



T.C.

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

***Morus alba* L. YAPRAK EKSTRAKTLARININ CACO-2
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN
ANTİOKSİDAN AKTİVİTE İLE BİRLİKTE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Elif ŞENTÜRK

Çorum 2021

***Morus alba* L. YAPRAK EKSTRAKTLARININ CACO-2 HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE
İLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif ŞENTÜRK

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Moleküler Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı**

Yüksek Lisans Tezi

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Emre AVCI

Çorum 2021

Elif ŞENTÜRK tarafından hazırlanan “Morus Alba L. Yaprak Ekstraktlarının CACO-2 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkinliğinin Antioksidan Aktivite ile Birlikte Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 27/12/2021 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Gülçin AKÇA

.....

Doç. Dr. Emre AVCI

.....

Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI

.....

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../..... tarih ve sayılı kararı ile’ın Anabilim Dalında Yüksek Lisans/Doktora derecesi alması onanmıştır.

(İmza)

Unvanı Adı SOYADI

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

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 beyan ederim.

Elif ŞENTÜRK



***Morus alba* L. YAPRAK EKSTRAKTLARININ CACO-2 HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ
SİTOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE İLE BİRLİKTE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif ŞENTÜRK

ORCID: 000-0002-6136-6300

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans

Aralık 2021

ÖZET

Tıbbi bitkiler, türevli ilaçlar ve tedavi metotlarıyla ilgili araştırmalar bitkilerin kullanım şeklini, alanını ve etki mekanizmasını belirlemek açısından önemli bir yere sahiptir. Tıbbi bitkiler çoğu toplumda çeşitli sebeplerle kullanılmaktadır. Aynı zamanda da ilaç endüstrisinde ciddi bir öneme sahiptir. Tıbbi açıdan önemli olduğu bilinen bitkilerden biri de *Morus alba* L.' dir. Çalışmamızda Bolu ve Çorum illerinden toplanan *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının kolon kanser hücre hattı (Caco-2) üzerindeki sitotoksik etkinliğinin antioksidan aktivite ile birlikte değerlendirilmesi amaçlandı. Ekstraktların Caco-2 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkinliği 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) sitotoksikite deneyleri ile antioksidan aktivite çalışmaları 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve total antioksidan seviye (TAS) spektrofotometrik yöntemler ile araştırıldı. Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının Caco-2 hücre üzerinde konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak değişen oranlarda sitotoksik etkinlikten çok proliferatif etkinliğe ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Çalışma sonuçlarımız ile, tıbbi bitkilerden yararlanılırken mutlaka üzerinde bilimsel çalışmalar yapılmış, verileri kanıtlanmış ve konsantrasyonları belirlenmiş ürünlerin kullanılması hususu vurgulanmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Morus alba* L., Caco-2, Sitotoksikite, Antioksidan Aktivite.

EVALUATION OF THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF *Morus alba* L. LEAF EXTRACT ON CACO-2 CELLS WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY

Elif ŞENTÜRK

ORCID: 000-0002-6136-6300

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Master of Science

December 2021

ABSTRACT

Research on medicinal plants, derivative drugs, and treatment methods have an important place in terms of determining the use, area, and mechanism of action of plants. Medicinal plants are used in many societies for various reasons. At the same time, it has serious importance in the pharmaceutical industry. One of the plants known to be medicinally important is *Morus alba* L. In our study, it was aimed to evaluate the cytotoxic activity on the colon cancer cell line (Caco-2) together with the antioxidant activity of *Morus alba* L. leaf extracts collected from Bolu and Çorum provinces. The cytotoxic activity of the extracts on the Caco-2 cell line was investigated by line 3-4,5-dimethyl-thiazolyl-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) cytotoxicity assays. In antioxidant activity studies, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) and total antioxidant level (TAS) were evaluated by spectrophotometric methods. In line with the data we obtained, it was determined that *Morus alba* L. leaf extracts have proliferative activity and high antioxidant activity rather than cytotoxic activity on Caco-2 cells at varying rates depending on concentration and time. With our study results, it is emphasized that when using medicinal plants, the use of products that have been scientifically studied, whose data have been proven, and whose concentrations have been determined.

Keywords: *Morus alba* L., Caco-2, Cytotoxicity, Antioxidant Activity.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında bana olanak ve destek sağlayan danışman hocam sayın Doç. Dr. Emre AVCI' ya;

Mikrobiyoloji alanında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gülçin Alp AVCI' ya;

Tez Jürisi ve Tez İzleme Kurulu'nda yer alan kıymetli hocalarıma;

Üniversite yıllarım boyunca birçok konuda destek gördüğüm Arş. Gör. Gamze ÇAĞATAY NAMALIR ve Arş. Gör. Tuğba Uysal KILIÇ' a;

Sadece eğitim alanında değil her an yanımda desteklerini hissettiğim beni bu günlere zor demenden büyük uğraşlarla getiren sevgili ailem İsmail Sevinç, Aysel Sevinç ve kardeşlerim; Esra Sevinç, Salih Sevinç'e;

Tez yazım süresinde yaşadığım sıkıntılar karşısında her koşulda yanımda olan hayat arkadaşım Halil Şentürk' e,

Benimle beraber içimde büyüyen mucizem Göktuğ Şentürk'e;

Destek ve moral kaynağı olan Ayşe Şimşek, Osman Şimşek ve Ali Emre Şentürk' e;

Son olarak beni yalnız bırakmayan çalışma arkadaşlarım ve dostlarıma;

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ BİLDİRİMİ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	1
2.1. Tıbbi Önemi Olan Bitkiler	1
2.1.1. <i>Morus alba</i> L.	1
2.1.2. Türkiye’de <i>Morus alba</i> L.....	2
2.1.3. <i>Morus alba</i> L.’nın Besin Değeri	2
2.1.4. <i>Morus alba</i> L. Kullanım Alanları.....	6
2.1.4.1. Sağlık alanında Kullanımı	6
2.2. Antitümoral Aktivite	8
2.2.1. Kanser.....	8
2.2.2. Kanser ve hücre döngüsü	11
2.2.3. Kolon Kanseri	11
2.2.3.2. Epidemiyoloji	12
2.2.3.3. Türkiye’de Kolon Kanseri Epidemiyolojisi	13
2.2.3.4. Etiyoloji	14
2.2.3.5. Kolon kanserinin sınıflandırılması.....	27
2.2.3.6. Kolon Kanserine Yol Açan Etmenler	14
2.2.3.7. Kolon Kanseri Oluşum Mekanizması	15
2.2.4. <i>Morus alba</i> L. Ve Kanser	16
2.2.5. Caco-2 Hücre Modeli.....	17
2.2.6. Hücre Kültürü.....	18

2.2.7. Sitotoksosite.....	19
2.2.7.1. In Vitro Sitotoksosite Testlerinin Değerlendirme Yöntemleri.....	19
2.2.7.1.1. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi.....	19
2.2.7.1.2.Yaşam Değerlendirme Testleri	20
2.2.7.1.3.Hücre Proliferasyon Değerlendirme Testleri.....	20
2.2.7.1.4. Metabolizma Değerlendirme Testleri	21
2.3.Antioksidan Aktivite.....	24
2.2.1. Antioksidan savunma mekanizmaları.....	25
2.2.2. Antioksidanların etki mekanizmaları (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)	25
2.2.3. Antioksidan Aktivite Belirlemede Kullanılan Yöntemler	25
2.2.3.1. Hidrojen Atomu Transfer Yöntemleri (HAT).....	25
2.2.3.2. Elektron Transfer Metotları (ET)	26
2.2.3.3. Diğer Yöntemler.....	26
2.2.4. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	26
2.2.4.1. Doğal antioksidanlar	27
2.2.4.1.1.Tokoferoller	27
2.2.4.1.2. Flavonoidler	27
2.2.4.1.3. Fenolik asitler	29
2.2.4.1.4. Askorbik asit (C Vitamini).....	30
2.2.4.1.5. Karotenoidler	30
2.2.4.2. Yapay antioksidanlar	31
2.2.4.2.1. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)	31
2.2.4.2.2. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA).....	31
2.2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)	32
3. MATERYAL VE METOT.....	33
3.1. Materyal	33
3.1.1.Örnek temini	33
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Hücre Hatları, Malzeme Ve Cihazlar	34
3.2.Metot.....	35
3.2.1. <i>Morus alba</i> L. Yaprak Ekstratlarının Elde Edilmesi	35
3.2.2. Antitümoral Etkinlik Testi.....	36

3.2.3. Antioksidan Aktivite Testi.....	39
3.2.3.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) testi.....	39
3.2.3.2. Total antioksidan seviye (TAS).....	40
3.3. İstatiksel analiz.....	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	42
4.1. <i>Morus alba</i> L. elde etme verileri	42
4.1. Antitümoral etkinlik sonuçları.....	42
4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	46
4.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Aktivitesi Sonuçları	46
4.2.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Değerlendirmesi	47
4.4.Tartışma	48
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	52
6. KAYNAKLAR.....	53

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo

Sayfa

Tablo 2. 1. <i>Morus alba</i> yaprağının bileşenleri (Pirinç, 2020).....	3
Tablo 2. 2. Farklı <i>Morus</i> meyve çeşitlerinin mineral içerikleri (Ünlüer, 2011).....	4
Tablo 2. 3. <i>Morus alba</i> L. yapraklarındaki bazı flavonol glikozitlerin miktarları (Ünlüer, 2011).	4
Tablo 2. 4. Farklı <i>Morus</i> sp. türlerinin bazı fitokimyasal özellikleri (Ünlüer, 2011)	5
Tablo 2. 5. Dört farklı <i>Morus</i> meyvesinin toplam şeker, indirgen şeker indirgen olmayan şeker içeriği (Ünlüer, 2011).....	5
Tablo 2. 6. Türlerin; vitamin C, B2, B3, toplam fenolik ve alkaloid yapı içeriği (Ünlüer, 2011)	5
Tablo 3.1. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Kiti Referans Değerleri.....	41
Tablo 4. 1. <i>Morus alba</i> L. Örnek Temini.....	42
Tablo 4. 2. <i>Morus alba</i> L. yaprağı su ekstraktlarının Total Antioksidan seviyeleri.....	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. Kuwanon G.....	7
Şekil 2. 2. Deoxynojirimycin (DNJ)	7
Şekil 2. 3. Leachianone G.....	7
Şekil 2.4. Kanserin temel özellikleri	8
Şekil 2.5. Kanser hücrelerinin orijinal bölgelerinden vücudun diğer bölgelerine yayıldığı süreç.....	9
Şekil 2.6. Normal ve Kanser Hücresi Arasındaki Fark.....	10
Şekil 2.7. Mutasyon sonrası kanser hücrelerinin gelişimi ve çoğalması	10
Şekil 2.8. Hücre Döngüsü	11
Şekil 2.9. Kolonun anatomisi	12
Şekil 2.10. Yıllara ve Cinsiyete Göre Toplam Kanser İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu	14
Şekil 2.11. Kolorektal kanserlerin sınıflandırılması.....	28
Şekil 2.12. Kolon kanseri gelişiminde Adenom-Karsinom sekansı	28
Şekil 2.13. Polip gelişimi ve kanserleşme.....	16
Şekil 2.14. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) deney reaksiyonu	22
Şekil 2. 15. Reaktif oksijen türlerinin üretiminin çeşitli aktivatörleri ve inhibitörlerinin şematik gösterimi	23
Şekil 2. 16. Normal hücrelerin kanser hücrelerine karşı reaktif oksijen türlerine duyarlılığının modeli.....	24
Şekil 2.17. α - tokoferol.....	27
Şekil 2.18. Flavonoidlerin Genel Yapısı.....	29
Şekil 2.19. Hidroksibenzoik asit.....	29
Şekil 2.20. Hidroksisinnamik asit.....	29
Şekil 2.21. Askorbik asit.....	30
Şekil 2.22. Beta karoten	30
Şekil 2.23. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT).....	31
Şekil 2.24. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)	31
Şekil 3. 1. MTT protokolü.....	38
Şekil 3.2. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Radikali.....	39
Şekil 4.1. Çorum <i>Morus alba</i> L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % canlılık Sonuçları (24 Saat).....	42

Şekil 4.2. Çorum <i>Morus alba</i> L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % canlılık Sonuçları (48 Saat)	43
Şekil 4.3. Çorum <i>Morus alba</i> L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (24 Saat).....	43
Şekil 4.4. Çorum <i>Morus alba</i> L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (48 Saat).....	44
Şekil 4.5. Bolu <i>Morus alba</i> L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (24 saat)	44
Şekil 4.6. Bolu <i>Morus alba</i> L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (48 saat)	45
Şekil 4.7. Bolu <i>Morus alba</i> L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (24 saat)	45
Şekil 4.8. Bolu <i>Morus alba</i> L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (48 saat)	46
Şekil 4.9. Standart Konsantrasyonları Grafiği.....	47

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Morus alba</i> L.	2
Resim 2.2. a) <i>Morus alba</i> ağacının çiçek ve yeni oluşan yaprakları, b) <i>Morus alba</i> poleni (Olympus CX31, 100X)	3
Resim 3.1. Bolu ve Çorum illerinden toplanan <i>Morus alba</i> L. yaprakları (a ve b)	33
Resim 3.2. Soxhlet düzeneğinde <i>Morus alba</i> L. yaprakları.....	35
Resim 3.3. Rotary evaporator	36
Resim 3.4. TC20™ Automated Cell Counter hücre sayım lamı ile canlı ve ölü hücrelerin belirlenmesi	37
Resim 3. 5. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi analiz örneği.....	38
Resim 3. 6. DPPH kiti (Sigma).....	39
Resim 3. 7. Kullanılan TAS kiti (Rel assay)	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: santigrat derece
%	: yüzde
µg	: mikrogram
g	: gram
Kg	: kilogram
ml	: mililitre
nm	: nanometre
pH	: power of Hydrogen
rpm	: dakikadaki devir sayısı
cm²	: santimetrekare
dk	: dakika
Al	: alimünyum
Fe	: demir
Mg	: magnezyum
Na	: sodyum
P	: fosfor
Zn	: çinko
IU	: international unit

KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'-azinobis (3- etil-bezotiazolin 6 sulfonat)
APC	: Adenomatöz Polipozis Koli
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHA	: Bütillenmiş hidroksi toluen
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
Brd4	: Bromodomain-4
BrdU	: 5- bromo-2'-deoxyuridine
CAA	: Hüresel Antioksidan Aktivite
CO2	: Karbondioksit
DM	: Diabetes Mellitus
DMEM	: Dulbec co's Modified Eagle Medium
DMPD	: N,N-dimetil-p-fenilendiamin
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DNJ	: Deoxynojirimycin
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ECL	: Geliştirilmiş kemiluminesans
EDTA	: Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid
Elisa	: Enzyme-Linked İmmunosorbent AssayET
ET	: Elektron Transfer Metotları
FAP	: Ailevi adenomatöz polipoz
FBS	: Fetal Bovine Serum
FRAP	: Fe(III) İyonu İndirgeme Gücü
GSTS	: Glutasyon S-Transferazlar
H₂O₂	: Hidrojen peroksit

HAT	: Hidrojen Atomu Transfer Yöntemleri
HCT-15	: İnsan kolon kanseri hücreleri
HEPG2	: Hepasellular Karsinoma Hücre Hattı
IOC	: İnhibe oksijen Alımı
KRK	: Kolorektal kanser
KWG	: Kuwanon
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LPIC	: Lipid Peroksidasyonu İndirgeme Kapasitesi
LPS	: Lipopolisakkaritler
MCF-7	: Meme Kanseri Hücreleri
MHA	: Mueller Hinton Agar
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	: 3-4,5-Dimetil-Tiyazolil-2,5-Difeniltetrazolyum Bromür
NB	: Nutrient Broth
OD	: Outside Diameter
ORAC	: Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi
PBS	: Fosfat Buffer Saline
PBS	: Fosfat Buffer Saline
PG	: Propil Gallat
p-NDA	: P-Butrisidunetill Anilin
SASA	: Süperoksit Radikal Oluşumunu Alkalın
SOD	: Süperoksit dismutaz
SUTLs	: Sülfotransferazlar
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TBHQ	: t-bütilhidrokinon
TEAC	: Trolox Ekvivalenti Antioksidan Kapasite
TOSC	: Total Oksidan Süpürme Kapasitesi
TRAP	: Toplam Radikal Tuzaklayıcı Parametre

UDP	: Glikozil Transferaz
UGTS	: Udp-Glukuronosiltransferazlar
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
WST	:2-(4-İodofenil)-3-(4-Nitrofenil)-5-(2,4-Disülfofenil)-2H-Tetrazolyum
XTT	:2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid



1. GİRİŞ

İlk medeniyetlerden günümüze kadar süre gelen çeşitli hastalıkların tedavisini sağlamak için kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler; kronik ve akut hastalıkların tedavisi, inflamasyon ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, kardiyovasküler hastalıklardan sonra en fazla ikinci ölüm oranına sahip olan kanserin tedavisi için tercih edilmesiyle sağlık alanında büyük önem taşımaktadır. Kanser yol açtığı ölümler ve görülme sıklığının fazla olması nedeni ile halk sağlığı için büyük sorun teşkil etmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin temin edilmesi kolay, ucuz ve yan etkileri bakımından modern tıbbı göre daha az olması sebebiyle hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde tercih edilmesini sağlamıştır. Günümüzde hastalıkların tedavi yöntemleri ve ilaçlar ne kadar gelişse de hastalıklar hızla artmaya devam etmiştir (Dağlar, 2018; Demirkaya ve ark., 2019). Bu nedenle çalışmalar doğal maddelerin kullanımı ve doğal beslenme üzerine yoğunlaşmıştır. Biyolojik aktiviteleri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilgi yetersizliği sebebi ile tıbbi bitkilerin çalışmaları her geçen gün artmaktadır. Dünya nüfusunun %80' inin genellikle tıbbi bitkilere ile çözüm arayışı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından öngörülmüştür (Gönülalan, 2017; Dağlar, 2018; Demirkaya ve ark., 2019; Sarı, 2018).

KontROLSÜZ olarak çoğalan olgunlaşmamış hücrelerin gerek iç gerek dış faktörlerden etkilenecek kontROLSÜZ olarak çoğalma göstermesine kanser denilmektedir. Kanser tedavi yöntemlerinin temelini kemoterapi ve radyoterapi oluşturur. Fakat bu aşamalar sırasında kontROLSÜZ olarak çoğalan hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücreler de tehlike altındadır. Tedavi yöntemlerini geliştirirken amaç normal hücrelere zarar vermeden kontROLSÜZ çoğalan kanser hücrelerinin gelişimini engellemektir (Ay, 2019).

Tıbbi bitkilerin sağlık alanındaki kullanımı ile önemi ortaya çıkan *Morus alba* L. gerek yaprakları gerekse meyveleri ile içerdiği karbonhidrat, mikro ve makro besin bileşenleri, organik asitler ve serbest aminoasitler ve proteinler bakımından zengin içerikli bitkiler arasında yer almaktadır (Pirinç, 2020).

Bu çalışmada Bolu ve Çorum illerinden toplanan *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının Caco-2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkinliğinin antioksidan aktivite ile birlikte değerlendirilmesi amaçlandı.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tıbbi Önemi Olan Bitkiler

Çok eski zamanlarda da insanların çeşitli hastalıkların tedavisinde, daha kolay elde edilebilmesi ve yan etkilerinin az olması sebebi ile doğal ilaç ve ilaç ham maddelerinde bitki ekstrelerinden yararlanılmıştır. Botanik araştırmalarına göre, bitki türü sayısının günümüzde yaklaşık 250.000-500.000 civarında olduğu düşünülmektedir (Özcan, 2018). Bu bitki çeşitliliğinin 70.000 kadarını tıbbi bitki türleri oluşturmaktadır. Bu çeşitlilik içerisinde aromatik bitkiler de oldukça yaygındır. Ülkemizin doğal farklı iklim koşullarına sahip olması ve endemik türleri de içinde barındırması bize yalnızca yaşamımızı sürdürmek için oksijen ve besin sağlamak değil, sağlık alanında da yeni çalışmalar yapılmasına olanak sağlamıştır. Türkiye ve dünya üzerinde tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antitümoral ve antioksidan etkinlik çalışmalarına önemli derecede katkı sağlanmaktadır (Şimşek, 2013; Bor,2021; Keleş, 1995).

2.1.1. *Morus alba* L.

Morus alba L.' nin Çin ve Japonya'daki oluşumu milattan önce 4000'li yıllara kadar dayanmaktadır. Dağlık ve ılıman bölgelerde doğal olarak yetişen *Morus alba* L.' nin ana vatanı Çin olarak öngörülse de Japonya, Kore, Mançurya, Hindistan, Pakistan, İran ve Anadolu' da da yetişmektedir. *M.alba*, *M.rubra*, *M.nigra*, *M.australis*, *M.latifolia*, *M.ıhaus*, *M.multicaulis*, *M. bombycis* gibi pek çok tür tanımlanmıştır. Urticales takımının Moreceae familyasının *Morus* cinsi içinde yer alan *Morus alba* L., farklı iklim ve toprak şartlarına karşı dayanıklı olması sebebiyle hem ılıman hem de subtropik iklim bölgelerinde yetişebilen bir meyve çeşididir (Ekizoğlu, 2010).

Ülkemizin doğal zenginliği içerisinde bulunan ve üzerinde çalışma yapmak için geç kalınmış meyve türlerinin en önemlilerinden birisi olan *Morus* sp. ağaçlarının %2' si *M. nigra* L. türüne, %3' ü *M. rubra* L. türüne ve %95' i *M. alba* L. aittir (Ağca ve Ilgın, 2017).



Resim 2.1. *Morus alba* L. (Ünlüer, 2011)

Birçok bitki türünde olduğu gibi hava sıcaklığı 5-36°C’de gelişimlerini normal şekilde devam ettirirken optimum sıcaklıkları 24-28°C’ dir. *Morus alba* L. ağaçlarının ihtiyacı olan su miktarı bulundukları yerin toprak özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Fazla su miktarı ile gelişim gösteren *Morus* sp. ağaçlarının yapraklarındaki protein ve karbonhidrat içeriği azalırken, su miktarı bakımından yoksun olan bölgelerde sınırlı gelişim gösterirler. *Morus* türü ağaçların optimum toprak pH’ sı 6,5-7 olmalı ve derin, verimli ve kumlu topraklar tercih edilir (Ünlüer, 2011).

2.1.2. Türkiye’de *Morus alba* L.

Çin’den Japonya’ya (Doğu Çin, Kore ve Japonya) kadar uzanan bölgeler *Morus* sp. Meyvesinin doğal bitkisi olarak kabul edilir. Yüksek kaliteli meyve ve çeşitli genetik özellikleri bakımından zengin olan birçok *Morus* sp. Türü son yıllarda ülkemizde yerleşim bölgelerinin ve nüfusun hızlı artışı ile beraber kesilerek yok edilmektedir (Ekizoğlu, 2010; Ağca ve Ilgın, 2017). Bunun sonucunda ülkemizde *Morus* sp. Üretimi ve ağaç sayısı azalmıştır.

Türkiye’ nin *Morus* sp. Üretim miktarı 1997-2008 yılı istatistik kayıtlarına göre 65.140 ton, meyve veren ağaç sayısı 2.300.689 adet ve meyve vermeyen ağaç sayısı 539.122 adet olarak belirlenmiştir (Ekizoğlu, 2010).

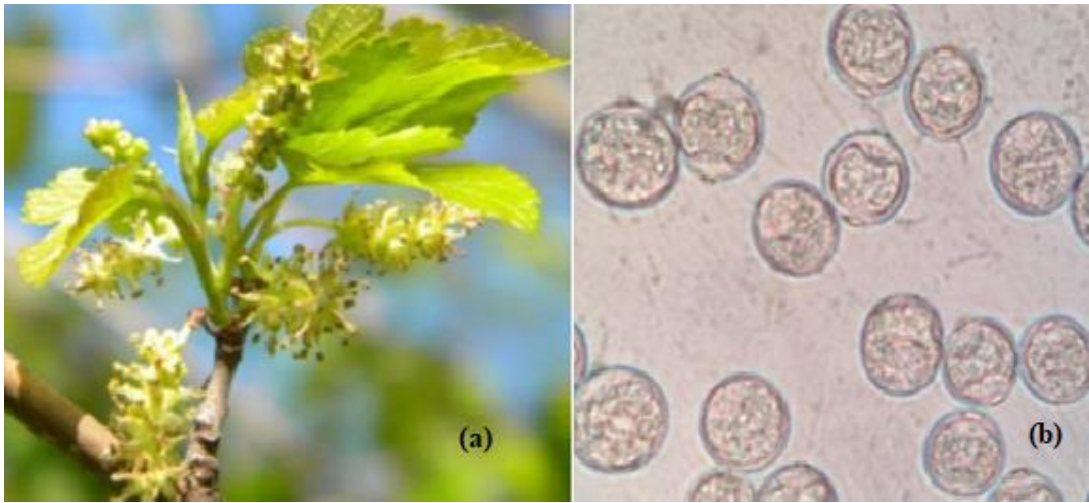
2.1.3. *Morus alba* L.’nin Besin Değeri

100 g taze *Morus alba* meyvesinin; 1,5 g protein, 0,49 g yağ, 8,3 g karbonhidrat, 1,4 g lif, 0,9 g kül, 80 mg Ca, 40 mg P, 1,9 mg Fe, 9 µg tiamin, 184 µg riboflavin, 0,8 mg nikotinik asit ve 13 mg askorbik asit içerdiği bilinmektedir (Duke, 1983)

Tablo 2. 1. *Morus alba* yaprağının bileşenleri (Pirinç, 2020)

Bileşen	<i>M.alba</i> (Kuru)	<i>M.alba</i> (Taze)	<i>M.alba</i> Yaprağı
Su	9.55 g	83.06 g	10.7 g
Kül	3.10 g	0.74 g	11.81 g
Protein	2.76 g	0.56 g	29.8 g
Yağ toplam	0.84 g	0.49 g	5.57 g
Lif, toplam diyet	8.92 g	2.16 g	11.10 g
Karbonhidrat	74.83 g	12.99 g	
Glukoz	18.95 g	4.31 g	
Fruktoz	19.25 g	4.54 g	

Farklı *Morus* sp. türleri ile yapılan çalışmalarda meyvelerin sakkaroz miktarı % 0,0-0,55, indirgen şeker miktarı % 7,76-20,49, toplam şeker miktarı % 7,85-21,04, toplam kuru madde miktarı % 15,13-27,94, kül miktarı % 0,63-1,04 ve pH değeri 3,74-5,65 olarak bildirilmiştir. Ayrıca ortalama olarak K miktarı 2413 mg/kg, Ca miktarı 746 mg/kg, Mg miktarı 286 mg/kg ve P miktarı 491 mg/kg olarak bildirilmiştir (Polat, 2004).



Resim 2.2. a) *Morus alba* ağacının çiçek ve yeni oluşan yaprakları, b) *Morus alba* poleni (Olympus CX31, 100X) (Çetereisi, 2014)

Tablo 2. 2. Farklı *Morus* meyve çeşitlerinin mineral içerikleri (Ünlüer, 2011)

Mineraller	<i>Morus nigra</i>	<i>Morus alba</i> (Çekirdeksiz)	<i>Morus alba</i>
Al	29.71±2.53	108.82±17.41	57.5±4.25
Fe	37.17±6.62	52.85±8.27	24.06±2.93
Mg	958.77±34.38	904.48±61.17	994.54±32.36
Na	115.29±7.30	214.82±23.11	252.33±27.21
P	1831.46±17.29	1850.97±76.61	2166.68±205,76
Zn	9.62±0.56	8.97±0.94	9.74±0.74

Morus alba L. meyvelerinin potasyum, fosfor, magnezyum, kalsiyum, kükürt ve demir bakımından zengin olduğu bilinmektedir. İnsan vücudunun sentezleyemediği esansiyel yağ asitleri olan linolenik, linoleik ve araşidonik asitlere sahip *Morus* sp. Meyveleri sağlıklı hücre membranının şekillenmesi, beyin ve sinir sisteminin fonksiyonlarını uygun şekilde yürütebilmesi, eikosanoid (tromboksanlar, leukotrienler ve prostaglandinler) diye adlandırılan hormon benzeri maddelerin üretimi için gereklidirler (Güngör, 2007).

Morus sp. türlerinde yağ ve yağ asitleri, C vitamini, fenolikler, flavonoidler ve minerallerin varlığı yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Akşehir, 2013).

Tablo 2. 3. *Morus alba* L. yapraklarındaki bazı flavonol glikozitlerin miktarları (Ünlüer, 2011).

Flavonol Glikozitler	mg/100g
Kuersetin 3 (6-malonil-glikozit)	754-1046
Rutin	487-659
İzokuersitrin	168-220
Astragalin	26-36

Tablo 2. 4. Farklı *Morus* sp. Türlerinin bazı fitokimyasal özellikleri (Ünlüer, 2011)

Fitokimyasal Özellikler	<i>M. nigra</i>	<i>M.alba</i> (Çekirdeksiz)	<i>M. alba</i>
pH	5.41 (0.01)	6.01 (0.01)	5.76 (0.04)
Toplam Asitlik (%)	0.27 (0.02)	0.23 (0.02)	0.24 (0.01)
T.Fenolik Madde	3545	1143 (66,4)	1373 (45,2)
Toplam Şeker (%)	14.35 (0.42)	17.44 (0.45)	18.04
Kül (%)	2.76 (0.08)	2.99 (0.10)	3.54 (0.03)
Protein (%)	2.64 (0.06)	1.94 (0.02)	2.28 (0.04)
Yağ (%)	2.5 (0.02)	1.7 (0.01)	2.80 (0.04)
Askorbik Asit (mg/kg)	105.4	74.8	79.6

Tablo 2. 5. Dört farklı *Morus* meyvesinin toplam şeker, indirgen şeker indirgen olmayan şeker içeriği (Ünlüer, 2011)

Bitki Adı	Toplam Şeker (g/100g)	İndirgen Şeker (g/100g)	İndirgen olmayan Şeker (g/100g)
<i>Morus alba</i> L.	7,55	5,90	1,65
<i>Morus nigra</i>	6,64	4,94	1,70
<i>Morus laevigata</i>	10,89	8,11	1,78
<i>Morus laevigata</i>	8,18	6,62	1,56

Tablo 2. 6. Türlerin; vitamin C, B2, B3, toplam fenolik ve alkaloid yapı içeriği (mg/100ml de) (Ünlüer, 2011)

Bitki Adı	Riboflavin	Niasin	Askorbik Asit	Toplam Fenolikler	Alkaloid
<i>M. alba</i> L.	0,088	3,10	15,20	1650	660
<i>M. nigra</i>	0,040	1,60	15,37	880	630
<i>M.laevigata</i> (Siyah)	0,055	0,40	16,35	1300	390
<i>M.Laevigata</i> (Beyaz)	0,072	0,85	17,03	1100	630

2.1.4. *Morus alba* L. Kullanım Alanları

Morus alba L. birçok alanda kullanılmaktadır. Hem iç pazar ve hem de dış pazar için önemli bir yere sahip olan *Morus* sp. Meyvesi, gıda ve gıda amaçlı olmayan tüketim imkânlarının olması, dekoratif kullanımı ve zengin besin içeriği gibi özellikler *Morus* sp. Yetiştiriciliğinin artmasını sağlamaktadır (Ağca ve Ilgın, 2017). Ayrıca yapraklarının ipek böceği üretiminde kullanılması ipek üretim bölgelerinde de tercih edilen bir ağaç olmasına neden olmuştur (Ekizoğlu, 2010).



Resim 2. 3. İpek böceği ve kozalar (Camuz,2017)

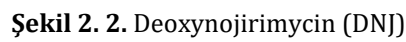
2.1.4.1. Sağlık alanında Kullanımı

Tıbbi olarak *Morus alba* L. burun kanamaları, göz enfeksiyonları, soğuk algınlığı, boğaz ağrısı gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılırken meyveleri de baş dönmesi, diyabet ve yaşlılarda üriner sistem hastalıklarının tedavisinde tercih edilmektedir (Gündüz ve ark., 2009).

Alfa glikozidaz adı verilen bağırsak enzimlerini inhibe edici etkiye sahip *Morus* sp. Yapraklarının aynı zamanda, hipoglisemik etki gösterdiği bildirilmektedir. Bu enzim sükroz laktoz maltoz gibi çift şekerleri (disakkaritleri), glikoz, galaktoz ve fruktoz gibi monosakkaritlere parçalayarak bağırsaktan kolayca kana geçişini sağlamaktadır. Yapılan bazı araştırmaların sonucunda ratların karbonhidratça zengin yemekle beslemeden önce *Morus* sp. yaprağı özütü yedirmenin yemek sonrası kan şekeri düzeyinin önemli miktarda düşüşe neden olduğunu göstermiştir (Türkoğlu ve ark., 2014).

Çin’de çörek ve ekmek yapımında kullanılırken yapraklarından yapılan çayın sakinleştirici etkisi olduğu bildirilmektedir. Romatoid artrit, bronşit, hipertansiyon, sinir zayıflığı,

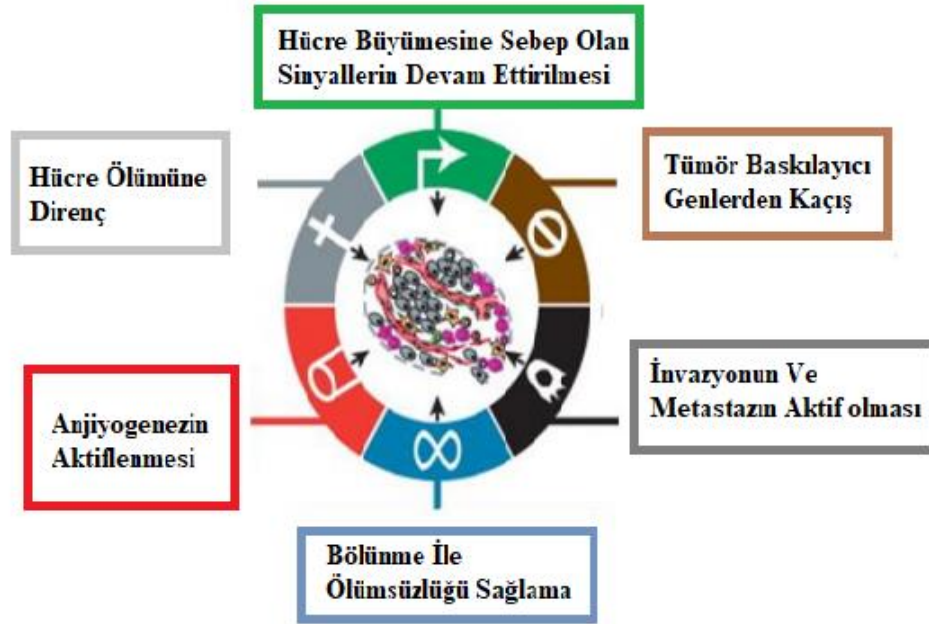
Kuwanon G, Leachianone G ve DNJ (deoxynojirimycin) gibi bazı antimikrobiyal maddeler ve oksidasyon reaksiyonlarında antioksidan olarak görev yapan flavonoit gibi maddelerin *Morus* yapraklarının özütlerinde bulunduğu tespit edilmiştir. *Morus* yaprakları içinde bulunan DNJ (deoxynojirimycin) adlı bileşiğin, glikozidaz, sükraz ve maltaz gibi enzimlerin aktivitelerini düzenlediği bulunmuştur (Ünlüer, 2011).



2.2.Antitümoral Aktivite

2.2.1. Kanser

Hücrelerin aşırı ve kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkan genetik bir hastalık olan kanser vücudun farklı bölümlerini etkileyebilen bir dizi hastalık için kullanılan genel bir terimdir. Kanser hücrelerinin bölünmesi kontrolsüz iken, sağlıklı bir hücrenin bölünmesi kontrol edilebilir. Bu şekilde kontrol altında tutulamayan hızla çoğalan hücreler tümör adı verilen kitleler oluşturur. Hücresel büyüme, olgunlaşma ve programlanmış hücre ölümü üzerindeki normal kontrolleri azaltan veya ortadan kaldıran, yaşanan çevrede karşılaşılan ve hücrede ortaya çıkan fiziksel, kimyasal ya da biyolojik etkenlere maruz kalınması nedeniyle DNA'daki değişiklikler yani mutasyonlar kanserin ana nedenleri arasındadır (Er, 2011; Dilber, 2020; Artun, 2018).

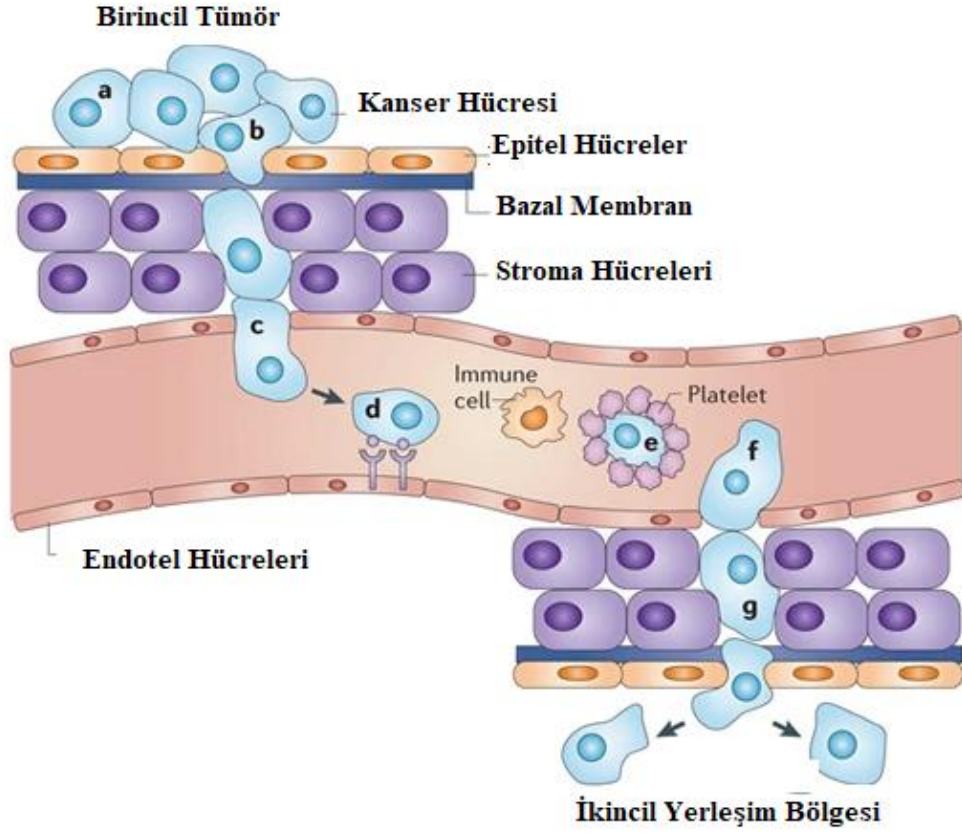


Şekil 2.4. Kanserin temel özellikleri (Hanahan D. ve Weinberg R., 2000).

Vücudumuzda yüz milyondan fazla hücreye yer almaktadır. Bir hücrede veya küçük bir hücre grubunun genlerinde bazı kalıtsal, kimyasal veya çevresel sebepler hücrelerin işleyişinde değişiklikler meydana getirir ve hücrelerin büyümesi kontrol altından çıkarak kontrolsüz yayılmaya başlar. Kanseri köken aldıkları dokulara göre sınıflandırmak mümkündür (Darendelioğlu, 2017; Demirkaya ve ark., 2019).

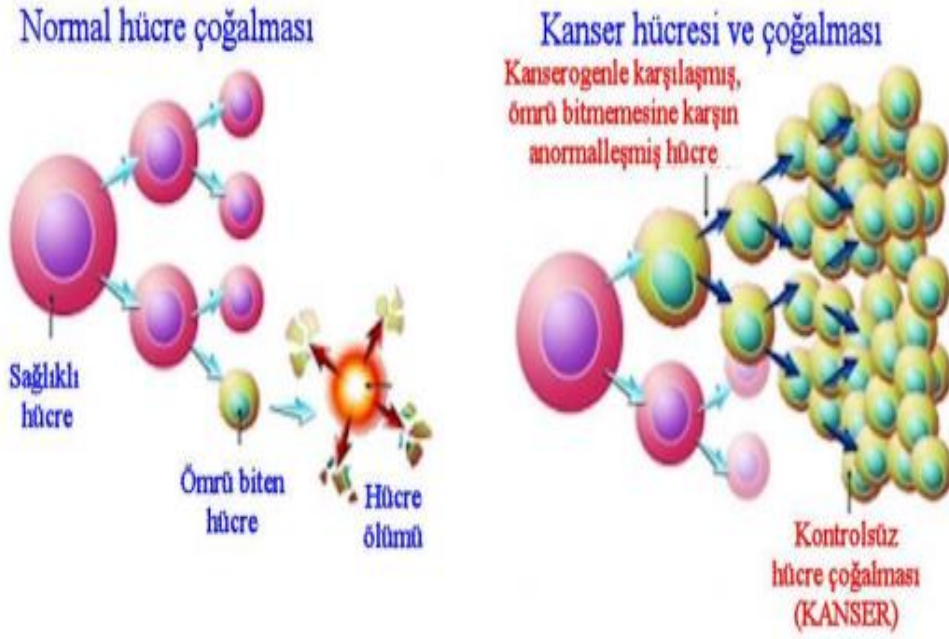
Lösemi ve lenfoma; kan hücrelerinden

- Sarkoma; bağ ve kas dokulardan
- Karsinoma; epitel dokulardan köken alır.



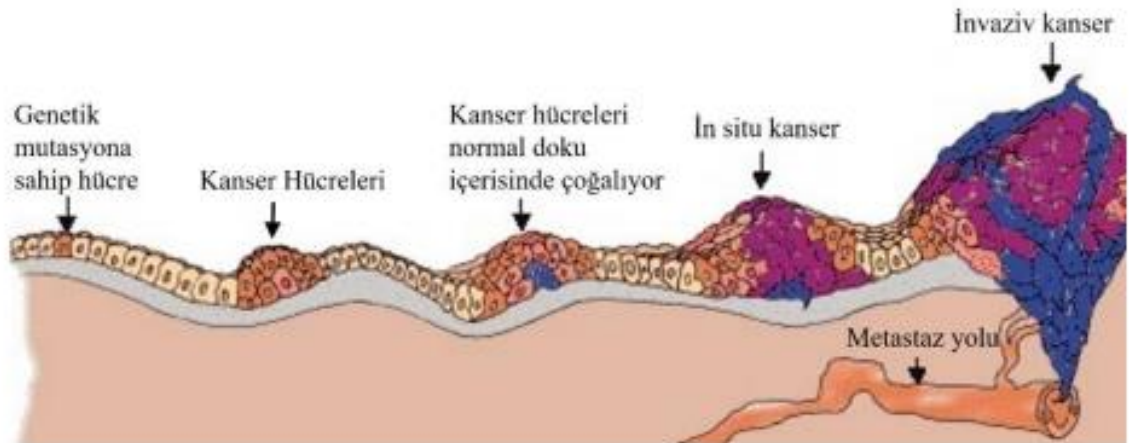
Şekil 2.5. Kanser hücrelerinin orijinal bölgelerinden vücudun diğer bölgelerine yayıldığı süreç (Schroeder, ve ark. 2011).

Hücrelerin düzenli ve kontrollü bir şekilde çoğalmasını sağlayan ve vücudun sağlıklı kalması için yeterli sayıda hücrenin üretilip üretilmediğini sağlayan genlerde bazen hücre bölünmesinde mutasyon adı verilen değişiklikler oluşabilir (Darendelioğlu, 2017).



Şekil 2.6. Normal ve Kanser Hücresi Arasındaki Fark (Akçiçek, 2019).

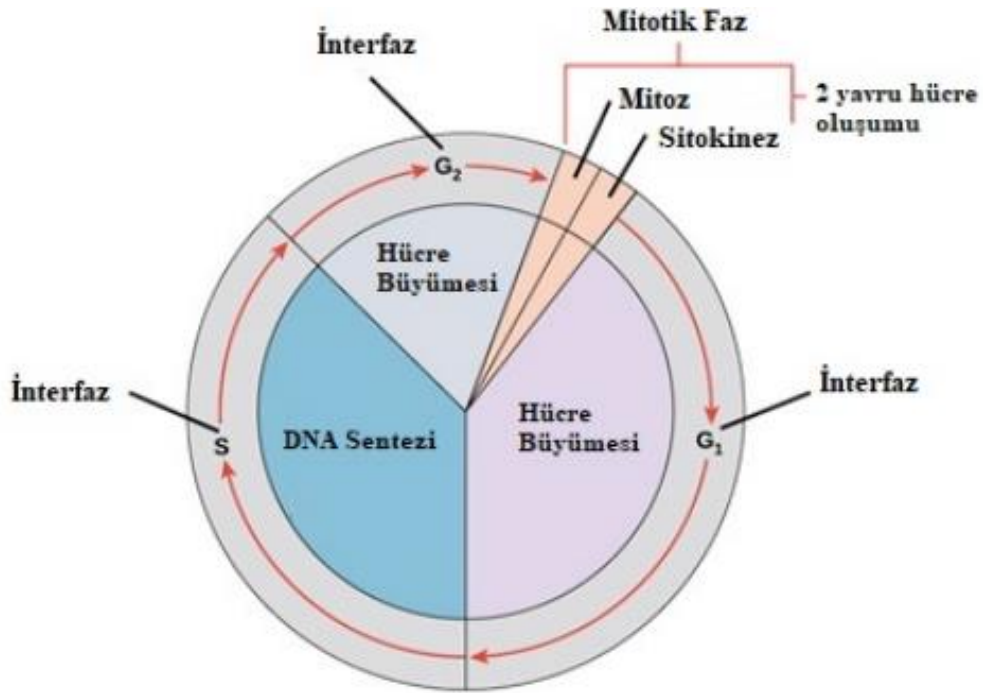
Mutasyonlar, kanser genetiğinde önemli bir yere sahiptir. Hücrenin verilen talimatları algılamadığı, kontrolden çıkmaya başlaması bazı mutasyonların sonucunda gözükabilir. Kanser vakalarının %1'lik kısmında mutasyon, eşey-kök hücrelerinde oluşması sonraki nesillere kanser vakalarının görülme oranını artırmaktadır (Nalkıran, 2014).



Şekil 2.7. Mutasyon sonrası kanser hücrelerinin gelişimi ve çoğalması (Darendelioğlu, 2017)

2.2.2. Kanser Ve Hücre Döngüsü

Hücresinin tam kopyasını üretme yeteneği kazandıran çok iyi organize olmuş moleküler olayların bir dizisi olan hücre döngüsünün ana olayları Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) replikasyonu ve replike edilmiş kromozomların ayrılmasıdır. Kanseri oluşumunun büyümesine ve gelişimsel anormalliklerine hücre döngüsü düzenindeki bozukluklar sebep olabilir. Bu bozuklukların kaynaklarını anlayabilmek, kanserin tedavisi için önemli yere sahiptir. Mitoz bölünme safhaları (interfaz, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz) arasında bir dizi olay ökaryotik hücrelerde gerçekleşir (Bars, 2010).



Şekil 2.8. Hücre Döngüsü (Güler, 2019)

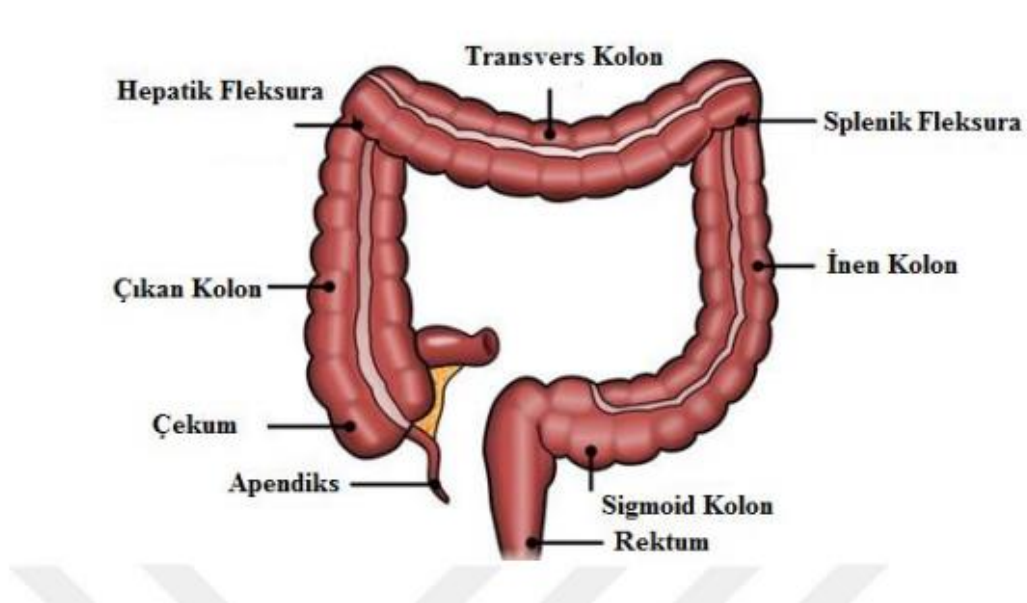
2.2.3 Kolon Kanseri

Dünya genelinde en yaygın üçüncü kanser türü olan kolon kanseri (KK), mortalite açısından dördüncü sıradadır. Genel olarak erkeklerde görülme sıklığında üçüncü sırada, kadınlarda ise ikinci sırada yer alan kolon kanseri gelişmiş toplumlarda ciddi bir sağlık problemi haline gelmiştir (Nalkıran, 2014).

2.2.3.1. Kalın Bağırsak Anatomisi Ve Fizyolojisi

Sindirim sisteminin 1/5'ini kaplayan kalın bağırsak, ileumdan başlayıp anüse kadar devam eder ve yaklaşık 150 cm uzunluğundadır. Çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum gibi kısımlardan meydana gelir. Kolonun ilk ve en geniş bölgesi olan çekum, kolonun ince bağırsağa bağlandığı keseleşmiş bir organdır. Kolonun ince bağırsağa bağlandığı bölgenin ardından yukarı doğru çıkan yaklaşık olarak 15 cm

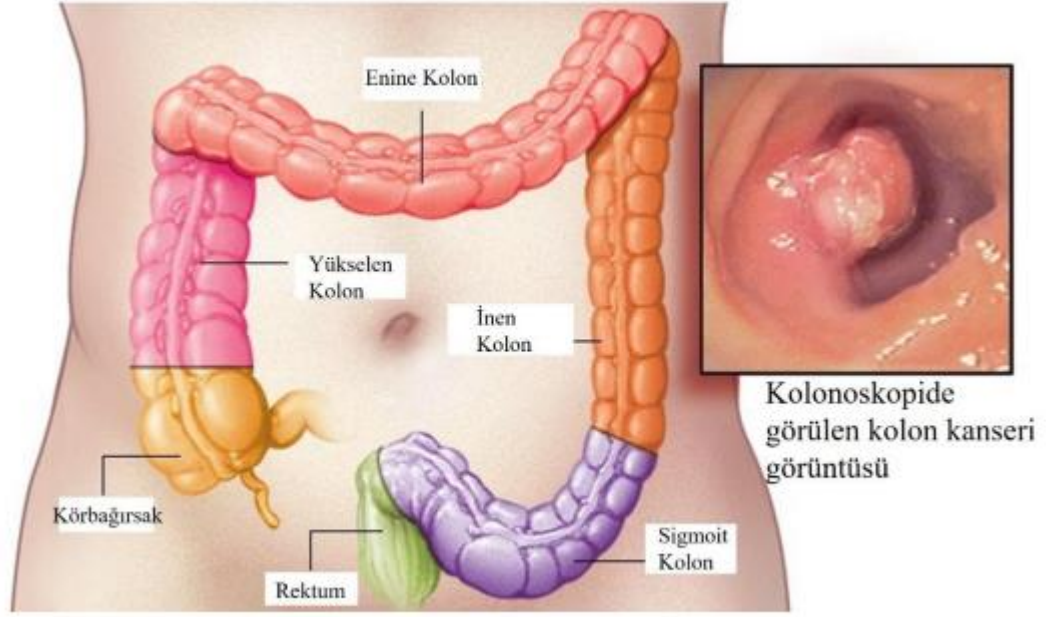
uzunluğunda olan çıkan kolondur. Çıkan kolon kısmı karaciğerin alt kısmında hepatik fleksura yaparak karın bölgesinin sol kısmından splenik fleksura yapacak şekilde sağdan sola doğru uzanır. Yatay bir şekilde uzanan kolonun bu kısmı transvers kolon adını taşır. Transver kolon kalın bağırsağın en uzun parçası olup yaklaşık 45 cm uzunluğundadır. Transvers kolonun bitim yerinde ve dalağın altında bulunan kolon splenik flexura yapar ve karın bölgesinin sol tarafından aşağı doğru inen ve 25 cm uzunluğunda olan inen kolondur. Sigmoid kolon 15-50 cm arasında değişik uzunluklarda bulunabilen kolonun en dar kısmı olup inen kolonun S harfi şeklindeki bölümüdür. Bu bölüm ile sindirim kanalının son parçası olan 12-15 cm genişliğe sahip rektuma bağlanır (Nalkıran, 2014; Yamak, 2012).



Şekil 2.9. Kolonun anatomisi (Teker, 2018).

2.2.3.2. Epidemiyoloji

İnsanlarda sindirim sisteminde görülme sıklığı en fazla olan kolon kanseri Birleşik Devletler ve Kanada, Avusturalya, Yeni Zelanda, Danimarka, İsveç ve diğer gelişmiş ülkelerde yaygın olup; Hindistan, Güney Amerika ve Afrika'da görülme oranı daha düşük seyretmektedir. Tüm kanser çeşitleri içerisinde erkek ve kadınlarda üçüncü sırada yer alan kolon kanseri erkeklerde kadınlara oranla % 20 daha sık görülmektedir. Genç yaş grubundan ziyade daha çok ileri yaş grubunu etkileyen kolon kanseri 50 yaşından sonra artmakta ve 60-70 yaşlarında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar kolon kanseri için erken dönemlerde uygun metotlarla tespit edilebilirse önlenilebileceği yönündedir (Yamak, 2012).



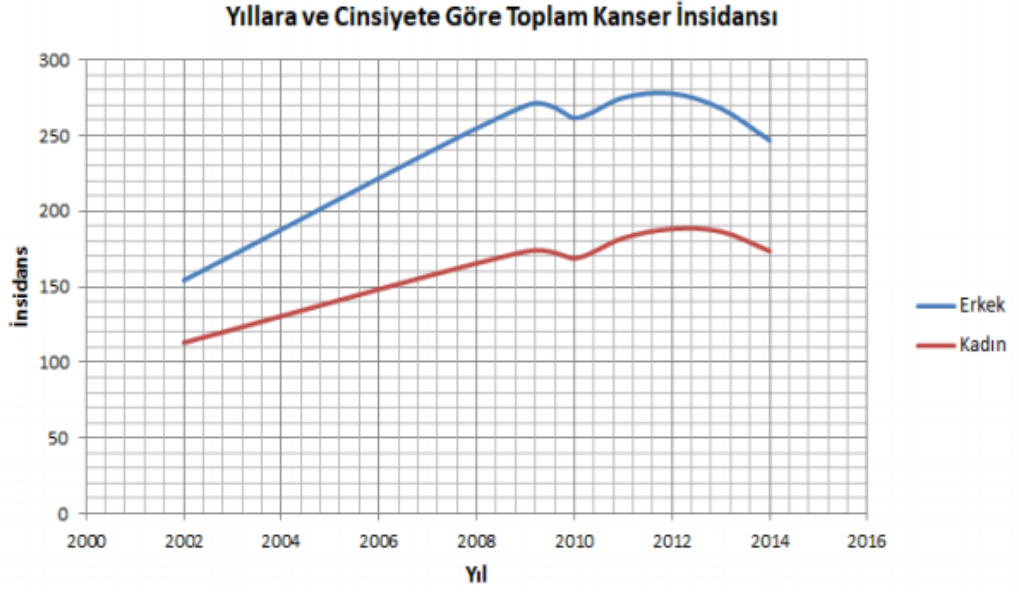
Şekil 9. 10. Sindirim sisteminde kolonun pozisyonu ve kolon kanserinin, sindirim sisteminin alt kısmı olan kalın bağırsakta (kolonda) gözlenmesi (Darendelioğlu, 2017).

2.2.3.3. Türkiye’de Kolon Kanseri Epidemiyolojisi

Türkiye’de en sık görülen 5 kanser türünün sıralaması yapıldığında,

- %17,1 ile meme,
- %10,5 ile prostat,
- %10,4 ile tiroid,
- %9,0 ile mesane,
- %8,4 ile kolorektal kanserlerin bulunduğu belirtilmiştir (Tekin ve Şahin, 2019).

2010 yılındaki verilere göre kolorektal kanserin erkeklerde görülme oranı 100 binde 20,7, kadınlarda ise 100 binde 13,1’dir. Bu orana göre kolorektal kanser erkeklerde dördüncü, kadınlarda üçüncü sırada görülen en yaygın kanser türüdür. Yıllara göre kolorektal kanser tanısı konulan hasta sayısı yükselmektedir. Türkiye’de 25 bin kolorektal kanser hastasının üçte biri, kanser önleme ve taramaları kısa raporu 2014 verilerine göre erken evrededir. Erken evre kolorektal kanserli hastaların yalnızca %40’ında tespit edilebilmiştir (Tekin ve Şahin, 2019).



Şekil 2.10. Yıllara ve Cinsiyete Göre Toplam Kanser İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu (Bulut, 2018)

2.2.3.4.Etiyoloji

Çevresel ve genetik sebeplerle meydana gelebilen kolorektal kanserin kesin sebebi kolon mukozasının epitel hücrelerinde meydana gelen değişikliklerdir. Hastaların büyük çoğunluğunda kolon kanseri, seri mutasyonlar sonucunda oluşum göstermektedir. Kolon kanserinin ortaya çıkmasında beslenme alışkanlıkları da etkili olmaktadır. Karbonhidrat ve yağ bakımından zengin, bitkisel liflerden fakir, vitamin ve minerallerden yoksun, antioksidan içermeyen beslenme alışkanlıkları kolon kanseri riskini artırmaktadır (Darendelioğlu, 2017; Yamak, 2012).

2.3.3.6. Kolon Kanserine Yol Açan Etmenler

- Alışkanlıklar

Uzun süreli sigara kullanımı kolon kanserine yakalanmada risk etmeni olarak belirlenmiştir. Alkolün de kolon kanserine yakalanmada yeri olduğu bildirilmiştir. Alkol kullanımında anormal DNA metilasyonundan dolayı kolon kanseri ve adenom riskini arttırmaktadır (Yamak, 2012).

- Yaş

İleri yaşlarda kolon kanserinin ortaya çıkması söz konusudur. Genel olarak 50 yaşından sonra meydana gelen kolon kanserinin en çok görüldüğü yaş aralığı ise 60-65’tir. Kolon kanseri için ortalama tanı koyma yaşı 62 olarak belirlenmiştir. Bu sebeple tarama testleri uygulama yaşı bu kritere göre belirlenir (Yamak, 2012; Ata, 2020).

- Diyet

Kolon kanserinin görülme sıklığının farklı seviyelerde farklı coğrafi bölgelere göre ortaya çıkmasının nedeni beslenme şekilleri olarak belirlenmiştir. Batı toplumlarında toplam alınan kalorinin % 40-45'ini doymuş ve doymamış yağların oluşturması kolon kanseri riskini yükseltirken, toplam alınan kalorinin yağ oranı % 10-15'ini oluşturan toplumlarda kolon kanseri riski düşüktür (Yamak, 2012).

Kolon kanseri riskini artıran faktörler içinde kırmızı et ve işlenmiş etin yüksek ısı ve kömür ızgara ile pişirilmesi sırasında oluşan mutajen ve kanserojen maddelerin açığa çıkışı ve çok fazla tüketilmesi, aşırı yağ ve karbonhidrat içeren, lifli, yeşil yapraklı sebze ve meyveler yönünden fakir bir beslenme yer almaktadır. Tümör çoğalmasını detoksifiye enzimine sahip sarımsak tüketmek de kanser riskini azaltan etmenler olarak gösterilmektedir (Ata, 2020).

- Fiziksel Aktivite ve Obezite

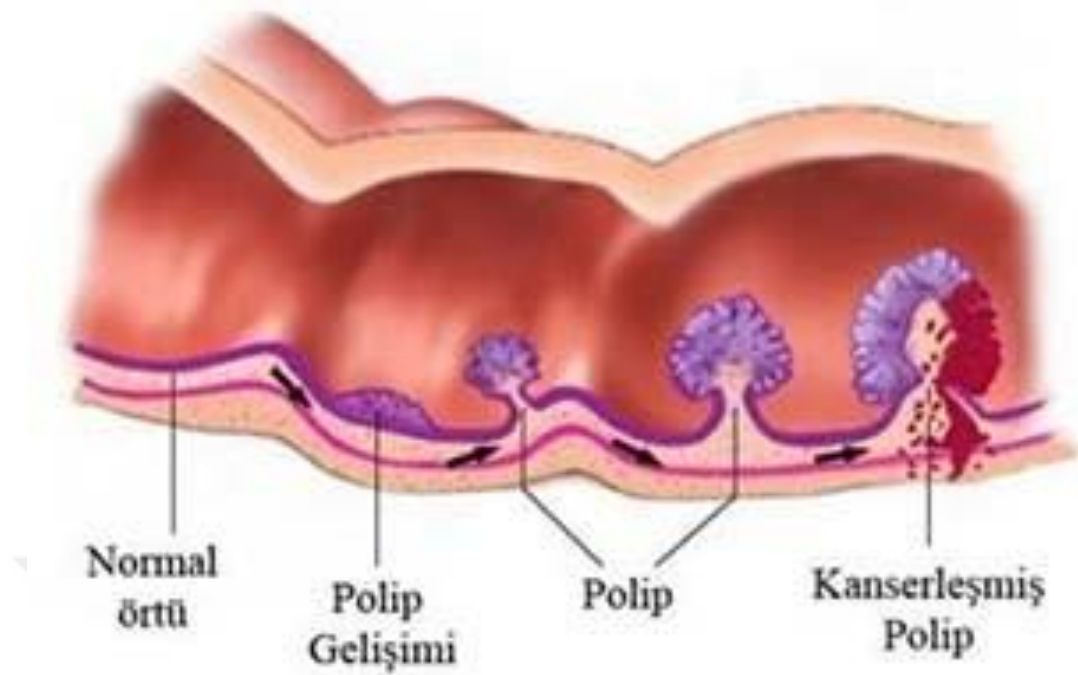
Yapılan klinik araştırmalar sonucunda aşırı kilo, kolon kanseri riskini arttırmaktadır. Fiziksel aktivitelerin yoğun olduğu mesleklerde çalışan insanlarda daha az görüldüğü belirlenmiştir (Nalkıran, 2014).

- Aile Öyküsü ve Genetik Faktörler

Erken yaşlarda ve birinci derece yakın akrabalarda görülen kolon kanseri vakaları risk seviyesini artırmaktadır. Kolon kanseri vakalarının % 90-95'i sporadikken % 5-10'luk kısmı ise genetik faktörler sebebiyle oluşmaktadır. Kanser gelişiminde çeşitli genler etki etmektedir. Kolon kanseri gelişiminde tümör baskılayıcı genler, onkogenler ve stabilize genlerdeki değişiklikler neden olmaktadır. Kanser türleri içinde mekanizması en açık olan kolon kanserinin meydana gelişinde epigenetik etkenlerde bir risk faktörü oluşturmaktadır (Nalkıran, 2014; Uçar, 2019).

2.2.3.7. Kolon Kanseri Oluşum Mekanizması

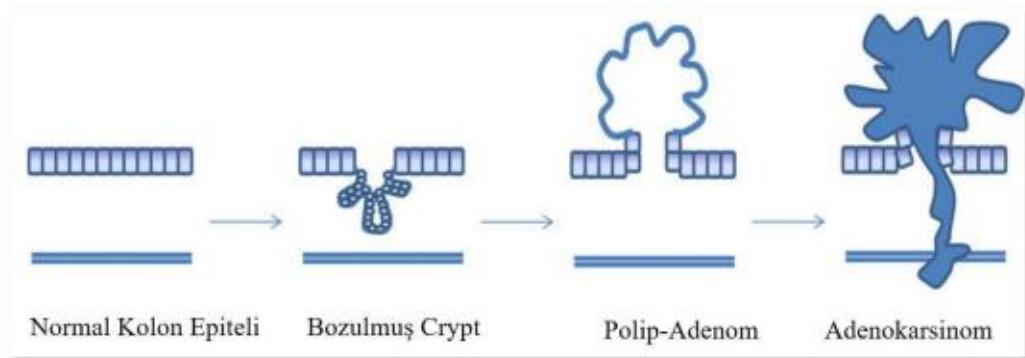
Gelişmiş ülkelerde görülme oranı günden güne artan kolon kanseri, rektum ile kolonu oluşturan epitel dokudan oluşan ve art arda oluşum gösteren genetik bozulmalar ile yavaş bir şekilde ortaya çıkan yaygın bir kanser çeşididir. Yunan dilinde; bir sap yapısı ile mukozaya bağlanmış, lümeneye doğru uzanan doku bozukluklarını tanımlamak için polip terimi kullanılır. Kolon veya rektum kısımlarında dokunun büyümesi şeklinde tanımlanan ve kansere dönüşen kanserojen olmayan polipler kolon kanserinden hemen önce meydana gelir. Poliplerin tip ve özellikleri, kanser oluşumuna yol açıp açmayacağı hakkında bilgi vererek kolon kanseri oluşmadan önce kanseri tedavi edebilmek için fikir edinmemizi sağlar (Nalkıran, 2014).



Şekil 2.11. Polip gelişimi ve kanserleşme (Akçiçek, 2019)

2.2.4. *Morus alba* L. Ve Kanser

Morus alba L.' da bol miktarda bulunan birçok flavonoidler iltihabı baskılamakla beraber, flavonoidlerin bağırsak anti-enflamatuvar aktiviteleri ile ilgili mekanizmalar, başlıca antioksidan özellikler, immünomodülatör aktivite ve bağırsak epitelyal bariyer fonksiyonlarının korunmasını içerir. Lipopolisakkaritler (LPS)-hasarlı Caco-2 hücrelerinde, *Morus alba* L.' de bulunan Kuwanon G (KWG)' nin hücrelerin canlılığını konsantrasyona bağlı bir şekilde arttırdığı bulunmuştur. KWG' nin hücre canlılığını ve hücreler arasındaki sıkı bağlantıyı artırarak ve pro-inflamatuvar sitokinleri ve oksidatif hasarı azaltarak LPS kaynaklı bağırsak epitel bariyerinin bozulmasını iyileştirebileceğini göstermiştir. Mevcut bulgular kısmen *Morus alba* L.' nin DM tedavisindeki mekanizmasını ortaya koymaktadır (Guo ve ark., 2016).

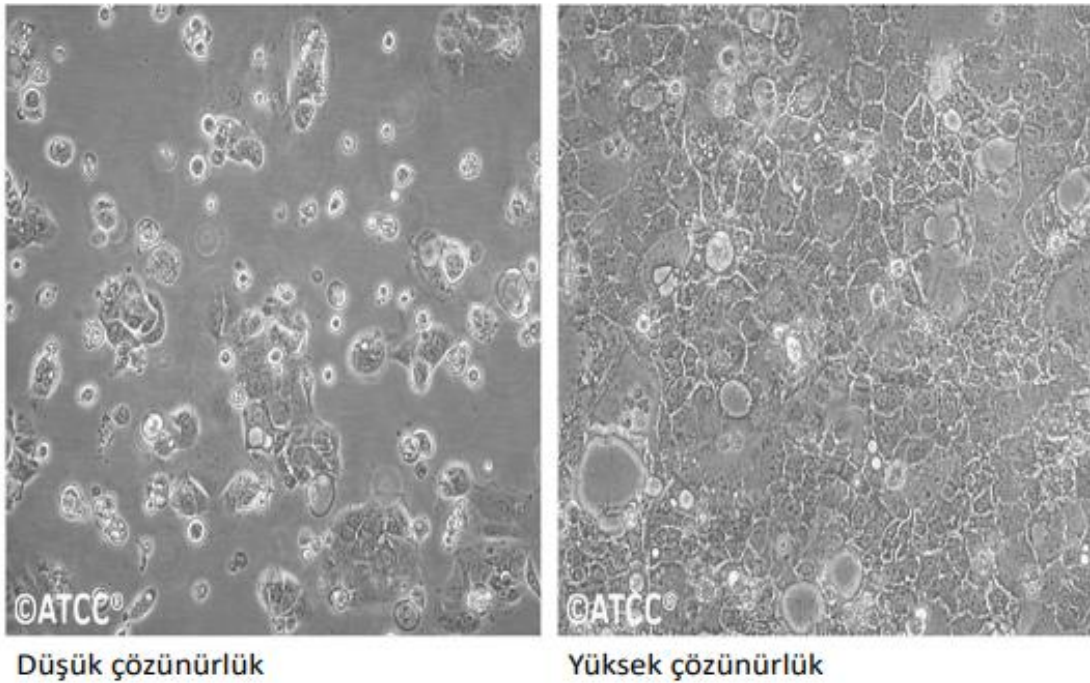


Şekil 2. 12. Epitel hücrenin adenokarsinoma dönüşümü (Karakuş, 2021)

Diyabet tedavisinde, ipekböceklerinin beslenmesi gibi alanlarda kullanılan dut yaprakları ayrıca, güçlü bir memeli α -glukosidaz inhibitörü olan 1 deoksinojirimisini içeren aktif bileşikler içermesi nedeniyle uzun zamandır araştırılmaktadır (Hansawasdi ve Kawabata 2006).

2.2.5. Caco-2 Hücre Modeli

İlaçların ve bazı diğer bileşiklerin insan bağırsak emiliminin bir modeli olan Caco-2 hücreleri, insan kolon epitel kanseri hücre hattıdır (Breemen ve Li, 2005).



Resim 2. 4. Düşük ve yüksek çözünürlükteki Caco-2 kolon kanseri hücre görüntüleri (Nenni, 2019)

1998 yılında Glahn ve ark. tarafından ilk kez önerildikten sonra demir biyo erişebilirlik çalışmaları için yaygın olarak tercih edilen hücre modeli, Caco-2 hücre modelidir. Fakat Caco-2 hücreleri, mukus üreten goblet hücrelerinin yokluğu da dahil olmak üzere bağırsak sınırı için bir model olarak çeşitli sınırlamalara sahiptir. İnsan bağırsağı için bir model olarak Caco-2 hücrelerine karşı düşündürülen diğer bir konu ise, epitelin in vivo besin emiliminin düzenlenmesinde rol oynayan diğer organlarla iletişimden yoksun olmasıdır (Scheers ve ark., 2014). Caco-2 ile normal hücreleri birbirlerinden ayıran fonksiyonel farklılıklardan biri, sitokrom P450 izozimlerinin ve özellikle normalde bağırsakta yüksek seviyelerde eksprese edilen CYP3A4'ün ekspresyonunun bulunmamasıdır (Breemen ve Li, 2005).

İn vitro toksikoloji araştırmaları için bağırsak bariyerinin bir modeli olarak yaygın şekilde tercih edilen insan bağırsak Caco-2 hücre çizgisi, değiştirici aktörlerin etkisi olmadan hücre kültürde kendiliğinden farklılaşır. Buna ek olarak laboratuvarlardaki sonuçların karşılaştırılmasını zorlaştıran tekrarlanabilirlik sorunları literatürlerde belirtilmiştir

ve çeşitli laboratuvarlarda kullanılan Caco-2 hücrelerinin değişkenliğe ve aynı zamanda farklı kültür ortamları ile ilgili olduğu düşünülmüştür (Natoli ve ark., 2012).

Bir insan kolorektal karsinomundan türetilen Caco-2 hücre hattının, aynı kökene sahip olan diğer hücre hatlarından farklılık göstermesinin sebebi geleneksel hücre kültürü koşulları altında kendiliğinden polarize enterositlerin tek tabakalarına ayrılmasıdır. Hücre kültüründe 2-3 hafta sonra, tek tabakalar birkaç fırça kenarlı hidrolazın yüksek seviyelerini eksprese eder ve iyi gelişmiş bağlantı komplekslerine sahiptir. Tek tabakalar, kolonda bulunana benzer yaklaşık $300 \Omega \times \text{cm}^2$ 'lik bir transepitelyal elektrik direncine sahiptir (Artursson ve Karlsson, 1991). Ayrıca, Caco-2 hücrelerinde çeşitli taşıyıcılar, enzimler (sitokrom P450 1A (CYP1A), sülfotransferazlar (SULTs), UDP-glukuronosiltransferazlar (UGTs), glutatyon s-transferazlar (Gsts)) ve nükleer reseptörler bulunur. Bu nedenle ilaç emilim mekanizmalarının araştırılması ve substratların veya inhibitörlerin veya taşıyıcıların ve enzimlerin indükleyicilerinin tanımlanması için kullanılır (Sun ve ark., 2008). Caco-2 hücre hattı modeli insanlarda bağırsak ilaç emiliminin tahmini ilaç ve taşınmalarla ilgili çalışmalarda geçirgenlik deneyi güvenilir, gerçekleştirilmesi kolay ve küçük miktarlarda bileşik gereksinimi neden ile tercih edilmektedir (Van Breemen ve Li, 2005).

2.2.6. Hücre Kültürü

Hücre ve doku kültürlerinin kullanılması ile son yıllarda moleküler biyoloji ve tıp alanlarında büyük aşamalar sağlanmış, hastalıkların epidemiyolojisi, patogenezi, teşhis ve tedavisinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir (Şahin, 2012).

Canlı dokulardan alınan parçaların in vitro koşullarda canlandırma ve üremelerini sağlamak hücre kültürü yönteminin temel ilkesini oluşturmaktadır. Çeşitli canlıların (insan, maymun, fare, tavşan) çeşitli dokuları (tümör, akciğer, böbrek) ilk olarak bölünerek tek tek hücrelere ayrılırlar. Ayrılan bu hücreler çeşitli tampon maddeleri, aminoasitler, serumlar, vitaminler, çeşitli tuzlar içeren sıvılar içerisinde süspanse edilerek steril tüp veya şişelere koyulur. Bu hücre süspansiyonu belirli sıcaklıkta bekletilmesinden sonra hücreler kabın çeperine yapışarak ürerler ve üreme sonucunda oluşan yapıya hücre kültürü denir (Tuncer ve Demirci, 2011).

Canlı dokuların vücut dışında yaşatılabilmesi, sürekli üretilmesi ve gelişimi hücre kültürleri ile sağlanır. Hücre kültürü bireysel faktörlerden etkilenmez, tekrarlanabilir, ara aşamalar kontrol edilebilir ve hayvan deneylerinde olduğu gibi canlı varlıkları öldürmez. Bu sebeplerden dolayı kullanımları fazla olmakla beraber başlangıç aşamasındaki sitotoksiteyi göstermekte, malzemenin uzun zamanlı etkileşimi durumunda toksisitenin ne düzeyde olacağı hakkında bilgi vermemektedir (Şişman, 2014).

2.2.7. Sitotoksosite

Hücre işlevlerinde ve yapısında önemli hasar meydana gelmesi sitotoksosite olarak tanımlanmaktadır (Yılmaz, 2018). Test edilecek materyalin uygun olan hücre kültüründeki hücrelerin büyüme oranı ve yapısal özelliği üstündeki etkisinin negatif ve pozitif kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak değerlendirildiği biyoyumluluk testlerinden biride sitotoksosite testidir (Yuca Öztürk, 2018).

Bu test ile beraber;

- Hücre morfolojisi
- Hücre canlılığı ve ölümü
- Biyosentez ve enzim etkinliği
- Protein veya DNA sentezi
- Hücre genetik materyali üzerinde etkileri değerlendirilir (Şahin, 2012).

Sentezlenmiş yeni bileşiklerin ilaç ve geliştirme çalışmalarının ileri evrelerine geçmeden önce canlı hücre üzerindeki tahmini toksik etkilerinin ve mekanizmasının saptanması sitotoksosite testlerinin amaçlarından biridir. Sitotoksik etki bazen etkinlik, bazen de toksisite değerlendirmesi amacıyla kullanılabilmesinin nedeni birçok ilacın sitotoksik etkisinin olmasını istenmezken, kanser tedavisinde kullanılan ilaçların, kanserli hücreleri öldürmeleri için sitotoksik etkisinin olması istenir (Nenni, 2018).

2.2.7.1. In Vitro Sitotoksosite Testlerinin Değerlendirme Yöntemleri

Hücre kültüründe hücrelerin canlılığının belirlenmesinde kullanılan sitotoksosite testlerinde, membran bütünlüğü kaybeden hücre içerisine alınan tripan mavisi, eritrosin veya naftalin siyahı gibi boya ile ya da membran bütünlüğünü kaybetmemiş sağlam hücrelerin içerisine alınan diasetil florasan, nötral kırmızı gibi boyalar kullanılır. Sitotoksitenin değerlendirilmesi dört ana başlık altında incelenebilir (Şişmanoğlu, 2018):

1. Hücre canlılığının değerlendirilmesi
2. Yaşam (survival) değerlendirme testleri
3. Hücre proliferasyonunu değerlendiren testler
4. Metabolik sitotoksitenin değerlendirilme testleri

2.2.7.1.1. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi

Hücre canlılığının değerlendirilmesi için olan testler, materyalin uygulandığı ve hücreler üzerinde oluşturduğu toksik etki sonucu hücre kültüründe canlı kalan hücre oranının hesaplanmasıdır. Bu test aynı zamanda kısa zamandaki sitotoksik etkiyi de göstermektedir. Bu yöntemde hücre membran bütünlüğü bozulmuş ve bozulmamış hücrelerin boyanması ile değerlendirme yapılmaktadır. Membran bütünlüğü bozulmuş hücre içerisine alınan tripan mavisi, eritrosin ya da naftalin siyahı gibi boyalar ile veya membran bütünlüğü bozulmamış canlı sağlam hücrelerin içerisine alınan diasetil florasan

ya da nötral kırmızı gibi boyaların kullanılması ile yapılır (Dursun, 2019, Dinç, 2020; Şahin, 2012). Nötral kırmızı testi, Tripan mavisi testi, Floresan metodu canlılık değerlendirme testlerindendir (Moharamzadeh, ve ark. 2009; Tuncer ve Demirci, 2011; Gülal, 2015; Yılmaz, 2018).

- Nötral kırmızı alım testi; nötral kırmızı boyasının canlı hücre içerisine alınması ve lizozomda birikmesi temeline dayanır. Nötral kırmızı vital bir boyadır. Boyayı alan hücreler hemositometre üzerine alınır, optik mikroskop altında canlılık yüzdesi belirlenir. Boyanan hücreler spektrofotometrik olarak da ölçülebilir.
- Tripan mavisi testi; membran bütünlüğü bozulmuş ölü hücrelerde tripan mavisi birikmesi esasına dayanan bu yöntem de nötral kırmızı testinde olduğu gibi hemositometre ile boyanan hücreler tespit edilebilir.
- Floresan metodu; diasetil floresan canlı hücre içerisine, propidyum iyodür floresan membran bütünlüğü bozulmuş hücre içerisine girebilen floresan boyalar ile boyanmış hücreler flow sitometri veya floresan mikroskobu ile değerlendirilir.

2.2.7.1.2.Yaşam Değerlendirme Testleri

Yaşam değerlendirilmesinde hücrelere uygulanmış materyalin uzun süreli toksik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla hızlı ve kolay yöntemler olmakla birlikte değerlendirme esnasındaki ölü hücreleri göstermektedirler. Canlılığı değerlendiren testler sadece test sırasındaki hücre canlılık oranını gösterirken, toksik reaksiyon etkilerinin geri dönüşebilir olmasını göz ardı ettiği için, yaşam değerlendirme testleri, canlılık testlerine göre daha doğru sonuçlar verebilmektedir. Hücre yaşamı (survival) seyreltilmiş tek tip hücre süspansiyonundan hücrelerin tek tek koloni oluşturabilme kabiliyeti olarak tanımlanır. Düşük hücre yoğunluğunda koloni oluşturma seviyesi (plating efficiency) hücre yaşamının belirlenmesinde kullanılan yöntemdir (Tuncer ve Demirci, 2011; Şişmanoğlu, 2018; Yılmaz, 2018).

2.2.7.1.3.Hücre Proliferasyon Değerlendirme Testleri

Kültür içindeki hücrelerin birkaç gün sonraki sayımı materyalin çeşitli bileşenlerinin hücre proliferasyonuna etkisinin belirlenmesinde de kullanılır. Ancak test süresi içinde belirli bir anda yapılan hücre sayımından net bir sonuç alınamadığından dolayı en azından testin erken aşamalarında bir büyüme eğrisinin elde edilmesi gereklidir. Hücre sayımında büyüme eğrisi analizleri az sayıda örnek varsa kullanılabilir ancak sayı artarsa bu analizler tercih edilmemektedir. H-timidin ve bromodeoksiuridin immuno-histokimyasal teknik bu yöntemde en çok kullanılan testlerdir (Moharamzadeh, ve ark. 2009; Yılmaz, 2018; Dursun, 2019; Dinç, 2020).

- 3H-timidin testi: Hücre proliferasyonunun değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bir radyoizotop olan 3H-timidin proliferasyon esnasında uygulanarak hücre içine alınan bu maddenin radyoaktivite ölçümü ile yeni DNA sentezi tespit edilerek proliferasyon üzerindeki etkisi ölçülür.

- Bromodeoksiuridin immunohistokimyasal testi: İmmunohistokimya yöntemi ile işaretlenmiş antikorlar kullanılarak hücre ve doku antijenlerinin gösterilmesini sağlayan bir yöntemdir. BrdU (5- bromo-2'-deoxyuridine); DNA sentezini tayin etmek için kullanılan timidin testine eşdeğer bir yöntemdir. BrdU timidin benzeri bir maddedir ve DNA içine girer. BrdU uygulanan proliferasyon evresindeki canlı hücreler Anti- BrdU monoklonal antikor ile boyanarak sayımları yapılabilir veya değerlendirmede ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kiti de kullanılabilir.

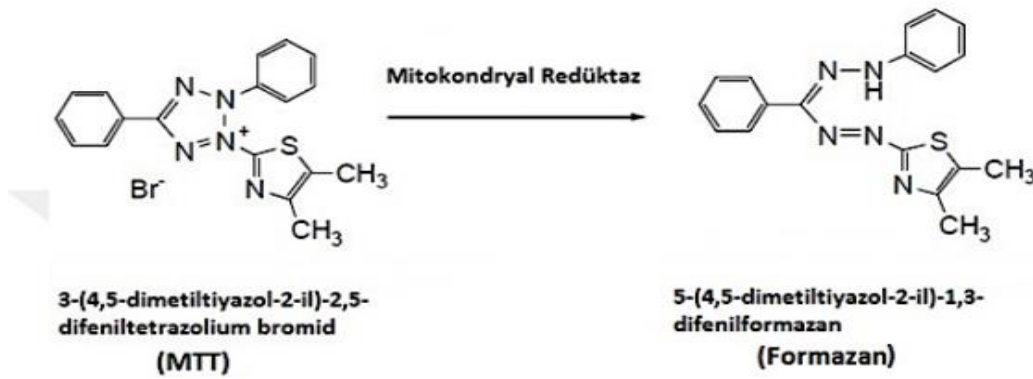
2.2.7.1.4. Metabolizma Değerlendirme Testleri

Örnek sayısı fazla olduğu durumlarda yaşam belirleme testlerinin hazırlık aşamaları ve testlerin analizleri zaman alıcı ve zahmetlidir. Ayrıca bazı düşük yoğunlukta hücre hatlarının özellikle yeni izole edilmiş hücrelerin koloni yapabilme yetenekleri gelişmemiştir. Bu nedenle yüksek yoğunluğa sahip hücrelerin değerlendirilmesi için bazı çeşitli test yöntemleri geliştirilmiştir. Bu testler ile doğrudan hücre yaşam (survival) değerlendirilmesi yapılamaz. Ancak yapılan bu testlerde hücre sayısındaki net artış, total protein miktarı veya DNA artışı belirlenir. Aynı zamanda bu test ile tetrazolyum tuzunun formazon kristaline indirgenmesi ya da DNA veya protein sentezi saptanarak devam eden metabolik aktivite belirlenir. Metabolizma testleri ve protein içerik testleri kısa süreli toksisiteden ziyade uzun süreli oluşacak zararı anlamak için hücrelerin metabolik veya proliferatif kapasitelerini ölçerler. Metabolizma testlerinde hücrelerin canlılıkları mikropalak okuyuculu spektrofotometre yardımı ile tespit edilir. Bu testler, uzun sürede oluşabilecek toksik etkiyi belirleyebilen, hücrelerin metabolik veya proliferatif kapasitelerini ölçen, ekonomik ve hızlı yöntemlerdir. Canlı hücre miktarının belirlemesinde en sık kullanılan metabolik test yöntemi olan MTT testinin yanı sıra MST, WST ve XTT testleri de geliştirilmiştir. MTT testinde suda çözünmeyen formazon bileşiği oluşurken, MST, WST ve XTT testlerinde ise suda çözünen formazon bileşiği oluşmaktadır (Tuncer ve Demirci, 2011; Gülal, 2015; Yılmaz, 2018; Dursun, 2019; Dinç, 2020).

- 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi

Makrofaj aracılı sitotoksitenin nicel olarak belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan ve hızlı, basit uygulanabilir kolorimetrik bir kontrol yöntem 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testidir. Bu testin temelini, canlı hücrelerde mitokondrinin, 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) boyasına ilişkin tetrazolyum halkasını parçalama kabiliyeti oluşturmaktadır. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT), fenol kırmızısı olmayan ortamlarda hazırlanan sarı renkli çözeltidir. Yöntemin temeli; sarı renkli 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) çözeltisinin, çözünmeyen menekşe-mor renkli formazan kristallerine dönüştüren canlı hücrelerdeki mitokondriyal redüktaz enziminin aktivitesinin ölçülmesine dayanır. Canlı hücrelerde süksinat dehidrogenaz benzer biçimde mitokondriyal enzimlerin metabolik aktiviteleri ile tetrazolyum halkası açılarak suda

çözünmeyen mor formazan 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) kristalleri oluşturulur. Bu kristaller yalnızca etken mitokondrinin aktivitesinin bulunmuş olduğu canlı hücrelerde görülür. Organik çözücülerde kolayca çözünen formazan kristalleri, konsantrasyon- bağımlı olarak spektrofotometrik yöntemle görünür dalga boylarında ölçülen bir absorbans verir. Bu ölçülen absorbans değerleri endirekt olarak hücrelerin canlılığını yansıtır (Tuncer ve Demirci, 2011; Şahin, 2012; Şişmanoğlu, 2018; Yılmaz, 2018; Dursun, 2019; Dinç, 2020).



Şekil 2.13. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) deney reaksiyonu (Nenni, 2018)

- Alamar mavisi testi

Hücre canlılığını ve proliferasyonunu değerlendirmek için metabolik aktivitenin Alamar mavi boyası ile belirlendiği bir floresans yöntemidir (floresan ölçümü ile) / kolorimetrik yöntemidir. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testine göre pahalı bir yöntemdir ancak bu yöntemde renk değişimi hem floresans hem de spektrofotometri ile tespit edilebilir. Ek olarak, bu boya toksik olmadığı için hücre canlılığı değerlendirmesi için birden fazla boyama olanağı sağlar (Tuncer ve Demirci, 2011; Yılmaz, 2018).

- Laktat dehidrojenaz (LDH) testi

Laktat dehidrojenaz (LDH) test yönteminde (kolorimetrik bir sitotoksosite değerlendirme yöntemi), sitotoksosite, sitoplazmik enzimlerin salınması durumunda hasar gören veya parçalanmış bir tür hücre zarı olan laktat dehidrojenaz ölçülerek belirlenir (Gülal, 2015; Yılmaz, 2018).

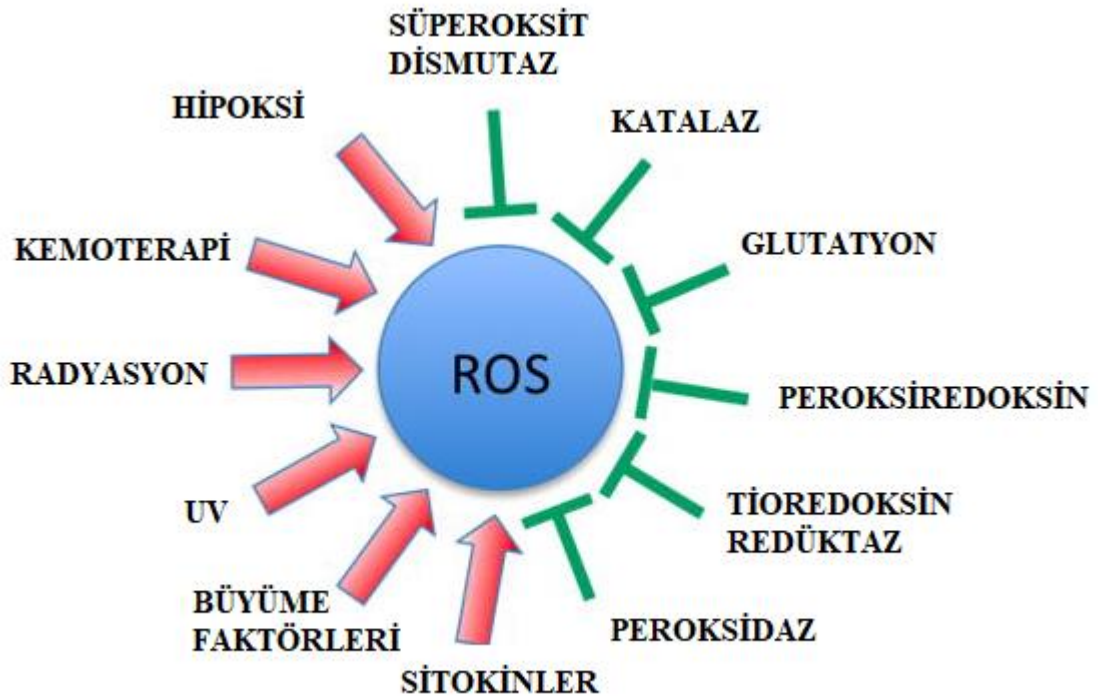
- Sülförodamin B testi

Hücre proteinlerinin kolorimetrik olarak ölçümü esasına dayanır. Belirlenen protein miktarı hücre sayısı ile ilişkilendirilir (Yılmaz, 2018).

2.2.8. Kanser Ve Antioksidan Aktivite

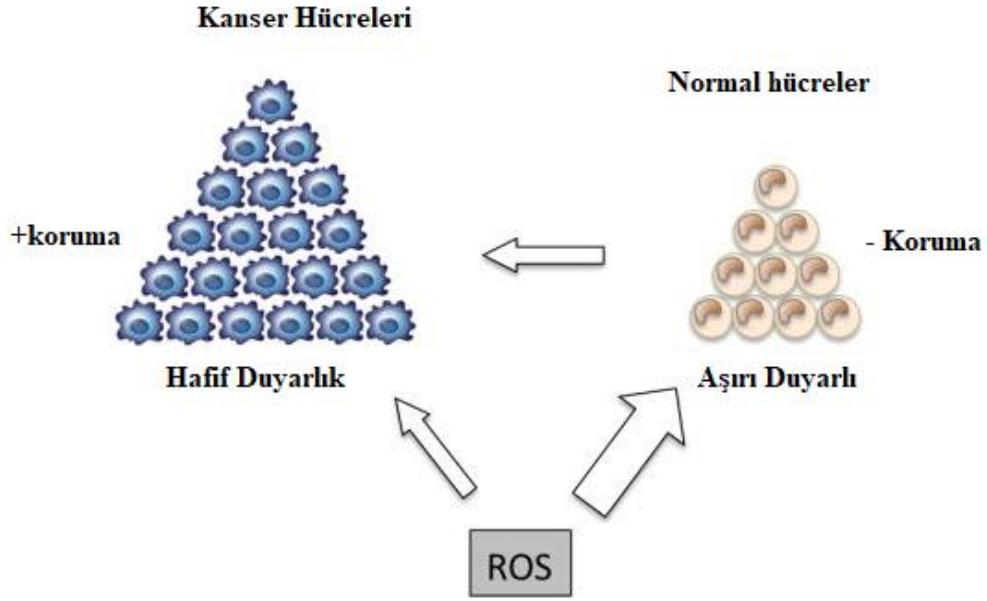
Serbest radikal süpürücü olarak bilinen antioksidanlar; serbest radikaller ile etkileşimle girerek hasara yol açmasını engelleyen kimyasallardır. Serbest radikalleri nötralize etmek için vücudumuz bazı antioksidanlar üretir. Vücudumuzun ürettiği bu antioksidanlar endojen olarak isimlendirilirken, Meyveler, sebzeler ve tahıllar gibi dışarıdan aldığımız antioksidanlar eksojen olarak tanımlanır (Bouayed, 2010; D, ve ark. 1998) .

Serbest radikaller, oldukça aktif ve hücrelere zarar verme oranı yüksek kimyasallar olarak bilinmektedir. Bir molekül veya bir atom, bir elektron kazandığında veya kaybettiğinde oluşum gösterirler. Vücutta doğal yollarda oluşum gösteren serbest radikallerin yüksek konsantrasyonları, vücut için tehlike oluşturabilir. Bu tehlike; DNA, protein ve hücre zarları gibi hücrelerin tüm ana bileşenlerini etkilemektedir. DNA'nın aldığı hasarlar kanser ve birçok hastalık için zemin oluşturabilir (D, ve ark. 1998; Volko ve ark. 2007).



Şekil 2. 14. Reaktif oksijen türlerinin üretimini çeşitli aktivatörleri ve inhibitörlerinin şematik gösterimi (Reuter ve ark. 2010)

Vücuttaki sağlıklı hücrelerin korunumunu sağlayan antioksidanlar, kanser hücrelerini de koruyabilmektedir. Bazı çalışmalar ile fareler ve insan kanser hücrelerinde belirli antioksidan bileşiklerin etkileşimi araştırılmıştır. Serbest radikallerin üretiminden sorumlu olan hücrelerin mitokondrilerine bağlanan antioksidan bileşikleri, serbest radikallerin üretimini azaltabileceği gibi, fazla miktarda üretilmesine sebep olup kansere yol açabilmektedir. (Le Gal Beneroso, 2018; Bouayed ve Bohn, 2010).



Şekil 2. 15. Normal hücrelerin kanser hücrelerine karşı reaktif oksijen türlerine duyarlılığının modeli (Reuter ve ark. 2010)

Normal hücreler, kanser oluşumuna yol açabilecek antioksidan mekanizmalar tarafından yeterince korunmazlarsa ROS'a aşırı duyarlıdır. Kanser hücreleri ise kendilerini ROS'a karşı koruyacak olan antioksidan mekanizmalara (glutatyon, SOD, katalaz ve diğerleri) sahiptir (Reuter, ve ark. 2010).

Bazı veriler, antioksidanların, sağlıklı hücreleri olduğu kadar tümör hücrelerini de radyasyon tedavisi ve bazı kemoterapötik ajanlar tarafından oluşturulan oksidatif hasardan koruyabileceğini göstermektedir (Lawenda ve ark. 2008).

2.3.Antioksidan Aktivite

Reaktif oksijen çeşitlerinin neden olduğu doku hasarına bağlı hastalıklardan insanları korumak için antioksidan madde bakımından zengin olan meyve ve sebzeler tüketilmektedir. Diğer bakımdan işlenmiş gıdaların bozulmasını önlemesi ve tüketim ömrünün uzatılması için bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), propil gallat (PG) ve t-bütillhidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Doğal kaynaklardan, sentetik oksidanların yerini alabilecek yeni antioksidan türlerin bulunması için yapılan çalışmalar 20 sentetik oksidanlar ve oluşturdıkları yan ürünlerin çeşitleri çeşitli kanser hastalıklarına sebep olması nedeni ile giderek önem kazanmıştır. Ticari amaçla kullanılan en önemli antioksidanlar askorbik asit ve tokofenoller iken, flavonoitler, amino asitler, karotenoitler, fenolik bileşikler ve enzimatik antioksidanlar (glukoz oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) diğer doğal antioksidan çeşitleridir (Türkoğlu, 2011).

2.2.1. Antioksidan savunma mekanizmaları

Serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek ya da mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genel olarak fenolik fonksiyon bulunduran moleküller antioksidanlardır. Antioksidanların çeşitli savunma mekanizmalarını aşağıdaki gibi 5 grupta sınıflandırmak mümkündür (Saldır, 2015).

- 1) Radikal metabolit üretiminin önlenmesi,
- 2) Üretilmiş radikallerin temizlenmesi (detoksifikasyon)
- 3) Hücre deformasyonunun onarılması
- 4) Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması
- 5) Endojen antioksidan kapasitesinin artırılması

Antioksidan çalışmalarında seviyeyi belirlemek amacıyla kullanılan iki temel yöntem bulunmaktadır. Bunlardan ilki serbest radikal türleri ile ilgili antioksidan aktivite değerlendirmesidir. Çeşitli yöntemler aşağıda gösterilmiştir. Antioksidan aktiviteyi belirlemede kullanılan ikinci kategori ise önemli biyolojik belirteçler ve önemli substratların antioksidan aktivite değerlendirmesinde kullanılmasıdır. Bu da lipidler, DNA ve proteinlerin üzerinde serbest radikallerin oluşturduğu hasarları inceleyerek yapılan bir yol izlenmektedir (Özcan, 2015).

2.2.2. Antioksidanların etki mekanizmaları (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)

- 1. Toplayıcı etki;** Serbest oksijen radikallerini tutarak veya daha zayıf moleküllere dönüştürerek etki gösterirler. Antioksidan enzimler bu şekilde işlev görürler.
- 2. Bastırıcı etki;** Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen ekleyerek aktivitelerini azaltarak veya inaktif hale dönüştürerek etki gösterirler. Vitaminler ve flavanoidler bu özellikteki antioksidanlardır.
- 3. Zincir kırıcı etki;** Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıcı etki gösterirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4. Onarıcı etki;** Serbest radikallerin oluşturduğu hasarı onarıcı etkiye sahiptirler.
- 5. Hücresel kinaz kayıplarını önleme;** Oksidasyon reaksiyonlarını durdururlar.
- 6. Enzimatik etki;** süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırarak etkilerini gösterirler.

2.2.3. Antioksidan Aktivite Belirlemede Kullanılan Yöntemler

2.2.3.1. Hidrojen Atomu Transfer Yöntemleri (HAT)

Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Metodu

Lipid Peroksidasyonu İndirgeme Kapasitesi (LPIC) Yöntemi

Toplam Radikal Tuzaklayıcı Parametre (TRAP) Metodu

Inhibe oksijen Alımı (IOC)

Crocin Ağartma Nitrik Oksit Radikali İnhibisyon Aktivitesi

p-NDA'nın (p-butrisidunetill anilin) Hidroksil Radikali Süpürme Aktivitesi

Hidrojen peroksit (H₂O₂) Radikalini Süpürme Aktivitesi

2,2'-azinobis (3- etil-bezotiazolin 6 sulfonat (ABTS) Radikalini Süpürme Aktivitesi

Süperoksit Radikal Oluşumunu Alkalın (SASA) ile süpürme Aktivitesi

2.2.3.2. Elektron Transfer Metotları (ET)

Elektron Transfer Metodları (ET)

Trolox Ekvivalenti Antioksidan Kapasite (TEAC) Metodu

Fe(III) İyonu İndirgeme Gücü (FRAP) Metodu

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikalini Süpürme Aktivitesi

Bakır (II) İndirgeme Kapasitesi

Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Tayini

N,N-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD) Yöntemi

2.2.3.3. Diğer Yöntemler

Total Oksidan Süpürme Kapasitesi (TOSC)

Briggs – Rauscher Salınım Reaksiyonunun İnhibisyonu

Kemiluminesans

Elektrokemiluminesans

Fluorometrik Analizler

Geliştirilmiş kemiluminesans (ECL)

Hücresel Antioksidan Aktivite (CAA) Yöntemi

Boya-Substrat Oksidasyon Metodu

2.2.4. Antioksidanların Sınıflandırılması

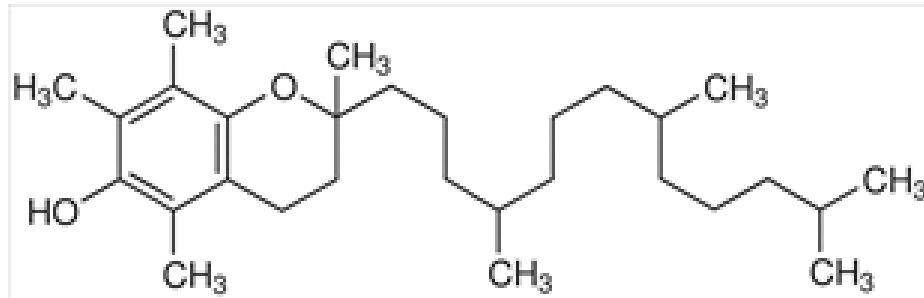
Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere iki şekilde sınıflandırılmıştır. Doğal antioksidanların başında vitamin C, karotenoidler, flavonoidler, fenolik asitler,

polifenoller, tokoferoller ve selenyum gelirken tıbbi yönden bitki kaynaklı doğal antioksidanlara karşı ilgi artmaktadır. Bunun sebebinin sentetik antioksidanların (BHA (butilat hidroksianisol) ve BHT (butilat hidroksitoluen) kanserojen olduklarının düşünülmesidir (Saldır, 2015).

2.2.4.1. Doğal antioksidanlar

2.2.4.1.1. Tokoferoller

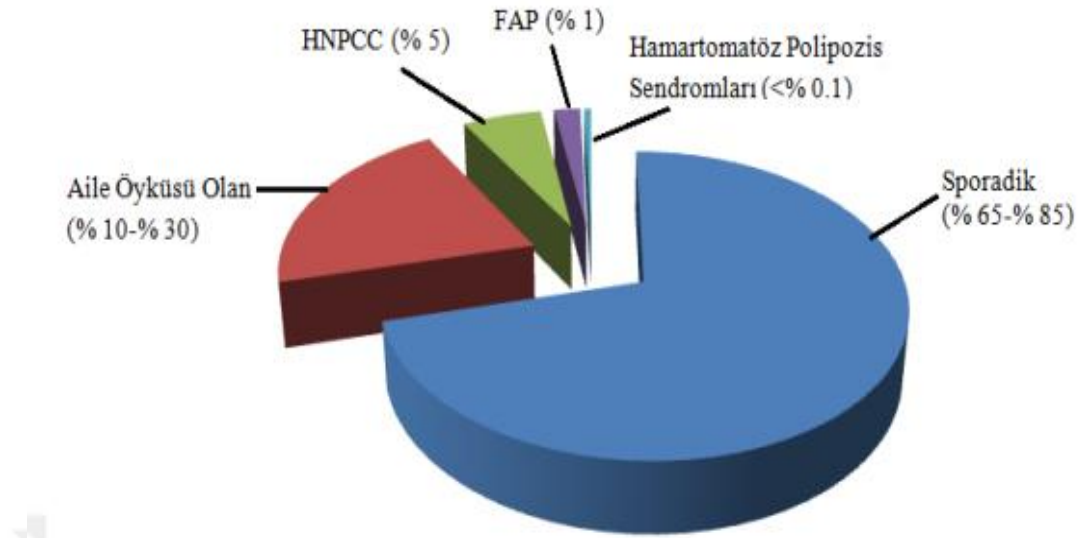
En önemli antioksidan E vitamininin aktif olduğu, ısıya ve asitlere dayanıklı olan α -tokoferoldür. Tokoferoller, yağda çözüneme, gıdaların ısıtılması, dondurulması gibi işlemlerde bozulma özelliklerine sahiptirler (Saldır, 2015). Antioksidanlar arasında en iyi bilinen ve kullanılan tokoferoller neredeyse tüm gıdalarda eser miktarda dahi olsa bulunmaktadır. Doğal olarak mevcut olan 8 adet adet tokoferolden biri E 33 vitamininin en aktif formu olan α -tokoferoldür. Hidroksil grubunun hidrojenini lipid peroksil radikale vererek antioksidan aktivite gösteren tokoferoller oksidatif stabiliteyi arttırmada ve sıcaklık arttıkça oksidasyon hızını azaltmada etkili olduğu ve aynı zamanda hidroperoksitlerin dekompozisyonunu yavaşlattıkları belirtilmiştir. Güçlü ve doğal bir antioksidan olan vitamin E'nin genel olarak görevleri hücre bileşenlerinin moleküler oksijen ve serbest radikallerin oksidasyonundan korumasıdır, kalp hastalığı oluşma riskini azalttığı birçok araştırma ile gösterilmiştir. α -tokoferoller görevini tamamladıktan sonra yeniden tereyağı, margarin, sıvı yağlar, tavuk, yumurta, kırmızı et, yer fıstığı, badem, pamuk gibi bitkilerin yağlarında ve keten tohumlarından alınmalıdır (Türkoğlu, 2011).



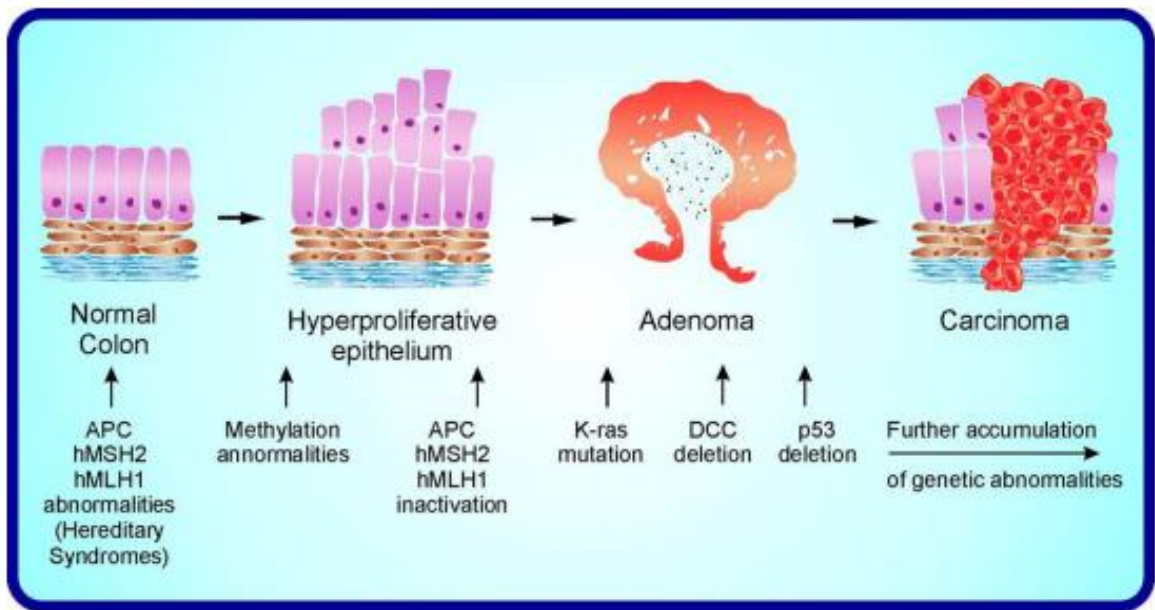
Şekil 2.16. α -tokoferol (Saldır, 2015)

2.2.3.5. Kolon kanserinin sınıflandırılması

Vakaların % 90' ı kalıtsal olmayan sporadik, % 10' u ise genetik nedenli olarak belirlenmiştir. Sporadik olarak ortaya çıkan kolorektal kanser vakalarında adenomatöz poliplerin ortaya çıkıp tümör dokusunun gelişmesinden, iki vuruş modeli (two-hit hipotezi) konu olmuştur. Adenomlarda APC (adenomatöz polipozis koli) geninin her iki kopyasında kayıp olması APC mutasyonu epitelyal hücreleri özellikle hücre siklusunu kontrolden çıkarır. Sporadik tümörlerin ve bu dokuyu çevreleyen normal dokuda bu kaybın gözlemlenmesi bu görüşü desteklemektedir (Darendelioğlu, 2017; Yamak, 2012).



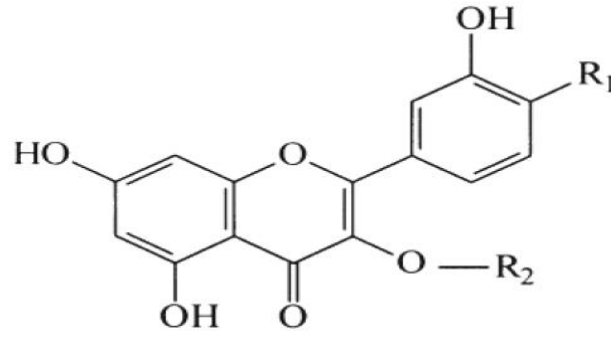
Şekil 2.17. Kolorektal kanserlerin sınıflandırılması (Erdoğan, 2016)



Şekil 2.18. Kolon kanseri gelişiminde Adenom-Karsinom sekansı (Şimşek, 2013)

2.2.4.1.2. Flavonoidler

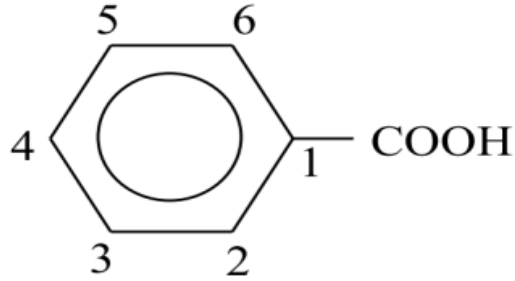
Meyve ve sebzelere renk ve tat veren flavonoidler bitki polifenollerinde en çok rastlanan grubu oluşturur. Flavonoidlerin, antiviral, antiallerjik, antitümör ve antioksidan özellikleri ile insan sağlığı üzerindeki etkilerinden dolayı son zamanlarda dikkat çekmektedir (Saldır, 2015).



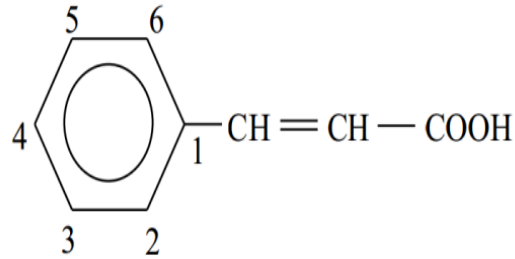
Şekil 2.19. Flavonoidlerin Genel Yapısı (Saldır, 2015)

2.2.4.1.3. Fenolik asitler

Hidroksibenzoik (gallik asit, vanilik asitler gibi asitler) ve Hidroksisinnamik (kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit ve *o*-kumarik asitler) asitleri içeren gruptan oluşan Fenolik asitler, bitkilerdeki en basit fenolik bileşenlerdir (Saldır, 2015).



Şekil 2.20. Hidroksibenzoik asit (Saldır, 2015)

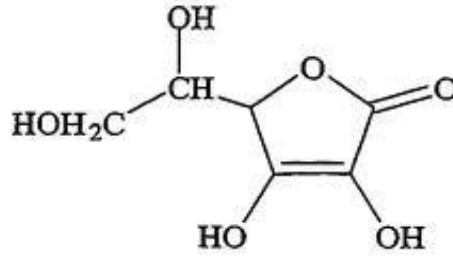


Şekil 2.21. Hidroksisinnamik asit (Saldır, 2015)

2.2.4.1.4. Askorbik asit (C Vitamini)

Antioksidan açısından yüksek değere sahip askorbik asit insan sağlığı için önemli yere sahip vitaminlerdendir. Hayvansal ürünlerde; süt ve ciğerde düşük miktarda bulunsa da özellikle turunçgil meyveleri başta olmak üzere çeşitli sebzelerde yüksek oranda bulunmaktadır. Yetersiz miktarda alınımı dişlerin gevşemesi ve eklem hastalıklarına sebep olur (Saldır, 2015)

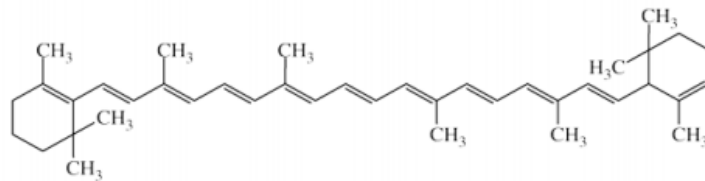
C vitaminin neredeyse en baskın formu olan askorbik asit hayvansal ve bitkisel kaynaklarda yüksek konsantrasyonda bulunurken en çok biber, maydanoz, turunçgiller ve ıspanakta mevcuttur (Türkoğlu, 2011).



Şekil 2.22. Askorbik asit (Saldır, 2015)

2.2.4.1.5. Karotenoidler

Oldukça kompleks bir yapıya sahip olan karotenoidler, bitki ve hayvansal dokularda bulunan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Doğada bulunların çoğu antioksidan özelliğe sahiptirler (Saldır, 2015). β - karoten, α -karoten, β -kriptoksantin ve likopen gıdalardaki önemli karotenoidlerdir. Vücutta A vitamini formuna dönüşen β -Karotendir.



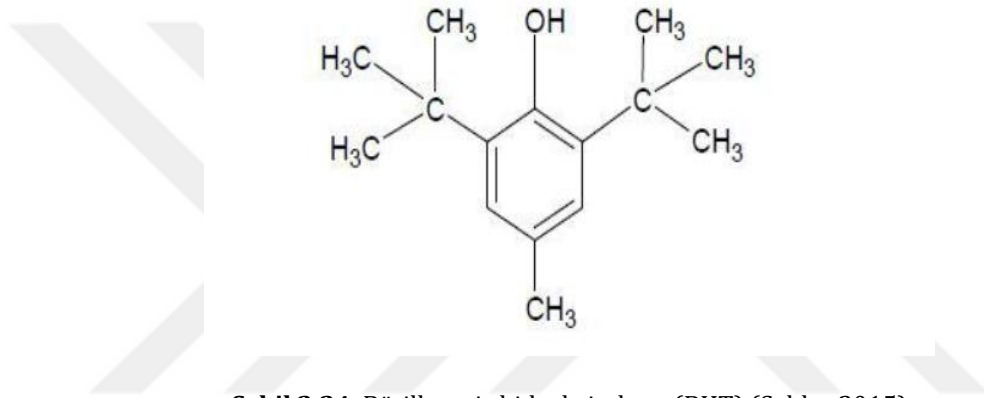
Şekil 2.23. Beta karoten (Saldır, 2015)

2.2.4.2. Yapay antioksidanlar

Genellikle yiyeceklerin uzun süre saklanması için kullanılan sentetik antioksidanlardan en yaygın olanları bütillenmiş hidroksidi anisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksidi tolüen (BHT)'dir (Saldır, 2015).

2.2.4.2.1. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

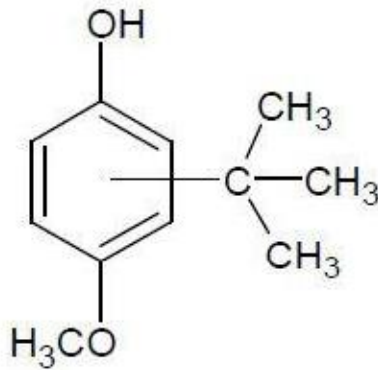
Erime noktası 70°C olan BHT, oda sıcaklığında katı halde bulunur. Petrol ürünlerinde sentetik kauçuklarda, plastiklerde, hayvan yemlerinde v hayvansal ve bitkisel yağlarda kullanılan BHT, suda çok az çözünen bir maddedir (Saldır, 2015; Yavaşer, 2011).



Şekil 2.24. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Saldır, 2015)

2.2.4.2.2. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

Antioksidan özelliğe sahip BHA beyaz katı bir yapıda olup, hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünebilen ancak suda çok az çözünen bir maddedir. BHA ya engelleyici fenol de denilmektedir (Saldır, 2015, Yavaşer, 2011).



Şekil 2.25. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) (Saldır, 2015)

2.2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan seviye (TAS), vücudumuzun genel antioksidan durumunu belirlemek için kullanılan güvenilir, hassas bir yöntemdir. Endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden organizma, kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudumuzda antioksidanların dağılımı kan aracı ile gerçekleşmektedir. Antioksidanların tek tek seviyelerinin ölçümünden daha değerli bilgiler TAS sayesinde elde edilebilir (Koçaslan, 2011; Özyıldırım, 2019).

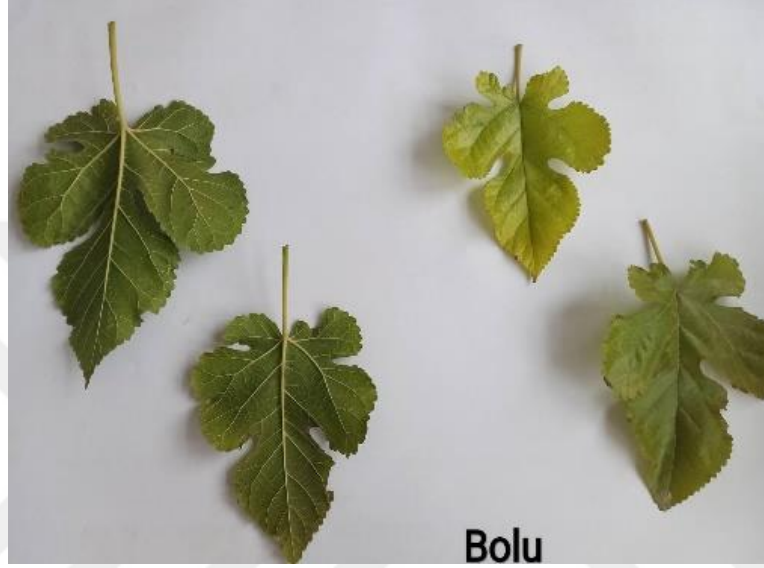


3. MATERYAL VE METOT

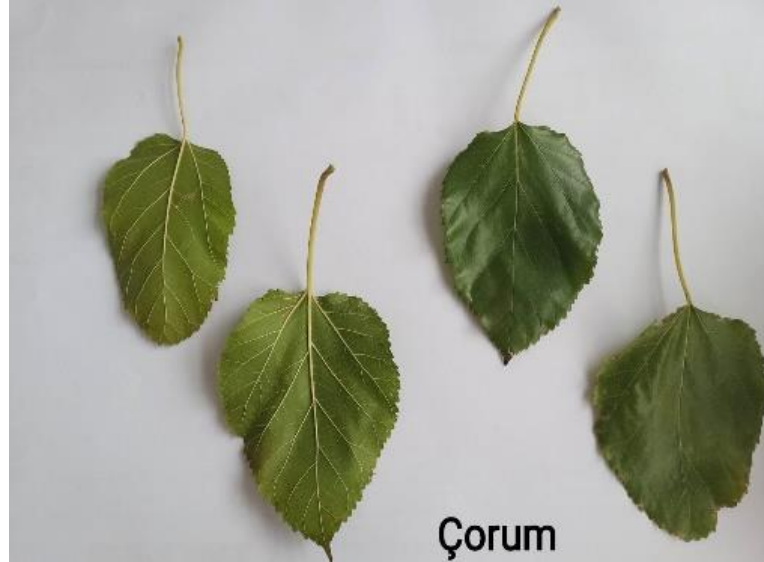
3.1. Materyal

3.1.1.Örnek temini

Tez çalışmasında kullanılan *Morus alba* L. örnekleri, 2020-2021 yıllarında Bolu ve Çorum illerinden temin edilmiştir. Kolon kanseri hücre hattı (Caco-2) Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda, Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.



(a)



(b)

Resim 3.1. Bolu ve Çorum illerinden toplanan *Morus alba* L. yaprakları (a ve b)

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Hücre Hatları, Malzeme Ve Cihazlar

- Caco-2 - Kolon kolorektal kanser hücre hattı
- Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM High Glucose (4.5 g/l) (Cegrogen biotech-E0500-130))
- L-glutamin (% 1'lik) (Capricorn Scientific/GLN-B)
- Penisilin- Streptomisin (100 IU) (Sigma P4333-100 ml)
- Trypsin/EDTA (Gibco™ 15400-054)
- Steril Dimetil sülfoksit (DMSO)
- (3- (4,5- di metil tiyazol -2-il) -2,5difenil tetrazolyum bromürü (MTT) (Sigma)
- Etanol
- Fosfat Buffer Saline (1X) (PBS)
- Tripan mavisi boya (Bio-Rad)
- Etanol
- %10 Fetal sığır serumu (FBS)
- 0,45 µm şırınga filtresi ve 0,22 µm şırınga filtresi
- 3-4,5-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)
- 25 cm² hücre kültür flaskı ve 75 cm² hücre kültür flaskı
- pH Metre (Mettler Toledo)
- Vorteks (DragonLab mx-f)
- Hassas Terazi (Rodwag)
- Otoklav (Alp)
- Manyetik karıştırıcı (Mtops)
- Derin dondurucu (-20°C) (Uğur)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Derin dondurucu (-80°C) (Wisecryo)
- Otomatik Hücre Sayacı
- Hücre sayım plakası (Bio-Rad)
- Hematositometre
- Falconlar
- Mikropipet takımı (Dragonlab)
- Serolojik Pipet (5-10-25 ml)
- Otomatik Hücre Sayımı (Bio-Rad)
- Inverted Mikroskop (Zeiss)
- Işık Mikroskop (Olympos)
- Spektrofotometre (Biochrom)
- ELISA Mikroplate Okuyucu (Rayto RT-3100)
- Soxhlet ve aparatları
- CO₂'li İnkübatör (Esco)
- Santrifüj (Nüve CN 180)

- Hücre Kültür Kabini (ClassII-ESCO)

3.2.Metot

3.2.1. *Morus alba* L. Yaprak Ekstratlarının Elde Edilmesi

Morus alba L. yaprakları etüvde 40 ± 1  C kurutuldu. Kurutulan yapraklar parçalanarak her sette 12 g olacak şekilde 2 set halinde tartılarak hazırlandı. 12 g örnek 240 ml çözücü içerisinde Soxhlet cihazı içerisine yerleştirilerek yaklaşık 8 saat ekstrakte edildi.



Resim 3.2. Soxhlet düzeneğinde *Morus alba* L. yaprakları

Ekstraksiyonda   z c  olarak distile su ve etanol kullanıldı. Elde edilen ekstraktlar rotary evaporatorunda buharla tırıldı. Kalan ekstraktlar kendi çözgeni ile son hacim 10 ml olacak şekilde dil e edildi. Örnekler filtreden geçirilerek çalışmalar yapılınca kadar $+4^ C$ ' de saklandı.



Resim 3.3. Rotary evaporator

3.2.2. Antitümoral Etkinlik Testi

Hücre kültürü çalışmalarının başlamasından yarım saat önce ve sonra çalışılacak ortamın sterilizasyonu UV kullanılarak hücre kültür kabini (ClassII-ESCO) içerisinde yapıldı. Hücre kültür kabini içinde olan çalışmada kullanılan tüm malzemeler %70'lik alkolle dezenfekte edildi.

Ticari olarak elde edilen Caco-2 hücre hattı çalışmalarda kullanılmak üzere flasklarda çoğaltılıp yaşamlarının devam ettirilebilmesi için %10 fetal sıgır serumu (FBS) ve %1 Penisilin/streptomisin ile içeriği arttırılmış Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) oluşan kültür ortamına bırakıldı. Hücreler 37°C'de, %5 karbondioksit içeren inkübatörde çoğaltıldı. Flasklar içerisinde hücreler çalışmamız için istenilen yoğunluğa ulaştığında complete besiyeri uzaklaştırılıp hücre yüzeyi PBS ile yıkandı. %0,25 Trypsin-EDTA ile muamele edilerek kaldırılmış hücreden 1 ml steril 1,5 ml'lik ependorfa alınmıştır. Burada bulunan hücrelerden çekilmiş ve başka bir steril 1,5 ml'lik ependorfta vital bir boya olan %0,4 tripan mavisi ile karıştırılmıştır. Karıştırılan boya ve hücreler hücre sayım kitinin içerisinde bulunan hücre sayım plaklarına (neubauer) 10 µl yüklenmiştir. Plaka otomatik hücre sayım cihazına yerleştirilerek sayım yapılmıştır. Cihaz ekranında ölçüm sonucunda ml'deki hücre sayısına göre hesaplamalar yapılmış ve kullanılmıştır.

Hesaplama: Kullanılacak olan hücre plate kuyucuğu sayısına göre hesap yapılır. 24 ve 48 saatlik 96'lık plate kuyucuklarına göre hesap yapılmıştır. Hesaplama da hücre sayı cihazının 1 ml'de verdiği sonuç üzerinden total mililitre hesabı gerçekleştirilmiştir. 24 ve 48 saatlik değerlendirilme için kullanılan plate kuyucukların toplamı fazlalık payı da hesaba katılara 200 kuyucuk bulunmuştur.

200 kuyucuk için $\Rightarrow 200 \text{ kuyucuk} \times 5 \times 10^3 \text{ hücre} = 10^6 \text{ hücre}$ gereklidir.

$\Rightarrow 200 \text{ kuyucuk} \times 200 \mu\text{l complete medium} = 40\,000 \mu\text{l}$

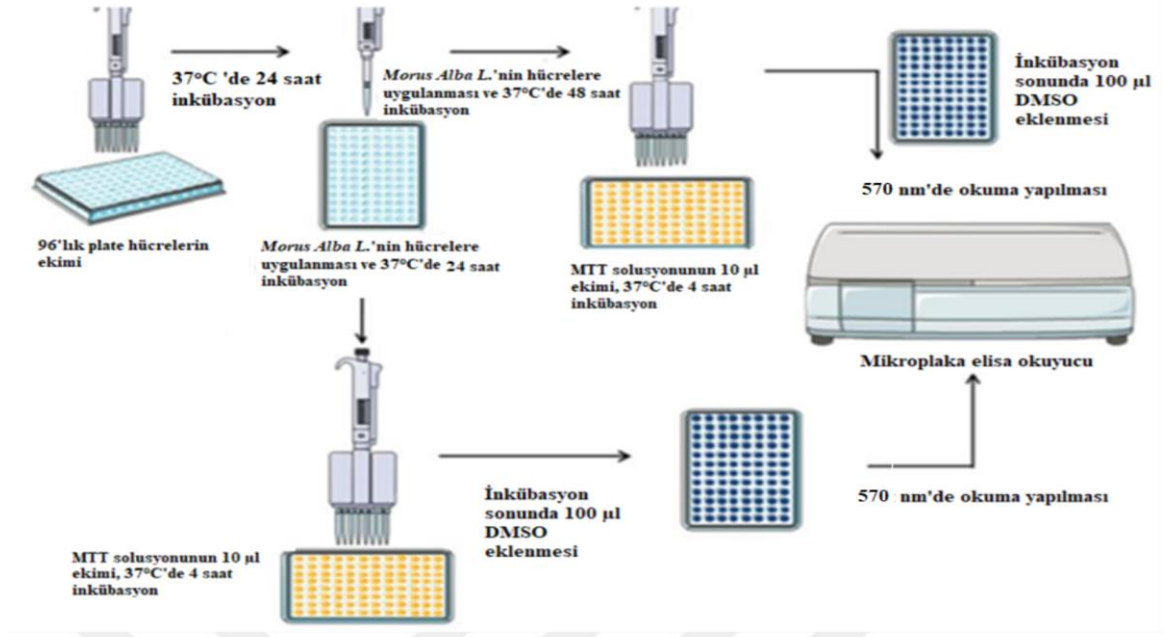
$\Rightarrow 40\,000 \mu\text{l medium} = 40 \text{ ml medium}$ gereklidir.

Hesaplaması yapılan hücreler 96'lık plate 200 μl ekilmiş %5 CO_2 'li 37°C etüvde 24 saat inkübe edilmiştir.



Resim 3.4. TC20™ Automated Cell Counter hücre sayım lamı ile canlı ve ölü hücrelerin belirlenmesi

96 kuyucuk bulunan plakalara ekimi yapılan hücreler 24 ve 48 saatlik sürede farklı konsantrasyonlarda (20,15,10,5 $\mu\text{g/ml}$) *Morus alba* L. yaprak ekstraktları ile muamele edildi. Plakalarda kontrol olarak bir satıra 100 μl complete medium eklendi. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) solüsyonundan her kuyucuğa 10 μl eklendi. İnkübasyon süreleri tamamlanan plaklardaki kuyucuklara 100 μl Dimetil sülfoksit (DMSO) eklendi ve 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) çözeltisinin uygulanması sonucu oluşan formazan kristalleri suda çözünür hale getirildikten sonra kuyucuklardaki optik yoğunluk ELISA cihazında 570 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.



Şekil 3. 1. MTT protokolü (Sharma ve ark., 2019)



Resim 3. 5. 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi analiz örneği

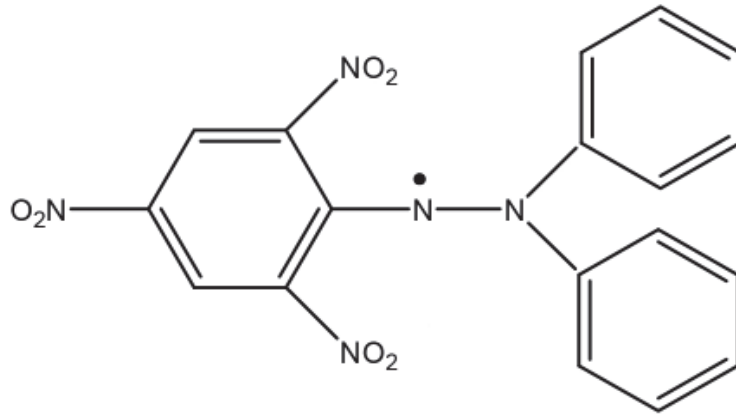
3.2.3. Antioksidan Aktivite Testi

3.2.3.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) testi

Birkaç kararlı organik azot radikalinden olan DPPH koyu menekşe bir renge sahiptir. UV-Görünür Bölge absorpsiyon maksimumu 517 nm'dir ve ticari olarak temin edilmiştir.



Resim 3. 6. DPPH kiti (Sigma)



Şekil 3.2. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Radikali (Büyüktuncel, 2013)

Yöntem;

0,1 mM 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (istenilen miktar etanol ile çözüldü).

Çözelti alüminyum folyo ile kaplanarak +4 °C de saklandı.

1 ml örnek + 3 ml 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) çözeltisi hazırlandı.

30 dk oda ısısında inkübasyona bırakıldı.

517 nm'de ölçüm yapıldı.

30 dk oda ısısında inkübasyona bırakıldı.

517 nm' de ölçüm yapıldı.

(Distile su ve etanol ile iki farklı standart hazırlandı. Standart içerisinde 1:1 oranında için Bütil hidroksi tolüen (BHT) bulunan ve 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160 mg/ml oranlarında konsantrasyonlar hazırlandı ve 517 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.)

3.2.3.2. Total antioksidan seviye (TAS)

Morus alba L. yaprak ekstraktlarının Total antioksidan seviye (TAS) değerlendirmesi için Rel Assay Diagnostics kit ve üreticinin talimatları uygulandı.



Resim 3. 7. Kullanılan TAS kiti (Rel assay)

Tablo 3. 1. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Kiti Referans Değerleri

TAS REFERANS DEĞERLERİ (mmol Trolox Equiv./L)		
>2,0		Çok iyi
1,45	2,00	Normal
1,20	1,45	Tolere edilebilir
1,00	1,20	Düşük antioksidan seviyesi
<1,20		Çok düşük antioksidan seviyesi

Total antioksidan seviyesi (TAS), Rel assay total antioksidan kapasite ölçüm kitinin prosedürüne göre yorumlanmıştır.

3.3. İstatiksel analiz

Tüm deneyler kontrollü ve tekrarlı setler şeklinde dizayn edilerek uygulanmıştır. Elde edilen bulgular ortalama değerler şeklinde verilmiştir. Tüm hücre kültürü analiz bulguların hesaplanmasında ve grafikler oluşturulmasında Microsoft Office Excell (2016) programından yararlanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. *Morus alba* L. elde etme verileri

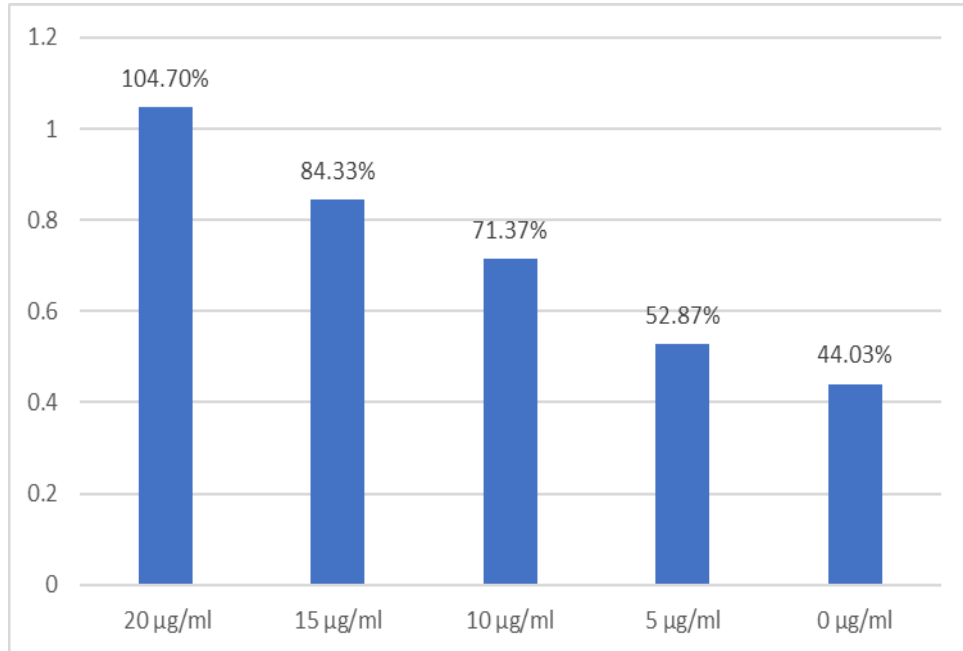
Bolu ve Çorum ilinden toplanan 12’şer gr *Morus alba* L. 240 ml çözgen madde ile ekstrakte edilmiştir. Çözücü olarak distile su ve etanol kullanılmıştır.

Tablo 4. 1. *Morus alba* L. Örnek Temini

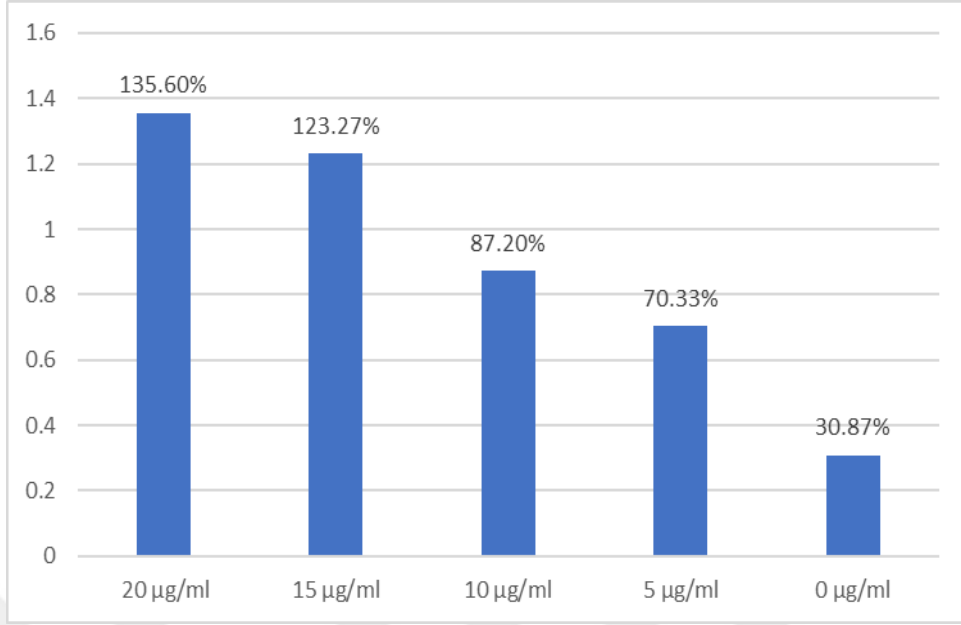
	Yaş Ağırlık	Kuru Ağırlık
Bolu	82 gr	27 gr
Çorum	76 gr	24 gr

4.1. Antitümoral etkinlik sonuçları

Çorum *Morus alba* L. sulu ekstraktının Caco-2 hücresi üzerindeki etkisi % canlılık olarak belirlendi. Caco-2 hücresine 24 ve 48 saat *Morus alba* L. muamelesi sonucunda konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak hücre canlılığını proliferate ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

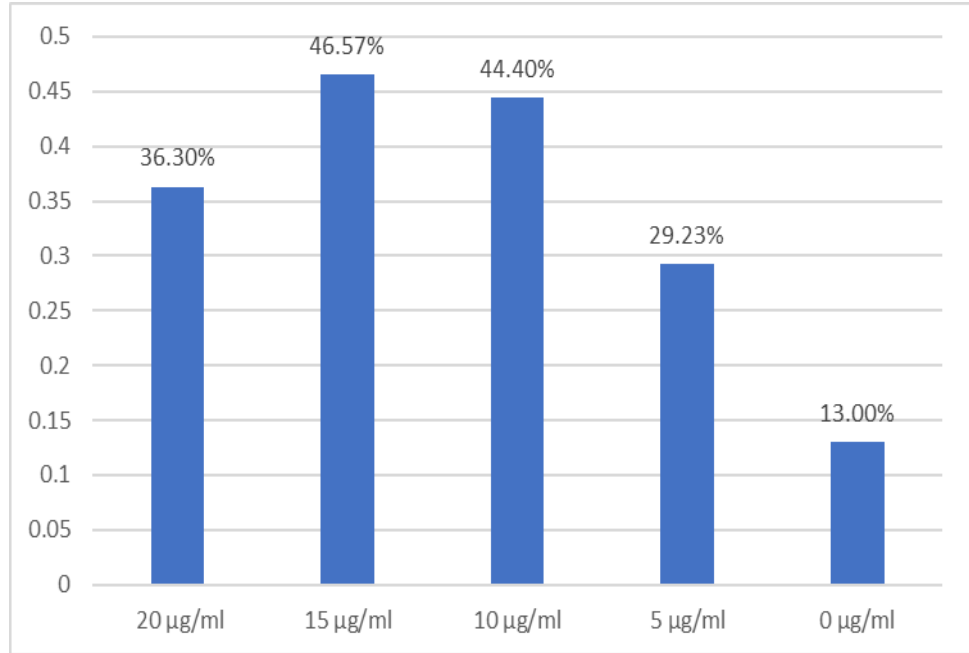


Şekil 4.1. Çorum *Morus alba* L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % canlılık Sonuçları (24 Saat)

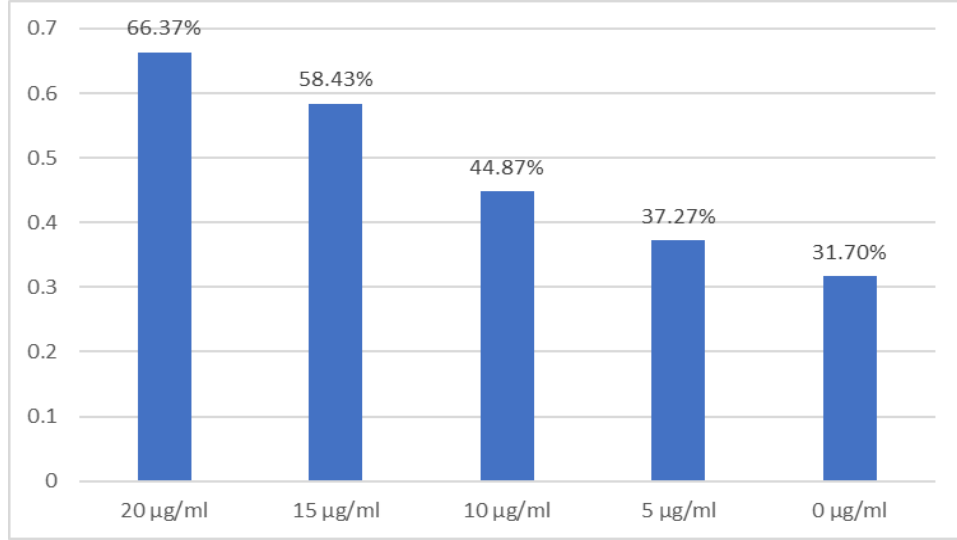


Şekil 4.2. Çorum *Morus alba* L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % canlılık Sonuçları (48 Saat)

Çorum *Morus alba* L. etanol ile gerçekleştirilen ekstraktının Caco-2 hücresi üzerindeki etkisi % canlılık olarak belirlendi. Caco-2 hücresine 24 ve 48 saat *Morus alba* L. muamelesi sonucunda konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak hücre canlılık düzeyinin arttığı belirlenmiştir. 24. Saatte 20 µg/ml konsantrasyonda sitotoksosite görülse de kontrole göre ciddi bir proliferasyon izlenmektedir (Şekil 4. 3. ve Şekil 4. 4.).

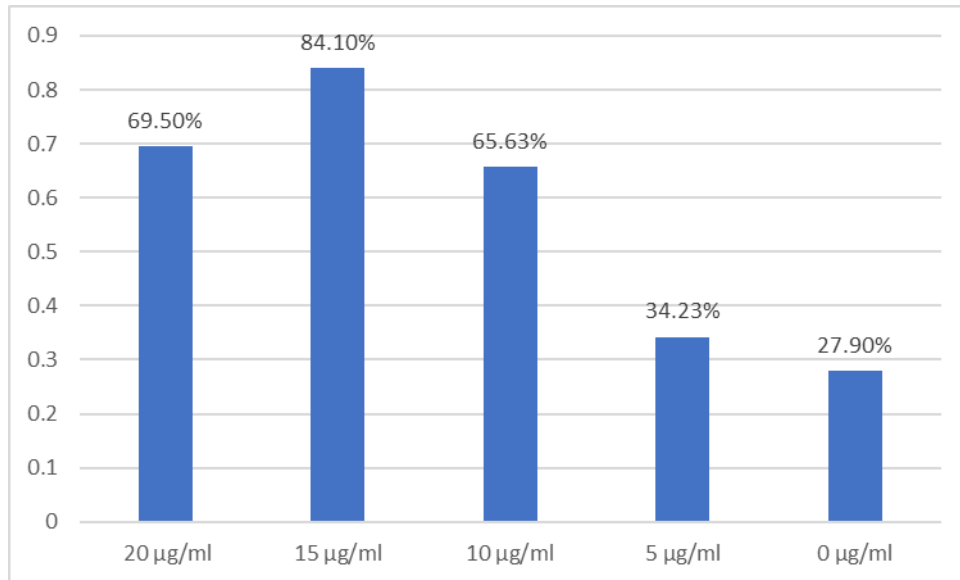


Şekil 4.3. Çorum *Morus alba* L. Etanolü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (24 Saat)

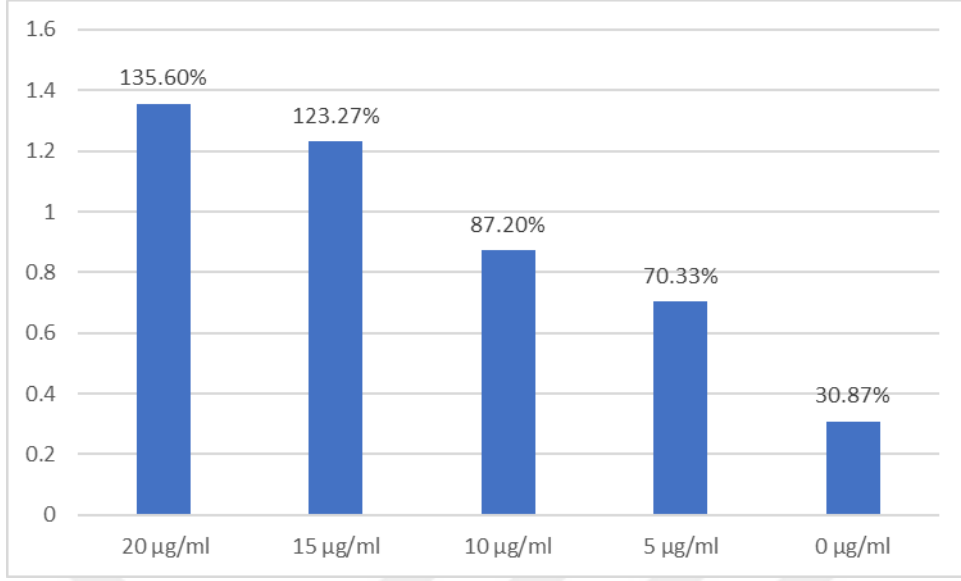


Şekil 4.4. Çorum *Morus alba* L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (48 Saat)

Bolu *Morus alba* L. sulu ekstraktının Caco-2 hücresi üzerindeki etkisi % canlılık olarak belirlendi. Caco-2 hücresine 24 ve 48 saat *Morus alba* L. muamelesi sonucunda konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak hücre canlılık düzeyinin arttığı belirlenmiştir. 24. Saatte 20 µg/ml konsantrasyonda sitotoksite görülse de kontrole göre ciddi bir proliferasyon izlenmektedir (Şekil 4. 5. ve Şekil 4. 6.).

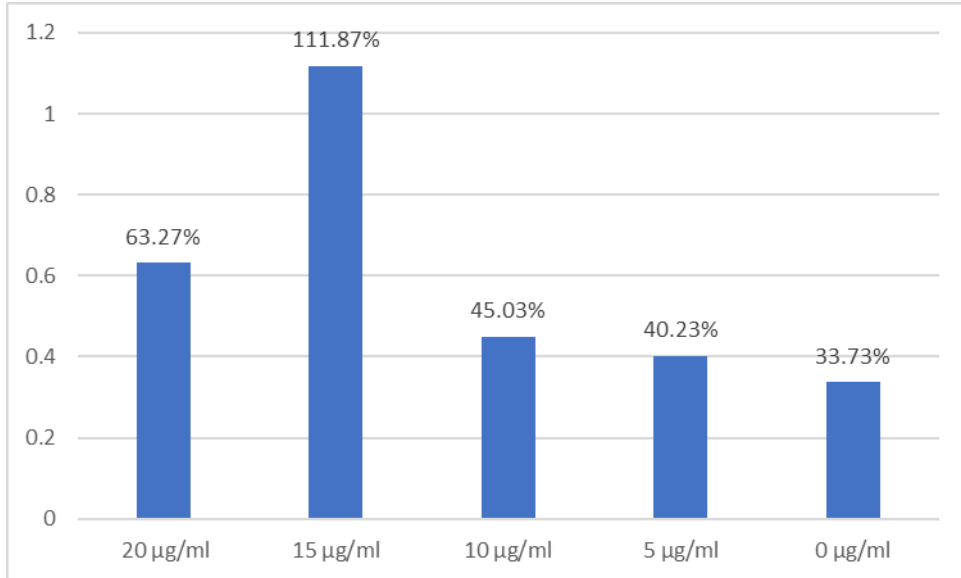


Şekil 4.5. Bolu *Morus alba* L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (24 saat)

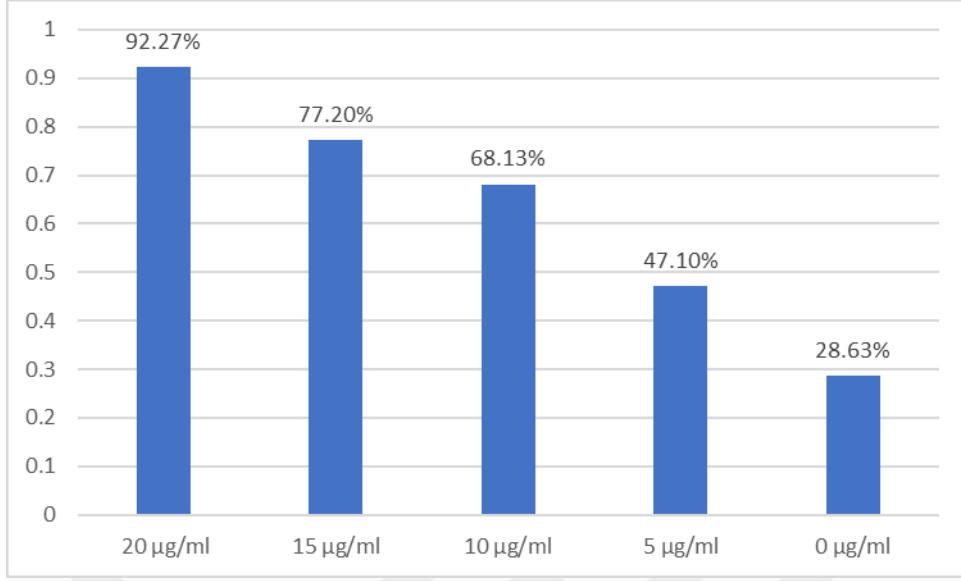


Şekil 4.6. Bolu *Morus alba* L. Sulu Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (48 saat)

Bolu *Morus alba* L. etanollü ekstraktının Caco-2 hücresi üzerindeki etkisi % canlılık olarak belirlendi. Caco-2 hücresine 24 ve 48 saat *Morus alba* L. muamelesi sonucunda konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak hücre canlılık düzeyinin arttığı belirlenmiştir. 24. Saatte 20 µg/ml konsantrasyonda sitotoksosite görülse de kontrole göre ciddi bir proliferasyon izlenmektedir (Şekil 4. 7. ve Şekil 4. 8.).



Şekil 4.7. Bolu *Morus alba* L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (24 saat)

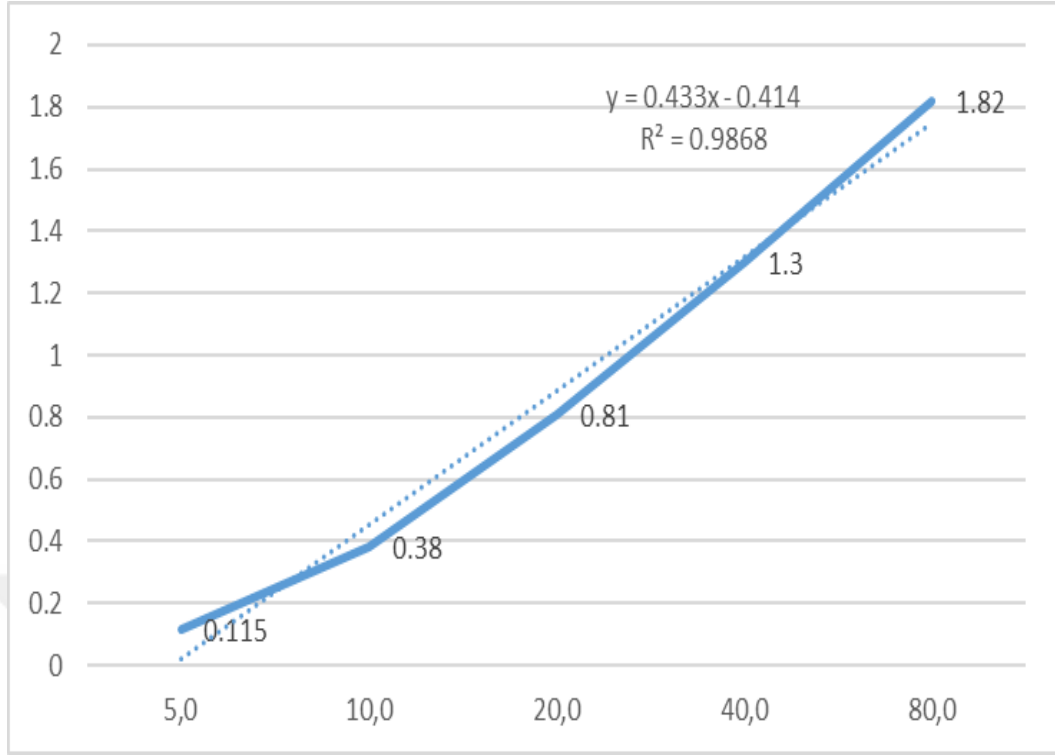


Şekil 4.8. Bolu *Morus alba* L. Etanollü Ekstraktının Caco-2 Hücrelerinde % Canlılık Sonuçları (48 saat)

4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Aktivitesi Sonuçları

Antioksidan madde olan BHT ile kıyaslanan ve standart grafiğine göre değerlendirilen örneklerin DPPH aktivite sonuçları elde edildi. Çorum *Morus alba* L. Su ekstraktının 5,31 mg/ml ve etanol ekstraktının 7,69 mg/ml; Bolu *Morus alba* L. Su ekstraktının 8,63 mg/ml ve etanol ekstraktının 7,33 mg/ml antioksidan değerlerine sahip oldukları bulundu. Aralarındaki kıyaslamaya göre en iyi aktivite Bolu *Morus alba* L. Su ekstraktında tespit edilirken, en düşük aktivite ise Çorum *Morus alba* L. Su ekstraktında tespit edildi.



Şekil 4.9. Standart Konsantrasyonları Grafiği

4.2.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Değerlendirmesi

Bolu ve Çorum *Morus alba* L. su ekstraktlarının antioksidan seviye verileri referans değerlerine göre değerlendirildiğinde, Bolu *Morus alba* L. yaprağı sulu ekstraktının Total antioksidan status (TAS) sonucu: 3,9 mmol/L, Çorum *Morus alba* L. yaprağı sulu ekstraktının Total antioksidan status (TAS) sonucu: 3,46 mmol/L bulundu. Total antioksidan seviyesi (TAS) referans değerlerine göre bu sonuçlar çok iyi antioksidan seviyesine işaretir (Tablo 4. 2.).

Tablo 4. 2. *Morus alba* L. yaprağı su ekstraktlarının Total Antioksidan seviyeleri

TAS Çalışma Sonucu	
Bolu <i>Morus alba</i> L. Yaprığı	3,9 mmol/L
Çorum <i>Morus alba</i> L. Yaprığı	3,46 mmol/L

4.4.Tartışma

Hücrelerin aşırı ve kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkan genetik bir hastalık olan kanser, vücudun farklı bölümlerini etkileyebilen bir dizi hastalık için kullanılan genel bir terimdir (Artun, 2018). Kanser yol açtığı ölümler ve görülme sıklığının fazla olması nedeni ile halk sağlığı için büyük sorun teşkil etmektedir. Kanser hastalarının tedavi arayışında, tıbbi ve aromatik bitkiler önemli bir yer tutmaktadır. Temin edilmesi kolay, ucuz ve yan etkileri bakımından modern tıbbı göre daha az olması sebebiyle hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde tercih edilmelerini sağlamıştır. Günümüzde hastalıkların tedavi yöntemleri ve ilaçlar ne kadar gelişse de hastalıklar hızla artmaya devam etmiştir. Bu nedenle çalışmalar doğal maddelerin kullanımı ve doğal beslenme üzerine yoğunlaşmıştır. Biyolojik aktiviteleri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilgi yetersizliği sebebi ile tıbbi bitkilerin çalışmaları her geçen gün artmaktadır.

Morus alba L. baş dönmesi, kulak uğultusu, uyku problemi, böbrek iltihabı, yüksek tansiyon, sinir zayıflığı, ağrı, akciğer iltihabı, öksürük, bronşit gibi hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılabilmektedirler (Türkoğlu ve ark., 2014). Bu çalışmada literatürdeki sitotoksikite çalışmalarından farklı olarak yöresel olarak Bolu ve Çorum illerinden toplanan *Morus alba* L. yapraklarının etanol ve saf su ile hazırlanmış ekstraktların Caco-2 hücre hattı üzerindeki sitotoksik/proliferatif etkinliği ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır.

Simüle edilmiş gastrointestinal sindirimin dut yaprağı proteini ve hidrolizatlarının fizikokimyasal özellikleri, eritrosit hemolizini inhibe etme yeteneği ve kimyasal antioksidan aktivitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada dut yaprağı proteinlerin farklı enzimlerle hidrolizasyonu sağlandıktan sonra yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur (Sun ve ark., 2018).

Simüle edilmiş gastrointestinal sindirimin dut yaprağı proteini ve hidrolizatlarının fizikokimyasal özellikleri, eritrosit hemolizini inhibe etme yeteneği ve kimyasal antioksidan aktivitesi üzerine etkileri

Doi (2001)'nin Japonya'da *Morus alba* yapraklarının içerisindeki fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin izolasyonu ve yapı tayinini araştırmıştır. Çalışma sonucunda bütanol ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonucunda özütlerin farmakolojik özellikleri incelenmiş ve kan serumundaki kolesterol artışını inhibe ettiği ve damar sertleşmesini (ateroskleroz) önlediği kanıtlanmıştır. Bunların yanı sıra 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali üzerinde süpürücü aktivite sergilediği ve canlı metabolizmasında gerçekleşen LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) oksidasyonunu inhibe ederek dolaşım sisteminin (kardiyovasküler sistem) işlevselliğini artırttığını bildirmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada *Morus alba*'nın polifenol bakımından zengin organik solvent ekstraktlarının, apoptozu indükleyerek, G2/M hücre döngüsü durmasını ve topoizomera IIa aktivitesinin

inhibisyonunu sağlayarak HepG2 hücreleri üzerinde anti-proliferatif etkileri gözlemlenmiştir (Deepa ve ark. 2012).

Morus alba'nın yaprakları yüksek protein içeriğine sahiptir (%13,4-19,4), bu da buğday ununda kullanımlarının gıdanın besin değerini artırmasının yanı sıra depolama sırasında stabiliteyi artırmasını sağlar. *Morus alba*'nın yapraklarından iki dozda (150 ve 300 mg/kg) bir etanolik özütün diyabetik hayvanlara 12 hafta boyunca uygulanması hipoglisemik etkilerle sonuçlandı. Kan şekeri azalmasına ek olarak, toplam kolesterol ve trigliseritler gibi serum lipid seviyelerinde de bir azalma oldu. Ayrıca böbreklerde oksidatif hasara karşı koruma sağlamıştır. Benzer bir sonuç, sıçanların 12 hafta boyunca *Morus alba*'nın yapraklarından hidroetanol özütleri aldıkları ve insülin, toplam kolesterol ve trigliseritlerde azalma sağladığı bir çalışmada bulundu (Rodrigues ve ark., 2019). Türkoğlu (2011)'e göre yapılan çalışmalar sonucunda da *Morus* yaprak, meyve ve ham meyvelerinin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalini temizleme aktivitesi gösterdikleri bulunmuştur. Özellikle ekstraktların 50 ile 500 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda etkin aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yani yüksek konsantrasyonlarda daha iyi aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Türkoğlu ve ark., (2015)'e göre; 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerinin giderilmesi aktivitesi de konsantrasyon ile ekstre miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. En yüksek 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerinin giderilme aktivitesi *Morus alba* L. yaprak etanol ekstraktlarında bulunmuştur.

İqbal ve ark. (2012), *Morus alba* L., *Morus nigra* L. ve *Morus rubra* L.'nin yapraklarını incelediğinde % 80 metanolik özütlerin verimi % 8.28- 13.89 arasında değişim gösterdiğini ve sırasıyla, (mg / g) yaprak ekstreleri antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ile, 2,2'-azinobis (3- etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal katyon temizleme kapasitesi ve ferrik iyon azaltma gücü ve değerleri sırasıyla 1.89-2.12, 6.12-9.89 ve 0.56-0.97 mM Trolox eşdeğeri / g kurutulmuş yaprak arasında değişmiştir. İncelenen özellikler, karşılıklı farklılık gösteren tüm çeşitlerin iyi besleyici ve antioksidan özelliklerini ortaya çıkarmışlardır. Bir hayvan deneyinde, *Morus alba* L. yapraklarının (%70 metanolik ekstrakt) uygulanmasının plazmadaki ürik asit seviyesini önemli ölçüde azalttığını ve farelerde güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini göstermiştir (Dkhil ve ark, (2015).

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin ortamdaki miktarının azalması ile absorbansın azalması belli bir antioksidan derişimi ile doğru orantılıdır. Yani; antioksidan ile DPPH'ın oluşturduğu reaksiyon karışımının gösterdiği absorbans ne kadar düşük ise antioksidanın serbest radikal giderme aktivitesi o kadar yüksek olacak şekilde belirlendi. Bu yoruma göre çalışmamız sonucunda *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme aktivitesi gösterdikleri tespit edilmiştir.

Toplam fenolik içerik (TPC), serbest radikal süpürücü (FRS), ferrik indirgeme gücü (FRP) temel alındığında, *Morus alba*'nın sulu metanol yaprağı ekstrelerinin bundan önemli

ölçüde daha yüksek değerlere sahip olduğunu göstermiştir. Sıralama şu şekildedir: gelişen yapraklar > genç yapraklar ~ olgun yapraklar > olgun meyveler (Chan ve ark., 2016).

Araştırmalar, polifenol bakımından zengin *Morus* meyve özlerinin, lipid ve linoleik asit oksidasyonunu güçlü bir şekilde engelleyebildiğini ve DPPH, hidroksiller, ABTS ve süperoksit anyon radikallerine karşı konsantrasyona bağlı serbest radikal süpürme aktivitesi ve ayrıca gücü azaltabildiğini göstermiştir. Farklı çeşit ve fenotiplerden alınan dut meyvesi ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini karşılaştıran çalışmalar, antioksidan aktivitenin çeşit ve fenotip ile farklılık gösterdiğini ve fenolik içerik ile antioksidan kapasite arasında bir korelasyon gösterdiğini bulmuştur (Yuan ve Zhao, 2017). Ünlüer (2011)'ün yaptığı çalışma sonucunda; *Morus alba* L. yaprakları en yüksek aktiviteyi su özütünde göstermiştir. Yaprakların çözücü özütlerinin serbest radikal giderimleri derişim arttıkça lineer olarak artış gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarı kıyaslandığında, artan polariteyle toplam fenolik ve flavonoit madde içeriği de lineer olarak artış gösterdiği bulunmuştur. Birbirini destekleyen bu veriler kıyaslandığında 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderim aktivitesine katkıda bulunan yapıların fenolik veya flavonoit yapıda oldukları rahatlıkla söylenebilir. Muhammad ve ark., (2013), *Morus alba* L.'nin özütünün flavonoidler gibi diğer bileşiklerinin genellikle serbest radikalleri temizleyen antioksidan özelliklere sahip olduğunu ve birçok organı oksidatif strese karşı koruduğunu ve Anti HIV ve kemo-koruyucu aktivitelerinin olduğunu belirtmiştir. Bunların yanı sıra antibakteriyel aktivitelerinin inhibitör etkinliğini; leachianone ve kuwanon G gibi *M. alba*'dan izole edilen 1- deoksinojirimisin (DNJ), a-glikosidaz gibi biyoaktif bileşenlerin izole edilmesi ile sağladığı kanıtlanmıştır. Rynkoa ve ark., (2016) yaptıkları çalışma sonucunda; *M. alba* L.'nin yaprakları ve yapraklarından türetilen özütler, fenolik asitler ve flavonoidler dahil olmak üzere zengin bir antioksidan kaynağıdır olup, yapraklarından elde edilen alkollü ekstraktın, iyi antioksidan özellikleri ortaya koymuştur.

Naowaratwattana ve ark. (2010), *Morus alba* L.'nin ana bileşenleri olan flavonoid, izokuersetin, rutin, kuersetin glikozitlerini bulunduran yaprak ekstraktları (metanol ve bütanol) hücre döngüsünü (G2/M fazı) durdurma ile HepG2 hücreleri üzerinde antiproliferatif etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Chan (2020)'ye göre; *Morus alba* L.'nin metanol ekstresinin MCF-7 meme ve HCT-15 kolon kanseri hücrelerine karşı in vitro aktiviteye sahip olduğunu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, %100 ve % 50 metanol *Morus alba* L. özütlerinin, sulu özütten daha güçlü HepG2 karaciğer kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir. *Morus alba* L. yaprağında bulunan lektin ile yapılan çalışma ile MCF-7 meme ve HCT-15 kolon kanseri hücrelerine karşı antiproliferatif aktivitesi belirlenmiştir (Deepa ve ark. 2012). Fallah ve ark., (2016); *Morus alba* yapraklarından elde edilen flavonoidlerin, kemoterapi ilacı doksorubisin veya bunların karışımına (flavonoidler + doksorubisin) kıyasla kolon kanserinde daha yüksek doza bağlı sitotoksititeyi indükleyebileceğini gözlemlemiştir. Chang ve ark., (2018) *Morus* yaprak özünün hepatosellüler karsinomun (HCC)'deki adipositlerin inflamatuvar yanıtının

proliferasyon sinyal yolunu hedeflediğini ve obezitenin aracılık ettiği karaciğer kanserini önleyebileceğini göstermiştir. Tu ve ark., (2019)'nın *Morus* yaprağı ile yaptığı araştırma sonucunda; morasin N ve resveratro'ün 72 saatlik inkübasyon sonucunda HepG2 hücrelerine karşı doza bağlı toksisite gösterdiğini bildirmiştir. Morisin N' nin resveratolden daha iyi antioksidan olduğunu ileri sürmüştür. Chan ve ark., (2020) yaptıkları araştırma sonucunda; *Morus alba* L. yapraklarının metanol özütlerinin, MCF-7 meme, HCT 116 kolon, Calu-6 akciğer ve SNU-601 mide kanseri hücrelerine karşı antiproliferatif etki gösterdiği bildirilmiştir.

İnsan kolon kanseri hücreleri (HCT-15) ve meme kanseri hücreleri (MCF-7) üzerinde *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının etkisine bakıldığında, önemli morfolojik değişiklikler, DNA'nın parçalanması ve kaspaz 3 aktivitesinin HCT-15 ve MCF-7 hücrelerinde apoptozu indüklediği bulunmuştur. Bu sonuç doğrultusunda *Morus alba*'nın antikanser özelliği olduğu düşünülmektedir (Deepa ve ark. 2013). Yaptığımız çalışmada, Çorum *Morus alba* L. ve Bolu *Morus alba* L. yapraklarının su ve etanol ile ekstrakte edilip Caco-2 hücreleri üzerindeki etkisi % canlılık olarak belirlendi. 24 ve 48 saat *Morus alba* L. muamelesi sonucunda konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak hücre canlılık düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Sadece Çorum *Morus alba* L. (etanol), Bolu *Morus alba* L. (su) ve Bolu *Morus alba* L. (etanol)'de 24. Saatte 20 µg/ml konsantrasyonda sitotoksikite görülse de kontrole göre ciddi bir proliferasyon izlenmektedir.

Morus yapraklarından izole edilen 1-Deoksinojirimycin (DNJ), yüksek kan glikoz seviyelerini baskılamada faydalı olan güçlü bir glukozidaz inhibitörüdür, böylece diyabetes mellitusu önlediği belirtilmiştir. *Morus alba* L.'nin metanol yaprağı ekstraktından izole edilen flavonoidin çeşitlerinin tümü, insan kanseri HeLa, MCF-7 ve Hep-3B hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır (Chan ve ark., 2016). İn vivo sonuçlar, dut yaprağı ekstraktının glifosat kaynaklı toksisiteye karşı güçlü bir koruyucu olduğunu ve bu etkisinin *Morus alba* yaprağı ekstraktından elde edilen asetonik fraksiyondaki çeşitli biyoaktif fenolik bileşikler arasındaki sinerjizm veya antagonizmden kaynaklanabileceğini göstermiştir (Rebai ve ark., 2017). Ayrıca, *Morus alba* yaprağının lipid birikimine karşı güzel bir inhibitör fitokimyasal kaynak olma potansiyelini göstermektedir (Li ve ark., 2017).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Bolu ve Çorum illerinden toplanan *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının Caco-2 hücrelerinin üzerindeki antitümoral etkinliği antioksidan aktivite ile birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız değerlendirildiğinde;

Önemli bir kolon kanser hücre hattı olan Caco-2 hücre hattı üzerinde *Morus alba* L. yaprak ekstraktlarının konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak proliferatif etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Morus alba L. yaprak ekstraktlarının 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin ortamdaki miktarının azalması ile absorbansın azalması belli bir antioksidan derişimi ile doğru orantılı olduğu ve ekstraktların 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalini temizleme aktivitesi gösterdikleri belirlenmiştir. Aynı zamanda ekstraktların iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu da tespit edilmiştir. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ile total antioksidan seviye (TAS) verileri il bazında değerlendirildiğinde, Bolu *Morus alba* L. su ekstraktının Çorum *Morus alba* L. su ekstaktına göre biraz daha yüksek antioksidan seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir. Aradaki farkın illerin iklim şartlarından kaynaklanabileceği öngörülmektedir. Antioksidanların kanser hücrelerini de koruyabildiği unutulmamalı ve çalışmalar bu yönde daha fazla desteklenmelidir. Ancak kanser hücrelerini de proliferate edebileceği düşünülerek dikkatli davranılmalıdır.

Sonuç olarak, son yıllarda tıbbi bitkilerin tedavi destek süreçlerine dahil edilmesi konusunda artan ticari ürünler ciddi akademik çalışmaların ve literatür verilerinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. İncelenen bazı literatürler her ne kadar *M. alba* L.'nin bazı kanser hücrelerinde sitotoksik etkisinin varlığını bildirse de çalışmamızda elde edilen veriler doğrultusunda, tıbbi bitkilerden yararlanılırken mutlaka üzerinde bilimsel çalışmalar yapılmış, verileri kanıtlanmış ve konsantrasyonları belirlenmiş ürünlerin kullanılması konusuna dikkat çekilmesine önemli bir katkı sağlanmış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Akşehir, K. (2013). *Akdut (Morus Alba) ve Karadut (Morus Nigra) Meyvelerinden Elde Edilen Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu*, (Yüksek Lisans Tezi), Samsun: T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akçiçek, D. (2019). *Haplophyllum Buxbaumii Bitkisinin Kolon Kanseri Hücreleri Üzerindeki Antikanser Etkisinin İncelenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Şanlıurfa: T.C. Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Artun, F.T. (2018). *Bazı Bitki Ekstrelerinin İn Vitro Antikanser ve Apoptotik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi*, (Doktora Tezi), İstanbul: T.C. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Artursson, P., ve Karlsson, J. (1991). Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 175(3), 880-885.
- Ata, A. (2020). *Elli Yaş ve Üzeri Bireylerde Kolorektal Kanser Tarama Davranışları Ve Sağlık Okuryazarlık Düzeyi Arasındaki İlişki*, (Yüksek Lisans Tezi), Sivas: T.C. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ay, E. (2019). *Hatay Bölgesinde Bazı Tıbbi Bitkilerin Çeşitli Kanser Hücre Hatları Üzerinde Antikanserojen Aktivitelerinin Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Hatay: T.C. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Aydemir, B., ve Sarı, E. K. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2(2), 56-60.
- Bars, A. (2010). *Bazı Heterosiklik Ligandların Au(III), Pt(II) Dinükleer Metal Komplekslerinin Sağlam ve Kansersiz Hücreler Üzerindeki Apoptotik Ve Antiproliferatif Etkileri*, (Yüksek Lisans Tezi), Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Le Gal Beneroso, K. (2018). Effects of antioxidant supplementation on cancer progression.
- Bor, E. (2021). *Halk Tıbbında Cilt Üzerinde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin Nanoçiçek Metodu ile Hazırlanması ve Etkinliklerinin İn Vitro Yöntemlerle Araştırılması*, (Doktora Tezi), T.C. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bouayed, J., ve Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3(4), 228-237.
- Bulut, I. (2018). *Kolon Kanseri GST Zeta-1, GST Sigma-1 ve P53 Ekspresyonlarının İncelenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), T.C. Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Büyüktuncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2(17), 93-103.

- Camuz, E., (2017). *Hatay İli, Defne, Antakya, Samandağ ve Yayladağı İlçelerinde İpek Böceği Yetiştiriciliğinin Genel Durumunun Tespiti, Sorunları Ve Çözüm Önerileri*, (Yüksek Lisans Tezi), Hatay: T.C. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Chan, E. W. C., Phui-Yan, L. Y. E., & Siu-Kuin, W. O. N. G. (2016). Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *Morus alba*. *Chinese journal of natural medicines*, 14(1), 17-30.
- Chan, E. W. C., Wong, S. K., Tangah, J., Inoue, T., & Chan, H. T. (2020). Phenolic constituents and anticancer properties of *Morus alba* (white mulberry) leaves. *Journal of integrative medicine*, 18(3), 189-195.
- Chang, C. H., Chang, Y. T., Tseng, T. H., & Wang, C. J. (2018). Mulberry leaf extract inhibit hepatocellular carcinoma cell proliferation via depressing IL-6 and TNF- α derived from adipocyte. *Journal of food and drug analysis*, 26(3), 1024-1032.
- Çetereisi, D., (2014). *İstanbul'daki Ak Dut (Morus Alba L.) Ve Mavi Atlas Sediri [Cedrus Atlantica (Endl.) Carr. Cv. 'Glaucal'] Polenlerinin Alerjenik Proteinleri*, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul: T.C. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Darendelioğlu, E., (2017). *İnsan Kolon Kanseri Hücrelerinde (Ht-29) Lactobacillus Reuteri Türünden Elde Edilen Bazı Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Apoptotik Etkilerinin Araştırılması*. (Doktora Tezi), Bingöl: T.C. Bingöl-Bitlis Eren Üniversiteleri, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dağlar, N., (2018). *Tıp Fakültesi Öğrencileri Tıbbi Bitkileri Ne Kadar Tanıyor*, (Uzmanlık Tezi), Edirne: T. C. Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi.
- Deepa, M., Sureshkumar, T., Satheeshkumar, P. K., ve Priya, S. (2012). Purified mulberry leaf lectin (MLL) induces apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer and colon cancer cells. *Chemico-biological interactions*, 200(1), 38-44.
- Deepa, M., Sureshkumar, T., Satheeshkumar, P. K., ve Priya, S. (2013). Antioxidant rich *Morus alba* leaf extract induces apoptosis in human colon and breast cancer cells by the downregulation of nitric oxide produced by inducible nitric oxide synthase. *Nutrition and cancer*, 65(2), 305-310.
- Demirkaya, A. K., Gündoğdu, G., Dodurga, Y., Seçme, M., ve Gündoğdu, K. (2019). Parietinin HepG2 Hepatoselüler Karsinom Hücrelerinde Sitotoksik ve Genotoksik Etkisinin Belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(1), 29-37.
- Dilber, M., (2020). *Bortezomib ile Ellajik Asit, Ferulik Asit, Kafeik Asit Kombinasyonlarının Caco-2, A549 Ve 3t3 Hücrelerinde, Sinerjistik Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Dinç, D., (2020). *Bitkisel ve Antioksidan İçerikli Vital Pulpa Tedavi Ajanlarının Sitotoksikite ve Alkalen Fosfataz Düzeylerinin Değerlendirilmesi*, (Doktora Tezi), İstanbul: T.C. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Diplock, A. T., Charuleux, J. L., Crozier-Willi, G., Kok, F. J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., ... Vina-Ribes, J. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *British journal of nutrition*, 80(S1), S77-S112.

- Dkhil, M. A., Bauomy, A. A., Diab, M. S., & Al-Quraishy, S. (2015). The antioxidant effect of *Morus alba* leaves extract on kidney, testes, spleen and intestine of mice. *Pakistan Journal of Zoology*, 47(2).
- Duke, J. A. (1983). *Morus alba* L. Handbook of Energy Crops (unpublished).
- Dursun, E., (2019). *Farlı Bor Çeşitlerinin İnsan Dental Pulpa Kök Hücresi Üzerindeki Sitotoksik Etkisi*, (Uzmanlık Tezi), Erzurum: T.C. Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi.
- Doi, K., Kojima, T., Makino, M., KIMURA, Y., & FUJIMOTO, Y. (2001). Studies on the constituents of the leaves of *Morus alba* L. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 49(2), 151-153.
- Erdoğan, M.K., (2016). *HT-29 Kolon Kanseri Hücre Hattında Bazı Bitkilerin Ekstrakteleri ve Bitkisel Etkin Maddelerin 5- Fluorouracil (5-Fu) ile Kombinasyonunun Apoptotik Yolaklara Ve hücre Çoğalmasına Etkilerinin Araştırılması*, (Doktora Tezi), Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ekizoğlu, C., (2010). *Beyazdut (Morus Alba L.) Ve Karadutun (Morus Nigra L.) Çelikle Çoğaltılması Üzerine Bir Araştırma*, (Yüksek Lisans Tezi), Ordu: Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Er, S., (2011). *Çeşitli Laktik Asit Bakterilerinin Caco-2 Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkileri*. (Yüksek Lisans Tezi), Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Fallah, S., Karimi, A., Panahi, G., Nejad, S. G., Fadaei, R., & Seifi, M. (2016). Human colon cancer HT-29 cell death responses to doxorubicin and *Morus Alba* leaves flavonoid extract. *Cellular and Molecular Biology*, 62(3), 72-77.
- Guo, H., Xu, Y., Huang, W., Zhou, H., Zheng, Z., Zhao, Y., ... Zhu, Q. (2016). Kuwanon G preserves LPS-induced disruption of gut epithelial barrier in vitro. *Molecules*, 21(11), 1597.
- Gülal, E., (2015). *Bitki Ekstratlarının Çürük Etkeni Bakteriler Üzerindeki Antibakteriyal Etkinliği, Sitotoksite Ve Apoptoz-Nekroz İndekslemesinin İn Vitro Olarak İncelenmesi*, (Uzmanlık Tezi), Kırıkkale: Türkiye Cumhuriyeti Kırıkkale Üniversitesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı.
- Güler, E.M., (2019). *Kolon Kanseri Hücreleri Üzerine Timokinon ve 5-Fluorouracilin Terapötik Etkisinin İn Vitro Ve İn Vivo Araştırılması*, (Doktora Tezi), Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.
- Gündüz, G., Yıldırım, N., Şirin, G., ve Onat, S. M. (2009). Ak Dut Ağacının Anatomik, Kimyasal, Fiziksel ve Mekanik Özellikleri. *Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Ormancılık Dergisi*, 5(1), 131-149.
- Gönülalan, M., (2017). *Türkiye'de Ekonomik Önemi Olan Bazı Tıbbi Kültür Bitkileri Üzerinde Stabilitate Ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları*, (Doktora Tezi), Ankara: T.C. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Güngör, N., (2007). *Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri ile Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi*, (Yüksek Lisans Tezi), Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Hanahan, D., ve Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
- Hansawasdi, C., & Kawabata, J. (2006). α -Glucosidase inhibitory effect of mulberry (*Morus alba*) leaves on Caco-2. *Fitoterapia*, 77(7-8), 568-573.

- İlgin, M., & Ağca, İ. (2017). Türkiye'nin değişik yerlerinden selekte edilen bazı dut (*Morus spp.*) türlerinin Doğu Akdeniz bölgesi'nde performanslarının belirlenmesi. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 7(2).
- Iqbal, S., Younas, U., Chan, K. W., Sarfraz, R. A., & Uddin, M. (2012). Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus sp.*): a comparative study. *International journal of molecular sciences*, 13(6), 6651-6664.
- Karakuş, İ., (2021). *Kolon Kanseri Hücre Hattında Karbonik Anhidraz İx İnhibisyonunun Ezh2 Geni ve Histon 3 Modifikasyonları Üzerine Etkisinin İncelenmesi*, (Doktora Tezi), Ankara: T.C. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Keleş, A., (1995). *Van Gölü Civarındaki Bazı Hoş Kokulu (Aromatik) Bitkiler Üzerinde Ekonomik ve Biyosistematik Araştırmalar*, (Yüksek Lisans Tezi), Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi.
- Koçarslan, A., (2011). *Preoperatif Trimetazidin Kullanımının Aortokoroner Bypass Ameliyatlarında Total Oksidatif Durum Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksine Etkilerinin İncelenmesi*, (Uzmanlık Tezi), Şanlıurfa: T.C. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Lawenda, B. D., Kelly, K. M., Ladas, E. J., Sagar, S. M., Vickers, A., ve Blumberg, J. B. (2008). Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy?. *Journal of the national cancer institute*, 100(11), 773-783.
- Li, H. X., Jo, E., Myung, C. S., Kim, Y. H., & Yang, S. Y. (2018). Lipolytic effect of compounds isolated from leaves of mulberry (*Morus alba* L.) in 3T3-L1 adipocytes. *Natural product research*, 32(16), 1963-1966.
- Moharamzadeh, K., Brook, I. M., & Van Noort, R. (2009). Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials*, 2(2), 514-548.
- Nalkıran, İ., (2014). *Kolon Kanseri Mnsod ve Gpx1 Gen Anlatımlarının İncelenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul: T.C. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Natoli, M., Leoni, B. D., D'Agnano, I., Zucco, F., & Felsani, A. (2012). Good Caco-2 cell culture practices. *Toxicology in vitro*, 26(8), 1243-1246.
- Naowaratwattana, W., De-Eknamkul, W., & De Mejia, E. G. (2010). Phenolic-containing organic extracts of mulberry (*Morus alba* L.) leaves inhibit HepG2 hepatoma cells through G2/M phase arrest, induction of apoptosis, and inhibition of topoisomerase II α activity. *Journal of medicinal food*, 13(5), 1045-1056.
- Nenni, M., (2018). *Toksikolojide İn Vitro Hücre Temelli Sitotoksikite Çalışmaları*, (Yüksek Lisans Tezi), İzmir: T.C. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Nenni, M., (2019). *Hepg2, Caco-2 ve Ht-29 Kanseri Hücrelerinde 2d Jel Elektrophorez Ve Maldı-tof/Tof-ms İle Ankaferd Hemostat' In İn-vitro Antineoplastik Etkisinin Proteomik Açısından Araştırılması*, (Doktora Tezi), Ankara: T.C. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Özcan, Ö., (2015). *Trakya Bölgesindeki Bazı Yenilebilen Mantar Türlerinin Beta-Glukan İçeriklerinin, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Kültür Mantarı ile Karşılaştırılması*, (Doktora Tezi), Edirne: T.C. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Özcan, H., (2019). *Bazı Tıbbi Bitkilerde Tohum Kaplamanın Çimlenme Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Konya: T.C. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Özyıldırım, C., (2019). *İlk Kez Koroner Arter Hastalığı Tanısı Alan Bireylerde Zonulin, Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidatif Seviye ve Beslenme İlişkisinin Değerlendirilmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Samsun T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Pirinç, F. T., (2020). *Beyaz Dut (Morus Alba L.) Ve Yapraklarından Elde Edilen Protein Ekstraktlarının ve Fraksiyonlarının Biyoaktif Özelliklerinin (ACE-Inhibisyon Ve Antioksidan Aktiviteleri) Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), T.C. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Polat, A. A. (2004). Hatay'ın Antakya ilçesinde yetiştirilen bazı dut tiplerinin meyve özelliklerinin belirlenmesi. *Bahçe*, 33(1).

Rebai, O., Belkhir, M., Boujelben, A., Fattouch, S., ve Amri, M. (2017). Morus alba leaf extract mediates neuroprotection against glyphosate-induced toxicity and biochemical alterations in the brain. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*, 24(10), 9605.

Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., ve Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free radical biology and medicine*, 49(11), 1603-1616.

Rodrigues, E. L., Marcelino, G., Silva, G. T., Figueiredo, P. S., Garcez, W. S., Corsino, J., ... Freitas, K. D. C. (2019). Nutraceutical and medicinal potential of the Morus species in metabolic dysfunctions. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 301.

Gryn-Rynko, A., Bazylak, G., ve Olszewska-Slonina, D. (2016). New potential phytotherapeutics obtained from white mulberry (Morus alba L.) leaves. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 628-636.

Saldır, Y., (2015). *Bazı Mantarların Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Denizli: T.C. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Sarı, Ö., (2018). *Bursa ilinde aktarlarda satılan tıbbi bitkilerin fotosensitivite yönünden değerlendirilmesi*, (Yüksek lisans tezi), Bursa: T.C. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Scheers, N. M., Almgren, A. B., ve Sandberg, A. S. (2014). Proposing a Caco-2/HepG2 cell model for in vitro iron absorption studies. *The Journal of nutritional biochemistry*, 25(7), 710-715.

Schroeder A, Heller D.A, Winslow MM, Dahlman JE, Pratt GW, Langer R, Jacks T, Anderson DG. Treating metastatic cancer with nanotechnology. *Nat Rev Cancer*, 12(1), 39-50. doi: 10.1038/nrc3180. PMID: 22193407.

Sharma, N., Arya, G., Kumari, R. M., Gupta, N., ve Nimesh, S. (2019). Evaluation of anticancer activity of silver nanoparticles on the A549 human lung carcinoma cell lines through alamar blue assay. *Bio-protocol*, 9(1).

- Sun, H., Chow, E. C., Liu, S., Du, Y., & Pang, K. S. (2008). The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 4(4), 395-411.
- Sun, C., Wu, W., Yin, Z., Fan, L., Ma, Y., Lai, F., & Wu, H. (2018). Effects of simulated gastrointestinal digestion on the physicochemical properties, erythrocyte haemolysis inhibitory ability and chemical antioxidant activity of mulberry leaf protein and its hydrolysates. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(2), 282-295.
- Şahin, M., (2012). *Farklı Kök Kanal Patlarının Sitotoksikite ve Antimikrobiyal Etkinlik Yönünden Karşılaştırılması*, (Doktora Tezi), Ankara: T.C. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Şimşek, M., (2013). *Kolon Kanseri Mikro-Rna 141 Düzeyinin Klinik Prognostik Önemi*, (Uzmanlık Tezi), Adana: T.C. Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi.
- Şimşek, İ.Y., (2013). *Kilis Yöresinde Yetişen Bazı Tıbbi Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Kilis: T.C. Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Şişman, R., (2014). *Yeni Nesil Bulk Fill Kompozitlerin Sitotoksikite ve Fiziksel Özelliklerinin İncelenmesi*, (Doktora Tezi), Malatya: T.C. İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Şişmanoğlu, S., (2018). *Farklı Self Adeziv Reçine Simanların Sitotoksik Etkileri*, (Doktora Tezi), İstanbul: T.C. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Teker, E., (2018). *Kolon Kanseri Tumor Supresör Mikrorna'ların Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Şanlıurfa: T.C. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tekin, R. N.ve Şahin, B. Türkiye'de Kolon ve Rektum Kanseri Tedavi Maliyetinin Yukarıdan Aşağı Maliyet Yaklaşımı ile Belirlenmesi. *Sosyal Güvenlik*, (16), 140-164.
- Tuncer, S., & Demirci, M. (2011). Dental materyallerde biyoyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2011(2), 141-149.
- Tu, J., Shi, D., Wen, L., Jiang, Y., Zhao, Y., Yang, J., ... Yang, B. (2019). Identification of moracin N in mulberry leaf and evaluation of antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology*, 132, 110730.
- Türkoğlu, S., (2011). *Pistacia Terebinthus, Salvia Multicaulis, Morus Alba'nın Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi ve Oksidatif Stres Oluşturulmuş Ratlarda Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri*, (Doktora Tezi), Elazığ: Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Türkoğlu, S., Çelik, S., Keser, S., Türkoğlu, İ., Yılmaz, Ö., (2014). Morus Alba' Nın Meyve ve Yaprak Ekstrelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi, *Fırat Üniv. Fen Bilimleri Dergisi* 26(1), 21-32.
- Uçar, N., (2019). *Kolorektal Kanseri Tanısı Almış Hastalarda Dna Hasarının İncelenmesi ve Dna Hasarı Üzerine Beta Glukanın Onarıcı Rolünün Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Gaziantep: T.C. Sanko Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Uzun, İ. H.ve Bayındır, F. (2011). Dental materyallerin biyoyumluluk test yöntemleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 28(2), 115-122.

- Uzun, İ.H. ve Bayındır, F., (2011). Dental Materyallerin Biyouyumluluk Test Yöntemleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 28(2), 115-122.
- Ünlüer, A., (2011). *Beyaz Dut (Morus Alba) ve Karadut (Morus Nigra) Yaprak Özütleri Üzerine Antioksidan Ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları*, (Yüksek Lisans Tezi), Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Van Breemen, R. B., ve Li, Y. (2005). Caco-2 cell permeability assays to measure drug absorption. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 1(2), 175-185.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Yamak, N., (2012). *Kolon Kanseri Hastalarında Survivin Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Düzce: T.C Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yavaşer, R., (2011). *Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerin Karşılaştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yılmaz, S., (2018). *Serviks Kanseri Hücre Hattında Timokinonun Sisplatin Sitotoksitesine Etkilerinin İncelenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Ankara: T.C. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yuca Öztürk, T., (2018). *Biyoaktif Cam Nanopartikülleri ile Modifiye Edilmiş Biodentine Materyalinin Sitotoksik Özelliklerinin Değerlendirilmesi*, (Uzmanlık Tezi), İstanbul: Türkiye Cumhuriyeti Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı.
- Yuan, Q., ve Zhao, L. (2017). The Mulberry (*Morus alba* L.) Fruit-A Review of Characteristic Components and Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(48), 10383-10394.
- Zafar, M. S., Muhammad, F., Javed, I., Akhtar, M., Khaliq, T., Aslam, B., ... Zafar, H. (2013). White mulberry (*Morus alba*): A brief phytochemical and pharmacological evaluations account. *International journal of agriculture and biology*, 15(3).