iliği yoluyla hematopoietik düzenlemeyi etkilerler.
- 5) Bazı hipofiz hormonlarının ve diğer biyolojik maddelerin sentez ve salınımlarına neden olurlar [Gillis ve Williams., 1998].

Sitokinler yukarda saydığımız maddelerin haricinde, kimyasal iletinin düzenlenmesinde ve CRH (kortikotropin salgılatıcı hormon), ACTH (adrenokortiko tropik hormon), PRL (prolaktin), LH (luteinize edici hormon), FSH (folikül stimüle edici hormon), GH (büyüme hormonu), TSH (tiroid stimüle edici hormon) ve glikokortikoidler gibi birçok hormon ve peptidin salgılanmasında da rol almaktadırlar [Kronfol ve Remick, 2000]. IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler proinflamatuvar yanıtlarda rol oynamakta, patojenlerin hızlı eliminasyonuna yardımcı olarak immün yanıtın arttırılmasında görev almaktadırlar. Antiinflamatuvar sitokinler immün yanıtı baskılayabilmektedir. Bazı sitokinler hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar olarak rol oynayabilmektedirler. Birçok durumda inflamatuvar durum veya artan koşullar hangi sitokinin iş göreceğini saptayabilir. Örneğin, lokal

inflamasyon bölgesindeki IL-8, nötrofillerin birikimini sağlamakta, bununla birlikte yüksek seviyedeki IL-8 ise inflamasyon bölgesinde nötrofillerin infiltrasyonunun azalmasını sağlayabilmektedir [Kronfol ve Remick, 2000]. TNF, IL-1 ve IL-6 içeren proinflamatuvar, bu süreçte ilk salgılanan sitokin türüdür. TNF, IL-1 ile beraber sitokinlerle uyarılan hipotalamik hücrelerde prostaglandin sentezini arttırarak ateşi teşvik eden bir endojen pirojendir. TNF ayrıca iştah hissinin bastırılmasına, ikincil olarak kas ve yağ hücrelerinin yıkımıyla karakterize 'kaşeksi'ye de yol açmaktadır [Raison ve ark, 2005].

Sitokinler, inflamasyon olayında akut faz proteinlerinin meydana gelmesinde esas arabuluculardır. TNF- α , IL-6, ve IL-8 inflamasyonla ilişkili sitokinler arasında yer almaktadır [Gabay ve ark, 1999; Kelly ve ark, 1992]. TNF- α , akut inflamasyonda T-helper hücrelerinin faaliyetini arttırmaktadır [Lin ve ark, 2000; Kumar ve ark, 1995]. IL-6, TNF- α ile sinerjistik etkileri olan bir sitokindir, karaciğerden akut faz reaktanlarının sentezini indükler. IL-8 ise, akut inflamasyon bölgesine lökositleri çekebilecek yeteneğe sahip bir kemokindir [Kumar ve ark, 1995; Lin ve ark, 2000].

2.4.2. Sitokin reseptörleri ve özellikleri

Sitokinlerin çoğu etkilerini, farklı hedef hücrelerde eksprese edilen spesifik reseptörleri yoluyla etkileşime girerek yapmaktadır. Bazı sitokin reseptörleri yalnızca membrana bağlı formda değil, aynı zamanda serum ve plazmada çözünür sitokin reseptörleri olarak da bulunabilirler. Çözünebilir sitokin reseptörleri membrana bağlı reseptörlerin proteolitik biçimde bölünmesi (sIL-2R, sIL-1R, sTNF-R) ya da alternatif olarak mRNA'nın çekirdeğiterk etmeden önce primer transkriptin intronlara karşılık gelen belirli bölgelerinin uzaklaştırılması ve geri kalan komşu segmentlerin birbirine bağlanması mekanizmasıyla (splicing) oluşabilmektedir (sIL-4R, sIL-5R, sIL-7R). Bu çözünür reseptörler ligand bağlayıcı kapasitelerini devam ettirerek hücre yüzey reseptörlerinin antagonisti ya da hedef hücreye ligandın taşıyıcı proteini olarak rol oynayabilirler [Fujita ve ark, 2005].

İnsan TNF- α için hem tip 1 (p55) hem de tip 2 (p75) reseptörler vardır ve sinyal iletilici birim olarak hücre membranında veya hücre dışı sıvılarda çözülebilir formda bulunabilir. Her iki tipteki TNF reseptörleri sistemik dolaşımda çözülebilir ve TNF- α ligandlarına bağlanmayı sürdürmektedir. Bu bağlanmanın afinitesi membrana bağlı reseptörlerle mukayese edilebilir seviyelerdedir [Van der Poll ve ark, 1993]. Çözünür reseptörler TNF bağlanması için membrana bağlı reseptörlerle yarışabilir. Yüksek düzeydeki çözünür TNF reseptörleri hedef dokularda TNF aktivitesinin spesifik inhibitörü olarak işlev görmektedir. Hassas hedef dokulardan membrana bağlı TNF reseptörlerinin dökülmesi, TNF aktivitesinin bu dokularda desensitizasyonuna meyil oluşturmaktadır [Van Deuren, 1998]. İnsanlarda çok çeşitli sistemik inflamatuvar veya patolojik durumlarda, hem tip 1 hem de tip 2 reseptörleri kolay biçimde dolaşımda hesaplanmaktadır. Ayrıca çözünür reseptör konsantrasyonları sistemik TNF aktivitelerinin azaltılması için yeterli düzeylerdedir [Van Zee ve ark, 1992].

2.4.3. Tümör nekrozis faktör

Bir glikoprotein türü olan tümör nekrozis faktörü (TNF) birçok hücre tipinde salgılanmaktadır. Benzer biyoloji niteliklerde iki formu tesbit edilmiştir. Bu iki form TNF- β (lenfotoksin) ve TNF- α (kaşeksin)'dir [Carroll ve Kaltzman, 1987]. TNF- α aktive olmuş lenfositler, nötrofiller, NK hücreleri, mast hücreleri ve endotelial hücreler tarafından salgılanan proinflamatuvar sitokindir [Borish ve Steinke, 2003]. Lipopolisakkaritler, monositlerden TNF salınımına sebep olan en kuvvetli uyarıcıdır. TNF- α 'nın birçok fonksiyonu vardır. IL-1 ile birlikte ya da ayrı ayrı sistemik inflamasyonun başlatılmasına ve ateş gibi belirtilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Nötrofil ve monositler için kemotaktiktir. TNF- α , polimorf nüveli lökosit (PMNL) tutunmasını arttıran nitelikte bir sitokin türü olup, endotel hücrelerinden interselüler adezyon molekülü (ICAM-1) sentez ve ekspresyonunu arttırmaktadır [Dustin ve Springer, 1989]. Ayrıca TNF- α , fagostoza arttırarak ve süperoksitlerin salınımına yol açarak solunum bozulmasına sebep olur. Bunun dışında, lökositleri uyarak mikroorganizmalara ve tümör hücrelerine karşı etkinin oluşmasına sebep olmaktadır [Samlaska ve ark, 1994]. TNF- α ; monositlerin IL-6 ve

IL-8 gibi inflamatuvar sitokinleri üretme kapasitesini artırmaktadır. TNF- α ; nötrofillerin damar çeperlerine tutunmasını ve kemotaksisini arttıran güçlü bir aktivatörüdür [Klebanoff ve ark, 1987].

2.4.4. İnterlökin-6

Lenfositler; mononükleer fagositer hücreler, fibroblast, nötrofil, keratinositler ve endotel hücrelerinden salgılanmaktadır. B lenfosit matürasyonundaki son basamakların uyarımı, IL-6'nın en önemli biyolojik etkinliği dir. IL-6 etkisi ile B lenfositler olgun plazma hücrelerine doğru büyür ve onları immünglobülinleri sekrete etmek üzere uyarır . IL-6 T hücrelerinin sitotoksik T hücrelerine farklılaşması da dahil olmak üzere T hücre farklılaşması, aktive edilmesi ve büyümesi gibi görevlerde yer almaktadır [Van Snick, 1990; Akina ve ark, 1993]. IL-6'nın, deneysel kanserin önemli bir markerı olduğu belirtilmiştir [Strassmann ve ark, 1992]. Bazı kanser hastalarında IL-6 seviyelerinin artışta bulunduğu tesbit edilmiştir [Oka ve ark, 1996; Martin ve ark, 1999]. Buna karşın, kolon kanserli hastalarda, artmış IL-6 düzeyleri hala tartışma konusudur [Hatada ve ark, 2000].

IL-6 ile uyarılan TNF ve IL-1'in teşvik ettiği karaciğer kaynaklı plazma proteinleri akut faz yanıtını meydana getirirler. Akut faz yanıtı; doku hasarını sınırlandırmak, istilacı organizmaları ortadan kaldırmak ve tamir sürecini aktif kılmak için tasarlanmıştır. Bu hedefler akut faz reaktanları adı verilen C reaktif protein, makroglobulin ve diğer proteazlar ve fibrinojendeki artış ile beraber, negatif akut faz reaktanları olarak adlandırılan albumin ve transferrindeki azalış ile sağlanmaktadır. Akut faz yanıtı esnasında inflamatuvar sitokinler iştah kaybı, ateş, sosyal çekilme ve uyku değişiklikleri gibi hastalık belirtilerinin düzenlendiği yer olan nöroendokrin sistem (özellikle hipotalamo-pituiter-adrenal eksen) ve MSS'ne güçlü etki ile enfeksiyona sistemik yanıtı düzenlemektedirler. Hipotalamo-pituiter-adrenal eksen ve MSS'ne güçlü etki ile enfeksiyona sistemik yanıtı düzenlerler [Raison ve ark, 2005].

2.4.5. İnterlökin-8 ve küçük kemokin ailesi

Kemokinler birbirine yapısal ve fonksiyonel olarak benzeren az 14 üyesi bulunan bir sitokin ailesidir [Horuk, 1994; Baggiolini ve Dahinden, 1994]. Kemokinler, mononükleer fagositik hücrelere ilaveten T lenfositlerden, NK hücrelerden, nötrofillerden, hepatositlerden, kerotonositlerden, endotel ve epitel hücrelerinden de sentezlenmektedir. Kemokin ailesi üzerinde en çok çalışma konusu olan IL-8'dir. IL-8 salınımı, IL-1, TNF, lipopolisakkarid (LPS), ve virüsler tarafından artırılmaktadır. IL-8 nötrofiller için önemli ve kuvvetli kemoatraktanlardan da biridir [Akina ve ark, 1993].

2.4.6. Adipokinler ve inflamatuvar sitokinler

Yağ dokusu ; hormon, ve diğer sinyal proteinlerinin salgı ve sentezinden sorumlu topluca adipokinler olarak adlandırılan karmaşık bir endokrin organdır. Adipokinler; inflamasyon, iştah ve enerji dengesi , ,anjyogenez, insülin direnci/hassasiyeti, lipid metabolizması, hücre çoğalması ve ateroskleroz gibi süreç lerde rol alan sinyalizasyon moleküllerinin farklı bir grubudur [Pais ve ark, 2009; Gönüllü ve ark, 2010].

Bu işlevlerin çoğu ya MS veya kanser ile alakalı olup, bu iki patoloji arasında bir bağlantı sağlayabilir. Adiponektin; leptin ve TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10 ve de IL-1-reseptör agonisti gibi sitokinler topluca adipositokinler olarak isimlendirilebilir [Pais ve ark, 2009; Jee ve ark, 2005; Tamakoshi ve ark, 2005; Nikiteas ve ark, 2005; Fajas ve ark, 2001]. Adiponektin, adipoz doku tarafından sentezlenen ve 30 kDa (GBP28, adipoQ ya da ACRP 30) ağırlığında C 1q ilişkili kollajen benzeri bir plazma proteinidir ve en çok salınan adipositokindir. Çoğunlukla visseral yağ dokusunda salgılanmaktadır. Adiponektinin düşük molekül ağırlıklı ve yüksek molekül ağırlıklı iki formunun bulunduğu ve yüksek molekül ağırlıklı adiponektinin kanser hastalığı riskiyle daha yakın bağlantılı olduğu saptanmıştır [Gönüllü, 2010; Jee ve ark, 2005; Caan ve ark, 1998]. Adiponektin düzeyi, VKİ ile ters orantılıdır ve insülini duyarlaştıran; antianjiyogenik, antiinflamatuvar, apoptozis ve inflamasyonun

düzenlenmesine de katkı sağlayan bulunan bir hormondur [Gönüllü, 2010; Caan ve ark, 1998; Tamakoshi ve ark, 2005]. Makrofajdan TNF- α ve benzeri sitokin üretimini baskıda tutarak, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) tarafından indüklenen inflamatuvar hücre göçünü inhibe eder. Hayvanlarda tümör büyümesine mani olabilmektedir. Seviyeleri mide kanseri ile negatif korelasyon göstermektedir. Bu protein insülin uyarıcısı olmamakla beraber iskelet kasındaki serbest yağ asitlerin in beta oksidasyonunu artırma vasıtasıyla insülin etkisinden koruma sağlamaktadır . Adiponektin düzeyinin İD'ne sahip durumlar olan ; tip 2 diyabet, obezite ve dislipidemi'de azaldığı görülmüştür [Saydah ve ark, 2004; Caan ve ark, 1998; Tamakoshi ve ark, 2005]. Wei ve arkadaşlarının yaptıkları prospektif bir araştırmada plazma ADP düzeyi erkeklerde KRK riskiyle ters orantılı olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada plazma ADP düzeyindeki azalma kolorektal adenom gelişimiyle ilişkilitesbit edilmiştir. VKİ artışı ile ADP azalmasının k anser riskini 6 kat artırdığı belirtilmiştir [Tamakoshi ve ark, 2005].

2.4.7. İnflamatuvar sitokinler ve kolorektal kanser

Elde edilen veriler, sistemik inflamasyonun KRK için makul bir mekanizma olabileceği ihtimalini düşündürmektedir. Araştırmalar IL-6, IL-8 ve IL-10 gibi inflamasyonla alakalı genlerdeki genetik varyasyonların, kolorektal adenom ve KRK'a yatkınlık ile alakalı olduğunu göstermiştir . IL-6'nın hücre büyümesini uyararak ve apoptozisi inhibe ederek parakrin ve otokrin bir mekanizma ile tümör oluşumunu artırdığı görülmüştür . Bunun yanında IL-6 seviyelerinin hastalık durumunu yansıttığı ve yaygın metastatik hastalık ile i ilişkisi bulunduğu saptanmıştır . TNF- α , NO üretimini artıran ve diğer inflamatuvar sitokinleri uyaran NF -kB'yı aktif eder. IL-6, TNF- α , ve C-reaktif proteinin (CRP) yüksek düzeyleri ile karsinogenez gelişmesi arasında ilişki olduğunu gösteren çok sayıda çalışma vardır . Ayrıca, Yunanistan'da yapılmış bir çalışmada , serum IL-6, TNF- α ve CRP düzeyi yüksekliği ile tümör büyüklüğü arasında da ilişki olduğu gösterilmiştir [Fajas ve ark, 2011].

2.4.8. GİS mukozal immün dengesi

GİS mukozal immün dengesinde, genetik etkenler, çevresel etkenler (stres, patojenler, radyoterapi ve kemoterapi) ile bozulma oluştuğunda , bağırsaklarda inflamasyon başlamaktadır . Kısa süreli kontrollü inflamasyonlar koruyucu etki gösterirken, devamlı (kronik) inflamasyon çevredeki hücrelerin yıkımına ve sitokin salınmasında artışa sebep olmaktadır [Vannucci ve ark, 2009].

Sitokinler, hedef hücrelerin yüzeyindeki reseptörleri vesilesiyle hormonlar gibi etki göstermektedir. Organizma bir inflamatuvar süreçte proinflamatuvar sitokinlerin üretiminden ayrı olarak inflamasyonu baskılayan antiinflamatuvar etkili sitokinler de üretmekte ve böylece denge oluşumunu sağlamaktadır [Blum ve ark, 2002]. IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlere bağlı aşırı inflamasyon , IL-1ra, sTNF- α , IL-10 ve TGF- β gibi antiinflamatuvar sitokinler tarafından baskılanmaktadır. Ülseratif kolitli ve chron's hastalığı olan kişilerde inflamatu ar sitokinlerin salınması, antiinflamatuvar stokinlerden fazla olduğu ifade edilmektedir [Schiffrin ve Blum, 2002].

Kemokin ve inflamatuvar sitokin üretilmesinde ortak yol nükleer faktör κ B (NF κ B) olup, etkin duruma gelmesi ile IL -6, IL-8 ve TNF- α sentezlenmesini sağlamaktadır. Bu yolağı, patojen mikroorganizmalar ve stres uyarmaktadır. NF κ B, apoptozise olan direnci de düzenlemektedir. Chron's hastalarında mukozal T lenfositleri apoptozise dirençlidir ve bu durum T lenfositlerinin birikimine ve inflamatuvar yanıtın devam ettirilmesine sebep olmaktadır [Borchers ve ark, 2009]. NF κ B 'nin düzenlenmesi antiinflamatuvar tedavilerde amaç haline gelmiş ve yeni doğa l ajanlara ilgi oluşmuştur. [Schiffrin ve Blum, 2002].

2.4.9. Sitokinlerin metabolizmadaki görevleri

Sitokinler, inflamatuvar yanıtta ve kanserin patogeneğinde önemli bir rol alırlar. Bu gruba en iyi örneklerden biri de, IL-6 oluşturmaktadır. IL-6, diğer akut faz proteinleri gibi, karaciğerde sentezlenmektedir. Ayrıca IL-6, lipoprotein lipaz aktivitesini, yağ

asidlerinin sentezini ve yağ depolanmasını da azaltmaktadır [Greenberg ve ark, 1992]. IL-6, multi-poietik bir sitokindir. Bu sitokin tümör hücrelerinin büyümesini ve differansiyonunu sağlamakta [Oka ve ark, 1996; Dosquet ve ark, 1994] bunun yanında, başka sitokinlerin ekspresyonuna ve üretimine katkıda bulunmaktadır [Martin ve ark, 1999]. JAK adı verilen reseptörü IL-6, görevini icra etmektedir [Watanabe ve ark, 2004; Rawlings ve ark, 2004]. Yapılan güncel araştırmalarda IL-6'nın bu reseptörünün hipermetilasyonu ile pek çok kanser türünün gelişiminin önünün alınabileceği kanıtlanmıştır [Heinrich ve ark, 2003].

İmmün düzenlemeyi denetleyen ve tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösteren bir protein olan TNF- α , B.adolescentis SPM0212 insan kolon kanser hücre hattı üzerinde antiproliferatif etki göstermektedir [Han ve ark, 2005].

Stres, yanlış beslenme alışkanlıkları , fazla antibiyotik kullanımı ve kemoterapi ilaçları ile mikroflora dengesinin florada bozmakta ve epitel bariyer bütünlüğünü de bozmaktadır. Zayıflayan epitel bariyer ile beraber bozulan sıkı bağlantılar oluşmakta, ardından geçirgenlik artmakta, inflamasyon başlamaktadır . Chron's hastalığı , ülseratif kolit, çölyak gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarında, bağırsak geçirgenliğinin arttığı belirtilmiştir [Wollowski ve ark, 2001; Saito, 2004; Limdi ve Mclaughlin, 2006; Sartor, 2004; Reid ve Bruce, 2006; Sheil ve ark, 2007].

Bunla beraber IL-6, subkuten ve visseral yağ dokusundan salgılanarak santral sinir sisteminde akitasyon göstermektedir. Dolaşımdaki IL-6 % 25 ile % 30 oranında yağ dokusu kaynaklıdır [Mohamad-Ali ve ark, 1997]. Visseral yağ dokusundan, subkutan yağ dokusuna nisbeten 2 kat fazla miktarda salınmaktadır. Visseral yağ dokusundan portal venöz sisteme verilmesiyle beraber karaciğerde fibrinojen ve CRP üretimi artış göstermektedir. IL-6' nın aynı zamanda serbest yağ asitleriyle birlikte obezitenin patogeneğinde önemli rolü olduğu gösterilmiştir [Paul, 2003]. IL-6' nın kardiyovasküler vakalarla ilişkili olduğu ihtimalini akla getiren birçok çalışma mevcuttur. Yapılan bir araştırmada IL-6' nın kararsız anjina pektorisli hastalarda artmış mortalitenin kuvvetli bir üreticisi olduğu gösterilmiştir [Paul, 2003]. Diğer bir prospektif incelemede 40 ve 84 yaş arasındaki sağlıklı olgularda, yüksek IL-6

seviyelerinin kardiyovasküler mortalite ile ilişkili olduğu bulunmuştur [Harris ve ark, 1999], IL-6' nın yüksek düzeyleri, aterosklerotik plak gelişimi ve rüptürü üzerine olan etkilerinden bağımsız olarak, tromboza artmış yatkınlığa işaret etmektedir. CRP ile ilişkili bulunmakla birlikte, IL-6 gelecekteki kardiyovasküler olaylar için bağımsız bir belirleyici olarak kabul edilmektedir.

2.5. Flavonoidler ve Etki Mekanizmaları

Bitki kimyasalları birincil ve ikincil metabolitler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Birincil metabolitler, yüksek bitkilerin tohum ile vejetatif dokularında oldukça fazla bulunmaktadır [Cowan, 1999; Theis ve Lerda, 2003] ve hücre metabolizmasındaki temel görevlerinden dolayı, bitkinin fizyolojik gelişimi için lüzumludur. Amino asitler (glutamik asit, aspartik asit), organik asitler (asetik asit, laktik asit), alkol (etanol), nükleotidler, vitaminler (B2), fruktoz, birincil metabolitlere örnek olarak verilebilir. İkincil metabolitler ise bitkilerin; savunmak, korunmak, ortama uyum sağlamak, hayatta kalmak ve nesillerini sürdürmek gibi hususlar için geliştirilen oldukça karmaşık mekanizmaların ürünleridir. Bitkiler aleminde geniş bir dağılım gösteren ve en çok rastlanan ikincil metabolitler fenoliklerdir. Fenolikler bir ya da daha çok hidroksil grubu ile aromatik halkaları barındıran bileşiklerdir. Bitki fenolikleri fenolik asit, flavonoid ve tanen içerir. Bu fenolikler hem ultraviyole radyasyon gibi çevre etmenlerinin oluşturduğu stres koşullarına karşı, hem parazitlere (böcek vb.), patojenlere (bakteri, mantar vb.) karşı korunmada hem de bitki katkı maddesi olarak kullanılır. Fenolikler bitkisel besinlerin (meyve, sebze, tahıl, baklagiller, çikolata vb.) ve içeceklerin (çay, kahve, bira, şarap vb.) genel bileşenleridir. Örneğin antosiyaninler flavonoid olarak bilinen bitki polifenollerinin altı alt grubundan birisi olup çilek, elma, pancar, soğan gibi birçok meyve ve sebzelerin turuncu, mavi, kırmızı ve mor renklerinden sorumludur. Bu fenolikler aynı zamanda oksijen ile reaksiyona girerek şarabın muhafazası, olgunlaşması ve yıllanmasında da kritik bir öneme sahiptir. Sekonder metabolitler günümüzde başta ilaç sanayisinin hammaddesi olup kozmetik, zirai ilaç sanayisi ve kimya sektöründe kullanılmaktadır. Araştırmacılar ve gıda üreticileri için bitkilerdeki fenolik

bileşiklerin güçlü antioksidant özellikleri ve oksidatif strese bağlı rahatsızlıkların önlemedeki etkileri ilgi çekici olmuştur [Manach ve ark, 2004].

Flavonoidler 4000'den fazla polifenolik bileşiği barındıran ve bitkisel kaynaklı besinlerde doğal olarak bulunan bir gruptur. Bu bileşikler ortak bir fenilbenzopiron yapısına (C6-C3-C6) sahiptirler ve doymuşluk düzeyi ve merkez piran halkasının açılışına göre flavonlar, flavanoller, izoflavonlar, flavonoller ve flavanonol olarak kategorize edilebilirler. Flavonoidler muhtemelen bitkiler aleminde bir milyar yıldır bulunmaktadır. Tüm besin olarak kullanılan bitkilerde yani sebze ve meyvelerde bulunmaktadır. Bir insan günde tahmini olarak bir kaç yüz miligram flavonoid tüketir [Ren ve ark, 2003].

Flavonoidler serbest radikal yakalayıcısı olmaları, enzim aktivitelerini düzenlemeleri, hücre çoğalmasını inhibe etmeleri, antibiyotik, antiallerjen, antidiyaretik, antiülser ve antiinflamatuvar ilaç gibi hareket etmeleri dolayısı ile araştırmacıların ilgisini çekmektedir [Coşkun, 2005].

Hawai'de 582 kişi üzerinde yapılan popülasyon bazlı vaka-kontrol çalışmasında elma ve soğan tüketimi ile akciğer kanseri arasında ters bir ilişki belirlenmiştir. Soğan tüketimi ile plazmada yüksek Quercetin düzeyi ile, lenfosit DNA'sında kırılma direncinin arttırdığı ve idrardaki oksidatif metabolitlerin azaldığı gösterilmiştir. Elma ekstraktları in vitro'da tümör hücre çoğalmasını baskılamaktadır. Ayrıca kabuklu elmanın kabuksuz elmaya oranla daha yüksek bir yüzde ile tümör gelişimini baskıladığı bildirilmiştir [Le Marchand ve ark, 2000].

Flavonoidlere ilişkin epidemiyolojik veriler incelendiğinde yüksek miktarda flavonoid alımı ile düşük kanser riskinin korelasyon gösterdiği göze çarpmaktadır. Şangay'da 1996-1998 yılları arasında yapılmış olan 250 meme kanserli hastada ve eşlenmiş kontrollerinden alınan üriner ekskresyonlarında toplam flavonoid miktarları karşılaştırılmış ve kanserli hastaların idrar örneklerinde daha az miktarda flavonoid saptanmıştır [Dai ve ark, 2002]. Bu çalışma güçlü bir şekilde flavonoidlerin meme kanserinden korunmadaki potansiyel rolünü ortaya koymaktadır.

Başka bir çalışmada 9.959 Finli erkek ve kadın 15-99 yaşları arasında ve başlangıçta kanser olmayan kişiler üzerinde yapılan bir araştırmada flavonoid tüketimi ve kanser sıklığı arasında zıt bir ilişki olduğunu ortaya konmuştur. Yüksek oranda Quercetin alımının akciğer kanseri riskini azalttığı ortaya çıkmıştır. Bu da flavonoidlerin kansere karşı koruyucu özellikte olduğunu desteklemektedir [Knekt ve ark, 1997, 2002].

Flavonoidlerle yürütülen in vitro çalışmalara baktığımızda; HL-60 akut myeloid lösemi kanser hücre hattında denenmiş olan 28 flavonoidten 8 tanesi etki göstermiştir, bunların içinden ise Genistein en yüksek etkiyi göstermiştir [Hirano ve ark, 1994]. Caco-2 ve HT-29 kolon kanser hücre hattında denenmiş olan 30 flavonoidten çoğu antiproliferatif etki göstermiş ve sitotoksik bir etkiye de yol açmamıştır [Kuntz ve ark, 1999].

In vivo çalışmalardaki örneklerle bakarsak; yüksek miktarlarda Genistein ve Daidzein içeren fermente soya sütü verilen 7 haftalık farelerde PhIP indüklü meme kanseri baskılanmıştır. Diyetle alınan Quercetin, DMBA indüklü meme kanserini inhibe etmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar yüksek miktarda flavonoid alımının insanlarda düşük kanser prevalansı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Karsinogen inaktivasyonu, antiproliferasyon, hücre döngüsünün askıya alınması, apoptozis ve farklılaşmanın indüksiyonu, anjiyogenezin baskılanması, antioksidasyon ve çoklu ilaç direncinin azaltılması ya da tüm bu mekanizmaların kombinasyonu flavonoidlerin kansere karşı etki mekanizmalarını oluşturur. [Ohta ve ark, 2000; Verma ve ark, 1988].

Hücre kültürleri ve hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalarda flavonoidlerin insan sağlığını olumlu etkilediği ve bazı kronik hastalıkların oluşma riskini azalttığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Flavonoidlerin kalp-damar hastalıkları, kanser, nöron dejenerasyon hastalıkları, diyabet, osteoporoz gibi hastalıkların üzerinde olumlu etkilerinin yanı sıra antibakteriyel, antikarsinogen, antiinflamatuvar, diüretik ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerinin olduğu öne sürülmektedir. Yapılan

gözlem çalışmaları flavonoid ve flavonoid-zengin besinlerin alınmasının bazı özel durumlarda ve bazı akut ve kısa süreli klinik müdahalelerde flavonoidlerin kronik hastalıkların tahmin edilen ara biyomarkerlarını etkileyebildikleri gözlenmiştir. [Milbury ve Richer, 2008].

2.5.1. Kanser ile ilişkisi olan bazı flavonoidler

Quercetin bir flavonoid olarak elma, soğan ve üzüm gibi ürünlerde bulunmaktadır ve antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir [Zern ve ark, 2005; Mattivi ve ark, 2006]. Yapılan çalışmalarda quercetin ve kolon kanser hücre ile ilişkisi araştırılmıştır ve quercetin'nin bu kanser hücrelere etkisi olduğu belirlenmiştir. Her gün % 2 Quercetin içeren gıdaların kullanımı önemli seviyede kolorektal kansere yakalanmasını düşürmektedir [Shan ve ark, 2009]. Kaempferol özellikle yapraklı sebzeler, elma, soğan ve çilek ve en bol Gıdalarda bulunan flavonoidlerden biri sayılmaktadır [Theodoratou ve ark, 2007]. Luteolin ve rutin bazı sebzelerde düşük miktarlarda bulunmaktadır farklı kanser hücrelerinde antikanser etkisi olduğu tespit edilmiştir [Theodoratou ve ark, 2007]. Apigenin ve biochanin bazı sebzelerde düşük miktarlarda bulunmaktadır [Theodoratou ve ark, 2007]. Elma, fasulye, brokoli, üzüm, baharat, maydanoz, domates, çay da bulunmakta olup mide ve kalın barsak kanserli hastalarda kemoterapi sonuçlarını iyileştiriyor [Sagar ve ark, 2005; Kwon ve ark, 2007; Khan ve ark, 2009]. Catechin flavonoid yeşil çay, siyah çay, üzüm, elma, çikolata ve kırmızı şarap da bulunmaktadır ve kolorektal kanser ile ilişkisi olduğu araştırılmaktadır [Theodoratou ve ark, 2007]. Araştırmalara göre bu flavonoidlerin farklı kanser hücrelerinde (meme, akciğer, mide, prostat, mesane ve kolorektal kanser) etkili olduğu ve bir antikanser ajan olarak kullanılması mümkün olacaktır [Arts ve ark, 2005; Knekt ve ark, 2002; Garcia-Closas ve ark, 1998; Hirvonen ve ark, 2001; De Stefani ve ark, 1999; Le ve ark, 2000].

Biyoteknolojik olarak bitkiler kanserin birçok formunun tedavisi için kullanılan ve yüksek oranda etki gösteren geleneksel ilaçların birincil kaynağıdır. Antikanser terapisi için kullanılan birçok ajan bitki ve mikroorganizmalardan türevlenir. Bitkisel kaynaklı terapötik ajanlar birçok hastalığın tedavisinde ve hastalıklardan korunmada

kullanılmaktadır. Türkiye, coğrafi konumu itibarı ile çok fazla sayıda endemik bitki türüne ev sahipliği yapmakta ve hala yeni türler keşfedilmektedir.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Bu tez kapsamında bitki materyali olarak Türkiye’de yetişen yaygın bitkiler olan *Ormoscadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium origanifolium* ve endemik bitkiler olan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina* kullanılmıştır. Materyal olarak kullanılan tüm örnekler Gazi Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Zeki Aytaç ve Prof. Dr. Hayri Duman tarafından teşhis edilmiştir. Materyaller 2010-2011 yaz döneminde toplanmıştır. Tez kapsamında kullanılan bitkiler, lokaliteleri ve toplanma zamanları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Tez kapsamında bitkilerin toprak üstünde kalan kısımları çalışılmıştır.

Çizelge 3.1. Tez kapsamında kullanılan bitkiler, lokaliteleri, toplanma yılları

Bitki ismi	Lokalise	Toplama yılı
<i>Prangos platychloena</i>	Erzurum; İspir, Karahanlı, kömür işletmesi Erzincan;Kemalye, sırakonaklar köyü üstü	2010
<i>Ormosciadium aucheri</i>	Erzincan; Kemah-İliç arası	2010
<i>Stachys obliqua</i>	Kazdağı çeyizdere Mevkii karaçam Orman açıklığı	2010
<i>Veronica lycica</i>	Antalya; Elmalı Sinekçi Beli	2011
<i>Cyclotrichium origanifolium</i>	Afyon; çay-sultandağı Niğde; çamardı	2010
<i>Ajuga bombycina</i>	Antalya; Kaş Bayındır Koyu	2011

3.2. Metot

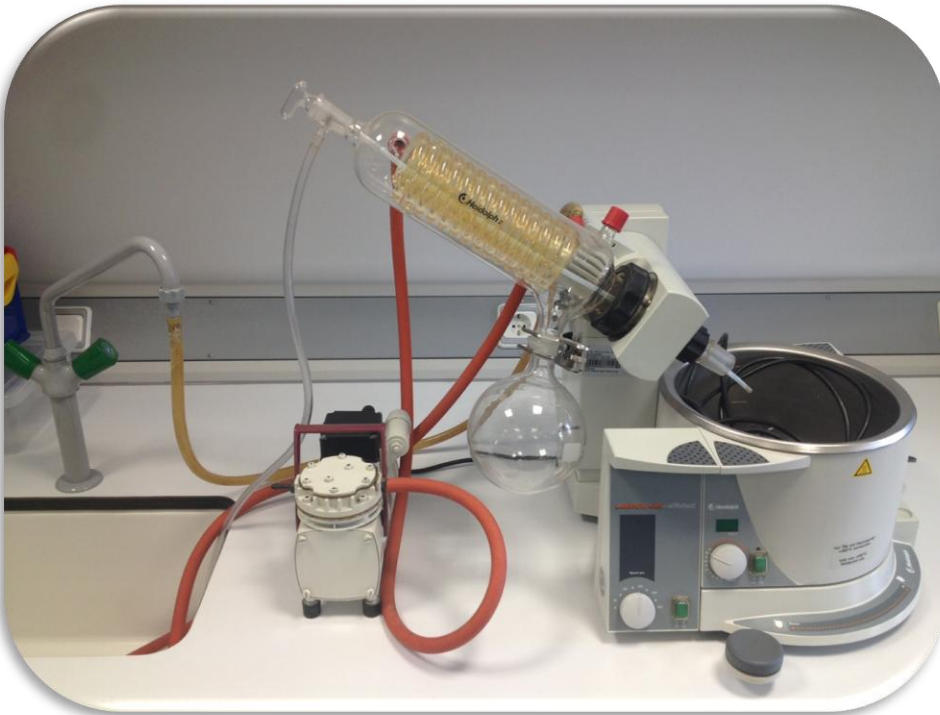
3.2.1. Bitki ekstraktlarının elde edilmesi

30 gram öğütölmüş bitki örneğı (toprak üstünde kalan kısımları) metanol veya su çözücüler (300 ml) ile soxhlet cihazı (Resim 3.1) kullanılarak (yaklaşık 4-6 saat) kaynatılmıştır. Elde edilen sıvı kısım filtreden geçirilerek , çözücüler düşük basınçla rotary evaporatörde (Laborota 4000, Heidolph Instruments GmbH, Schwabach, Germany), (Resim 3.2) uzaklaştırılmıştır. Çözücü ekstraksiyonu için ayrı ayrı; metanol ve su çözücülerini kullanılmıştır . Elde edilen ekstraktlar kullanıncaya kadar

+4°C' de muhafaza edilmiştir.



Resim 3.1. Soxhlet cihazı



Resim 3.2. Evaporator cihazı

3.2.2. Araştırmada kullanılan hücre hatları

Çalışmada kullanılan kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı (Caco-2) ŞAP Enstitüsünden, kolorektal kanser hücre hattı (CCL-221) ve kontrol amaçlı olarak sağlıklı hücre hattı insan gingival fibroblast (HGF-1) ise Gazi Üniversitesi Moleküler Biyoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (MOBAM) temin edilmiştir. Hücre çalışmaları Gazi Üniversitesi Moleküler Biyoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır.

3.3. Hücrelerin Geliştirilmesi İçin Kullanılan Besiortamları ve Gelişme Şartları

3.3.1. CCL-221 (DLD-1) Kolorektal kanser hücre hattı

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içersine % 10 fetal bovine serum, % 1 L-Glutamin ve % 1 antibiyotik katılarak, hazırlanan medium içersine alınan hücreler T-25 flasklara 2×10^5 hücre yoğunluğunda alınmış ve 37°C 'de % 5 karbondioksitli inkübatörde geliştirilmiştir. Gün aşırı mediumları değiştirilmiştir. % 80 gelişim gösterdiğinde hücreler, Tripsin-EDTA ile kaldırılarak, 96'lık mikro platlere her kuyuda 1×10^4 hücre yoğunluğu olacak şekilde pasajlanmıştır. Hücreler 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat inkübasyona bırakılan hücreler uygulamalar için hazırlanmıştır [Morita ve ark, 2002; Wang ve ark, 2010].

3.3.2. Caco-2 (HTB-37) Kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içersine % 20 fetal bovine serum, % 1 L-Glutamin ve % 1 antibiyotik katılmış, medium içersine alınan hücreler, T-25 flasklara 2×10^5 hücre yoğunluğunda alınmış ve 37°C 'de % 5 karbondioksitli inkübatörde geliştirilmiştir. Gün aşırı mediumları değiştirilmiştir. % 80 gelişim gösterdiğinde hücreler Tripsin-EDTA ile kaldırılarak, 96'lık mikro platlere her kuyuda 1×10^4 hücre yoğunluğu olacak şekilde pasajlanmıştır. Hücreler 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat inkübasyona bırakılan hücreler uygulamalar için hazırlanmıştır [Morita ve ark, 2002; Wang ve ark, 2010].

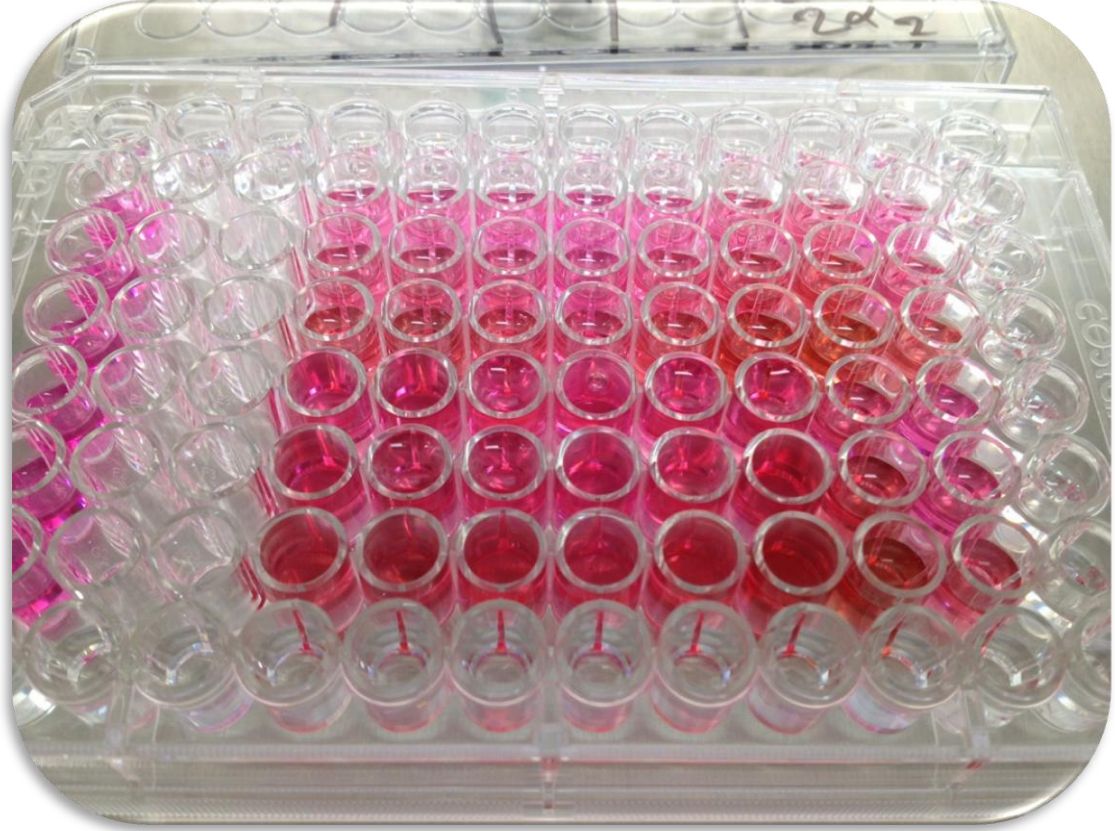
3.3.3. HGF-1 (CRL-2014) İnsan gingival fibroblast

Bu hücre çalışmalarda, sağlıklı fibroblast hücresi kontrol olarak kullanılmıştır. Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içerisine % 10 fetal bovine serum, % 1 penisilin/streptomisin antibiyotik ve L-glutamin, gerekirse içerisine % 40 MCDB 201 medium katılarak hazırlanan medium ile flasklarda, 37 °C'de % 5 CO₂ içeren nemlendirilmiş inkübatörde geliştirilmiştir. Hücreler gelişimini tamamlayana kadar iki günde bir hücrelerin mediumu değiştirilmiştir. Yapılacak olan sitotoksiste çalışması için hücreler % 80 gelişince Trypsin-EDTA ile kaldırılarak, 96 mikro platlere aktarılmıştır. Gün aşırı mediumları değiştirilmiştir. Hücreler 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat inkübasyona bırakılan hücreler uygulamalar için hazırlanmıştır [Morita ve ark, 2002].

3.4. Bitki Ekstraktlarının Antiproliferatif Etkilerinin Belirlenmesi

Bitkilerin antiproliferatif yeteneklerinin belirlenmesinde tripan mavisi ile boyama yöntemi kullanılmıştır (Resim 3.3). Yöntem hücrelerin tripan mavisi ile muamele edildiğinde ölü hücrelerin maviye boyanması esasına dayanmaktadır. Metot ölü hücrelerin boyanmasını hedef almaktadır. Bu yöntemle bitki ekstraktlarının Caco-2 ve CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. % 80 - 90 yayılma gösteren hücreler tripsin/EDTA ile kaldırılarak sayımları yapılmış ve her kuyuda 2×10^4 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu mikro plakalara alınıp gelişmeye bırakılmıştır. Hücreler yayılma gösterdikten sonra bitkilerin etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için , bitkilerin metanol ve su ekstraktlarının 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 µg/ml konsantrasyonları'nda hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonlar hücrenin geliştiği ortamda DMEM'de 1:1 oranında çözülmüştür, sonra 10 paralel olarak hücre kültürü ortamına eklenmiş ve 72 saat 37 °C'de % 5 CO₂'li ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kuyulara 50 µl % 0,4 tripan mavisi çözeltisi eklenmiş ve 15 dk 37 °C'de % 5 CO₂'li ortamda inkübe edilerek, ölü hücrelerin boyanması sağlanmıştır. Fazla boya soğuk PBS ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Hücreler 200 µl % 10 SDS ile lizis edilerek, 590 nm dalga boyunda EPOCH mikroparka okuyucuda (BIOTEK) analiz edilmiştir. DMEM ile

muamele edilmiş hücreler, kontrol grubu olarak % 100 canlı olarak kabul edilmiş ve sonuçlar bu hesaplamalar üzerinden yapılarak yüzde (%) ölüm olarak verilmiştir [Peres ve ark, 2009; Shaikh ve ark, 2009]. Kontrol grubu üzerinde hesaplamalar yapılmış ve bu ölüm oranına göre deneylerin % ölüm oranı elde edilmiştir.



Resim 3.3. Bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda sitotoksite çalışması

3.4.1. Bitki ekstraktlarının fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi

Sağlıklı fibroblast hücreye, ekstraktların sitotoksik etkisinin belirlenmesi için ve ayrıca kontrol olarak değerlendirilmiştir. 96 kuyulu mikrolaklarda 2×10^4 hücre/kuyu olarak geliştirilen sağlıklı insan gingival fibroblast (HGF-1) hücrelerine bitkilerin metanol ve su ekstraktlarının 10-1000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonları eklenmiş ve 72 saat 37°C 'de % 5 CO_2 'li ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Tripan mavisi çıkarımı yöntemi ile ölü hücre sayısı hesaplanmıştır [Peres ve ark, 2009].

3.5. Bitki Ekstraktlarının Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

Caco-2 ve CCL-221 hücreleri 96 kuyulu mikrolaklarda 2×10^4 hücre/kuyu olacak şekilde kültür edilmiştir. Tam yayılma gözlemlendikten sonra kültürler PBS ile yıkanmış ve yeni DMEM ile birlikte 2 ng/ml TNF-alfa (BIOSOURCE) eklenerek hücrelerin IL-6 ve IL-8 sitokinlerini salınımları uyarılmıştır, bu çalışmada IL-6 ve IL-8 ELISA kitleri kullanılmıştır (INVITROGEN). Süre sonunda bitkilerin 250-500-1000 µg/ml konsantrasyonlarındaki metanol ve su ekstraktları ortama eklenerek 24 saat 37 °C'de % 5 CO₂'li ortamda beklenmiştir . 24 saat inkübe edildikten sonra kültür ortamları toplanarak IL-6 ve IL-8 sitokin seviyesi ölçülene kadar -80 °C'de bekletilmiştir. IL-6 ve IL-8 sitokin seviyesi, ELISA kit (INVITROGEN) yöntemi ile 450 nm de ELISA okuyucuda (ELx800 BIOTEK Inst Inc) okunarak belirlenmiştir [Bai ve ark, 2004; Lammers ve ark, 2002].



Resim 3.4. IL-6 ve IL-8 uygulamasında renk değişimi



Resim 3.5. IL-6 ve IL-8 uygulamasında renk değişim

3.6. HPLC Analizi

Ekstraktların hazırlanması

10 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktlar 0,45 μ membran filtreden süzölmüş ve HPLC analizi için viyallere aktarılmıştır.

Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

10 ml'lik balon joje içinde 10 mg klorojenik asit ve rutin 15 dakika boyunca metanol (% 70 h/h) ile ultrasonik banyoda çözülmüş ve hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiliden 4 ml 100 ml'lik balon joje'ye alınıp hacim yine metanol (% 70 h/h) ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltilisi HPLC analizi için viyallere aktarılmıştır.

Analiz yöntemi

Analiz için Agilent 1200 Series HPLC sistemi ve AGILENT ECLIPSE XDB-C18 (150 x 4.6mm, 5 μ m partiköl büyüklüğü) tipi kolon kullanılmıştır. Miktar tayini için Avrupa Farmakopesi'nde açıklanmış olan HPLC analiz yöntemi seçilmiştir.

HPLC şartları

Hareketli faz 40 mM Formik asit çözeltisi (Hareketli faz A) ve Asetonitril (Hareketli faz B) akış hızı 1 ml/dk. ve akış tipi gradient elüsyon olarak belirlenmiştir. Enjeksiyon hacmi ise 10 µl'dir. Diyod Array Dedektör (DAD) ile 330 nm dalga boyunda çalışılmıştır.

3.7. İstatiksel Analizler

Antiproliferatif çalışması 5 paralelli ve antiinflamatuvar çalışması 2 paralelli olacak şekilde 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler bu tekrarların ortalaması $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. İstatistiksel analizler, SPSS 16.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) programı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) post host Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Pearson korelasyon analiz testi ile antiproliferatif ve antiinflamatuvar etki çalışmaları arasında ve flavonoid içeriği ile antiinflamatuvar ve antiproliferatif etki oranları karşılaştırılmış ve korelasyon olup olmadığı incelenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bitki Ekstraktların Verimleri

Türkiye’de yetişen yaygın bitkiler olan *Ormoscadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium organifolium* ve endemik bitkiler olan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina* toprak üstünde kalan kısımlarının metanol ve su ile ayrı ayrı elde edilen ekstrakt verimleri Çizelge 4.1.’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Bitki ekstraktların verimleri (% w/w), (Eks.: Ekstraktlar, *P.p*: *Prangosplatychloena*, *O.a*: *Ormosciadium aucheri*, *S.o*: *Stachys oblique*, *V.l*: *Veronica lycica*, *C.o*: *Cyclotrichium organifolium*, *A.b*: *Ajuga bombycina*)

Bitkiler Eks.	<i>P.p</i>	<i>O.a</i>	<i>S.o</i>	<i>V.l</i>	<i>C.o</i>	<i>A.b</i>
Metanol	26,91	12,47	19,26	27,83	13,11	16,92
Su	34,27	21,58	28,36	36,71	24,12	27,29

Bitkilerden elde edilen ekstrakta göre yüzde verimleri karşılaştırıldığında, su ile elde edilen ekstraktların veriminin metanola göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bitki türlerin içinde en yüksek verim *P. platychloena* (% 34,27) ve *V. lycica* (% 36,71) bitkilerinin su ekstraktlarında, en düşük verim ise *O. aucheri* (% 12,47), *C. organifolium* (% 13,11) bitkilerinin metanol ekstraktlarında tespit edilmiştir.

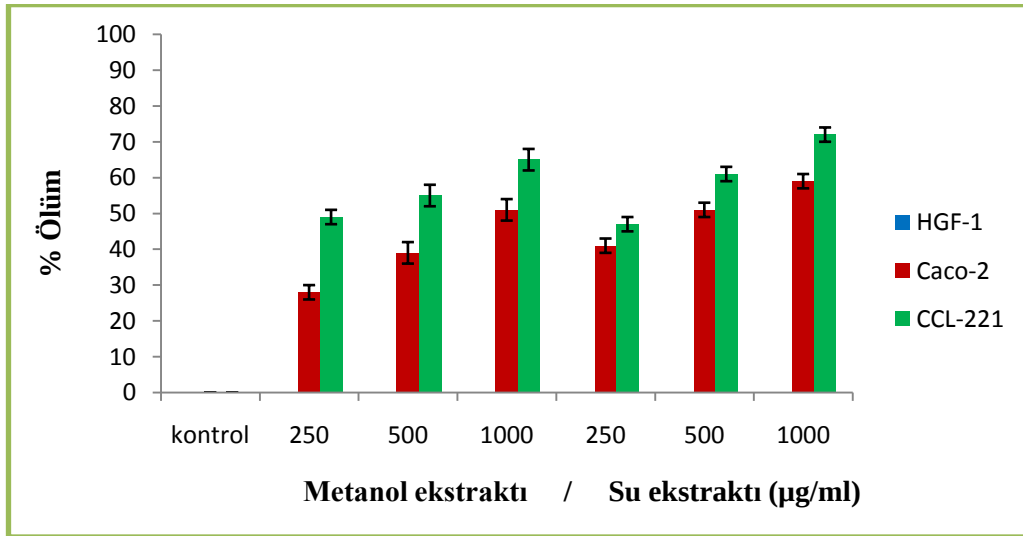
4.2. Bitkilerin Antiproliferatif Etkisinin Araştırılması

4.2.1. Bitkilerin Caco-2 ve CCL-221 Hücreleri Üzerinde Antiproliferatif Etkisinin Araştırılması

Çalışmada tüm bitki ekstraktlarının antiproliferatif aktivite sitotoksik etki esas alınarak belirlenmiştir. Çalışmada bitkilerin 2 farklı çözücünde metanol ve su

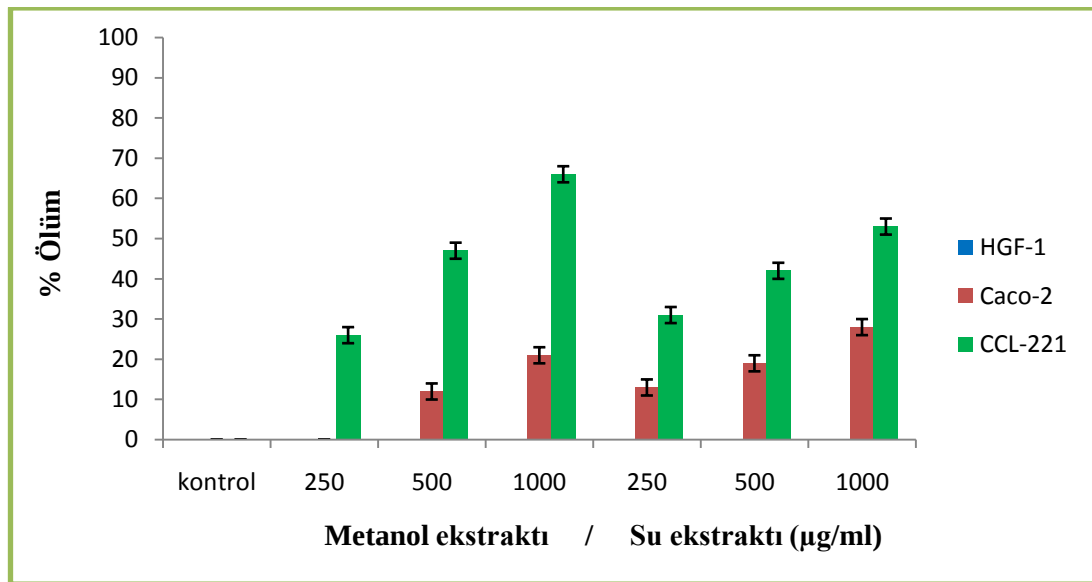
ekstraktların 10-1000 µg/ml konsantrasyon olarak kullanılmıştır . Her iki hücre hattında da bitki konsantrasyonu arttıkça antiproliferatif etkinin arttığı belirlenmiştir.

Tüm bitkilerin bitki ekstraktlarının 10-100 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarında kanser hücre hatlarında (Caco-2 ve CCL-221) hiçbir antiproliferatif etki göstermediği tespit edilmiştir. Antiproliferatif etki belirlenmeyen konsantrasyonlar grafiklerde gösterilmemiştir. Ekstraktların sağlıklı hücre hatları üzerine sitotoksik etkisi bilinmelidir. Bu bitkilerin kullanılabilmesi için sağlıklı hücrelere sitotoksik etkisinin olmaması önemlidir. Bu sebeple kontrol olarak bitkilerimizi sağlıklı fibroblast hücre hattı ile muamele ederek sitotoksik etkisinede bakılmıştır. Sağlıklı hücre olarak kullanılan fibroblast hücrelerine (HGF-1) *Prangos platychloena*, *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Veronica lycica*, *Cyclotrichium origanifolium* ve *Ajuga bombycina* ekstraktlarının denenen tüm konsantrasyonlarının da sitotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Aynı zamanda kontrol olarak, hücrenin geliştiği ortam (DMEM) kullanılmıştır. Kontrol grubunda sadece hücre bulunmaktadır ve bitki ekstraktları yer almamaktadır. Hücre ölümleri yüzdesi ekstrakt uygulanmamış hücrelerin ölümü esas alınarak hesaplanmıştır. Antiproliferatif çalışması 5 paralelli olacak şekilde 2 tekrarlı olarak yapılmıştır.



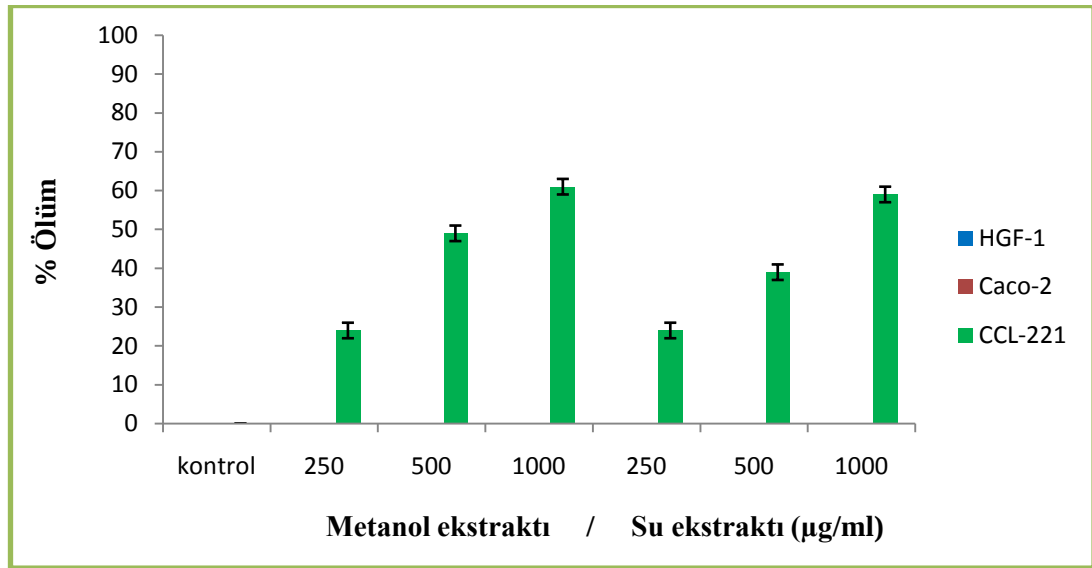
Şekil 4.1. *P. platychloena* bitkisi ekstraktlarının HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi

Tüm bitki ekstraktlarının 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarında her iki kanser hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. *P. platychoena* bitkisinin konsantrasyonu arttırıldıkça, konsantrasyon artışına bağlı olarak % ölüm oranı da artmıştır. Su ekstraktı metanol ekstraktına göre daha yüksek oranda öldürücü etkisi olduğu dikkat çekmiştir. Aynı zamanda sağlıklı fibroblast hücrelerine (HGF-1) sitotoksik etki göstermemiştir. Caco-2 hücre hattında ise CCL-221 hücre hattına göre % ölüm oranının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. *P. platychoena* su ekstraktının en yüksek antiproliferatif etki gösterdiği 1000 µg/ml konsantrasyonun da CCL-221 hücrelerinde % 72 ölüm, Caco-2 kanser hücrelerinde de % 59 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



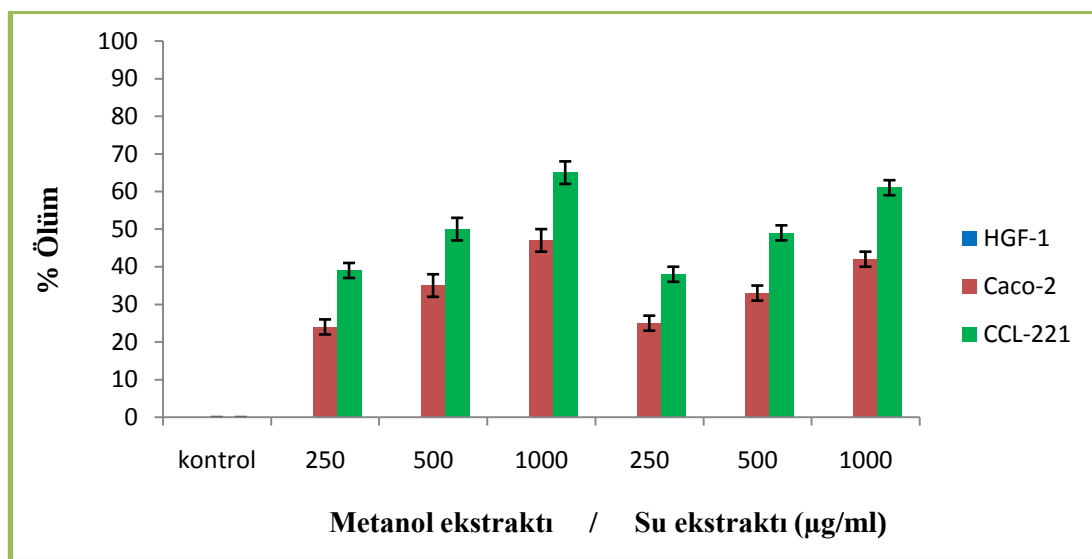
Şekil 4.2. *Ormoscadium aucheri* bitkisi ekstraktlarının HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi

O. aucheri bitkisinin Su ekstraktı Caco-2 hücrelerinde, metanol ekstraktı ise CCL-221 hücre hattında daha yüksek ölüm etkisi göstermiştir. *O. aucheri* metanol ekstraktında en yüksek hücre ölümünü % 66 olarak CCL-221 hücre hattında tespit edilmiştir. Bu bitkinin her iki ekstraktı da, *O. aucheri* bitkisinin ekstraktına göre, Caco-2’yi çok zayıf oranda sitotoksik etki göstermiştir. Sonuçlar Şekil 4.2’de verilmiştir.



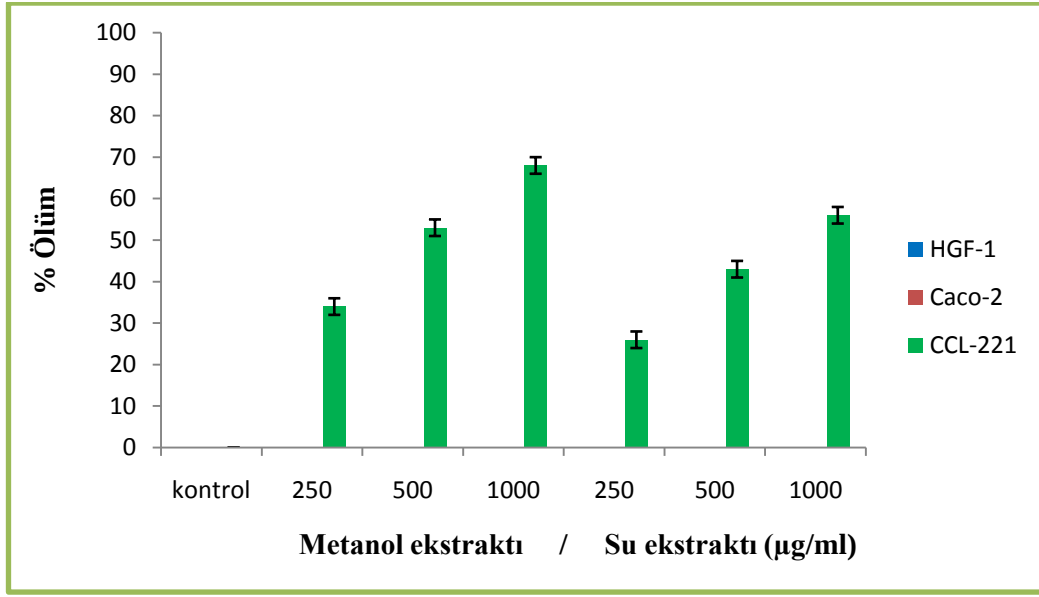
Şekil 4.3. *S. oblique* bitkisi ekstraktlarının HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatlarını üzerindeki antiproliferatif etkisi

S. oblique bitkisinin metanol ve su ekstraktı CCL-221 hücrelerinde yüksek ölüm etki gösterirken, Caco-2 kanser hücre hattında hiç bir etki göstermediği belirlenmiştir. Bu bitkinin 1000 µg/ml konsantrasyondaki metanol ve su ekstraktlarının yakın sonuç gösterdiği, metanol ekstraktı ile CCL-221 kanser hücrelerini % 61, su ekstraktı ile de % 59 oranında ölüme sebep olduğu belirlenmiştir, Sonuçlar Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



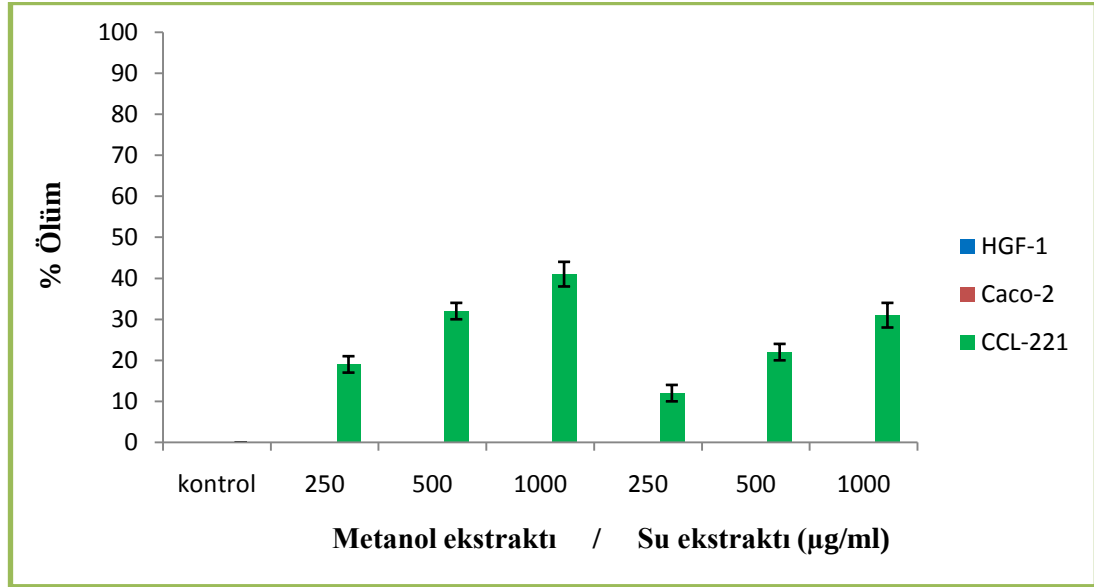
Şekil 4.4. *Veronica lycica* bitkisi ekstraktlarının HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatlarını üzerindeki antiproliferatif etkisi

V. lycica bitkisinin her iki ekstraktında CCL-221 hücre hattında, Caco-2 kanser hücresine göre daha yüksek oranda ölüm tespit edilmiştir. Caco-2 hücresinde de su ekstraktı 1000 µg/ml’de % 42, metanol ekstraktı ise % 47 ölüme sebep olmuştur (Şekil 4.4). *V. lycica* bitkisinin 1000 µg/ml konsantrasyondaki su ekstraktı, CCL-221 hücresinde % 61 oranında öldürürken, metanol ekstraktında bu oran % 65 olarak tespit edilmiştir, Sonuçlar Şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.5. *Cyclotrichium origanifolium* bitkisi ekstraktlarının HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi

C. origanifolium bitkisinin metanol ve su ekstraktı CCL-221 hücresinde yüksek ölüm etki gösterirken, Caco-2 kanser hücre hattında hiçbir etki göstermediği belirlenmiştir. Bu bitkinin 1000 µg/ml konsantrasyondaki metanol ekstraktı, CCL-221 kanser hücre hattında metanol ekstraktı % 68, su ekstraktı ise % 56, oranında hücreleri öldürdüğü tespit edilmiştir, Sonuçlar Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. *Ajuga bombycina* bitkisi ekstraktlarının HGF-1, Caco-2, CCL-221 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisi

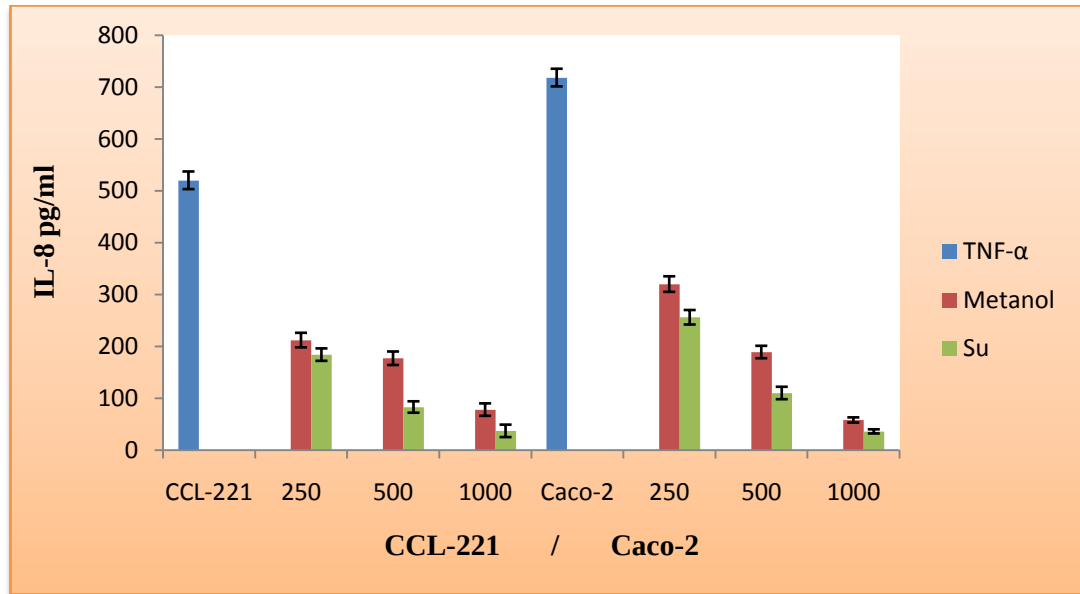
Ajuga bombycina bitkisinin metanol ve su ekstraktı CCL-221 hücrelerinde ölüm etkisi gösterirken, Caco-2 kanser hücre hattında hiçbir etki göstermediği belirlenmiştir. Bu bitkinin 1000 µg/ml konsantrasyondaki metanol ekstraktı, CCL-221 kanser hücre hattında metanol ekstraktı %41, su ekstraktı ise %31, oranında hücreleri öldürdüğü tespit edilmiştir, Sonuçlar Şekil 4.6'de verilmiştir.

Sonuç olarak; her iki hücre hattında da bitki konsantrasyonu arttıkça antiproliferatif etkinin arttığı belirlenmiştir. En yüksek antiproliferatif etkiyi *Prangos platychoena* bitkisinin su ekstraktı % 72 oranla CCL-221 hücrelerinde, % 59 olan oranı ile de Caco-2 kanser hücrelerinde göstermiştir. Tüm bitki ekstraktlarında genel olarak su ekstraktı, metanol ekstraktına göre daha yüksek etki göstermiştir. Sağlıklı hücre olarak kullanılan fibroblast hücrelerine (HGF-1) *Prangos platychoena*, *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Veronica lycica*, *Cyclotrichium origanifolium* ve *Ajuga bombycina* ekstraktlarının denen tüm konsantrasyonlarının da sitotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Genel olarak Caco-2 hücre hattında ise CCL-221 hücre hattına göre % ölüm oranının daha düşük olduğu tespit edilmiş, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium origanifolium*, *Ajuga bombycina* bitkilerinin Caco-2 kanser hücrelerine hiçbir antiproliferatif etkisi olmadığı görülmüştür ve bitki ekstraktlarının farklı

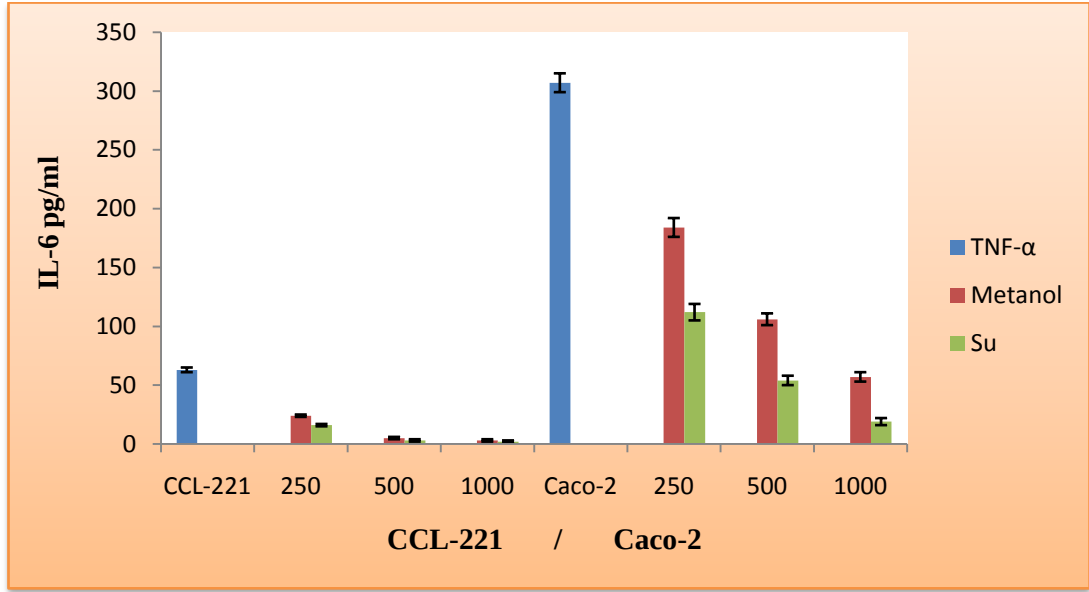
kanserlerde daha etkin ve yaygın olması nedeniyle, kanser ajani olarak kullanımı mümkün olabilecektir. Sağlıklı hücrede sitotoksik etkinin düşük, kanser hücrelerinde antikanserojenik etkinin ise yüksek olması antikanser ajan olarak kullanımında tercih edilmesi için önemli bir özelliktir.

4.3. Bitkilerin Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

Çalışmada Caco -2 ve CCL-221 hücrelerinde TNF- α uygulaması ile (2ng/ml) inflamasyon ortamı yaratılmış ve hücreler tarafından IL-6 ve IL -8 sitokininin salgılanması sağlanmıştır . Çalışmada TNF- α ile uyarılmamış Caco-2 ve CCL-221 hücrelerinde IL-6 ve IL-8 salınımı tespit edilmemiştir. Bitkilerin TNF- α ile uyarılmamış hücrelere uygulandığında IL-6 ve IL-8 salınımı indüklediği ve inflamasyona neden olmadığı belirlenmiştir. Bitki ekstraktları farklı konsantrasyonlarda (250, 500, 1000 μ g/ml) ilavesi ile IL-6 ve IL -8 seviyesinin konsantrasyona bağımlı olarak baskılandığı gözlenmiştir . En yüksek baskılama tüm hücrelerde ve her iki sitokin bakımından 1000 μ g/ml’lik bitki ekstraktlarında gözlenmiştir.

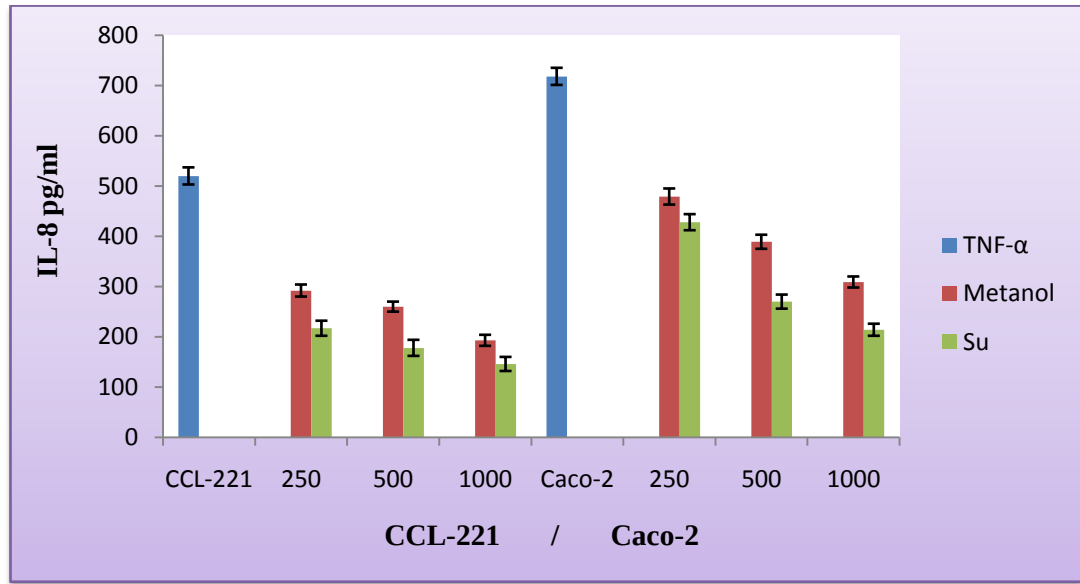


Şekil 4.7. *Prangos platychloena* bitkisinin 250-1000 μ g/ml konsantrasyonlarında, TNF- α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi

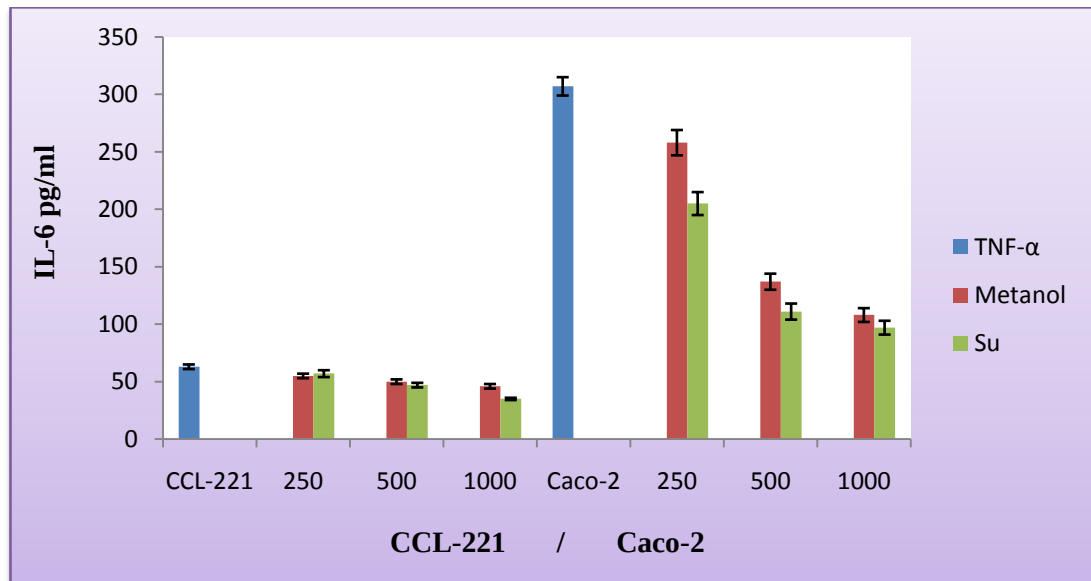


Şekil 4.8. *Prangos platychloena* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF- α ile uyarılmış CCL -221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi

TNF- α ile IL-6 ve IL-8 uyarımları Caco-2 hücrelerinde CCL-221'e göre daha fazla olmuştur. *Prangos platychloena* 1000 µg/ml su ekstraktı TNF- α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 37 pg/ml'ye 15 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 718 pg/ml'den 36 pg/ml'ye 20 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.7'de gösterilmiştir. *Prangos platychloena* 1000 µg/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 2 pg/ml'ye 32 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 19 pg/ml'ye 16 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.8'de verilmiştir.



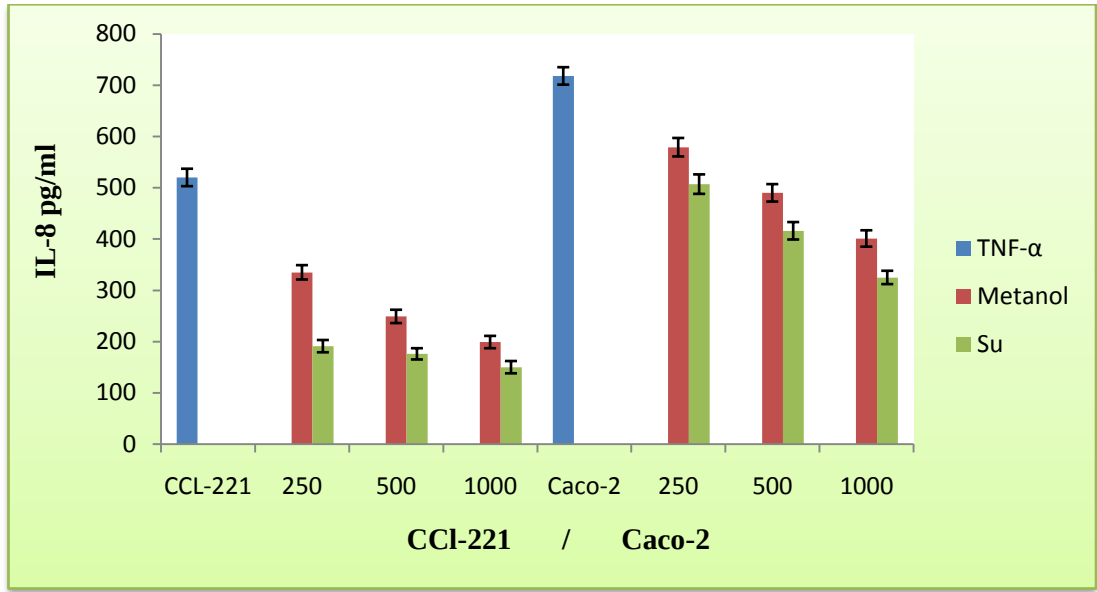
Şekil 4.9. *Ormosciadium aucheri* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL -221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi



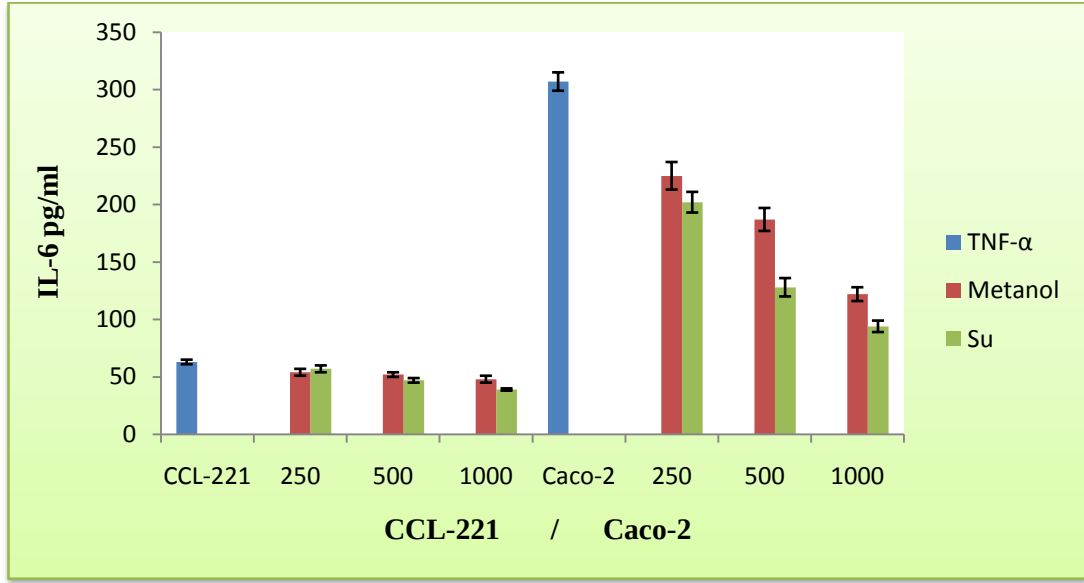
Şekil 4.10. *Ormosciadium aucheri* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi

TNF-α ile IL-6 ve IL-8 uyarımları Caco-2 hücrelerinde CCL-221'e göre daha fazla olmuştur. *Ormosciadium aucheri* 1000 µg/ml su ekstraktı TNF-α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 146 pg/ml'ye 4 kat baskılanma

gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı ile, IL-8 salınımı 718 pg/ml'den 214 pg/ml'ye 3 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.9'de gösterilmiştir. *Ormosciadium aucheri* 1000 µg/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 35 pg/ml'ye 2 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 97 pg/ml'ye 3 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.10'de verilmiştir.

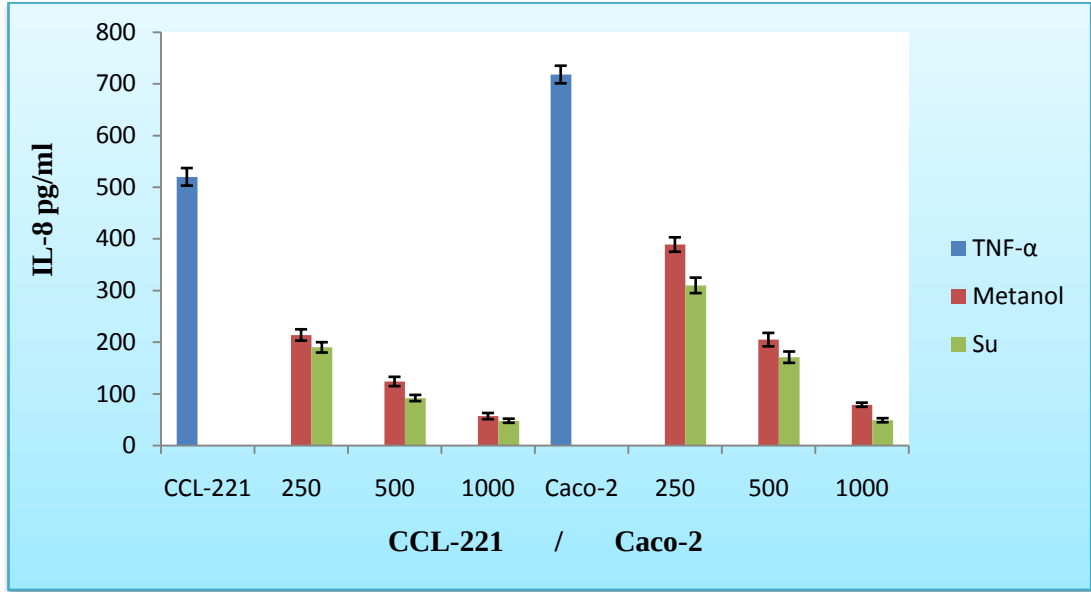


Şekil 4.11. *Stachys oblique* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi

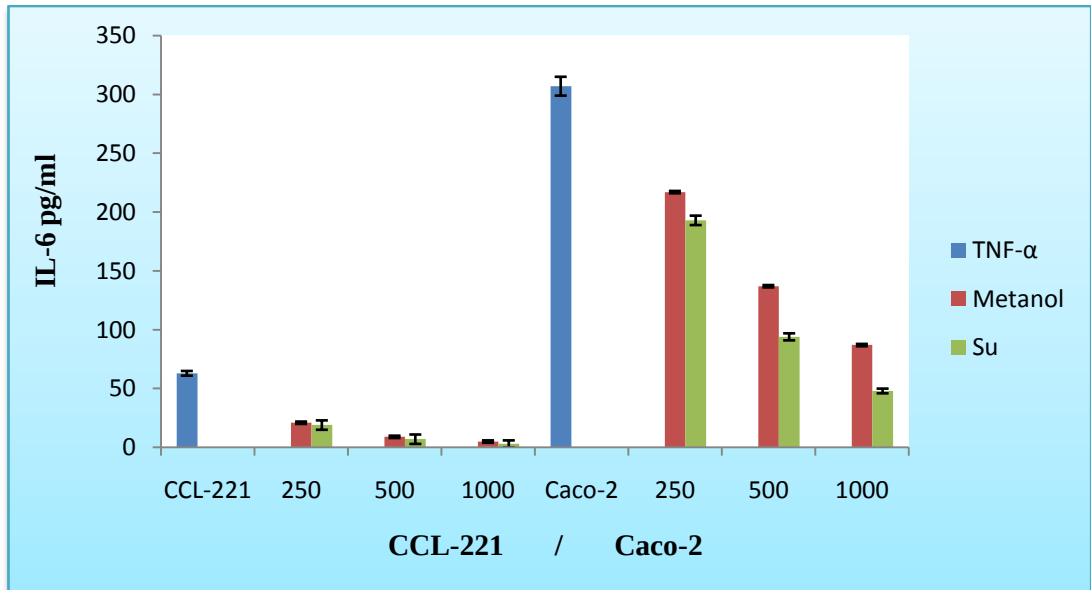


Şekil 4.12. *Stachys oblique* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF- α ile uyarılmış CCL -221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi

TNF- α ile IL-6 ve IL-8 uyarımları Caco-2 hücrelerinde CCL-221'e göre daha fazla olmuştur. *Stachys oblique* 1000 µg/ml su ekstraktı TNF- α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 150 pg/ml'ye 4 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı ile, IL-8 salınımı 718 pg/ml'den 325 pg/ml'ye 2 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.11'de gösterilmiştir. *Stachys oblique* 1000 µg/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 39 pg/ml'ye 2 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-6 salınımı 307 pg/ml'den 94 pg/ml'ye 3 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.12'de verilmiştir.



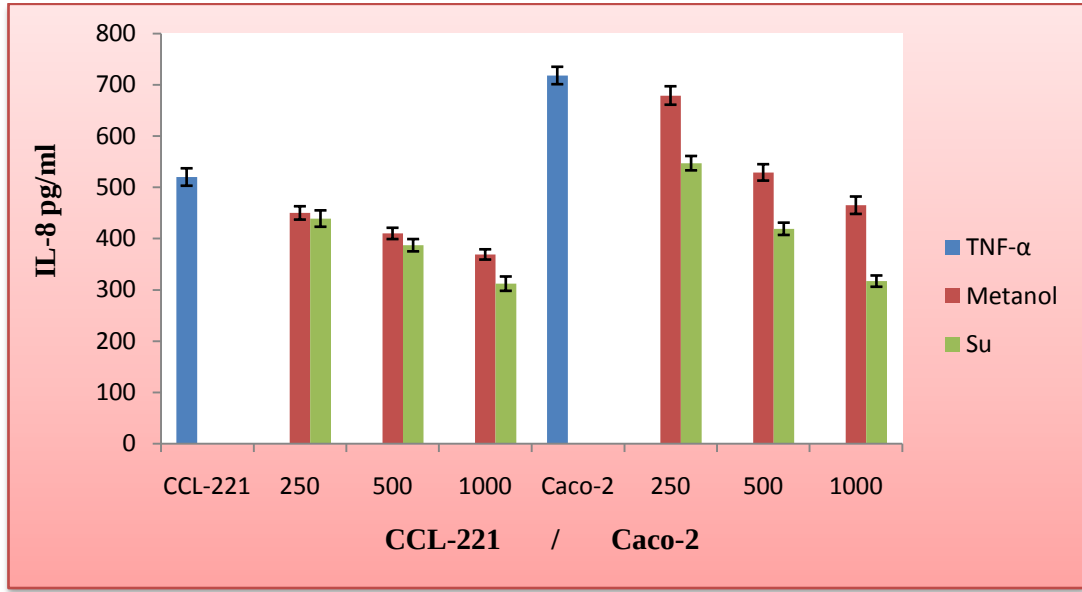
Şekil 4.13. *Veronica lycica* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi



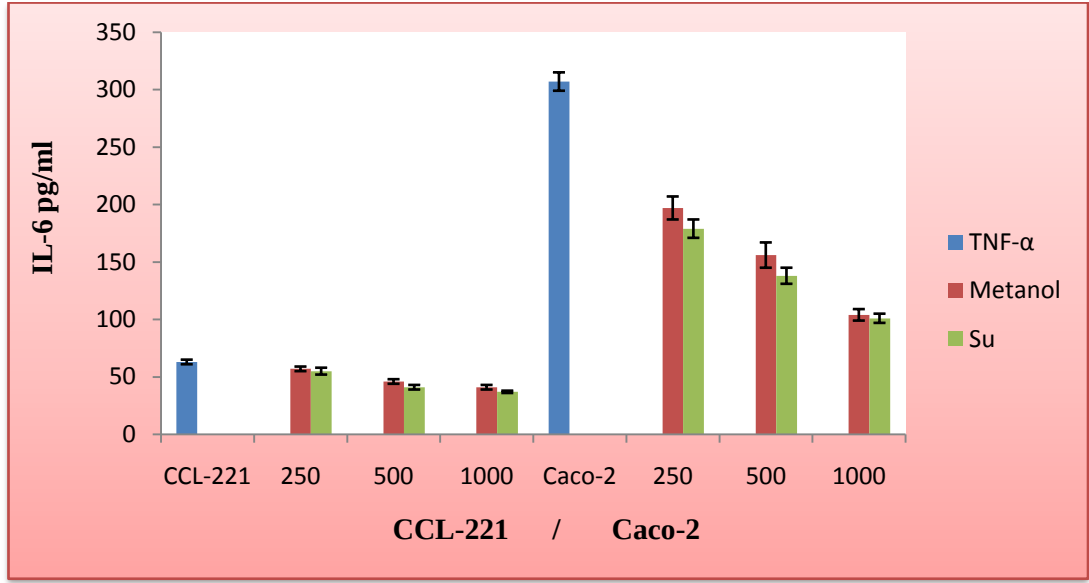
Şekil 4.14. *Veronica lycica* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi

TNF-α ile IL-6 ve IL-8 uyarımları Caco-2 hücrelerinde CCL-221'e göre daha fazla olmuştur. *Veronica lycica* 1000 µg/ml su ekstraktı TNF-α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 48 pg/ml'ye 11 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8

salınımı 718 pg/ml'den 49 pg/ml'ye 15 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.13'de gösterilmiştir. *Veronica lycica* 1000 µg/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 3 pg/ml'ye 21 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 48 pg/ml'ye 7 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.14'de verilmiştir.\

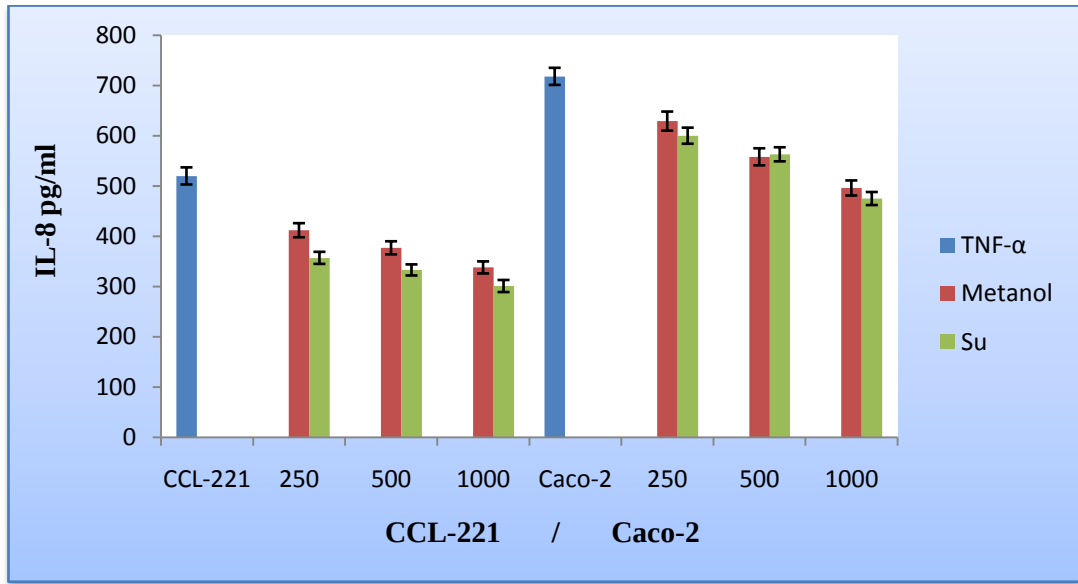


Şekil 4.15. *Cyclotrichium origanifolium* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi

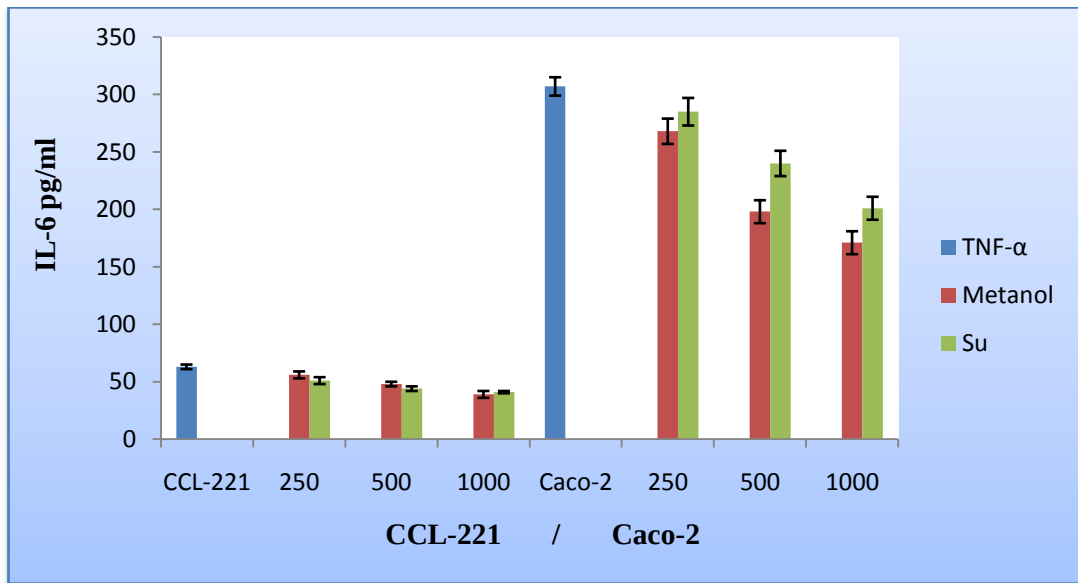


Şekil 4.16. *Cyclotrichium organifolium* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi

TNF-α ile IL-6 ve IL-8 uyarımları Caco-2 hücrelerinde CCL-221'e göre daha fazla olmuştur. *Cyclotrichium organifolium* 1000 µg/ml su ekstraktı TNF-α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 312 pg/ml'ye 2 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 718 pg/ml'den 317 pg/ml'ye 2 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.15'de gösterilmiştir. *Cyclotrichium organifolium* 1000 µg/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 37 pg/ml'ye 2 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 101 pg/ml'ye 3 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.16'de verilmiştir.



Şekil 4.17. *Ajugabombycina* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL-221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-8 salınımına olan etkisi



Şekil 4.18. *Ajugabombycina* bitkisinin 250-1000 µg/ml konsantrasyonlarında, TNF-α ile uyarılmış CCL -221 ve Caco-2 hücrelerinde IL-6 salınımına olan etkisi

TNF-α ile IL-6 ve IL-8 uyarımları Caco-2 hücrelerinde CCL-221'e göre daha fazla olmuştur. *Ajugabombycina* 1000 µg/ml su ekstraktı TNF-α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 301 pg/ml'ye 2 kat baskılanma

gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 718 pg/ml'den 317 pg/ml'ye 2 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.17'de gösterilmiştir. *Ajuga bombycina* 1000 µg/ml metanol ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 39 pg/ml'ye 2 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml metanol ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 171 pg/ml'ye 2 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.18'de verilmiştir.

IL-6-sIL-6R kompleksinin artışı Bax antagonisti olan BcL-xL anti-apoptotik genlerin uyarımına yol açmaktadır [Pucci ve ark., 2009]. Diğer bir proinflatuvar sitokin olan IL-8 ise normal hücrelerden olduğu kadar tümör hücrelerinden de salınmaktadır ve akut inflamatuvar reaksiyonların başlamasından sorumludur [Xie, 2001]. Farklı tümörlerde yüksek miktarda IL -8 ekspresyonu bulunmuş ve bazı çalışmalarda serumda veya dokularda artmış IL -8 ile tümör ilerlemesi ve metastaz arasında doğru orantılı bir korelasyon saptanmıştır [Uehara, 2005]. Bunun için tümör mikroçevresinde sitokinlerin lokal üretimi önemli bir yer tutmaktadır.

Araştırmalarda proinflatuvar sitokinlerin salınımını düzenleyebildiği dikkat çekmektedir. Bundan dolayı çalışmada antiproliferatif özellikleri belirlenen bitkilerin Caco-2 ve CCL-221 hücreleri üzerindeki antiinflamatuvar özellikleri araştırılmıştır. Bitkilerin proinflatuvar sitokinlerden IL -6 ve IL -8 salınımına olan etkisi belirlenmiştir.

Sonuç olarak her iki kanser hücre hattında da bitki konsantrasyonu arttıkça antiinflamatuvar etkinin arttığı belirlenmiş ve tüm kanser hücrelerde ve her iki sitokinde en iyi baskılanma 1000 µg/ml ekstraktında gözlenmiştir. Tüm bitki ekstraktlarında genel olarak su ekstraktı, metanol ekstraktına göre daha yüksek antiinflamatuvar etki göstermiştir. Genel olarak TNF-α ile Caco-2 hücresinin uyarımına bağlı IL-6 ve IL-8 salınımının CCL-221 hücrelerine göre daha yüksek olduğu, buna bağlı bitki ekstraktının baskılanma oranlarında Caco-2 kanser hücre hattında daha yüksek oranda bulunmuştur. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde en iyi antiinflamatuvar etki her iki kanser hücre hattında hem IL-6 ve IL-8 sitokin

baskılamasına göre *Prangos platychloena* bitkisinin su ekstraktında belirlenmiştir. Pearson'ın korelasyonuna göre, antiproliferatif ve antiinflamatuvar etki arasında ve flavonoid içeriği ile antiinflamatuvar ve antiproliferatif etki oranları arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiştir ve bu aktiviteleri arasında önemli oran da korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$).

4.4. Bitkilerin Flavonoidlerinin Araştırılması

En iyi antiproliferatif etkinin ve antiinflamatuvar etkisi belirlenen bitkilerin, *Prangos platychloena* ve *Veronica lycica*'nın metanol ve su ekstraktlarında HPLC ile flavonoidler bakımından araştırılmıştır. Bu sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Kanserle ilişkili olduğu literatürlerle belirlenmiş bazı flavonoidlerle esas alınarak bu flavonoidler açısından antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkisi en iyi olan iki bitkinin su ve metanol ekstraktlarına incelenmiştir. 7 flavonoid bakımından incelenen bitki ekstraktlarında en fazla flavonoid *P. platychloena* metanol ekstraktında belirlenmiştir (6 flavonoid). Quercetin, kaemferol ve luteolin en yüksek miktarda *P. platychloenanın* metanol ekstraktında, catechin *V.lycica*'nın su ekstraktında, rutin ise *V.lycica*'nın metanol ekstraktında en yüksek olarak tespit edilmiştir.

Çizelge.4.2. *P.platychloena* ve *V.lycica* 'nın metanol ve su ekstraktlarında araştırılan flavonoidlerin (mg/g) sonuçları, **Flav.:** flavonoidler, **Eks.:** Ekstraktlar, **V.l.m** :*V.lycica*'nın metanol ekstraktı, **V.l.s** : *V.lycica*'nın su ekstraktı, **P.p.m** : *P.platychloena*'nın metanol ekstraktı, **P.p.s** : *P.platychloena*'nın su ekstraktı

Flav. Eks.	Luteolin	Rutin	Quercetin	Kaemferol	Biochanin	Apigenin	Catechin
V.l.m	-	1,89±0,06	0,10±0,03	-	0,17±0,02	0,10±0,06	-
V.l.s	0,13±0,05	1,30±0,04	-	-	0,31±0,06	-	2,03±0,05
P.p.m	2,01±0,02	1,52±0,03	5,25±0,04	4,02±0,02	0,22±0,03	-	1,20±0,04
P.p.s	0,52±0,04	-	4,10±0,06	2,53±0,05	-	-	-

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser türleri arasında kolorektal kanser en çok rastlanılan ve en agresif kanser türlerinden biri sayılmaktadır. Kolorektal kanserin etiyolojisine bakıldığında temelde kolon mukozasındaki epitelyal hücrelerin genetik değişim süreci söz konusudur. Kalın bağırsak kanserini tetikleyen faktörler arasında mutajen etkilere yatkınlık, fekal mutajenler, kırmızı et tüketimi, safra asitleri, yetersiz vitamin ve mineral alımı sayılabilir [Skibber ve ark, 2001]. Bu faktörlerin yanısıra ailesel adenomatöz polipoziskoli (FAP) ve Herediter non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC) gibi genetik yatkınlık durumları da söz konusudur [Asmis ve ark, 2008]. Genellikle kemoterapötiklere karşı direnç göstermektedir . Mevcut kolorektal kanserleri immünterapi ile tedavi yetersiz kalmakta ve başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Anti tümör immün yanıt , tümör hücreleri ve tümör mikroçevresinde bulunan diğer hücrelerden (epitelyum hücreleri, endotelyal hücreler, tümör infiltre eden lökositler) çeşitli faktörlerden etkilenmektedir . Ayrıca sitokinler, tümör antijenlerinin, adezyon moleküllerinin, tümör infiltre eden lenfositlerin ekspresyonunu ve salınımını düzenlemektedir. Bunun ile beraber tümör hücreleri tarafından immün baskılayıcı faktörlerin üretilmesini de etkilemektedirler. Kolorektal kanserli hastaların serumlarında çok yüksek derecede IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α ve TGF tespit edilmektedir . Proinflamatuvar sitokinlerin çoğunun tümör angienezisini uyararak tümör ilerlemesini hızlandırdığı düşünülmektedir . Kanser mikroçevresinde proinflamatuvar sitokinlerin salınımının olması kanser ilerlemesine ve yayılmasına yol açmaktadır. Bunların içerisinde IL-6 ve IL-8 en önemli sitokinlerden biridir [Grivennikov ve Karin, 2008].

Kolorektal kanserin esas tedavisi cerrahi olmakla beraber sadece cerrahi tedavi ile hastaların önemli bir kısmında cerrahiye takibeden ilk 3 yıl içinde nüksler ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda metastatik kanser tedavisinde kullanılmaya başlanan irinotekan, oksaliplatin gibi yeni kemoterapi ajanları ve bevacizumab ve cetuximab gibi monoklonal antikorlar hastaların sağkalımında önemli ilerlemeler sağlamıştır [Doğan ve ark, 2009]. Kolorektal kanserde kullanılan kemoterapi ilaçlarına

bakıldığında 5-FU'nin 1957 yılında ilk kez keşfinden beri sıklıkla kullanılmakta olduğunu görmekteyiz [Skibber ve ark, 2001].

Son 10 yıldır 3 sitotoksik ajan; oksaliptatin, irinotekan ve katesitabin ve 3 biyolojik ajan; bevasizumab, cetuximab ve panitumumab tedaviye eklenmiştir. Metastatik hastalıkta standart tedavi fluoropirimidin temelli kombinasyon tedavisidir. Sıklıkla 5-FU, Lökovorin ve Oksaliptatin kombinasyonu: FOLFOX yada 5-FU, Lökovorin ve İrinotekan kombinasyonu (FOLFİRİ) kullanılmaktadır. Genellikle kolorektal kanser, kemoterapi ilaçlara karşı direnç göstermektedir . [Zuckerman ve ark, 2008]. Kolorektal kanser tedavisi kemoterapi ile yetersiz kalmakta ve başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan yöntemler yetersiz olduğu için yeni araştırmalara ve bitkisel kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kanser hücreleri, normal hücrelerden farklı olarak, anormal çoğalabilir ve kendi çoğalmasını uyarabilir. Bu kontrolsüz çoğalmayı aşağıda belirtilen bazı bitkisel ürünler engelleyebilmektedir: Genistein (soya) ve kurkumin (zerdeçal) , en çok siyah üzümde olan resveratrol, sarı ve beyaz renkteki sebze ve meyve kabuklarında bulunan kuersetin, hint fesleğeni ve biberiyedeki karnosol ve ursolik asit, E vitamini, yeşil çay, resveratrol, Ganoderma lucidum (reishi mantarı) [D. Çekin ve ark, 2011].

Hücrelerin enerji üretim kaynağı mitokondri denilen organeldir. Mitokondrinin ilaçlarla etkinliğinin bozulması, böylece kanser hücresinin enerji kaynağının devre dışı bırakılmasına çalışılmaktadır. Henüz yeterli etkinliğe sahip ilaç geliştirilememiştir. Laboratuvar çalışmalarında bazı bitkisel ürünlerin mitokondri hasarına neden olarak kanser hücrelerini öldürdüğü gösterilmiştir. Böyle bir yaklaşım daha güvenli olabilir. Sarımsak (diallil sülfid), pul biber (kapsaisin), domates (likopen), sarı-turuncu sebzeler (beta karoten), zerdeçal (curcumin), çörek otu (timokuinon) ve Coptis chinensis (berberin) gibi maddeler mitokondri hasarı ile kanser hücrelerini öldüren ve kanser tedavisinde kullanılan bitkisel ürünlerdir.

Kanser tedavilerinde bazı bitkisel ürünler tedaviye destek ajan olarak kullanılmaktadır. Örneğin, Pankreas kanseri tedavisinde hastaya verilen bitkisel

destekler; Burdock (Dulavrat otu), Çörek otu, Omega-3, Gingko biloba L.(Mabet ağacı), Üzüm çekirdeği ekstraktı, Yeşil çay ekstraktı, Zencefil, Meme kanseri'nde ise Beta glukan, Koenzim Q10, B vitamini kompleks olarak kullanılmaktadır [D. Çekin ve ark, 2011].

Bu tez kapsamında; Türkiye'de yetişen yaygın bitkiler olan *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium origanifolium* ve endemik bitkiler olan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina*'dan elde edilen metanol ve su ekstratlarının insan kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı (Caco-2), kolorektal kanser hücre hattı (CCL-221) ve sağlıklı insan gingival fibroblast (HGF-1) hücreleri üzerindeki antiproliferatif etki sitotoksik etkiye dayalı olarak araştırılmıştır.

Tüm bitki ekstraktlarında genel olarak su ekstraktı, metanol ekstraktına göre daha yüksek etki göstermiştir. Su metanole göre doğal bir kaynak olduğu için önem taşımaktadır. Her iki kanser hücre hattında da bitki konsantrasyonu arttıkça antiproliferatif etkinin arttığı belirlenmiştir. *Prangos platychloena* ve *Veronica lycica* her iki kanser hücrelerini de yüksek oranda öldürmüştür. *Prangos platychloena* bitkisinin su ekstraktı, CCL-221 hücrelerinde (% 72 ölüm) ve Caco-2 de (% 59 ölüm) gösterirken, *Veronica lycica* bitkisinin metanol ekstraktı, CCL-221 hücrelerinde (% 65 ölüm) ve Caco-2 de (% 47 ölüm) yüksek oranda ölüm tespit edilmiştir.

Sağlıklı hücre olarak kullanılan fibroblast hücrelerine (HGF-1) *Prangos platychloena* ve *Veronica lycica* ekstraktlarının denenilen tüm konsantrasyonlarının da sitotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Bitkiler sağlıklı hücre hattında, kanser hücre hatlarına göre çok düşük seviyede toksik madde üretmekte ve bundan dolayı sağlıklı hücrelere zarar vermemektedir. Antikanser çalışmalarda ve bitkisel ilaçlarda bu tür bitkiler seçilmektedir. Bitkilerin kanser hücre hatları üzerindeki öldürücü etkisinin apoptozisin uyarılması yolu ile olabileceği düşünülmektedir. [Itharat ve Oraikul, 2007]. Apoptozis, programlanmış hücre ölümü olup, sinyal yollarında meydana gelen bozukluk sebebiyle kanser ve otoimmün hastalıklara yol açmaktadır [Lin ve ark, 2001].

Günümüze kadar *Prangos platychloena* ve *Veronica lycicanın* antikanser etkisi araştırılmamış olup yaptığımız bu çalışma ilk olma özelliğini taşımaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda bitkilerin farklı kolon hücreleri üzerinde antikanserojenik aktivite araştırmaları çok sayıda mevcut iken CCL-221 ve Caco-2 kanser hücreleri ile ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır.

Yapılan bir çalışmada 4 farklı çözücü (metanol, etanol, aseton, su) ekstraktı ile HT-29 kolon kanser hücre hattında 50, 100, 250 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında cherry (*Prunus serrulata var. spontanea*) blossoms bitkisinin sitotoksik etkisi araştırılmıştır. En yüksek antikanser etki metanol ekstraktının 500 µg/ml konsantrasyonunda % 38.8 sitotoksik etki göstermiştir [Bo-Bae ve ark, 2007].

Diğer bir araştırmada *Crocus sativus* bitkisini 3 farklı kolorektal kanser hücre hatlarında HCT-116 (McCoy's 5A), HT-29 (McCoy's 5A) ve SW-480 (Leibovitz's L-15) 4 konsantrasyonda (250, 500, 1000 ve 3000 µg/ml) denenmiş ve bu bitkinin 1000 µg/ml konsantrasyonu HCT-116 kolorektal kanser hücresinde % 45.5 antiproliferatif etki gösterirken 3000 µg/ml konsantrasyonu % 68 etki göstermiştir [Aung ve ark, 2007].

Farklı çalışmalara baktığımızda *Prangos platychloena* ve *Veronica lycica* 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonda (% 59-% 72 hücre ölümü) daha yüksek antikanser etkiye sahiptir ve bu bitkiler etkin bir kaynak olarak sayılmaktadır. Her iki bitkinin sağlıklı hücrelere zarar vermemesi sadece Caco-2 ve CCL-221 kanser hücre hatlarına etkili olduğu önem taşımaktadır. Sağlıklı hücrelere zarar veren ve aynı zamanda kanser hücrelerine etki gösteren bitkiler antikanser çalışmalarında, ilaç sanayisinde ve kanser tedavisinde alternatif ajan olarak yer almamaktadır [Itharat ve Ooraikul, 2007]. *Prangos platychloena* ve *Veronica lycic* çok yaygın bitkiler olup Türkiye kaynaklıdır. Bu bitkilerin şimdiye kadar bir yan etkisi belirlenmemiş ve çok kolay elde edilmektedir. İleri çalışmalarda bu bitkilerin kolorektal kanser ve diğer farklı kanserlerin tedavisinde bir antikanser ajan olarak veya tedavide destekleyici ajan olarak kullanılmasını düşünmekteyiz. Sitotoksik etkinin düşük , antikanserojenik

etkinin yüksek olması antikanser ajan olarak kullanımı açısından önemli bir özelliktir.

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar hedef olarak apoptotik ve antiapoptotik proteinleri hedef almaktadır. Ancak ilaçların aynı zamanda sağlıklı hücrelere de bu yolla zarar vermesi hastada yan etkilere yol açmakta, maddi ve manevi kayıplara yol açtığı gibi başka hastalıkların oluşmasına da yol açmaktadır. Bundan dolayı bitkilerin kanser tedavilerinde doğal destek ajan olarak kullanılması önerilebilir.

Araştırmalarda proinflatuvar sitokinlerin salınımını düzenleyebildiği dikkat çekmektedir. Bundan dolayı çalışmada antiproliferatif özellikleri belirlenen bitkilerin Caco-2 ve CCL-221 hücreleri üzerindeki antiinflatuvar özellikleri araştırılmıştır. Bitkilerin proinflatuvar sitokinlerden IL -6 ve IL -8 salınımına olan etkisi belirlenmiştir.

Diğer aşamada TNF- α ile inflamasyon ortamı yaratılmış kanser hücre hatlarında proinflatuvar sitokin olan IL-6 ve IL-8 seviyeleri belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, antiproliferatif etkisi kuvvetli olan *P. platychloena* ve *V. lycica*'nın inflamasyonu en fazla baskılayan bitkiler olduğu dikkat çekmiştir.

Prangos platychloena 1000 μ g/ml su ekstraktı TNF- α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 37 pg/ml'ye 15 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 μ g/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 718 pg/ml'den 36 pg/ml'ye 20 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.7'de gösterilmiştir. *Prangos platychloena* 1000 μ g/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 2 pg/ml'ye 32 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 μ g/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 19 pg/ml'ye 16 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.8'de verilmiştir.

Veronica lycica 1000 μ g/ml su ekstraktı TNF- α ile uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-8 salınımı 519 pg/ml'den 48 pg/ml'ye 11 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 μ g/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 718

pg/ml'den 49 pg/ml'ye 15 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.13'de gösterilmiştir. *Veronica lycica* 1000 µg/ml su ekstraktı uyarılmış CCL-221 kanser hücresinde IL-6 salınımı 63 pg/ml'den 3 pg/ml'ye 21 kat baskılanma gözlenmiştir. Aynı şekilde Caco-2 kanser hücresinde 1000 µg/ml su ekstraktı IL-8 salınımı 307 pg/ml'den 48 pg/ml'ye 7 kat baskılanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.14'de verilmiştir.

Sonuç olarak her iki kanser hücre hattında da bitki konsantrasyonu arttıkça antiinflamatuvar etkinin arttığı belirlenmiştir. Tüm bitki ekstraktlarında genel olarak su ekstraktı, metanol ekstraktına göre daha yüksek antiinflamatuvar etki göstermiştir. Tüm bitki ekstraktlarında artan konsantrasyonla orantılı olarak 250,500 ve 1000 µg/ml eklenmesi ile IL-6 ve IL-8 salınımının baskılandığı görülmüştür. Genel olarak TNF- α ile Caco-2 hücresinin uyarımına bağlı IL-6 ve IL-8 salınımının CCL-221 hücrelerine göre daha yüksek olduğu, buna bağlı baskılanma oranları da genelde bitki ekstraktları için Caco-2 kanser hücre hattında daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde en iyi antiinflamatuvar etki hem IL-6 ve IL-8 sitokin baskılamasına göre *Prangos platychloena* bitkisinin 1000 µg/ml konsantrasyonundaki su ekstraktı CCL-221 (32 kat) kanser hücresinde etki göstermiştir.

Şimdiye kadar *Prangos platychloena* ve *Veronica lycica* 'nın antiinflamatuvar etkisi araştırılmamış olup bu ilk çalışma niteliğindedir. Yapılan farklı antiinflamatuvar çalışmada 16 bitkinin (*Filipendula ulmaria*, *Lithospermum officinal*, *Alchemilla vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Achillea millefolium*, *Betula pendula*, *Hieracium pilosella*, *Equisetum arvense*, *Lamium album*, *Cynara scolymus*, *Humulus lupulus*, *Vaccinium myrtillus*, *Chamomilla recutita*, *Lotus corniculatus*, *Melilotus officinalis*, *Urtica dioica*) 500, 1500, 2000 µg/ml de su ekstraktının lipoksigenaz aktivitesi açısından araştırılmıştır. En yüksek antiinflamatuvar etki 2000 µg/ml konsantrasyonunda gözlenmiştir [Trouillas ve ark, 2003].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda farklı bitki ekstraktlarının antiinflamatuvar özellikleri araştırılmıştır, bir yeni çalışmada dört farklı meyve suyu ve çam kabuğu ekstraktı ile Caco-2 ve RAW 264.7 kolon kanser hücrelerinde LPS uyarımı ile IL-8,

nitrik oksit (NO) ve reaktif oksijen türleri (ROS) açısından antiinflamatuvar özelliğine bakılmıştır. Bu çalışmada ekstraktların LPS uyarımı ile IL-8, NO ve ROS'a karşı % 55 ile % 86 arasında baskıladığı gözlenmiştir [Frontela-Saseta ve ark, 2013].

Farklı araştırmalara baktığımızda *Prangos platychloena* ve *Veronica lycica* 250, 500, 1000 µg/ml konsantrasyonlarında hem su ve hem metanol ekstraktında IL-6 ve IL-8 seviyesini daha yüksek oranda baskılamıştır. Bu baskılamaya bağlı antiproliferatif ile antiinflamatuvar aktiviteleri yüksek olan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica* sadece kanser önlenmesi için değil farklı hastalıklarda özellikle kalp-damar hastalıklarında, şeker hastalarında, IBH, Chron's hastalığı, ülseratif kolit hastalığında bir antiinflamatuvar marker olarak kullanılması mümkün olacaktır [Menichini ve ark, 2009; Vannucci ve ark, 2009; Blum ve ark, 2002; Borchers ve ark, 2009; Chuang ve ark, 2013].

CCL-221 hücrelerinden salgılanan IL -6 ve IL -8 miktarı Caco -2 hücreleri kadar yüksek bulunmamıştır. Bunun nedeni kolorektal adenokarsinoma kanser hücre hattı (Caco-2) kültür edildiğinde fırça tip mikrovillusları ile olgun enterositlerin özelliklerini göstermektedir. Caco-2 hücreleri, insan bağırsak epitel hücrelerinin organizasyonu ve fonksiyonunun araştırıldığı çalışmalarda tercih edilmektedir [Fogh, 1977 (a); Fogh, 1977 (b); Sambury ve ark, 2005; Matijasac ve ark, 2003; Morita ve ark, 2002; Bernet ve ark, 1993].

Özellikle antiproliferatif etkisi yüksek olan bitkilerin en yüksek antiinflamatuvar etkiyi göstermesi dikkat çekmektedir ve su ekstraktının, metanol ekstraktına göre daha yüksek etki göstermesi, suyun metanole göre doğal bir kaynak olması bakımından önemli bir sonuç sayılmaktadır.

İstatistiksel analizler, SPSS 16.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) programı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) post hoc Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Pearson korelasyon analiz testi ile antiproliferatif ve antiinflamatuvar etki çalışmaları arasında ve flavonoid içeriği ile antiinflamatuvar ve antiproliferatif etki oranları arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiştir. Pearson'ın korelasyonuna göre, istatistiksel

anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ alınmıştır. Bu çalışma istatistiksel olarak doğrulanmıştır.

Hücre kültürleri ve hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalarda flavonoidlerin insan sağlığını olumlu etkilediği ve bazı kronik hastalıkların oluşma riskini azalttığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Flavonoidlerin kalp-damar hastalıkları, kanser, nöron dejenerasyon hastalıkları, diyabet, osteoporoz gibi hastalıkların üzerinde olumlu etkilerinin yanı sıra antibakteriyal, antikarsinojen, antiinflamatuvar, diüretik ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerinin olduğu öne sürülmektedir. Yapılan gözlem çalışmaları flavonoid ve flavonoid-zengin besinlerin alınmasının bazı özel durumlarda ve bazı akut ve kısa süreli klinik müdahalelerde flavonoidlerin kronik hastalıkların tahmin edilen ara biyomarkerlarını etkileyebildikleri gözlenmiştir. [Milbury ve Richer, 2008].

En iyi antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkisi belirlenen *P. platychloena* ve *V. lycica*'nın, metanol ve su ekstraktlarında antikanser etkisi olduğu düşünülen flavonoidler bakımından belirlenmiştir. 7 flavonoid bakımından belirlenen bitki ekstraktlarında en yüksek flavonoid, *P. platychloena* metanol ekstraktında belirlenmiştir. *P. platychloena* da Quercetin, Kaemferol , Luteolin ve *V. lycica* da Rutin ve Catechin yüksek olması dikkat çekicidir.

Quercetin bir flavonoid olarak elma, soğan ve üzüm gibi ürünlerde bulunmaktadır ve antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir [Zern ve ark., 2005; Mattivi ve ark., 2006]. Yapılan araştırmaya göre quercetin flavonoid inflamasyonu ve insülin direncini düşürmektedir. Ayrıca quercetin ve TNF- α , IL-6 ve IL-8 ile ilişkisi araştırılmış ve quercetin TNF- α , IL-6 ve IL-8'in seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir. Quercetin'i yüksek olan bitkiler, Caco-2 ve diğer kolon kanser hücrelerde bir alternatif tedavi olarak düşünülmektedir [Boyer ve ark, 2004; Day ve ark, 2001; Chuang ve ark, 2013].

Luteolin, maydanoz, karabiber ve zeytinyağında bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda Luteolin kanserin büyüme sinyalizasyonunu bozmaktadır. Genistein ile kombine edilmiş polisakkarit (GCP) özellikle prostat kanserinde kullanılmaktadır.

Prostat kanseri tedavisinde kullanılan ilaçların (antiandrojen ve taksanların) etkisini arttırmaktadır. Flavonoidlerin tedavi amaçlı avantajları, kanserde; kanserin gelişmesini engeller, kemoterapide; ilaçlarının kanser hücrelerini öldürücü etkisini artırır. Kalp-damar hastalıklarında; koruyucu olup birçok kanser hücrelerini de öldürmektedir ve radyoterapinin etkisini artırıp yan etkisini azaltır [Sagar ve ark, 2005; Kwon ve ark, 2007; Khan ve ark, 2009].

Elde edilen bulgulara göre 6 bitkinin *P. platychloena*, *O. aucheri*, *S. obliqua*, *V. lycica*, *C. origanifolium*, *A. bombycina*'nın elde edilen metanol ve su ekstratlarının kanser hücre hatlarında antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırmasında en iyi sonuç 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Bitkilerin arasında en yüksek antiproliferatif ve antiinflamatuvar etki *P. platychloena* ve *V. lycica* da görülmektedir. Aynı zamanda bitkilerin sağlıklı hücre üzerine sitotoksik etki göstermediği gözlenmiştir. Sağlıklı hücrelere zarar vermemesi bakımından olumlu bir sonuç olarak kabul edilmektedir. Antiproliferatif etkisi yüksek olan bitkilerin (*Prangos platychloena*, *Veronica lycica*) en yüksek antiinflamatuvar etkiyi göstermesi dikkat çekmekte ve bu iki bitkinin içeriğinde önemli miktarda kanser ile ilişkili olan flavonoidler bulunmaktadır.

Sonuç olarak bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar, Türkiye’de yaygın ve endemik olarak yetişen bitkilerin antiproliferatif ve antiinflamatuvar aktivitelerini ortaya çıkarması açısından oldukça önemli olmuştur. Antiproliferatif ve antiinflamatuvar etki açısından yapılan çalışmalara bakıldığında ise Türkiye’de yayılış gösteren yaygın ve endemik bitkiler (*P. platychloena*, *O. aucheri*, *S. obliqua*, *V. lycica*, *C. origanifolium*, *A. bombycina*'nın) ile ilgili Türkiye’de ve dünyada daha önce yapılmış bir araştırma olmadığı için bu çalışma, ilk olması açısından önem taşımaktadır.

Oluşan inflamasyon makrofaj, dendritik hücre ve T lenfositlerinin bölgede toplanmasına sebep olduğu gibi ürettikleri sitokinler oksidatif hasara da yol açmaktadır. Bunun uzun süre devam etmesi inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve kolon kanserinin oluşmasına yol açmaktadır. Gelecek çalışmalarda kanser hücrelerini

hangi yolla apoptozise yönlendirdiğinin belirlenmesi mekanizmayı aydınlatacaktır. Sonraki araştırmalarda hayvan deney modelleri ile Antiproliferatif aktivite, kanser ve antiinflamatuvar özellik arasındaki ilişki aydınlatılabilir.

Sonuç olarak, üstün özelliğe sahip olduğu belirlenen bitkiler *P. platychloena*, *V. lycica* klinik ve gıda uygulamaları için preparat haline getirilebilir. Türkiye’de yaygın olarak görülen yanlış beslenme alışkanlıkları, stres ve aşırı alkol tüketimi oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidatif hasar uzun süreli ve aşırı miktarlarda olduğunda inflamasyona yol açmakta ve kronik rahatsızlıkların oluşmasına sebep olmaktadır (ülseratif kolit, Chron’s hastalığı, kolon kanseri vb.).

P. platychloena, *V. lycica*, sahip olduğu Antiproliferatif aktiviteleri ile antiinflamatuvar aktivite yönünden yüksek etkiye sahip olan bu bitkilerin kanser hücrelerini seçici olarak ayırt ettiğini düşünmekteyiz. Sağlıklı insan fibroblast hücreleri üzerinde tespit edilen düşük öldürücü etkinin bitkilerin kanser hücrelerini apoptoza götüren yollardan birini aktif hale getirdiğini düşündürmektedir.

P. platychloena, *V. lycica* bitkilerinin inflamasyonu yüksek oranda baskıladığı tespit edilmiştir. Bu sayede Chron’s hastalığı, ülseratif kolit, IBH ve kolon kanseri tedavilerinde destek ajan olarak kullanılabileceğini önermekteyiz. Bu doğrultuda hayvan deney modelleri oluşturularak klinik uygulamalarda ve gıda alanında preparat olarak kullanılabilmesi için ön hazırlıklara başlanması düşünülmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan yöntemler yetersiz olduğu için yeni araştırmalara ve bitkisel kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. ÖNERİLER

1. Antiproliferatif ile antiinflamatuvar aktiviteleri açısından yapılan çalışmalara bakıldığında ise Türkiye’de yetişen yaygın bitkiler olan *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium organifolium* ve endemik bitkiler olan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina*’a ile ilgili Türkiye ve dünya literatüründe bu düzey de çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönüyle özgün olup, ilk olması açısından ilgili alanda çalışanlara bir kaynak olacağı düşünülmektedir.
2. Bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar, yaygın bitkiler olan *Ormosciadium aucheri*, *Stachys oblique*, *Cyclotrichium organifolium* ve Türkiye’de endemik olarak bulunan *Prangos platychloena*, *Veronica lycica*, *Ajuga bombycina*’nın antiproliferatif ile antiinflamatuvar aktivitelerini ortaya çıkarması açısından oldukça önemli olmuştur.
3. Sonuçları en iyi olan *P. platychloena* ve *V. lycica* ekstraktlarının inflamatuvar bağırsak hastalıklar’nda ve bağırsak kanserinde önleyici veya tedavi edici amaçla kullanılabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu bitki ekstraktlarının sağlıklı hücrede sitotoksik etki göstermemesi de önemli bir bulgu olmuştur. Böylece yan etkisi olan diğer antikanserojrn ve kemoterapi ajanlara göre bu yönüyle önemli bir alternatif olacaktır.
4. Antikanser etkisi ile öne çıkan *P. platychloena* gıdalar da kullanımında, özellikle kanserden koruyucu gıda maddelerinin üretiminde de değerlendirilmesi açısından farklı bir bakış açısı oluşturacaktır.
5. Türkiye’de yaygın olarak rastlanılan yanlış beslenme alışkanlıkları, stres ve aşırı alkol tüketimi bağırsakta oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidatif hasar uzun süreli ve aşırı miktarlarda olduğunda inflamasyona yol açmakta ve ülseratif kolit, Chron’s hastalığı, kolon kanseri vb. oluşmaktadır. *P.*

platychloena ve *V. lycica* bitkilerin yüksek antiinflamatuvar etkileri olması nedeniyle sadece antikanser ajan olarak değil, IBH, Chron's hastalığı, ülseratif kolit, şeker hastalığı, kalp-damar hastalığı ve kolon kanseri hastalıklardan da koruyucu ajan olarak kullanımı mümkün kılmaktadır. Bu güne kadar bu yönüyle hiç çalışılmamış olan bu bitkilerin önemli bir antiinflamatuvar etken olduğu bulunması ve değerlendirilmesini gündeme getirilmiştir. Ayrıca *P. platychloena* ve *V. lycica* bitkileri inflamasyon hastalıklarda IL-6 ve IL-8'ı baskılayarak bu hastalıklar için antiinflamatuvar marker olarak olabilecektir.

6. Öne çıkan bitki ekstraktlarının farklı bağırsak kanseri veya diğer kanser hücre hatları üzerinde de denenebilir.
7. En iyi sonuç veren *P. platychloena* ekstraktlarında, literatürde direkt kolorektal ve kolon kanserinde çok etkili olduğu bildirilen quercetin, kaempferol flavonoidlerin bakımından yüksek oranda bulunması da dikkat çekici olmuştur.
8. Sonuçlar ile öne çıkan bitkilerin diğer flovonoidler bakımından da incelenmesi, kanserdeki etki mekanizmasının daha detaylandırılması gereklidir.
9. *In vitro* olarak elde edilmiş bu sonuçların *in vivo* deneylerle de doğrulanmasının yapılması önerilmektedir.
10. Sonuç olarak, üstün özelliğe sahip bitkiler olarak belirlenen *P. platychloena* ve *V. lycica* bitkileri klinik ve gıda uygulamaları için preparat haline getirilebilir. Ticari amaçlı geliştirilme potansiyeli vardır.

KAYNAKLAR

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., "Cellular and Molecular Immunology", **W. B Saunders Company, Fifth Edition.**, 264-272 (2005).
- Akbulut, H., Akbulut, K.G., "Tıbbi Onkoloji Kitabı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp Yayınları", **Editör İçli F.**, 23 (2005).
- Akbulut, H., "Tıbbi Onkoloji Kitabı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp Yayınları", **Editör İçli F.**, 281 (2005).
- Akina, S., Taga, T., Kishimoto, T., "Interleukin 6 in Biology and Medicine", **Adv. Immunol.**, 54: 1-78 (1993).
- Arts, I.C., Hollman, P.C., "Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies" , **Am J Clin Nutr.**, 81: 317 – 25 (2005).
- Arvas, M., Gezer, A., "Genital HPV", **1. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık.**, 17-21 (2007).
- Asmis, T.R., Saltz, L., "Systemic Therapy for Colon Cancer", **Gastroenterol Clin N Am.**, 37, 287-295 (2008).
- Aung, H.H., Wang, C.Z., Ni, M., Fishbein, A., Mehendale, S.R., " Crocin from Crocus Sativus Possesses Significant Anti-Proliferation Effects on Human Colorectal Cancer Cells", **Exp Oncol.**, 29 (3): 175–180 (2007).
- Baggiolini, M., Dahinden, C.A., "Chemokines in allergic inflammation", **Immunol. Today.**, 15: 127-133 (1994).
- Bai, A.P., Ouyang, Q., Zhang, W., Wang, C.H., Li, S.F., "Probiotics Inhibit TNF-Alpha Induced Interleukin-8 Secretion of HT-29 Cells", **World J. Gastroenterol.**, 10 (3): 455-457 (2004).
- Baser, K.H.C., Ozek, T., Demirci, B. Duman, H., "Composition of the Essential Oil of *Prangos heyndiae* H. Duman et M. F. Watson, a New Endemic from Turkey", **Flavour and Fragrance Journal.**, 15: 47-49 (2000).
- Becker, C., Fantini, M.C., Wirtz, S., Nikolaev, A., Lehr, H.A., Galle, H.A., Rose-John, S., Neurath, M.F., "IL-6 Signaling Promotes Tumor Growth in Colorectal Cancer", **Cell Cycle.**, 4 (2): 217-220 (2005).
- Bernet, M.F., Brassart, D., Neeser, R., Servin, A.L., "Adhesion of Human Bifidobacterial Strain to Cultured Human Intestinal Epithelial Cells and Inhibition of Enteropathogen-Cell Interactions", **Appl. Environ. Microbiol.**, 59: 4121-4135 (1993).

Blum, S., Haller, D., Pfeifer, A., "Probiotics and Immune Response", ***Clin. Rev. Allergy & Immunol.***, 22: 287-309 (2002).

Bo-Bae, Lee., Mi-Ran, Cha., Soo-Yeon, Kim., "Antioxidative and Anticancer activity extract of cherry *Prunus serrulata* var. *spontanea* of Blossoms", ***Plant Foods Hum Nutr.***, 62: 79-84 (2007).

Bodurl, S., Eryılmaz, M.A., Cıvık, S., Durduran, Y., "Kanserlerin Toplumdaki Dağılımının Belirlenmesi ve İnsidansın Tahmininde KETEM Kayıtlarının Katkısı : Konya örneği", ***Genel Tıp Derg.***, 21 (4): 144-151 (2011).

Borchers, A.T., Selmi, C., Meyers, F.J., Keen, C.L., Gershwin, M.E., "Probiotics and Immunity", ***J. Gastroenterol.***, 44: 26-46 (2009).

Borish, L.C., Steinke, J.W., "Cytokines and Chemokines", ***J. Allergy Clin. Immunol.***, 111: 460-475 (2003).

Boyer, J., Brown, D., Liu, R.H., "Uptake of quercetin and quercetin 3-glucoside from whole onion and apple peel extracts by Caco-2 cell monolayers", ***J Agric Food Chem.***, 52:7172-9 (2004).

Boyle, P., Leon, M.E., "Epidemiology of Colorectal Cancer", ***Br Med Bull.***, 64: 1-25 (2002).

Caan, B.J., Coates, A.O., Slattery, M.L., Potter, J.D., Quesenberry, C.P., Jr, "Edwards SM. Body size and the risk of colon cancer in a large case-control study", ***Int J Relat Metab Disord.***, 22: 178-84 (1998).

Smith, RA., Cokkinides, V., Brooks, D., Saslow, D., Brawley OW., "A Review of Current American Cancer Society Guidelines and Issues in Cancer Screening", ***CA Cancer J Clin.***, 60: 99-119 (2010).

Carroll, M.C., Katzman, P., "Linkagemap of the Human Histocompatibility Complex Including the Tumor Necrosis Factor Genes", ***Proc. Natl. Acad. Sci.***, 84: 8535-8539 (1987).

Chan, K., "Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines", ***Chemosphere.***, 52 (9): 1361-71 (2003).

Chuang, C.C., Martinez, K., Xie, G., Kennedy, A., Bumrungpert, A., Overman, A., Jia, W., Kmcintosh, M., "Quercetin is equally or more effective than resveratrol in attenuating tumor necrosis factor- α -mediated inflammation and insulin resistance in primary human adipocytes", ***The American Journal of Clinical Nutrition.***, 51: 9-14 (2013).

Coşkun, T., "Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız üzerine Etkileri", ***Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.***, 48: 69-84 (2005).

Çoruh, N., Sağdıoğlu, A.G., Özgökçe, F., "Antioxidant Properties of *Prangos ferulaceae* L., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. And *Heracleum persicum* Desf. from *Apiaceae* Family Used As Food in Eastern Anatolia and Their Inhibitory Effects on Glutathione-S-Transferase", **Food Chemistry**, 100: 1237-1242 (2007).

Dai, Q., Franke, A.A., Jin, F., Shu, X.O., Hebert, J.R., Custer, L.J., Cheng, J., Gao, Y.T., Zheng, W., "Urinary Excretion of Phytoestrogens and Risk of Breast Cancer Among Chinese Women in Shanghai", **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 11: 815-821 (2002).

Davis, P.H. (ed.), "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", **Edinburgh Univ. Press, Edinburgh**, 6: 724 (1978).

Davis, P.H. (ed.), "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", **Edinburgh Univ. Press, Edinburgh**, 7: 219-347 (1982).

Davis, P.H. (ed.), "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", **Edinburgh Univ. Press, Edinburgh**, 4: 503-504 (1972).

Day, A.J., Williamson, G., "Biomarkers for exposure to dietary flavonoids: a review of the current evidence for identification of quercetin glycosides in plasma", **Br J Nutr.**, 86: 105-110 (2001).

Dellabona, P., Moro, M., Crosti, M.C., Casorati, G., Corti, A., "Vascular attack and immunotherapy: a 'two hits' approach to improve biological treatment of cancer", **Gene Therapy**, 6: 153-154 (1999).

De Stefani, E., Boffetta, P., Deneo-Pellegrini, H., et al., "Dietary antioxidants and lung cancer risk: a case control study in Uruguay", **Nutr Cancer**, 34: 100-110 (1999).

Doğan, M., Akbulut, H., "Kolonorektal kanserde adjuvan tedavi", **T. Klinikleri Tıbbi Onkoloji Özel Dergisi**, 2 (3): 49-57 (2009).

Dosquet C, Schaetz A, Faucher C, Lepage E, Wautier JL, Richard F, et al. Tumor necrosis factor- α , IL-1 β and IL-6 in patients with renal cell carcinoma. **Eur J Cancer**; 30: 162-167 (1994).

Dranoff, G., "Cytokines in Cancer Pathogenesis and Cancer Therapy", **Nat. Rev. Cancer**, 4: 11-22 (2004).

Dube, C., Rostom, A., Lewin, G., et al., "The Use of Aspirin for Primary Prevention of Colorectal Cancer: A Systematic Review Prepared for the U.S. Preventive Services Task Force", **Ann Intern Med**, 146: 365-375 (2007).

Dustin, M.L., Springer, T.A., "T-Cell Receptor Cross-Linking Transiently Stimulate Adhesiveness Through LFA-1", **Nature**, 341: 619-634 (1989).

Ealey, KN., Archer, MC., "Elevated circulating adiponectin and elevated insulin sensitivity in adiponectin transgenic mice are not associated with reduced susceptibility to colon carcinogenesis", *Int J Cancer.*, 124: 2226-30 (2009).

Edwards, B.K., Howe, H.L., Ries, L.A.G., et.al., "Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1973–1999, Featuring Implications of Age and Aging on U.S. Cancer Burden", *Cancer.*, 94: 2766-92 (2002).

Erarslan, E., Turkay, C., Koktener, A., Koca, C., Bavbek, N., "Association of visceral fat accumulation and adiponectin levels with colorectal neoplasia", *Dig Dis Sci.*, 54: 862-8 (2009).

Fajas, L., Debril, M.B., Auwerx, J., "Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: from adipogenesis to carcinogenesis", *J Mol Endocrinol.*, 27: 1-9 (2001).

Fischer M.A., "Veronica L. In Davis PH (eds) Flora of Turkey and the East Aegean Islands", 6: 689-753 (1978).

Fogh, J., Fogh, J.M., Orfeo, T., "One Hundred and Twenty Seven Cultured Human Tumor Cell Lines Producing Tumors in nu Mice", *J. Natl. Cancer Inst.*, 59: 221-226 (1977).

Fogh, J., Wright, W.C., Loveless, J.D.,(beer) "Absence of Hela Cell Contamination in 169 Cultures Derived from Human Tumors", *J. Natl. Cancer Inst.*, 58: 209-226 (1977).

Frontela-Saseta, C., Lopez-nicolas, R., Gonzalez-Bermudez, C.A., Martinez-Gracia,C., Ros-Berruezo, G., "Anti-inflammatory properties of fruit juices enriched with pine bark extract in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium: The effect of gastrointestinal digestion", *Food and Chemical Toxicology.*, 53: 94-99 (2013).

Fujita, N., Okamoto, Y., Gotoh, Y., Yada, Y., Suzuki, Y., Ando, T., Togari, H., Nishida, M., "Serum evaluation of the balance between soluble interleukin–2 and interleukin–4 receptors", *Cytokine.*, 32: 143–148 (2005).

Gabay, C., Kushner, I., "Acute-phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation", *The New Eng J Med.*, 340: 448-454 (1999).

Gackowska, L., Dzierzanowska, D., "Combined Effect of Different Lactic Acid Bacteria Strains on the Mode of Cytokines Pattern Expression in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells", *J. Physiol. Pharmacol.*, 57: 13-21 (2006).

Garcia-Closas, R., Agudo, A., Gonzalez, C.A., Riboli, E., "Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain", *Nutr Cancer.*, 32: 154 -8 (1998).

Goderska, K., Nowak, J., Czamecki, Z., "Comparison of the Growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* Species in Media Supplemented with Sdelected Saccharides Including Prebiotics", *Acta. Sci. Technol. Aliment.*, 7(2): 5-20 (2008).

Garow, D., "Metabolic syndrome is a risk factor for colorectal cancer in the United States", *American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting.*, (2008).

Greenberg, A.S., Nordan, R.P., McIntosh, J., Caluo, J.C., Scow, P.O., Jablons, D., "Il-6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes : A possible role for Il-6 in cancer cachexia", *Cancer Res.*, 52: 4113-4116 (1992).

Grivennikov, S., Karin, M., "Autocrine IL-6 Signalling a Key Event in Tumorigenesis?", *Cancer Cell.*, 13: 7-9 (2008).

Gilis, S., Williams, D.E., "Cytokine Therapy: Lessons Learned and Future Challenges", *Current Opinion in Immunol.*, 10: 501-503 (1998).

Giovannucci, E., Ascherio, A., Rimm, E.B., et, al., " Physical Activity, Obesity and Risk for Colon Cancer and Adenoma in Men", *Ann Intern Med.*, 122: 127 (1995).

Giovannuchi, E., "Insulin, Insulin-like Growth Factors and Colon Cancer: A Review of the Evidence", *J Nutr.*, 131: 3109-20 (2001).

Gönüllü, G., Kahraman, H., Bedir, A., Bektas, A., Yücel, İ., "Association between adiponectin, resistin, insulin resistance, and colorectal tumors", *Int J Colorectal Dis.*, 25: 205-12 (2010).

Göral, V., "Kolorektal Polipler ve Polipozis Sendromları"*Güncel Gastroenteroloji.*, 7: 32-40 (2003).

Güner, A., Özhatay, V., Ekim, T., Başer, K.H.C., "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", *Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.*, 2: 142 (2000).

Han, S., Co, K., Lee, C.K., Song, Y., Park, S.H., Ha, N.J., Kim, K., "Enhancement of Antigen Presentation Capability of Dendritic Cells and Activation of Macrophages by the Components of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* SPM 1204", *Appl. Pharmacol.*, 14: 174-180 (2005).

Hatada, K., Miki, C., "Nutritional Status and Postoperative Cytokine Response in Colorectal", *Cancer Patients Cytokine.*, 12: 1331-1336 (2000).

Hawk, E.T., Limburg, P.J., Viner, J.L., "Epidemiology and Prevention of Colorectal Cancer", *Surg Clin N Am.*, 82: 905-41 (2002).

Heinrich, PC., Behrmann, I., Haan, S., et. al., " Principles of IL-6-type signaling and its regulation ", **Biochem J.**, 374 (1): 1-20 (2003).

Herrnstadt, I., Heyn, C.C.," *prangos lindl.* In Davis (eds) flora of Turkey and the Eaegean Islands"., Edinburgh U. Press Edinburgh., 4: 382-387 (1972).

Hirano, T., Gotoh, M., Oka, K., "Natural flavonoids and lignans are potent cytostatic agents against human leukemic HL-60 cells", **Life Sci.**, 55: 1061-1069 (1994).

Hirvonen, T., Virtamo, J., Korhonen, P., Albanes, D., Pietinen, P., "Flavonol and flavone intake and the risk of cancer in male smokers (Finland)", **Cancer Causes Control.**, 12: 789 -96 (2001).

Horuk, R., "The Interleukin 8 Receptor Family: from Chemokines of Malaria", **Immunol.**, 15: 169-174 (1994).

Huang, S, "Regulation of Tumor Growth and Metastasis by Interleukin-10: the Melanoma Experience", **J. Interferon. Cytokine Res.**, 19: 697-703 (1999).

İnternet : Türkiye Bitkileri Veri Servisi "TÜBİVES"

<http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=1&tax> (2013).

Itharat, A., Ooraikul, B., "Research on Thai medicinal plants for cancer treatment", 287-317 (2007).

Jee, S.H., Ohrr, H., Sull, J.W., Yun, J.E., Ji, M., Samet, J.M., "Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women", **JAMA.**, 293: 194-202 (2005).

Jemal, A., Siegel, R., Ward,E., et.al., "Cancer Statistics", **CA Cancer J Clin.**, 56: 106-30 (2006).

Kang, TH., Pae, HO., Yoo, JC., Kim, NY., Kim, YC., Ko, GI., et al., "Antiproliferative Effect of Alkaloids from Sedum Sarmentosum On Murine and Human Hepatoma Cell Line", **J Ethnopharmacol.**,70 (2): 177-182 (2000).

Karahasanoğlu, T., Göksoy, E., Uzunismail, H., " Kolorektal Kanserler: Tanı ve Cerrahi Tedavi", **Gastrointestinal sistem hastalıkları 'nda. i.Ü.istanbul; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Sempozyum Dizisi.**, 23: 271-9 (2001).

Kazeroni, T., Mousavizadeh, K., Abdollahee, A., Sarkarian, M., Satar, A., "Abortifacient Effect of *Prangos ferulacae* On Pregnant Rats", **Contraception.**, 37: 554-556 (2006).

Keller, MB., Lavori, PW., Kane, JM., Gelenberg, AJ., Rosenbaum, JF., Walzer, EA., Baker, LA., "Subsyndromal symptoms in bipolar disorder. A comparison of standard and low serum levels of lithium", **Arch Gen Psychiatry.**, 49: 371-376 (1992).

Kelly WN et al.(eds)., "Textbook of Rheumatology 4th Ed.", **Philadelphia.W.B. Saunders.**, Chapter 13 (1992).

Kendal, WS., Nicholas, G., "A Population-based Analysis of Second Primary Cancers After Irradiation for Rectal Cancer ", **Am J Clin Oncol.**, 30:333-9 (2007).

Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., et al., "Flavonoid intake and risk of chronic diseases", **Am J Clin Nutr.**, 76: 560 -8 (2002).

Khan, G., Merajver, S., "Copper chelation in cancer therapy using tetrathiomolybdate: an evolving paradigm", **Expert Opin Investig Drugs.**, 18(4): 541-548 (2009).

Khaw, KT., Wareham, N., Bingham, S., Luben, R., Welch, A., Day, N., "Preliminary communication: glycated hemoglobin, diabetes, and incident colorectal cancer in men and women: a prospective analysis from the European prospective investigation into cancer-Norfolk study", **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 13: 915-9 (2004).

Klebanoff, S.J., Vadas, M.A., Harlan, Harlan, J.M., "Anti-Cachetin TNF Monoclonal Antibodies Prevent Septic Shock During Lethal Bacteremia", **Nature.**, 330: 662-664 (1987).

Kinzler, KW., Vogelstein, B., "Lessons from hereditary colorectal cancer", **Cell.**, 87: 159-170 (1996).

Kronfol, Z., Hamdan, Allen, G., Black, D.W., "Fever and leukocytosis: physical manifestations of bipolar affective disorder. Prog Neuro-psychopharmacol", **Biol Psychiatr.**, 12: 887-891 (1988).

Kronfol, Z., House, JD., "Immune function in mania", **Biol Psychiatr.**, 24: 341-343 (1988).

Kronfol, Z., Remick, DG., "Cytokines and the brain: Implications for clinical psychiatry", **Am J Psychiatry.**, 157: 683-694 (2000).

Knekt, P., Jarvinen, R., Seppanen, R., Hellewaara, M., Teppo, L., Pukkala, E., Aromaa, A., "Dietary Flavonoids and The Risk of Lung Cancer and Other Malignant Neoplasms, **Am J Epidemiol.**, 146: 223–230 (1997).

Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., Aromaa, A., "Flavonoid Intake and Risk of Chronic Diseases, **Am J Clin Nutr.**, 76: 560–568 (2002).

Kozan, O., Oğuz, A., Abacı, A., Erol, C., Öngen, Z., Temizhan, A., Çelik, S., "Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults", **Eur J Clin Nutr.**, 61: 548-53 (2007).

Köşüş, A., Ateş, M., Köşüş, N., " Alt Gastrointestinal Sistem Belirtileri ile Başvuran Kadınlarda Endoskopi Bulguları ", *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*, 28: 635-9 (2008).

Kumar V, et al (eds)., "Basic Pathology 5th Ed. Philadelphia", *W.B. Saunders Sf.*, 25-40 (1995).

Kundu, N., "Antimetastatic and Antitumor Activities of Interleukin 10 in a Murine Model of Breast Cancer", *J. Natl. Cancer Inst.*, 88: 536-541 (1996).

Kwon, **K.B.**, Park, **B.H.**, Ryu, **D.G.**, "Chemotherapy through mitochondrial apoptosis using nutritional supplements and herbs: A brief overview", *J Bioenerg Biomembr.*, 1: 31-34 (2007).

Lakatos, L., Mester, G., Erdelyi, Z., et al., "Risk Factors for Ulcerative Colitis-Associated Colorectal Cancer in a Hungarian Cohort of Patients with Ulcerative Colitis; Results of a Population-based Study", *Inflamm Bowel Dis.*, 12: 205-11 (2006).

Lammers, K.M., Helwig, U., Swennen, E., Rizzelo, F., Venturi, A., Caramelli, E., Kamm, M.A., Brigidi, P., Gionchetti, P., Campieri, M., "Effect of Probiotics Strains on Interleukin 8 Production by HT29/19A Cells", *The American J. Gastroenterol.*, 97(5): 1182-1186 (2002).

Leblebici E., "*Cyclotrichum* (Boiss.) Manden. And Scheng, in Davis PH (eds) Flora of Turkey and the East Aegean Islands", *Edinburgh U. Press Edinburgh.*, 7: 346-349 (1982).

Lee, G.E., Park, HS., Yun, KE., Jun, SH., Kim, HK., Cho, Sİ., Kim, JH., "Association between BMI and metabolic syndrome and adenomatous colonic polyps in Korean men", *Obesity.*, 16: 1434-9 (2008).

Le Marchand, L., Murphy, S.P., Hankin, JH., Wilkens, LR., Kolonel, LN., "Intake of flavonoids and lung cancer", *J Natl Cancer Inst.*, 92: 154-160 (2000).

Le, M.L., Murphy, S.P., Hankin, J.H., "Wilkens LR, Kolonel LN. Intake of flavonoids and lung cancer", *J Natl Cancer Inst.*, 92: 154 -60 (2000).

Lewinson, W., Jawetz, E., "Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji", 5 Ed. Çeviri Editörü: İsmail H Dündar, İstanbul, *Barış Kitabevi/Appleton ve Lange.*, 327-400 (1998).

Lewis, D.B., "Host Defense Mechanisms Against Bacteria, Fungi, Viruses and Nonviral Intercellular Pathogens", Polin AR, Fox WW Ets. Fetal and Neonatal Physiology, Philadelphia, *WB Saunders Company.*, 1869-1919 (1998).

Limdi, K.J., McLaughlin, O.C., "Do Probiotics Have a Therapeutic Role in Gastroenterology?", *World J. Gastroenterol.*, 12 (34): 5447-5457 (2006).

Lin E, Calvono E, Lowry SF., "Inflammatory Cytokines and Cell Response in Surgery", *Surgery.*, 127 (2): 117-126 (2000).

Lin, M.T., Juan, C., Chang, K., Chen, W., Kuo, M., "IL-6 Inhibits Apoptosis and Retains Oxidative DNA Lesions in Human Gastric Cancer AGS Cells Through Up-Regulation of Antiapoptotic Gene Mcl-1", *Carcinogen.*, 22 (12): 1947-1953 (2001).

Loizzo, M.R., Tundis, R., Hawas, U.W., Rashed, K., Menichini, F., Frega, N.G., "Menichini. Antioxidant and Antiproliferative Activity of *Diospyros lotus* L. Extract and Isolated Compounds ", *Plant,Foods Hum Nutr.*, 64: 264-270 (2009).

Martin, F., Santolaria, F., Batista, N., Milena, A., Gonzalez-Reimers, E., Brito, MJ, et al., " Cytokine levels (IL-6 and IFN-gamma), acute phase response and nutritional status as prognostic factors in lung cancer ", *Cytokine.*, 11: 80-86 (1999).

Matijasic, B.B., Narat, M., Zoric, M., "Adhesion of two Lactobacillus gasseri Probiotic Strains on Caco-2 Cells", *Food Technol. Biotechnol.*, 41 (1): 83-88. (2003).

Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., Velasco, R., "Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins", *J Agric Food Chem.*, 54: 7692-702 (2006).

Menichini, F., Conforti, F., Rigano, D., Formisano, C., Piozzi, F., Senatore, F., " Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four *Teucrium* essential oils from Greece", *Food Chemistry.*, 115: 679-686 (2009).

Milbury, P.E., Richer, A.C., "Understanding the antioxidant controversy: Scrutinizing the fountain of youth 1st ed", *Praeger.*, 32-77 (2008).

Mohemad-Ali, V., Goodrick, S., Rawesh, A., Katz, DR., Miles, JM., Yudkin, JS., Klein, S., " Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumour necrosis factor- α in vivo ", *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.*, 82: 4916-4200 (1997).

Molassiotis, A., Fernandez-Ortega, P., Pud, D., Ozden, G., Scott, J. A., Panteli, V. et al., " Use of Complementary and Alternative Medicine in Cancer Patients: A European Survey", *Annals of Oncology.*, 16 (4), 655–663 (2005).

Morita, H., He, F., Fuse, T., Ouwehand, AC., Hashimoto, H., Hosoda, M., Mizumachi, K., Kurisaki, J., "Adhesion of Lactic Acid Bacteria to Caco-2 Cells and Their Effect on Cytokine Secretion", *Microbiol. Immunol.*, 46 (4): 293-297 (2002).

Moore, LL., Bradlee, M.L., Singer, MR., Splansky, G.L., Proctor, M.H., Ellison, RC., Kreger, BE., "BMI and waist circumference as predictors of lifetime colon cancer risk in Framingham Study adults", *Int J Obes Relat Metab Disord.*, 28: 559-67 (2004).a

D. Çekin, M., Altuncan, F., Yakut, A., Z. Tınmaz, M., "Bitkilerle tedavi sempozyumu 5-6 haziran 2010 zeytinburnu", *Merkezefendi geleneksel tıp derneği.*, (2011).

Murphy, TK., Calle, EE., Rodriguez, C., Kahn, HS., Thun, MJ., "Body mass index and colon cancer mortality in a large prospective study", *American Journal of Epidemiology.*, 152: 847-54 (2000).

Newman D. J., CraggG. M., "Natural Products as Sources of New Drugs Over the Last 25 Years", *Journal of Natural Products.*, 70(3), 461–477 (2007).

Nicum, S., Midgley, R., Kerr , DJ., " Colorectal Cancer", *Acta Oncol.*, 42 (4): 263-275 (2003).

Nikiteas, NI., Tzanakis, N., Gazouli, M., ET., et al., " Serum IL-6, TNFalpha and CRP Levels in Greek Colorectal Cancer Patients: Prognostic Implications", *World J Gastroenterol.*, 11: 1639-1643 (2005).

Oka, M., Yamamoto, K., Takahashi, M., Hakozaiki, M., Abe, T., et al., "Relationship between serum levels of IL-6, various disease parameters and malnutrition in patients with esophageal squamous cell carcinoma", *Cancer Res.*, 56: 2776-2780 (1996).

Onat, A., Hergenç, G., Can, G., "Prospective validation in identical Turkish cohort of two metabolic syndrome definitions for predicting cardiometabolic risk and selection of most appropriate definition", *Anadolu Kardiyol Derg.*, 7: 29-34 (2007).

Pais, R., Silaghi, H., Silaghi, AC., Rusu, ML., Dumitrascu, DL., "Metabolic syndrome and risk of subsequent colorectal cancer", *World J Gastroenterol.*, 15: 5141-8 (2009).

Paul H. Black., "The inflammatory response is an integral part of the stress response Implications for atherosclerosis, insulin resistance, type II diabetes and metabolic syndrome X. Brain", *Behavior and Immunity.*, 17: 350-364 (2003).

Peres, V.E., Moura, D.J., Sperotto, A.R.M., Damasceno, F.C., Caramao, E.B., Zini, C.A., Saffi, J., "Chemical Composition and Cytotoxic, Mutagenic and Genotoxic Activities of the Essential Oil from Piper *Gaudichaudianum* Kunth Leaves", *Food Chem. Toxicol.*, 47: 2389-2395 (2009).

Pischon, T., Lahmann, PH., Boeing, H., Friedenreich, C., Norat, T., Tjønneland, A., Halkjaer, J., Overvad, K., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, MC., Guernec, G.,

Bergmann, MM., Linseisen, J., Becker, N., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Sieri, S., Palli, D., Tumino, R., Vineis, P., Panico, S., Peeters, PH., Bueno-de-Mesquita, HB., Boshuizen, HC., Van Guelpen, B., Palmqvist, R., Berglund, G., Gonzalez, CA., Dorronsoro, M., Barricarte, A., Navarro, C., Martinez, C., Quirós, JR., Roddam, A., Allen, N., Bingham, S., Khaw, KT., Ferrari, P., Kaaks, R., Slimani, N., Riboli, E., "Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC)", **J Natl Cancer Inst.**, 98: 920-31 (2006).

Pucci, S., Paola, M., Fabiola, S., David, B.A., Luigi, S.G., "Interleukin-6 Affects Cell Death Escaping Mechanisms Acting on Bax-Ku70-Clusterin Interactions in Human Colon Cancer Progression", **Cell Cycle.**, 8 (3): 473-481 (2009).

Raison, C.L., Pearce, B.D., Miller, A.H., "Immune system and Santral Nervous System Interactions in Kaplan and Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry", **8th edition Vol I (eds: Sadock BJ, Sadock VA) Lippincott Williams and Wilkins Co.Philadelphia.**, 137–161 (2005).

Rawlings, JS., Rosler, KM., Harrison, DA., "The JAK/STAT signaling pathway", **J Cell Sci.**, 117 (8): 1281-1283 (2004).

Reid, G., Bruce, A.W., "Probiotics to Prevent Urinary Tract Infections: The Rationale And Evidence", **World J. Urol.**, 24: 28-32. (2006).

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., "Flavonoids: Promising Anticancer Agents", **Medicinal Research Reviews.**, 23 (4): 519-534 (2003).

Rochat, T., Bermudez-Humaran, L., Gratadoux, J., Fourage, C., Hoebler, C., Corthier, G., Langella, P., "Anti-inflammatory Effects of Lactobacillus casei BL 23 Producing or not a Manganese-Dependent Catalase On DSS-Induced Colitiis in Mice", **Microb. Cell Fact.**, 6: 22-31 (2007).

Sagar, S.M., Yance, D., Wong, R.K., "Natural health products that inhibit angiogenesis: a potential source for investigational new agents to treat cancer_Part 1", **Current Oncology.**, 13 (1): 14-26 (2005).

Sağlık Bakanlığı-Kanser İstatistikleri, **SB-Kanser Dairesi Başkanlığı Ankara** ., (2012).

Saito, T., "Selection of Useful Probiotic Lactic Acid Bacteria from the *Lactobacillus acidophilus* Group and Their Applciations to Functional Foods", **Animal Science J.**, 75: 1-13 (2004).

Sambury, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M.L., Stamatii, A., Zucco, F., "The Caco-2 Cell Line as a Model of the Intestinal Barrier: Influence of Cell and Culture Related Factors on Caco-2 Cell Functional Characteristics", **Cell Biol. Toxicol.**, 21: 1-26 (2005).

Samlaska, P., Winfireld, E.A., "Pentoxifylline" *J. Am. Acad. Dermatol.*, 30: 603-621 (1994).

Sartor, B.R., "Therapeutic Manipulation of the Enteric Microflora in Inflammatory Bowel Diseases: Antibiotics, Probiotics, and Prebiotics" *Amer. Gastroenterol. Assoc.*, 126: 1620-1633 (2004).

Saydah, SH., Platz, EA., Rifai, N., Pollak, MN., Brancati, FL., Helzlsouer, KJ., "Association of markers of insulin and glucose control with subsequent colorectal cancer risk", *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 12: 412-8 (2004).

Schiffrin, E.J., Blum, S., "Interactions Between the Microbiota and the Intestinal Mucosa", *Microb. Cell Fact.*, 56 (3): 60-64 (2002).

Sertkaya, AÇ., "Obezite ve malignite", *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci.*, 1: 56-60 (2005).

Shaikh, J., Uddin, I., Grice, D., Tiralongo, E., "Cytotoxic Effects of Bangladeshi Medicinal Plant Extracts", *eCAM.*, 1- 6 (2009).

Shan, B.E., Wang, M.X., Li, R.Q., "Quercetin Inhibit Human SW480 Colon Cancer Growth in Association with Inhibition of Cyclin D1 and Survivin Expression through Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway", *Cellular and Molecular Biology.*, 27: 604-612 (2009).

Sheil, B., Shanathan, F., O'Mahony, L., "Probiotic Effects on Inflammatory Disease", *The J. Nutr.*, 137: 819-824 (2007).

Shikishima, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O.K., Ashurmetov, O. and Lee, K., "Chemical Constituents of *Prangos tschimganica*; Structure Elucidation and Absolute Configuration of Coumarin and Furanocoumarin Derivatives with Anti-HIV Activity", *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.*, 49: 877- 880 (2001).

Siddique, M.M.A., Abueida E.Y., Abulkhair M, Qasim S.S., "Validation of an Isocratic HPLC Assay of Gabapentin in Pharmaceutical Formulations and Stress Test for Stability of Drug Substance", *Der Pharmacia Lettre.*, 3 (4): 342-350 (2011).

Skibber, J.M., Minsky, B.D., Hoff, P.M., Vincent T.DeVita, Jr., Hellman, S., Rosenberg, S.A., "Cancer Principles & Practice of Oncology 6th edition", 1256-1260 (2001).

Strassmann, G., Fong, M., Kenney, JS., Jacob, CO., "Evidence for the involvement of IL-6 in experimental cancer cachexia", *J Clin Invest.*, 89: 1681-1684 (1992).

Uehara, H., "Expression of Interleukin-Gene in Radicalprostatectomy Specimens is Associated with Advanced Pathologic Stage", **Prostate**, 64: 40-49 (2005).

Tada, Y., Shikishima, Y., Takaishi, Y., Shibata, H., Higuti, T., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K. Ashurmetov, O. and Ohmoto. Y., "Coumarins and γ -pyrone Derivatives from *Prangos pabularia*: Antibacterial Activity and Inhibition of Cytokine Release", **Phytochemistry**, 59: 649-654 (2002).

Tamakoshi, K., Toyoshima, H., Wakai, K., Kojima, M., Suzuki, K., Watanabe, Y., Hayakawa, N., Yatsuya, H., Kondo, T., Tokudome, S., Hashimoto, S., Suzuki, S., Kawado, M., Ozasa, K., Ito, Y., Tamakoshi, A., "Leptin is associated with an increased female colorectal cancer risk: a nested case-control study in Japan", **Oncology**, 68: 454-61 (2005).

T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı, " Kanser Erken Teşhis ve Tarama Merkezleri Yönetmeliği " **KSDB 49**, (2008).

T.C. Sağlık Bakanlığı . Türkiye’de Sağlığa Bakış , Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı , **Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü** ., 710 (2007).

Terrero, M.N., Li, S., "Growth factor receptors: targets for gene therapy and immunotherapy for cancer treatment", **Gene Ther Mol Biol**, 8: 175-180 (2004).

Theodoratou, E., Kyle, J., Cetnarskyj, R., " Dietary Flavonoids and the Risk of Colorectal Cancer", Cancer Epidemiology, **Biomarkers & Prevention**, 16: 684 (2007).

Tinmouth, J., Ritvo, P., McGregor, S.E., " Colon Cancer Check Primary Care Invitation Pilot Project: Family Physician Perceptions", **Can Fam Physician**, 58: 570-7 (2012).

Trevisan, M., Liu, J., Muti, P., Misciagna, G., Menotti, A., Fucci, F., "Risk Factors and Life Expectancy Research Group. Markers of insulin resistance and colorectal cancer mortality" , **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 10: 937-41 (2001).

Trouillas, patrick., Calliste, C.A., Allais, D.P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., Duroux, J.L., " Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas", **Food Chemistry**, 80: 399-407 (2003).

Türkiye Hastalık Yüğü Çalışması 2004. Editörler: Ünüvar, N., Mollahaliloğlu, S., Yardım, N., "RSHMB Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü yayını, **Aydoğdu Ofset Matbaacılık** ", (2) 17-23 (2007).

Van der Poll, T., Jansen, J., Van Leenen, D., Van der Mohlen, M., Levi, M., Ten Cate, H., Gallati, H., Ten Cate, J.W., Van Deventer, S.J., " Release of soluble

receptors for tumor necrosis factor in clinical sepsis and experimental endotoxemia" , *J Infect Dis.*, 168: 955-960 (1993).

Van Deuren, M., Frieling, JT., Van der Ven-Jongekrijg, J., Neeleman, C., Russel, FG., Van Lier, HJ., Barte link, AK., Van der Meer, JW., " Plasma patterns of tumor necrosis factoralpha (TNF) and TNF soluble receptors during acute meningococcal infections and the effect of plasma exchange " , *Clin Infect Dis.*, 26: 918-923 (1998).

Vannucci, L., Stepankova, R., Grobarova, V., Kozakova, H., Rossmann, P., Klimesova, K., Benson, V., Sima, P., Fiserova, A., Tlaskalova-Hogenova, H., "Colorectal Carcinoma: Importance of Colonic Environment for Anti-Cancer Response and Systemic Immunity", *J. Immunotoxicol.*, 6 (4): 217-226 (2009).

Van Snick, J., "Interleukin 6 an Overview", *Ann. Rev. Immunol.*, 8: 253-278 (1990).

Van Zee, KJ., Kohno, T., Fischer, E., Rock, CS., Moldawer, LL., Lowry, SF., "Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo" , *Proc Natl Acad Sci.*, 89: 4845-4849 (1992).

Vapiwala, N., Mick, R., Hampshire, M., Metz, J., DeNittis, A., "Patient Initiation of Complementary and Alternative Medical Therapies (CAM) Following Cancer Diagnosis", *Cancer Journal.*, 12 (6): 467-474 (2006).

Verma, A.K., Johnson, J.A., Gould, M.N., Tanner, M.A., "Inhibition of 7,12-Dimethylbenz(a) Anthracene- and N-nitrosomethylurea-Induced Rat Mammary Cancer By Dietary Flavonol Quercetin", *Cancer Res.*, 48: 5754-5758 (1988).

Vincenzi, B., Santini, D., Russo, A., Gavasci, M., Battistoni, F., Dicuonzo, G., Rocci, L., Rosaria, VM., Gebbia, N., Tonini, G., "Circulating VEGF reduction, response and outcome in advanced colorectal cancer patients treated with cetuximab plus irinotecan", *Pharmacogenomics.*, 8 (4): 319-27 (2007).

Wang, B., Li, J., Chen, J., Huang, Q., Li, N., Jieshou L., "Effect of Live Lactobacillus Plantarum L2 on TNF-alpha-Induced MCP-1 Production in Caco-2 Cells", *Intern J Food.*, 142: 237-241 (2010).

Watanabe, S., Mu, W., Kahn, A., Jing N., Li JH, Lan, HY., et al, " Role of JSK/STAT payhway in IL-6- induced activation of vascular smooth muscle cells ", *Am J Nephrol.*, 24 (4): 387-392 (2004).

Wei, EK., Giovannucci, E., Fuchs, CS., Willett, WC., Mantzoros, CS., "Low plasma adiponectin levels and risk of colorectal cancer in men: A prospective study", *JNatl Cancer Inst.*, 97: 1688-94 (2005).

WHO., "58th World Health Assembly approved resolution on cancer prevention and control WHA58.22", **Geneva: World Health Organization.**, (2005).

Wollowski, I., Rechkemmer, G., Pool-Zobel, B.L., "Protective Role of Probiotics and Prebiotics in Colon Cancer", **Am. J. Clin. Nutr.**, 73: 451-455 (2001).

Xie, K., "Interleukin-8 and Human Cancer Biology", **Cytokine Growth Factor Rev.**, 12: 375-391 (2001).

Yıldız, İ., "Kanserli Hastalarda Tamamlayıcı-Alternatif Tedavi Kullanımı",Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul (2006).

Zern, TL., Wood, RJ., Greene, C., "Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress", **J Nutr.**, 135: 1911-7 (2005).

Zhang, L., Li, N., Caicedo, R., Neu, J., "Alive and Dead *Lactobacillus Rhamnosus* GG Decrease Tumor Necrosis Factor-Alpha Induced Interleukin-8 Production in Caco-2 Cells", **J. Nutr.**, 135: 1752-1756 (2005).

Zuckerman, D.S., Clark, J.W., "Systemic Therapy for Metastatic Colorectal Cancer", 1;112 (9): 1879-91 (2008).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ROSTAMI, Sina
 Uyrugu : IRAN
 Dogum tarihi ve yeri : Naghadeh, 01.11.1984
 E-posta : sina_rostami_1984@yahoo.com

Eğitim Bilgileri

Derece	Eğitim birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı-Biyoteknoloji	2013
Lisans	Zencan Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü	2010

Yabancı Dil

İngilizce

Türkçe

Uluslararası Kongreler

- 1) **Rostami, S.**, Aslim, B., Aytac, Z., 2012. ANTI-CARCINOGENIC AND INHIBITORY EFFECTS ON CYTOKINE SECRETION OF *VERONICA LYCICA* E.LEHM. IN HUMAN COLON CANCER CELL LINE. 60th International congress on natural products research, Global change, natural products and human health. PI338:1220, July 28 to August 1, 2012, New York, USA.
- 2) **Rostami, S.**, Aslim, B., Duman, H., 2012. IN VITRO ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-PROLIFERATIVE EFFECTS OF *PRANGOS PLATYCHLOENA* BOISS.EX TCHIH. ON COLORECTAL

CANCER CELL LINE. 60th International congress on natural products research, Global change, natural products and human health. PI303:1212, July 28 to August 1, 2012, New York, USA.

- 3) **Rostami, S.**, Oke-Altuntas, F, Aslim, B., Duman, H., 2011. ANTICARCINOGENIC EFFECT OF *CYCLOTRICHUM ORIGANIFOLIUM* ON HUMAN COLORECTAL CANCER CELL LINE AND ASSOCIATING WITH ITS ANTIOXIDATIVE PROPERTIES. 59th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, Planta Medica, 77:1372. 4th-9th September 2011, Antalya, Turkey.