

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE'YE ENDEMİK OLAN *SALSOLA GRANDIS* TÜRÜNÜN
ANTIOKSİDAN VE İNSAN KOLON ADENOKARSİNOM
HÜCRE HATTI (HT-29) ÜZERİNE ANTİKANSEROJENİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

SEDA ŞİRİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. HATİCE GÜL DURSUN

KONYA 2017

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE'YE ENDEMİK OLAN *SALSOLA GRANDIS* TÜRÜNÜN
ANTIOKSİDAN VE İNSAN KOLON ADENOKARSİNOM
HÜCRE HATTI (HT-29) ÜZERİNE ANTİKANSEROJENİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

SEDA ŞİRİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. HATİCE GÜL DURSUN

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)
Koordinatörlüğü tarafından 151318004 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2017

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **SEDA ŞİRİN**'in '**Türkiye'ye Endemik Olan *Salsola grandis* Türünün Antioksidan ve İnsan Kolon Adenokarsinom Hücre Hattı (HT-29) Üzerine Antikanserojenik Etkisinin Araştırılması**' başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya, Türkiye/15.11.2017


Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



Jüri Üyesi
Doç. Dr. Ercan KURAR
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Hülagü BARIŞKANER
Selçuk Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulunun ... tarih ve ... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü



APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled ‘Investigation of Anticancerogenic Effect on Human Colon Adenocarcinoma Cell Line (HT-29) and Antioxidant Effect of *Salsola grandis* Species Which Is Endemic in Turkey’ by SEDA ŞİRİN that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Master of Science in the Department of Medical Biology, Institute of Health Sciences, Necmettin Erbakan University.

Konya, Turkey/15.11.2017



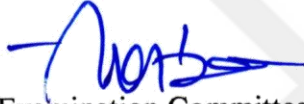
Principal Advisor

Asst. Prof. Dr. Hatice Gül DURSUN

Necmettin Erbakan University

Meram Faculty of Medicine

Department of Medical Biology



Examination Committee Member

Assoc. Prof. Dr. Ercan KURAR

Necmettin Erbakan University

Meram Faculty of Medicine

Department of Medical Biology



Examination Committee Member

Prof. Dr. Hülagu BARIŞKANER

Selçuk University

Faculty of Medicine

Department of Medical Pharmacology

This thesis has approved for the Necmettin Erbakan University, Institute of Health Sciences.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

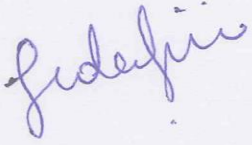


BEYANAT

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

15.11.2017

Seda ŞİRİN



TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım için bana her türlü araştırma olanağını ve desteğini sağlayan ve her aşamada bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren değerli tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN'a, yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini ve önerilerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Belma ASLIM'a, tez çalışmalarımda kullanılan bitki materyalinin toplanmasını sağlayan Prof. Dr. Zeki AYTAÇ ve Yrd. Doç. Dr. Selcen Seniha BABOĞLU AYDAŞ'a, tezimin düzeltilmesinde bilgileriyle beni yönlendiren Doç. Dr. Ercan KURAR ve Prof. Dr. Hülagu BARIŞKANER'e, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Öğrenci İşleri personeli Gökçen ATEŞ UÇLUSOY, Durdu NERGİZ ve M. Talip YILMAZ'a, öneri ve içten yardımları ile desteğini hiçbir zaman esirgemeyen başta Canan EROĞLU olmak üzere, Ebru AVCI, İlknur ÇINAR, Sümeyra ÇETİNKAYA GÜLTEKİN ve Ümmügülsüm TÜKENMEZ'e, ayrıca bugünlere gelmemde en sıkıntılı zamanlarda bile esirgemedikleri maddi, manevi desteklerini ve emeklerini asla ödeyemeyeceğim canım aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 151318004 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----------|
| İç Kapak | i |
| Tez Onay Sayfası | ii |
| Approval | iii |
| Beyanat | iv |
| Teşekkür | v |
| İçindekiler | vi |
| Kısaltmalar ve Simgeler Listesi | viii |
| Şekiller Listesi | xii |
| Resimler Listesi | xiii |
| Tablolar Listesi | xiv |
| Özet | xv |
| Abstract | xvi |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. Kanser | 4 |
| 2.1.1. Prevalans ve Etyoloji | 5 |
| 2.1.2. Kanserın Özellikleri | 6 |
| 2.1.3. Kanser Biyolojisi ve Karsinogenez | 8 |
| 2.1.4. Kanserın Nedenleri ve Karsinojenler | 9 |
| 2.1.5. Serbest Radikaller ve ROS'un Karsinogenezdeki Rolü | 10 |
| 2.1.6. Apoptoz ve Kanser | 10 |
| 2.1.7. İnsan Kolon Adenokarsinom Hücre Hattı (HT-29) | 13 |
| 2.2. Kanserde Tedavi Seçenekleri | 14 |
| 2.2.1. Cerrahi | 14 |
| 2.2.2. Kemoterapi | 14 |
| 2.2.3. Radyoterapi | 14 |
| 2.2.4. İmmünoterapi | 15 |
| 2.2.5. Hormonal Terapi | 15 |
| 2.2.6. Kanserde Kullanılan Tedavilerin Dezavantajları | 16 |
| 2.2.7. Kanserde Tamamlayıcı ve Alternatif Tedaviler | 17 |
| 2.3. <i>Salsola grandis</i> | 17 |
| 2.3.1. Sistematiği | 17 |
| 2.3.2. Genel Özellikleri | 18 |
| 2.3.3. Fitokimyasal Bileşenleri ve Etnofarmakolojik Kullanımı | 19 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 20 |
| 3.1. Bitki Materyali | 20 |
| 3.2. Çalışmada Kullanılan Hücre Hattı | 20 |
| 3.3. Bitki Ekstraktının Elde Edilmesi | 21 |
| 3.4. Bitki Ekstraktının Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi | 22 |
| 3.4.1. Askorbik Asit İçeriği | 22 |
| 3.4.2. β -karoten ve Likopen İçeriği | 22 |
| 3.4.3. Total Alkaloid İçeriği | 22 |
| 3.4.4. Total Flavonoid İçeriği | 23 |
| 3.4.5. Total Fenolik İçeriği | 23 |
| 3.4.6. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi | 23 |
| 3.4.7. Plazma Lipit Peroksidasyon İnhibisyonu | 24 |
| 3.4.8. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Radikali Giderme Aktivitesi | 24 |
| 3.5. Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) Analizi | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 3.6. HT-29 Hücre Hattının Geliştirilmesi İçin Kullanılan Besiyeri ve Gelişme Şartları | 25 |
| 3.7. Bitki Ekstraktının Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi | 26 |
| 3.8. Gerçek Zamanlı PZR ile Apoptozda Rol Oynayan Genlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi..... | 27 |
| 3.9. Western Blot ile Apoptozda Rol Oynayan Proteinlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi | 28 |
| 3.10. İstatiksel Analiz | 29 |
| 4. BULGULAR..... | 31 |
| 4.1. Bitki Ekstraktının Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi | 31 |
| 4.2. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi | 31 |
| 4.3. Plazma Lipit Peroksidasyon İnhibisyonu..... | 32 |
| 4.4. DPPH Radikali Giderme Aktivitesi | 32 |
| 4.5. LC-MS/MS Analizi | 32 |
| 4.6. Bitki Ekstraktının Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi..... | 33 |
| 4.7. Gerçek Zamanlı PZR ile Apoptozda Rol Oynayan Genlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi | 34 |
| 4.8. Western Blot ile Apoptozda Rol Oynayan Proteinlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi | 34 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ | 37 |
| 6. KAYNAKLAR | 50 |
| 7. EKLER..... | 59 |
| 7.1. Ek-A: Yüksek Lisans Tez Projesi Sözleşme Protokolü | 59 |
| 7.2. Ek-B: İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Kararı..... | 60 |
| 7.3. Ek-C: ESHG 2017 Elektronik Poster Sunumu | 61 |
| 8. ÖZGEÇMİŞ..... | 68 |

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

| | |
|--|---|
| 7-AAD | 7-aminoaktinomisin D |
| α | Alfa |
| ACT | Adaptif hücre tedavisi |
| ACTB | β -aktin |
| AlCl ₃ *6H ₂ O | Alüminyum klorür heksahidrat |
| Apaf-1 | Apoptotik peptidaz aktifleştirici faktör-1 |
| ATP | Adenozin trifosfat |
| β | Beta |
| <i>B. vulgaris</i> | <i>Beta vulgaris</i> |
| <i>B. vulgaris</i> var. <i>bengalensis</i> | <i>Beta vulgaris</i> var. <i>bengalensis</i> |
| <i>B. vulgaris</i> var. <i>cicia</i> | <i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicia</i> |
| BAX | BCL2 associated X |
| BCIP/NBT | 5-bromo, 4-kloro, 3-indol fosfat/nitro-mavi tetrazolium |
| BHA | Bütil hidroksi anizol |
| BHT | Bütil hidroksi toluen |
| <i>C. quinoa</i> | <i>Chenopodium quinoa</i> |
| CARD | Kaspaz alım bölgesi |
| CASP3 | Kaspaz-3 |
| CASP7 | Kaspaz-7 |
| CASP8 | Kaspaz-8 |
| CASP9 | Kaspaz-9 |
| Cdk | Siklin bağımlı kinaz |
| cDNA | Komplementer DNA |
| CH ₃ CO ₂ K | Potasyum asetat |
| CO ₂ | Karbondioksit |
| CR | Kritik |
| Cu | Bakır |
| CYCS | Sitokrom C |
| DAPI | 4',6-diamidino-2-fenilindol |
| ddH ₂ O | Deiyonize distile su |
| dH ₂ O | Distile su |

| | |
|-------------------------------|---|
| DISC | Ölüm indükleyici sinyalizasyon kompleksi |
| DMEM | Dulbecco's modified eagle's medium |
| DMSO | Dimetilsülfoksit |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| DPPH | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil |
| EDTA | Etilendiamintetraasetik asit |
| EGCG | (-)-epigallokatekinin-3-gallat |
| FADD | Fas ilişkili ölüm birimi |
| FAS | Fas hücre yüzeyi ölüm reseptörü |
| FBS | Fetal sığır serumu |
| Fe | Demir |
| FeCl ₂ | Ferröz klorür |
| FeSO ₄ | Demir (II) sülfat |
| g | Gram |
| GC/MS | Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi |
| HCl | Hidrojen klorür |
| HMBC | Heteronükleer tek kuantum tutarlılık |
| HMQC | Heteronükleer birden fazla bağ tutarlılık |
| H ₂ O | Su |
| H ₂ O ₂ | Hidrojen peroksit |
| HPLC | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi |
| HT-29 | İnsan kolon adenokarsinom hücre hattı |
| IC50 | Median inhibitör konsantrasyonu |
| IR | İnfrared spektroskopisi |
| IUCN | International union for concerning nature and natural resources |
| <i>K. scoparia</i> | <i>Kochia scoparia</i> |
| kDa | Kilodalton |
| LC-MS/MS | Sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi |
| μ | Mikron |
| μg | Mikrogram |
| μL | Mikrolitre |
| M | Molar |

| | |
|--|---|
| MDA | Malondialdehit |
| MES | 2-(N-morfolino) etansülfonik asit |
| mg | Miligram |
| mL | Mililitre |
| mm | Milimetre |
| mM | Milimolar |
| MS | Kütle spektroskopisi |
| MTS | 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolium |
| MTT | 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5-difenil tetrazolium bromid; tiazolil mavi |
| Na ₂ CO ₃ | Sodyum karbonat |
| Na ₂ HPO ₄ | Sodyum fosfat |
| NaOH | Sodyum hidroksit |
| nm | Nanometre |
| NMR | Nükleer manyetik rezonans kütle spektroskopisi |
| PARP | Poli ADP-riboz polimeraz |
| pH | Hidrojenin gücü |
| PI | Propidyum iyodür |
| ppm | Milyonda bir birim |
| psi | İnç kareye isabet eden pound cinsinden basınç |
| PVDF | Polivinilidenflorür |
| PZR | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| ROS | Reaktif oksijen türleri |
| <i>R. sativus</i> L. var. <i>major</i> | <i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>major</i> |
| RNA | Ribonükleik asit |
| <i>S. collina</i> | <i>Salsola collina</i> |
| <i>S. grandis</i> | <i>Salsola grandis</i> |
| <i>S. herbaceae</i> | <i>Salicornia herbaceae</i> |
| <i>S. imbricata</i> | <i>Salsola imbricata</i> |
| <i>S. kali</i> | <i>Salsola kali</i> |
| <i>S. oppositifolia</i> | <i>Salsola oppositifolia</i> |

| | |
|----------------------|--|
| <i>S. soda</i> | <i>Salsola soda</i> |
| <i>S. stenoptera</i> | <i>Salsola stenoptera</i> |
| <i>S. tragus</i> | <i>Salsola tragus</i> |
| <i>S. oleraceae</i> | <i>Spinacia oleraceae</i> |
| SDS | Sodyum dodesil sülfat |
| SGME | <i>Salsola grandis</i> metanol ekstraktı |
| SRB | Sulforodamin B |
| TBA | Tiyobarbitürik asit |
| TCA | Trikarboksilik asit |
| TNF | Tümör nekroz faktör |
| TP53 | Tümör protein p53 |
| TRAIL | Apoptoz indükleyici ligandı bağlayan reseptörler |
| var. | Varyasyon |
| V | Volt |
| WST | Suda çözünen tetrazolium tuzları |
| °C | Santigrat derece |
| % | Yüzde |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Taksononun Türkiye üzerindeki dağılımı (Şehir bazında)..... | 18 |
| Şekil 2. Taksononun Türkiye üzerindeki dağılımı (Kareleme sistemi bazında)..... | 18 |
| Şekil 3. HT-29 hücre hattı..... | 20 |
| Şekil 4. Soxhlet cihazı ve dönen evaporatör..... | 21 |
| Şekil 5. Bitki ekstraktının antiproliferatif etkisi | 33 |



RESİMLER LİSTESİ

- Resim 1.** *S. grandis*'in gövde ve yaprağı..... 20
- Resim 2.** Dikey jel elektroforez sistemi ve jel transfer cihazı 28
- Resim 3.** Apoptozda rol oynayan proteinlerin PVDF membran görüntüleri..... 34



TABLolar LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1. Tümörlerin sınıflandırılması..... | 4 |
| Tablo 2. HT-29 hücre hattının özellikleri | 21 |
| Tablo 3. LC-MS/MS'in çalışma koşulları | 25 |
| Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler | 28 |
| Tablo 5. Çalışmada kullanılan primer antikolar | 29 |
| Tablo 6. Bitki ekstraktının antioksidan içeriği ve miktarı | 31 |
| Tablo 7. Bitki ekstraktının ve EDTA'nın demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi. 32 | |
| Tablo 8. Bitki ekstraktının, BHT, BHA ve α -tokoferol'ün DPPH radikali giderme aktivitesi | 32 |
| Tablo 9. Bitki ekstraktının fenolik asit kompozisyonu ve miktarı..... | 33 |
| Tablo 10. Bitki ekstraktının apoptozda rol oynayan genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi. | 34 |

ÖZET

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Türkiye'ye Endemik Olan *Salsola grandis* Türünün Antioksidan ve İnsan Kolon

Adenokarsinom Hücre Hattı (HT-29) Üzerine Antikanserojenik Etkisinin

Araştırılması

Seda ŞİRİN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA-2017

Kanser günümüzün en sık karşılaşılan hastalıklarından birisi haline gelmiştir. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapik ilaçlar tedaviye bağlı olarak ağır yan etkiler göstermektedir. Yapılan klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda kanser tedavisine yönelik alternatif ve tamamlayıcı ilaçların ve tedavi yöntemlerinin ortaya konulmasının önemi vurgulanmaktadır. Bitkiler kanserin birçok formunun tedavisi için yüksek derecede etkili geleneksel ilaçların birincil kaynağını oluşturmaktadır.

S. grandis metanol ekstraktı (SGME)'nin antioksidan ve insan kolon adenokarsinom hücre hattı (HT-29) üzerine antikanserojenik etkisinin araştırılması ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir. SGME'nin askorbik asit, β -karoten, likopen, total alkaloid, total flavonoid ve total fenolik içeriği spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. SGME'nin en fazla total fenolik içeriğine, en az ise likopen içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir. SGME'nin demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi (5.36 ± 0.00 mg/mL), plazma lipit peroksidasyon inhibisyonu ($\%21.45 \pm 0.04$) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali giderme aktivitesi (0.08 ± 0.00 mg/mL) tespit edilmiştir. SGME'nin fenolik asit kompozisyonu sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) analizi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktının fenolik asit kompozisyonunda en yüksek miktarda vanilik asit, en az miktarda gallik asit bulunmuştur. SGME'nin HT-29 hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkisi 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5-difenil tetrazolium bromid; tiazolil mavi (MTT) yöntemi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktının IC50 dozu $250 \mu\text{g/mL}$ 48 saat olarak hesaplanmıştır. SGME'nin HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan genler BCL2 associated X (*BAX*), *BCL2*, kaspaz-3 (*CASP3*), kaspaz-7 (*CASP7*), kaspaz-8 (*CASP8*), kaspaz-9 (*CASP9*), sitokrom C (*CYCS*), Fas hücre yüzeyi ölüm reseptörü (*FAS*) ve tümör protein p53 (*TP53*) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi gerçek zamanlı PZR ile gerçekleştirilmiştir. *BCL2* geninin ekspresyonunda konrole göre dozda 1.63 ± 0.40 kat azalma, *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53* genlerinin ekspresyonunda konrole göre dozda sırasıyla 1.52 ± 0.13 , 1.52 ± 0.30 , 1.76 ± 0.02 , 1.81 ± 0.06 , 1.46 ± 0.06 , 1.91 ± 0.03 , 1.18 ± 0.10 ve 1.79 ± 0.07 kat artma belirlenmiştir. SGME'nin HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan proteinlerin (Bcl-2, Bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi Western blot yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen proteinlerin ekspresyon düzeyleri, genlerin ekspresyon düzeyleri ile uyumlu bulunmuştur.

Sonuç olarak, SGME antioksidan ve HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinin yüksek olması bakımından öne çıkmıştır. Bu durum, *S. grandis*'in ekonomik değerinin artmasına ve Türkiye florasındaki yerinin güçlenmesine yol açacaktır. SGME'nin kanser tedavisinde yeni bir terapötik ajan haline geleceği ve özellikle ilaç endüstrisinde ürüne yönelik kullanımlarda öne çıkmasının mümkün olacağı düşünülmektedir. Ayrıca SGME'nin antikanser etkisi ile birlikte antikanser mekanizmasının da ortaya konulması daha etkin, hedefe yönelik koruyucu ve tedavi edici ilaç formülasyonlarının geliştirilmesini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antikanserojenik etki; antioksidan etki; insan kolon adenokarsinom hücre hattı (HT-29); metanol ekstraktı; *Salsola grandis*.

ABSTRACT

NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

Investigation of Anticancerogenic Effect on Human Colon Adenocarcinoma Cell Line (HT-29) and Antioxidant Effect of *Salsola grandis* Species Which is Endemic in Turkey

Seda SIRIN

Department of Medical Biology

MASTER OF SCIENCE/KONYA-2017

Today, cancer became one of the most common diseases. Chemotherapeutics for the treatment of cancer cause severe treatment-related side effects. Existing clinical, epidemiological and experimental studies emphasize the importance of introducing alternative and complementary medicinal products and methods for cancer treatment. Plants constitute a primary source of traditional drugs which are highly effective in the treatment of many forms of cancer.

This is the first study identifying the antioxidant characteristics of the *S. grandis* methanol extract (SGME) and its anticarcinogenic effects on the human colon adenocarcinoma cell line (HT-29). The ascorbic acid, β -carotene, lycopene, total alkaloids, total flavonoids and total phenolics content of SGME were determined spectrophotometrically. It was shown that while its total phenolics content is the highest, SGME's lycopene content was the lowest. SGME's iron(II) ion chelating activity (5.36 ± 0.00 mg/mL), plasma lipid peroxidation inhibition ($21.45 \pm 0.04\%$) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (0.08 ± 0.00 mg/mL) were determined. The phenolic acid composition of SGME was determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis. In the phenolic acid composition of the plant extract, vanillic acid was the component with the highest amount, while the component with the lowest amount was gallic acid. The antiproliferative action of SGME on the HT-29 cell line was determined by 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide; thiazolyl blue (MTT) method. The IC₅₀ dose of the plant extract was calculated as 250 μ g/mL 48 hours. Following the treatment with SGME, the change in the expression levels of the genes involved in the apoptosis in HT-29 cell line (BCL2-associated X (*BAX*), *BCL2*, caspase-3 (*CASP3*), caspase-7 (*CASP7*), caspase-8 (*CASP8*), caspase-9 (*CASP9*), cytochrome C (*CYCS*), Fas cell surface death receptor (*FAS*) and tumor protein p53 (*TP53*)) were determined by real-time PCR. In the expression of the *BCL2* gene, compared to the control, a decrease of 1.63 ± 0.40 fold per dose was identified. In the expression of *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* and *TP53* genes, there were an increase as 1.52 ± 0.13 , 1.52 ± 0.30 , 1.76 ± 0.02 , 1.81 ± 0.06 , 1.46 ± 0.06 , 1.91 ± 0.03 , 1.18 ± 0.10 and 1.79 ± 0.07 fold per dose, respectively, compared to the control. Following the treatment with SGME, the change in the expression levels of the proteins involved in the apoptosis in HT-29 cell line (Bcl-2, Bax, caspase-3 and caspase-9) were determined by Western blot method. The expression levels of obtained proteins were considered as consistent with the expression levels of the genes.

In conclusion, SGME becomes significant due to its antioxidant characteristics and higher anticarcinogenic effect on HT-29 cell line. This would lead to an increase in the economic value of *S. grandis* and strengthen its position in the flora of Turkey. It is believed that SGME would become a new therapeutic agent for cancer treatment and that it may stand out in the product-oriented potential applications in the pharmaceutical industry. Moreover, revealing the anticarcinogenic mechanism of SGME along with its anticarcinogenic effect would lead to the development of more efficient and targeted prophylactic and therapeutic drug formulations.

Key Words: Anticarcinogenic effect; antioxidant effect; human colon adenocarcinoma cell line (HT-29); methanol extract; *Salsola grandis*.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çevresel faktörlerin etkisinde çok basamaklı bir süreç içinde, hücre DNA'sında ve genlerde oluşan değişiklikler neticesinde hücreler kontrolsüz olarak bölünmeye başlarlar ve normalde olmayan bir oluşum meydana getirirler. Bu oluşum yine bu çok basamaklı süreç içerisinde komşu dokulara ve uzak organlara da yayılım gösterebilir. Bu anormal hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılma özelliğine sahip olması ile gelişen büyük bir grup hastalığa kanser adı verilmektedir (Başpınar 2015).

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı'nın 2014 verilerine göre yaşa standardize kanser hızı erkeklerde yüz binde 246,8, kadınlarda ise yüz binde 173,6'dır. Türkiye'de gelişmişlik düzeyi yüksek olan ülkelere göre hem erkeklerde hem de kadınlarda kanser hızının daha düşük olduğu görülmektedir. Toplamda kanser insidansı ise yüz binde 210,2'dir. Türkiye kanser insidansı, erkeklerde dünya insidansının üzerinde seyrederken, kadınlarda dünya insidansının altında seyretmektedir (www.kanser.gov.tr 13 Ağustos 2017). Kanser insidansı cinsiyet, yaş, genetik faktörler, ırk, diyet ve coğrafik konuma bağlı olarak değişmektedir (Hussain ve ark 2003). Erkeklerde en sık görülen kanser tipleri sırasıyla akciğer (%21), prostat (%13), kolorektal (%9), mesane (%8), mide (%6), non-hodgkin lenfoma (%3), böbrek (%3), larinks (%3), tiroid (%2) ve beyin sinir sistemi (%2) kanseridir. Kadınlarda ise en sık görülen kanser tipleri sırasıyla meme (%25), tiroid (%12), kolorektal (%8), uterus korpusu (%6), akciğer (%5), mide (%4), over (%4), non-hodgkin lenfoma (%3), beyin sinir sistemi (%2) ve serviks (%2) kanseridir (www.kanser.gov.tr 13 Ağustos 2017).

Kanserde yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Bu yöntemler başarılı olmakla birlikte kanserin yineleme riski, organ kaybı ve tüm kanser türlerine uygulanamaması gibi bazı dezavantajlara da sahiptir (Dicato 2012).

Kemoterapinin asıl hedefi kemoterapi ilaçları ile kanserli hücrelerin bölünmesini sağlayan moleküler mekanizmaların ortadan kaldırılarak kanserli hücrelerin öldürülmesidir. Kemoterapi ilaçları kanserli hücreye özgü olmayıp, kanserli hücrelere etki ederken aynı zamanda normal hücrelere de hasar vermektedir (Perry 2008). Kemoterapi ilaçları hastanın savunma sistemini zayıflatmakta ve buna

bağlı olarak hastanın diğer hastalıklara karşı daha hassas olmasına sebebiyet vermektedir (Barton-Burke ve ark 2001).

Radyoterapi yönteminde, kanserli hücreler belirli bir frekans bandında ve şiddette rasyasyona maruz bırakılmaktadır. Kanserli hücrelerin yanında normal hücreler de hasar görmektedir. Kanser hücrelerine radyasyon dağılımı eşit şiddette olamamaktadır. Radyasyon olan dokuda fonksiyon kaybı gözlemlenebilmektedir (Levitt ve ark. 2008).

Bu yöntemlerin mevcut ilaç ve kombinasyonları ile birçok kanser türünde tedaviyi ya hiç sağlayamaması ya da yetersiz kalması, sonuçta bu kanser türlerinde ölüm oranının oldukça yüksek olması, kullanımda olan ilaçların önemli yan etkilerinin ve diğer dezavantajlarının giderilememiş olması nedeni ile araştırmacılar yeni tedavi yöntemleri araştırmaktadırlar (Alaoui-Jamali 2010).

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların birçoğunun etken maddesi doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Bu doğal kaynaklar, insanlık tarihinin çok eski dönemlerinden bu yana hem hastalıkların tedavisinde hem de hastalıklara karşı korunmada önemli bir role sahiptir. Dolayısıyla tüm dünyada doğal yaşam, sağlıklı ve daha uzun yaşama isteğine paralel olarak tıbbi bitkisel ürünlerin, gıda desteklerinin ve bitkisel ilaçların kullanımı gittikçe önem kazanmıştır. Gelişmiş ülkeler, özellikle tedavide bitkisel kaynaklara yönelmiş durumdadırlar. Asya ile Avrupa arasında bir köprü oluşturan Türkiye, bu coğrafi konumu nedeni ile çok fazla bitki türüne ev sahipliği yapmaktadır. Türkiye bitki çeşitliliği bakımından dünyanın önde gelen ülkeleri arasında yer almaktadır. Türkiye’de bulunan yaklaşık 3000 endemik bitki türüne her yıl yeni türler kazandırılmaktadır. Ancak bitki türlerimizin tıbbi özelliklerini ortaya çıkartmak için yapılan çalışmaların sayısı yetersizdir.

Literatürde *S. grandis* ile yapılan çalışmaların farklı alanlarda ve kısıtlı sayıda olduğu gözlenmiştir (Freitag ve ark. 1999; Doğru ve ark. 2004; Çınar ve Tuğ 2015; Çınar ve ark. 2016; Küçükboyacı ve ark. 2016; Orhan ve ark. 2016). İlk kez bu çalışma ile *S. grandis* metanol ekstraktı (SGME)’nin antioksidan ve HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Bugüne kadar farklı bitki türleri ile yapılan antikanser çalışmaları çoğunlukla bitki türünün kanser hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkilerinin değerlendirilmesi şeklindedir. Mevcut

Çalışma ise hedef bitki türünün antiproliferatif etkisi ile birlikte antioksidan ve antikanserojenik etkilerinin birlikte değerlendirilmesi bakımından bu çalışmalardan ayrılmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Çevresel faktörlerin etkisinde çok basamaklı bir süreç içinde, hücre DNA'sında ve genlerde oluşan değişiklikler neticesinde hücreler kontrolsüz olarak bölünmeye başlarlar ve normalde olmayan bir oluşum meydana getirirler. Bu oluşum yine bu çok basamaklı süreç içerisinde komşu dokulara ve uzak organlara da yayılım gösterebilir. Bu anormal hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılma özelliğine sahip olması ile gelişen büyük bir grup hastalığa kanser adı verilmektedir (Başpınar 2015).

Hücrelerin anormal çoğalması sonucu ortaya çıkan tümörler benign ya da malign olabilmektedir. Kanser patolojisinde benign ve malign tümörleri birbirinden ayırt etmek oldukça önemlidir. Çevresindeki normal dokuyu istila etmeyen ve vücudun uzak bölgelerine yayılmadan oluştukları yerde kalan tümörler benign tümörlerdir. Çevresindeki normal dokuyu istila eden ve dolaşım veya lenfatik sistemler aracılığı ile yayılan tümörler ise malign tümörlerdir (Bertham 2001; Copper ve Hausman 2004).

Tümörler kaynaklandıkları hücrelere ve dokulara göre sınıflandırılmaktadır. Epitel dokusundan köken alan karsinomalar insan kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Sarkomlar, İnsan kanserlerinin yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır. Bağ, yağ, kıkırdak, kemik ve kas dokularından köken alan tümörlerdir. Lösemi ve lenfomalar, İnsan kanserlerinin yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır. Kan yapıcı hücrelerden ve lenfatik sistem hücrelerinden gelişmektedirler (Tablo 1) (Copper ve Hausman 2004).

Tablo 1. Tümörlerin sınıflandırılmaları (docs.neu.edu.tr 13 Ağustos 2017).

| Köken aldığı doku | Benign | Malign |
|--|---------------------------|------------------------------------|
| Epitelial doku | | |
| Çok katlı yassı epitelium | Skuamoz hücreli papilloma | Skuamoz hücreli karsinoma |
| Deri ve adnekslerin bazal hücreleri | - | Bazal hücreli karsinoma |
| Epitel ile döşeli duktus veya glandlar | Adenom, kistadenoma | Adenokarsinoma, kistadenokarsinoma |

| | | |
|---|-----------------------|--------------------------|
| Solunum yolu | Bronşiyal adenoma | Bronkojenik karsinoma |
| Renal epitel | Renal tübüler adenoma | Renal hücreli karsinoma |
| Karaciğer hücresi | Kc hücreli adenoma | Hepatosellüler karsinoma |
| Nöroektoderm | Nevüs | Malign melanoma |
| Mezansimal doku | | |
| Bağ dokusu ve türevleri | | |
| Fibröz doku | Fibroma | Fibrosarkoma |
| Yağ dokusu | Lipoma | Liposarkoma |
| Kıkırdak dokusu | Kondroma | Kondrosarkoma |
| Kemik dokusu | Osteoma | Osteosarkoma |
| Kas dokusu | | |
| Düz kas | Leiomyoma | Leiomyosarkoma |
| Çizgili kas | Rhabdomyoma | Rhabdomyosarkoma |
| Endotel ve ilgili dokular | | |
| Kan damarları | Hemangioma | Angiosarkoma |
| Lenfatik damarlar | Lenfangioma | Lenfangiosarkoma |
| Mezotel | - | Mezotelyoma |
| Beyin zarları | Meningioma | İnvaziv meningioma |
| Kan hücreleri ve ilgili hücreler | | |
| Hematopoetik hücreler | - | Lösemiler |
| Lenfoid doku | - | Lenfomalar |
| Sinir dokusu | Nörofibroma | Nörofibrosarkoma |
| Sinir kılıfı | Nörolemmoma | Nörolemmosarkoma |
| Gonadlardaki veya embriyonik artıklardaki totipotent hücreler | Benign teratoma | Teratokarsinoma |

2.1.1. Prevalans ve Etyoloji

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı'nın 2014 verilerine göre yaşa standardize kanser hızı erkeklerde yüz binde 246,8; kadınlarda ise yüz binde 173,6'dır. Türkiye'de gelişmişlik düzeyi yüksek olan ülkelere göre hem

erkeklerde hem de kadınlarda kanser hızının daha düşük olduğu görülmektedir (www.kanser.gov.tr 13 Ağustos 2017).

Türkiye’de toplam kanser insidansı yüz binde 210,2’dir. Türkiye kanser insidansı, erkeklerde dünya insidansının üzerinde seyrederken, kadınlarda dünya insidansının altında seyretmektedir (www.kanser.gov.tr 13 Ağustos 2017). Kanser insidansı cinsiyet, yaş, genetik faktörler, ırk, diyet ve coğrafik konuma bağlı olarak değişmektedir (Hussain ve ark 2003).

Erkeklerde en sık görülen kanser tipleri sırasıyla akciğer (%21), prostat (%13), kolorektal (%9), mesane (%8), mide (%6), non-hodgkin lenfoma (%3), böbrek (%3), larinks (%3), tiroid (%2) ve beyin sinir sistemi (%2) kanseridir. Kadınlarda en sık görülen kanser tipleri sırasıyla meme (%25), tiroid (%12), kolorektal (%8), uterus korpusu (%6), akciğer (%5), mide (%4), over (%4), non-hodgkin lenfoma (%3), beyin sinir sistemi (%2) ve serviks (%2) kanseridir (www.kanser.gov.tr 13 Ağustos 2017).

2.1.2. Kanserın Özellikleri

2000 yılında Hanahan ve Weinberg kanser hücresinin temel fonksiyonel özelliklerini 6 maddede özetlemişlerdir. Bunlar;

- Kanser hücreleri artmış mutasyon hızı sebebiyle genetik olarak kararsızdırlar. Bir ya da birden fazla DNA tamir sisteminden yoksundurlar. Bu sebeple kanser hücrelerinde anöploidi, DNA amplikasyonu, translokasyon, kromozom kaybı ve delesyonlar gibi genetik kusurlar oluşmaktadır (Cowell 2001; Bunz 2008).

- Kanser hücreleri replikatif yaşlanmadan ve farklılaşmadan kaçmaktadırlar. Normal hücrelerde sağ kalım ve apoptoz olayları denge halindedir. Kanser hücrelerinde bu denge bozulmaktadır. Normal hücrelerde telomerler her bölünmeden sonra kısalmırlar. Kanser hücrelerinde ise telomeraz enzimi ile telomer uzunluğu korunmaktadır (Hiyama 2009).

- Kanser hücreleri onkogenlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin etkisi ile otokrin çoğalma uyarımı sonucu sınırsız çoğalırlar. Normal hücreler ortamdaki büyüme faktörlerine bağlı olarak belirli bir sayıya kadar bölünüp daha sonra G0

evresine geçerek bölünme döngüsünden ayrılırlar. Kanseri hücreler otokrin uyarımla büyüme faktörlerini sentezleyebilme yeteneğine sahip olup, sınırsız olarak bölünürler (Lieberman ve ark. 2012).

Kanser hücreleri kontakt inhibisyona karşı duyarsızlardır. Kanser hücrelerinde hücre adezyon proteinlerinin normal hücrelere göre daha az ekspres edilmesinden dolayı hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimi azalmaktadır. Hücrelerde kontakt kaybına hücre iskeleti ve hücre morfolojisindeki bozulmalar sebebiyet vermektedir. Kanser hücreleri komşu hücrelerle daha az temas kurarlar. Morfolojileri de normal hücrelere göre daha yuvarlaktır. (Sarkar 2011).

Kanser hücreleri yoğunluğa bağlı inhibisyondan etkilenmezler. Normal hücreler kültür plağında belirli bir sayıya erişinceye kadar çoğalır ve komşu hücrelere temas edinceye kadar yayılırlar. Bunun aksine kanseri hücreler ise kültür plağında sayıdan etkilenmeden çoğalmaya devam ederler ve komşu hücrelere temas etseler bile onların üzerlerine doğru yayılmalarını sürdürürler (Reece ve ark. 2015).

- Kanser hücreleri tümör supresör genlerden gelen büyüme karşıtı sinyallere cevap vermezler (Molls ve ark. 2009).

- Kanser hücreleri apoptozdan kaçmaktadırlar (Gewirtz ve ark. 2007).

- Kanser hücreleri diğer dokulara ve organlara yayılabilmek için invazyon, anjiogenez ve metastaz yapma özelliğine sahiptirler (Welch 2006). Kanser hücrelerinde yüzey adezyon molekülleri, sitokromlar, solunum enzimleri ve sitokrom oksidaz gibi yaşam için mutlak gerekli proteinlerin sentezi azalmaktadır. Oksijenden bağımsız olarak glikozu laktik aside dönüştürerek gelişirler. Kalsiyum düzeyleri normal hücrelere kıyasla daha azdır. Hücreler arasındaki bağlantılar zayıfladığı için birbirlerinden daha çabuk ayrılırlar ve metastazla diğer dokulara taşınırlar (Jiang ve Mansel 2006). Kanser hücreleri hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayan ve normal dokunun içine girmesine imkan sağlayan proteazlar ve yeni kan damarlarının oluşumunu hızlandıran büyüme faktörleri salgırlar (Marme ve Fusenig 2007).

2.1.3. Kanser Biyolojisi ve Karsinogenez

Kanser genetik bir hastalıktır, somatik hücrelerdeki mutasyonlar sonucu gelişir. Kansere neden olan genler, üç temel alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar, onkogenler, tümör supresör genler ve koruyucu genlerdir (Vainio ve Hietanen 2013).

Onkogenler, proto-onkogen adını verdiğimiz normal hücresel genlerin mutant allelleridir. Onkogenler genellikle mutasyonlar sonucunda yeni fonksiyonlar kazanıp, proliferasyonu stimüle etme, kanserli hücrelerin anjiogenezini artırma ve apoptozu durdurma gibi mekanizmalarla etki göstermektedirler (Cooper 1995).

Tümör supresör genler adlarından da anlaşılacağı gibi hücre büyümesini düzenleyerek tümör gelişimini engelleyen genlerdir. Tümör supresör genler tarafından kodlanan proteinlerin fonksiyon kaybı, kontrolsüz hücre bölünmesine, anormal hücre büyümesine ve defektif apoptoza neden olmaktadır (El-Deiry 2003). Tümör supresör genler, hücre büyümesini kontrol eder veya baskılar. Bu fonksiyonu mutasyon yoluyla kaybettiğinde hücre büyümesi kontrol edilemez. Genin tamamen kaybı ya da hasar görmemesi için her iki allelde tümör supresör gene ihtiyaç duyulmaktadır, böylece hasar veya kayıp birkaç yolla oluşmaktadır (Fisher 2000).

Son zamanlarda, koruyucu genler kategorisi yeni bir gen ailesini kapsamakta olup bu genler, DNA tamir genleri olarak adlandırılmaktadır. Bu büyük gen ailesi, mutajenik kimyasalların ve ışın gibi ajanların sebep olduğu DNA hasarının tamirinden ve hücredeki genomik yapının korunmasından sorumludur (Wei ve ark. 2007). DNA tamir genlerinin fonksiyonu, mutasyonel hasar veya DNA replikasyonun her ikisinde oluşan DNA hataları ile bağlantılıdır. Hata tamir edilemezse, bu genler apoptozu indükler. DNA tamir genlerinin fonksiyonel etkilerinin inaktivasyonu doğrudan değildir, bu genler tümör supresör olarak sınıflandırılmaktadır, çünkü fonksiyonlarının kaybı, kanser artışında önemli etki yapmaktadır (Ahmad 2011).

Karsinogenez üç basamaktan oluşmaktadır. Bunlar, inisiyasyon, promosyon ve progresyondur (Apte ve Sarangarajan 2008). Başlangıçta, başlatıcı etken tek bir hücrede DNA'yı mutasyona uğratarak, hücrenin anormal şekilde çoğalmasını tetiklemektedir. Burada oluşan mutasyon dönüşümsüzdür. Daha sonra proliferasyonu sağlayan promotör etkenler devreye girerek DNA üzerinde dönüşümlü mutasyonlara

neden olurlar (Waalkes 1994). DNA üzerinde oluşan değişimler epigenetik değişimlerdir. Eđer DNA'da radikaller promotör olarak rol alırsa, bu mutasyonlar kalıcı özellikte olurlar. Böylece klon hücrelerden oluşan topluluk hızla büyümeye devam eder (Warshawsky ve Landolph 2005). Promosyon safhasından sonra gelen progresyon, genomik instabilitenin geliştiği safhadır. Burada karyotipik değişimler ve çoğul mutasyonlar olmaktadır. Bu değişimleri geçiren hücreler, daha hızlı çoğalma, sağ kalım ve metastaz yapma özellikleri bakımından daha avantajlı hale gelirler ve tamamen malign hale dönüşürler (McKinnell 1998). Çoğalma hızları iyice artmış olan hücreler nihayetinde bulunduğu bölgenin çevresindeki dokulara yayılmaya başlar. Bunun haricinde kan ve lenf dolaşımına katılarak daha uzak bölgelere de ulaşabilir ve yeni tümör dokuları oluşturabilirler. Bu diğer doku ve organlara yayılma sürecine metastaz adı verilmektedir (Wakefield ve Hunter 2007).

2.1.4. Kanserin Nedenleri ve Karsinojenler

Kanser oluşumunda, çevresel ve genetik değişimler rol oynamaktadır. Onkogenlerde ve tümör supresör genlerde oluşan genetik mutasyonlar, proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücrelerin temel fonksiyonlarında anormalilikler meydana getirmektedir. Kansere yol açan maddelere karsinojen adı verilmektedir (Weisburger 2012).

Kimyasal karsinojenler: Kimyasal maddelerin çoğu karsinojenik etkiye sahiptir. Bu maddeler karsinojen özelliklerini DNA üzerinde gerçekleştirdikleri mutasyonlarla göstermektedirler (Penning 2011).

Fiziksel karsinojenler: Ultraviyole, X ve γ ışınları son derece karsinojen etkiye sahiptirler. Fiziksel karsinojenlerin de tümör oluşturma yetenekleri DNA'da meydana getirdikleri mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. DNA üzerinde doğrudan etkilerinin yanı sıra dokularda serbest radikallerin oluşmasıyla da dolaylı yoldan tümör oluşumuna neden olabilmektedirler (Ruddon 2007).

Viral karsinojenler: Kanser oluşturan genlere onkogen ismi verilmektedir ve kanser oluşumunda en büyük role sahip olan faktörlerden biridir. Onkogenlere ilk kez virüslerde rastlanılmıştır. Virüslerin kanser oluşumunda %15'lik bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Kimyasal ve fiziksel karsinojenlerin aksine virüsler DNA

üzerinde direkt olarak mutasyonla değil de hücre DNA'sına kendi genlerini aktararak kansere neden olmaktadır (Busch 2012).

2.1.5. Serbest Radikaller ve ROS'un Karsinogenezdeki Rolü

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içerirler. Kanser oluşumunda reaktif oksijen türleri (ROS) önemli rol oynamaktadır (Schumacker 2006). ROS oluşumuna ve oluşan oksidatif hasara karşı hücrelerde antioksidan koruma sistemi mevcuttur. Antioksidan koruma sistemi oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengeyi sağlamaktadır (Waris ve Ahsan 2006). ROS'a bağlı DNA hasarında Halliwell'e göre iki mekanizma vardır: 1) Hidroksil radikali tarafından oluşturulan baz modifikasyonu, deoksiriboz fragmentasyonu ve DNA zincir kırılımıdır. 2) Oksidatif stres tarafından oluşturulan endonükleazların aktivasyonu ile DNA fragmentasyonlarının oluşmasıdır (Halliwell 1991). Oksidatif stres tarafından oluşturulan DNA hasarı mutajenik etki de göstermektedir. Oksidatif stres aynı zamanda protein ve lipid peroksiyonuna sebebiyet vererek plazma membranının bozulmasına neden olmaktadır (Simon ve ark 2000; Liou ve Storz 2010).

2.1.6. Apoptoz ve Kanser

Apoptozun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan proteinler Bcl-2/Bax gen ailesinin üyeleridir. Yirmi üyesi bulunan bu ailenin bazıları apoptozu inhibe ederken, bazıları da apoptozu uyarır ve proapoptotik genler olarak adlandırılır. Bu genler kendi aralarında homo veya heterodimer oluşturabilirler. Bax, Bcl-2 ile heterodimer oluşturduğu durumda Bax, Bcl-2 etkisini antagonize eder (Elmore 2007). Hücrenin yaşayabilirliği proapoptotik ve antiapoptotik proteinlerin oranına bağlıdır. Mitokondrinin zarları arasında yer alan sitokrom C'nin sitozole geçmesi apoptozu başlatır. Antiapoptotik olan Bcl-2, sitokrom C'nin sitozole geçişini engellerken; Bax, sitokrom C'nin sitozole geçişine katkı sağlar (Al-Rubeai ve Fussenegger 2006).

Apoptoz internal proteolitik sindirim aracılığıyla meydana gelen ve hücre iskeletinin parçalanmasına, metabolik bozulmaya ve genom parçalanmasına yol açan hücre altyapısı bozulmasından kaynaklanmaktadır (Taylor ve ark. 2008). Kaspaz proteaz ailesinin üyeleri apoptozun temel mekanizmasını oluşturmakta ve yolağın başlama, yürütme ve düzenleme aşamalarında görev almaktadır. Kaspazlar spesifik tetra- veya pentapeptid tanıma dizileri içinde bazı aspartat rezidülerinden sonra

substratları parçalayan sistein proteazlarıdır (Los ve ark. 1999). Memelilerde tanımlanan on dört farklı kaspaz çoğu hücre tipinde eksprese edilmektedir. Bununla birlikte, istenmeyen hücre ölümünü engellemek için, her kaspaz katalitik bölge içeren iki alt ünitenin izlediği bir prodomainden oluşan inaktif bir zimojen olarak korunmaktadır. Kaspazlar apoptotik sinyalin güçlendirilmesine yarayan hiyerarşik kaskadlarda çalışmaktadır (Earnshaw ve ark. 1999).

Hücre ölümü yollarındaki yapılarına ve dizilimlerine dayalı olarak, kaspazlar apoptozun upstream başlatıcıları ve downstream efektörleri olarak ayrılabilirler. Kaspaz-3, -6 ve -7 gibi efektör kaspazlar yalnızca kısa bir prodomain içerirken ve çeşitli hücrel substratları parçalarken, başlatıcı kaspaz-8, -9 ve -10 uzun bir prodomain içermekte ve downstream efektör kaspazları aktive ederek düzenleyici roller oynamaktadırlar. Geçmişte tüm kaspazların proteolitik parçalanmayla aktive olduğu varsayılırken, güncel bulgular aktivasyon şeklinin başlatıcı ve efektör kaspazlar arasında önemli oranda farklılık gösterdiğini düşündürmektedir (Fuentes-Prior ve Salvesen 2004).

Efektör kaspazlar her zaman proteolitik parçalanma aracılığıyla başlatıcı kaspazlar tarafından aktive edilen yapısal homodimerlerdir. Bunun aksine, başlatıcı kaspaz zimojenleri baskın olarak monomerler olarak görülmektedir. Bunların aktivasyonu uzun prodomainlerinin başlatıcı kaspazların homodimerleşmesini uyaran yüksek molekül ağırlıklı adaptör komplekslere bağlanması ile sağlanmaktadır. Sırası geldiğinde dimerleşme başlatıcı kaspazlarda aktive olmalarını sağlayacak bir konformasyonel değişime neden olmaktadır. Böylece, başlatıcı kaspaz aktivasyonu için en önemli olay bu kaspazların kaspaz aktivasyonu platformlarına alınmasıdır (Hengartner 2000).

Aktive olduktan sonra, efektör kaspazlar sitoplazmanın yapısının oluşmasında rol alan proteinler, sinyal transdüksiyonu proteinleri ve transkripsiyon düzenleyici proteinler, hücre döngüsünü kontrol eden bileşenler, DNA replikasyonunda ve onarımında görev alan proteinler gibi tahminen 400 substratı parçalamaktadır. Tanımlanan substratların birçoğu için, parçalanmalarının fonksiyonel sonuçları bilinmemektedir ve yalnızca normal fonksiyonlarından çıkarım yapılmaktadır (Fischer ve ark. 2003).

Kaspaz aktivasyonu ekstrinsik ölüm reseptörü yolu ve intrinsik mitokondriyal yolak olmak üzere iki majör sinyalizasyon yolu tarafından başlatılmaktadır. Ölüm reseptörü aracılı apoptoz, özellikle immün sistemde doku homeostazının sürdürülmesinde temel bir rol oynarken, mitokondriyal yolak ekstraselüler işaretlere ve DNA hasarı gibi iç sorunlara yanıtta yoğun olarak kullanılmaktadır (Danial ve Korsmeyer 2004; Meier ve Vousden 2007).

Ölüm reseptörleri tümör nekroz faktör (TNF) reseptör süper ailesinin TNF-R1, CD95 (Fas; APO-1) ve TNF ile ilgili apoptoz indükleyici ligandı bağlayan reseptörleri (TRAIL) içeren bir grubunu oluşturmaktadır. Tüm ölüm reseptörleri apoptotik sinyalin iletiminde önemli olan ölüm bölgesi olarak adlandırılan bir intraselüler motif ile karakterizedir (Schneider ve Tschopp 2000). Ligand bağlanması üzerine, ölüm reseptörleri Fas ilişkili ölüm birimi (FADD) gibi adaptör proteinlerde karşılık gelen bir protein motifi ile ölüm bölgeleri aracılığıyla etkileşmektedirler. Bu adaptörler ayrıca başlatıcı kaspaz-8'in prodomainine bağlanmalarını kolaylaştıran ölüm efektör bölgesi olan ikinci bir homotipik protein etkileşimi motifi de içermektedir. Birlikte ele alındığında, bu bileşenler bir araya geldiklerinde yakınlıkla indüklenen bir dimerleşme mekanizmasıyla kaspaz-8'i aktive eden ölümü indükleyici sinyalizasyon kompleksini (DISC) oluşturmaktadır (Debatin ve Krammer 2004; Peter ve ark. 2007). Bu noktada, yüksek bir lokal dimerleşmiş kaspaz-8 konsantrasyonu otokatalitik aktivasyonuna ve ardından downstream efektör kaspazların aktivasyonuna yol açmaktadır. Bununla birlikte, çoğu hücre ölümü DNA hasarı, adezyon kaybı, büyüme faktörü eksikliği ve diğerleri gibi çeşitli stresler tarafından oluşturulan sinyalleri entegre eden mitokondriyal yolak aracılığıyla ilerlemektedir (Green ve Kroemer 2004). Temel bir olay olarak, bu apoptotik uyaranlar mitokondri intermembran boşluğundan sitozole sitokrom C salınımını uyarmaktadır. Sitokrom C normalde adenzin trifosfat (ATP) oluşturmak üzere solunum zincirinin elektron taşıma süreçlerinde fonksiyon göstermektedir. Bununla birlikte apoptotik hücrelerin sitozolünde, apoptotik peptidaz aktifleştirici faktör-1 (APAF-1) için bir kofaktör görevi görmektedir. Sitokrom C'nin bağlanması üzerine, Apaf-1 oligomerleşir ve apoptozom oluşumunu tetikleyecek şekilde başlatıcı kaspaz-9'u harekete geçirir (Jiang ve Wang 2004). Bu durumda, kaspaz-9'un APAF-1'e bağlanması kaspaz alım bölgesi (CARD) olarak bilinen ortak bir homotipik etkileşim motifi aracılığıyla gerçekleşir. DISC ile söz konusu olduğu gibi, apoptozom bir

kaspaz aktivasyon platformu görevi gören yüksek molekül ağırlığına sahip bir komplekstir. Apoptozomda APAF-1 ile birleştikten sonra, kaspaz-9 aktif hale gelir ve ardından kaspaz kaskadını tetikler (Cain ve ark. 2002).

Çoğu kanser türünün gelişiminde apoptoz önemli rol oynamaktadır. Kontrolsüz hücre proliferasyonunun yanında azalmış apoptoz da kanser gelişimine katkı sağlamaktadır. Apoptozun azalması pek çok faktörle ilişkili olabilmektedir (Lee ve Bernstein 1995). Kanser gelişimi de bu faktörlerle ilişkili olduğu bilinen çok basamaklı bir süreçtir. Protoonkogenlerde değişiklikler, tümör supresör genlerin aktivasyonlarındaki kayıplar kanser gelişimine yol açan değişiklikler olarak kabul edilmektedir (Bold ve ark 1997). Tümör supresör gen olan p53 geninde meydana gelen mutasyonların çeşitli kanser türlerine sebep olabileceği bilinmektedir. p53 geni mutasyona uğradığı ya da bulunmadığı zaman hücre apoptoza gidememektedir. p53 apoptoz mekanizmasında Bcl-2 ve Bax proteinleri arasındaki oranı ayarlamaktadır. Tümör hücreleri antiapoptotik proteinlerin ekspresyonlarının artmasıyla ya da proapoptotik proteinlerin ekspresyonlarının azalmasıyla apoptoza dirençli bir nitelik kazanmaktadır (Hofseth ve ark 2004). Çeşitli kanser türlerinde p53 mutasyonunun belirlenmesi hastalığın prognozu açısından önemlidir. p53 mutasyonu taşıyan kanser hastaları mutasyon taşımayanlara göre daha kötü bir hastalık seyrine ve kısa hayatta kalma oranına sahiptirler. Tümör dokusunda apoptotik hücre sayısının normal hücrelere oranı belirlenebilmektedir ve bu oran, apoptozun hangi aşamada olduğunu belirtmektedir (Brown ve Attardi 2005). Bu, tümörün tipini ve evresini belirlemede, tedaviye vereceği yanıtı önceden tahmin etmede ve hastalığın seyrini saptamada yardımcı olabilmektedir. Apoptoz mekanizmasının daha iyi anlaşılmasının, kanser tedavisinde büyük ölçüde yarar sağlayacağı açık bir gerçektir (Ghobrial ve ark 2005).

2.1.7. İnsan Kolon Adenokarsinom Hücre Hattı (HT-29)

HT-29 hücresi, hücre modeli olarak en çok kullanılan insan bağırsak kanser hücre hattıdır. HT-29, 1964 yılında 44 yaşındaki Kafkas bir kadının primer tümör dokusundan izole edilmiştir. Bu hücreler enterosit veya mukus üreten hücreler gibi olgun bağırsak hücrelerinin özelliklerini gösterebildikleri için dikkat çekmiştir. Bu hücre tabakasında enterosit farklılaşması açık bir şekilde ayırt edilebilmektedir (Rousset 1986). Apikal ve bazal membran birbirinden dar bileşimle ayrılan iki nüfuz alanının biçimlenmesini içermektedir. Bu nüfuz alanlarında protein ve lipit

kompozisyonlarındaki farklılıktan kaynaklanan ultra yapısal farklılık göze çarpmaktadır. Örneğin, apikal yüzey (fırça kenar) peptidaz ve disakkaritleri içerirken, basolateral nüfuz alanı intestinal salgılanmanın kontrolünü gerektiren birkaç peptit reseptörü içermektedir. Dar bileşim alanları ise, bu bölgeye özel proteinler içermektedir (Huet ve ark. 1987).

2.2. Kanserde Tedavi Seçenekleri

2.2.1. Cerrahi

Lokal tümörlerin çoğunda seçilmiş tedavi şeklini cerrahi yöntem oluşturmaktadır. Tümörlerin çoğu başka dokulara metastaz yaptıkları için cerrahi tedaviye ek olarak diğer tedavi yöntemleri de kullanılmaktadır. Hücre sayısını azaltan ya da tümörü küçülten cerrahi tedavi, bazı kanser türlerinde hücrelerin bölünmesini uyararak kemoterapinin etkisine karşı kanser hücrelerini daha duyarlı hale getirmektedir (Ze ve ark. 2013).

2.2.2. Kemoterapi

Kemoterapinin amacı, hastanın normal hücrelerine zarar vermeksizin kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmaktadır (Skeel ve Khleif 2011). Ancak, antineoplastik ilaçların kanser hücrelerine karşı seçici özellikleri azdır. Kanser hücreleri ve normal hücreler nitelik bakımından benzerdir. Fark daha çok miktar yönündedir. Bu nedenle kemoterapi ilaçları kanser hücrelerini öldürdükleri gibi, hızlı çoğalan normal hücreleri de öldürebilmektedirler (Priestman 2012). Bu duruma göre ilaçlar antikanserojenik olmaktan çok antiproliferatiftir. Antineoplastik ilaçların terapötik indeksleri düşüktür. Hastada etkin olan ilacın tümörün türüne ve tümöral hastalığın dönemine göre değişik olması ilaç seçimini ve uygulamasını yeterince deneyim sahibi uzmanlar tarafından yapılmasını gerektirmektedir. Bu ilaçların mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkileri de vardır (Minev 2011).

2.2.3. Radyoterapi

Radyasyon etkisini hedef moleküllerden atılması ile göstermektedir. Radyasyon DNA ile doğrudan veya dolaylı olarak etkileşebilir ve dolaylı şekilde serbest radikaller oluşturabilir. Bu sayede hücresel çoğalma yeteneği kısıtlanmaktadır (Timmerman ve Xing 2012; Rath ve Sahoo 2016).

Tümör hücreleri heterojendir ve aynı tümör hücrelerinin radyasyona olan cevabı ve duyarlılığı farklılık gösterebilir. Normal doku toleransı tümör hücrelerine verilebilecek letal dozu sınırlamaktadır. Doz ile tümör kontrolü veya normal dokudaki hasar ilişkisi iki sigmoid eğri ile gösterilebilir. İki eğri arasındaki uzaklık terapötik kazanç olarak adlandırılır (Lyden ve ark. 2011). Normal doku hasarı erken veya geç olarak görülebilmektedir. Radyasyona karşı en duyarlı hücre fazı G2-M'dir, en dirençli faz ise S fazıdır. G0 fazındaki hücreleri değerlendirmek ise daha güçtür. Cerrahi ve radyasyon kombine tedavisinde toksisite minimalde tutulabilmektedir (Panno 2005). Lenfatik ışınlama, tüm vücut ışınlanması, radyoizotoplar, radyoaktif madde ile işaretlenmiş monoklonal ve poliklonal antikorlardan tümör tanı ve tedavisinde de yararlanılmaktadır. Ağır parçacıklarla radyasyon tedavisi konvensiyonel radyasyondan daha avantajlı olan parçacık demet tedavilerini de içerir. Normal dokular korunarak tümör bölgesine yüksek doz radyasyon verilebilmektedir, hücre öldürücü etkisi hücre siklusuna göre daha az farklılık gösterir. Oluşturduğu letal radyasyon hasarının onarımı daha zordur (Ponder ve Waring 2012).

2.2.4. İmmünoterapi

Kanser tedavisinde spesifik yöntemlerden biri olan immünoterapi, bireyin bağışıklık sisteminin belirli kısımlarını kullanarak kanser gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmektir. Doğrudan kanser hücrelerini hedef aldığı ve normal hücrelere zarar vermediği için immünoterapiye olan ilgi her geçen gün artmaktadır. İmmünoterapide vücudun kendi hücreleri stimüle edilerek ya da dışarıdan verilen maddelerle immün yanıt oluşturulabilmektedir (Rees 2014).

Günümüzde kullanılan immunoterapiler, kanser aşılı ve adaptif hücre tedavisi (ACT) şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Kanser aşılı ise dörde ayrılmaktadır. Bunlar peptid antijen aşılı, dendritik hücre aşılı, olog tümör hücreleri ile aşılama ve viral/bakteriyel aşılardır. İmmünoterapi yaklaşımı üzerine çalışmalar devam etmektedir (Allison ve Dranoff 2006).

2.2.5. Hormonal Terapi

Hormonal tedavinin tek başına ve antineoplastik ajanlar kadar etkili olduğu tümörler meme, prostat ve endometrium kanseridir. Bu yaklaşımlar, hormona duyarlı

kanser hücresinde büyütücü etki gösteren hormonla hücrenin etkileşimini engeller ve sitotoksik etki oluşturur. Bu etki genellikle, hormonun ortamdaki uzaklaştırılması ya da hücredeki hormon reseptörünün bloke edilmesi ile ortaya çıkar (Foon ve Muss 2012). Meme kanserinde östrojen, endometrium kanserinde progesteron, prostat kanserinde ise testosteron salgısını azaltan LHRH analogları ve antiandrojenler kullanılmaktadır. Direnç gelişimi multifaktöriyeldir ve çok iyi bilinmemektedir. Bu mekanizmalar içinde en sık olarak reseptör düzeyinde değişiklikler ile daha az sıklıkta reseptör sonrası aşamadaki ve farmakolojik düzeydeki değişiklikler belirlenmiştir (Henderson ve ark. 2003).

2.2.6. Kanserde Kullanılan Tedavilerin Dezavantajları

Kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi yöntemleri nisbeten başarılı olmakla birlikte kanserin yineleme riski, organ kaybı ve tüm kanser türlerine uygulanamamaları gibi bazı dezavantajlara da sahiptir (Dicato 2012).

Kemoterapinin asıl hedefi kemoterapi ilaçları ile kanserli hücrelerin bölünmesini sağlayan moleküler mekanizmaların ortadan kaldırılarak kanserli hücrelerin öldürülmesidir. Kemoterapi ilaçları kanserli hücreye özgü olmayıp, kanserli hücrelere etki ederken aynı zamanda normal hücrelere de hasar vermektedir (Perry 2008). Kemoterapi ilaçları hastanın savunma sistemini zayıflatmakta ve buna bağlı olarak hastanın diğer hastalıklara karşı daha hassas olmasına sebebiyet vermektedir (Barton-Burke ve ark 2001).

Radyoterapi yönteminde kanserli hücreler belirli bir frekans bandında ve şiddette radyasyona maruz bırakılmaktadır. Kanserli hücrelerin yanında normal hücreler de hasar görmektedir. Kanser hücrelerine radyasyon dağılımı eşit şiddette olamamaktadır. Radyasyon olan dokuda fonksiyon kaybı gözlemlenebilmektedir (Levitt ve ark. 2008).

Bu yöntemlerin mevcut ilaç ve kombinasyonları ile birçok kanser türünde tedaviyi ya hiç sağlamaması ya da yetersiz kalması, sonuçta bu kanser türlerinde ölüm oranının oldukça yüksek olması, kullanımda olan ilaçların önemli yan etkileri ve diğer dezavantajlarının giderilememiş olması nedeni ile araştırmacılar yeni tedavi yöntemleri araştırmaktadırlar (Alaoui-Jamali 2010).

2.2.7. Kanserde Tamamlayıcı ve Alternatif Tedaviler

Tamamlayıcı tedavi, mevcut kullanılan yöntemlere destek olarak yapılmaktadır. Alternatif tedavi ise, mevcut kullanılan yöntemlerin yerine yapılan ve etkisinin kanıtlanmadığı tedavilerdir (Hess 1999).

Kanser hastalığında tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımları gün geçtikçe artmaktadır. Farklı ülkelerde tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin kullanım sıklığı %7-64 arasında değişmektedir. Türkiye’de kullanım sıklığı ise %15-73 arasında değişmekte olup kullanım oranı %36’dır (Kav ve ark. 2008).

Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan ilaçların birçoğunun etken maddesi doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Bu doğal kaynakların büyük kısmını ise çok çeşitli kimyasal maddeler sentezleyebilen bitkiler oluşturmaktadır. Fitoterapi olarak da adlandırılan bitkisel tedavi tamamlayıcı ve alternatif tedaviler arasında en popüler olanıdır. Bitki kimyasalları antikanser etkilerini antiproliferasyon, hücre döngüsünün askıya alınması, apoptoz ve farklılaşmanın indüksiyonu, anjiyogenezin baskılanması, antioksidasyon ve çoklu ilaç direncinin azaltılması gibi mekanizmalar ile göstermektedir (Tarançı 2014).

2.3. *Salsola grandis*

2.3.1. Sistematığı

S. grandis’in sistematığı aşağıda yer almaktadır.

| | |
|----------|-------------------|
| Alem: | Plantae |
| Altalem: | Tracheobionta |
| Üstşube: | Spermatophyta |
| Bölüm: | Magnoliophyta |
| Sınıf: | Magnoliopsida |
| Takım: | Caryophyllales |
| Familya: | Chenopodiaceae |
| Cins: | <i>Salsola</i> L. |

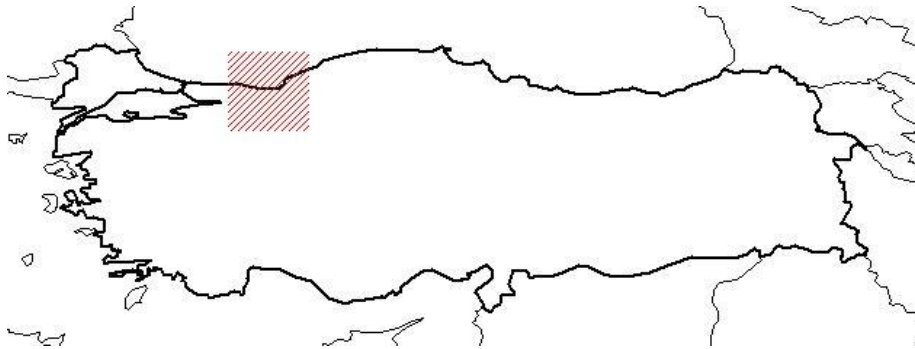
Tür: *Salsola grandis* FREITAG, VURAL ET N. ADIGÜZEL (Soda otu ya da koca soda) (www.tubives.com 13 Ağustos 2017).

2.3.2. Genel Özellikleri

S. grandis Freitag, Vural & N. Adıgüzel türü Ankara'da yer alan Nallıhan Kuş Cenneti'nde tuzlu özellik gösteren topraklarda yayılış göstermektedir (Şekil 1). Birçok bitki türünün gelişmekte zorlanacağı alanlarda yaşayabilen kserohalofit bir türdür. Alan fitocoğrafik olarak İran-Turan bölgesinde yer alır. Alan kareleme sistemine göre A3 karesi içinde yer alır (Şekil 2). Alanda Chenopodiaceae familyası hakim vejetasyonu oluşturmaktadır. Chenopodiaceae familyası bir, iki veya çok yıllıktır. Bu familyadaki bitki türleri halofit ve sukkulent özellik gösteren otsu veya çalılardır. 102 cins ve yaklaşık 1400 kadar tür içermektedir. Türkiye'de ise 33 cins ve 129 türü bulunmaktadır. Chenopodiaceae familyasında yer alan *Salsola* cinsi otsu veya alçak çalılardan oluşmaktadır. *Salsola* cinsi IUCN (International Union for Concerning Nature and Natural Resources)'e göre tehdit altında olan kritik (CR) sınıfında yer almaktadır (Çınar 2012; Ülgen 2013).



Şekil 1. Taksononun Türkiye üzerindeki dağılımı (Şehir bazında) (www.tubives.com 13 Ağustos 2017).



Şekil 2. Taksononun Türkiye üzerindeki dağılımı (Kareleme sistemi bazında) (www.tubives.com 13 Ağustos 2017).

2.3.3. Fitokimyasal Bileşenleri ve Etnofarmakolojik Kullanımı

Literatürde *S. grandis*'in fitokimyasal bileşenlerini belirlemeye yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Orhan ve ark. (2017) yaptıkları çalışmaya göre *S. grandis*'te 10 adet flavonol türevi (izoramnetin-3-*O*-rutinosit, kuersetin-3-*O*-rutinosit, kuersetin-3-*O*-metileter, tilirosit, izoramnetin-3-glukoronid, izoramnetin-3-*O*-glukozit, kuersetin-3-*O*-galaktosit, kuersetin-3-*O*-ramnozid, kuersetin, manghaslin), 2 adet oleanan tip saponozit (momordin II b ve momordin II c) ve 1 adet amino asit türevinin (*N*-asetiltriptofan) varlığını belirlemişlerdir.

Literatürde *S. grandis*'in etnofarmakolojik kullanımını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar tarandığında bu çalışmaların da kısıtlı sayıda olduğu gözlenmiştir. Orhan ve ark. (2017) yaptıkları çalışmaya göre *S. grandis*'ten elde edilen *N*-asetiltriptofan'ın asetilkolinesteraz aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Alzheimer hastalığı tedavisinde bu bileşenin kullanılabilceğini öngörmüşlerdir. Küçükboyacı ve ark. (2016) yaptıkları çalışmaya göre *S. grandis*'ten elde edilen izoramnetin-3-*O*-rutinosit, tiliroside, izoramnetin-3-*O*-glukozit, kuersetin-3-*O*-galaktosit ve momordin II'nin anti-inflamatuvar ve antinosiseptif aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Literatürde diğer *Salsola* türleri ile yapılan kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Meng ve ark. (2007), *Salsola* sp. alkol ekstraktının antihipertansif etkilerini belirlemişlerdir. Tundis ve ark. (2007), *S. oppositifolia* ekstraktının CORL-23 (akciğer kanseri) ve C32 (deri kanseri) hücre hatlarında sitotoksik etkilerini saptamışlardır. Magcwebaba ve ark. (2014), *S. tuberculatiformis* ekstraktının derideki UV-B ile indüklenmiş inflamasyonda modülatör etkisini tespit etmişlerdir. Oh ve ark. (2014), *S. collina* etanol ekstraktının HT-29, A549 (akciğer kanseri) ve HepG2 (karaciğer kanseri) hücre hatlarında antioksidatif ve antikanser etkilerini belirlemişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

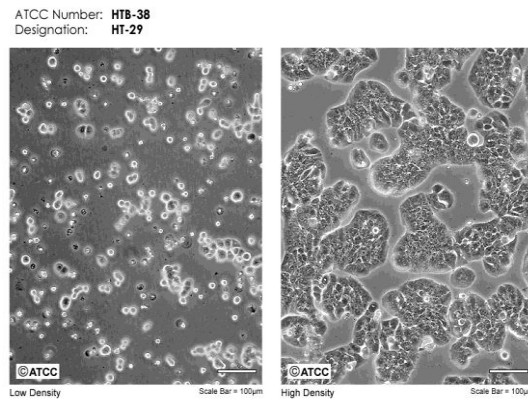
Çalışmada antioksidan ve antikarsinojenik özellikleri değerlendirilen *Salsola grandis* bitkisi (Resim 1) Ankara'nın Beypazarı ilçesinden 2011 yaz döneminde Prof. Dr. Zeki AYTAÇ ve Yrd. Doç. Dr. Seniha Selcen BABAÖĞLU AYDAŞ tarafından toplandıktan sonra Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumuna getirilerek, teşhisi Gazi Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Zeki AYTAÇ tarafından yapılmış ve herbaryum numarası (ZA10443) verilmiştir.



Resim 1. *S. grandis*'in gövde ve yaprağı.

3.2. Çalışmada Kullanılan Hücre Hattı

Çalışma kapsamında insan kolon adenokarsinom hücre hattı (HT-29) (Şekil 3, Tablo 2) kullanılmıştır. HT-29 hücre hattı Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.



Şekil 3. HT-29 hücre hattı (<https://www.lgcstandards-atcc.org> 01 Ocak 2017).

Tablo 2. HT-29 hücre hattının özellikleri (<https://www.lgcstandards-atcc.org> 01 Ocak 2017).

| | |
|------------------------------|--|
| Organizma | <i>Homo sapiens</i> , insan |
| Doku | Kolon |
| Ürün formatı | Dondurulmuş |
| Morfoloji | Epitelyal |
| Kültür özellikleri | Adherent |
| Biyogüvenlik seviyesi | 1 |
| Hastalık | Kolorektal adenokarsinom |
| Yaş | 44 yaşında yetişkin |
| Cinsiyet | Kadın |
| İrk | Kafkas |
| Uygulamalar | Bu hücreler transfeksiyon konağı olarak uygundur |
| Saklama koşulları | Sıvı azot buhar fazı |

3.3. Bitki Ekstraktının Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılacak bitki materyalinin gövde ve yaprağı kurutularak toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki materyalinden 30 g alınmış, metanol (Merck) çözücüsü (300 mL) ile soxhlet cihazı (Labheat) kullanılarak yaklaşık 4-6 saat kaynatılmıştır. Elde edilen sıvı kısım filtreden geçirilmiş ve metanol çözücüsü kontrollü sıcaklık (60-80°C), düşük basınç ile dönen evaporatörde (Heidolph) uzaklaştırılmıştır (Şekil 4). Elde edilen bitki ekstraktı kullanılıncaya kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir (Magesh ve ark. 2009).



Şekil 4. Soxhlet cihazı (<http://www.scilabware.com> 01 Ocak 2017) ve dönen evaporatör (<http://www.sigmaaldrich.com> 01 Ocak 2017).

3.4. Bitki Ekstraktının Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi

3.4.1. Askorbik Asit İçeriği

Bitki ekstraktı (100 mg), 10 mL %1'lik metafosforik asit (Merck) ile karıştırılmış ve 45 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra çözelti filtreden geçirilmiş ve 1 mL filtratın üzerine 9 mL 2,6-diklorofenolindofenol (Merck) eklendikten sonra 515 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kontrole karşı spektrofotometrede (Shimadzu) okunmuştur. Sonuçlar L-askorbik asit (Sigma-Aldrich) eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Klein ve Perry 1982).

3.4.2. β -karoten ve Likopen İçeriği

100 mg bitki ekstraktı, 10 mL aseton (Merck)-hekzan (Merck) (4:6) karışımında çözülmüş ve daha sonra karışım filtre edilmiştir. Filtratların absorbans değerleri 453, 505 ve 663 nm dalga boylarında spektrofotometrede ölçülmüştür. Sonuçlar karotenoid (Sigma-Aldrich) eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Nagata ve Yamashita 1992).

3.4.3. Total Alkaloid İçeriği

Bitki ekstraktı (1 mg) 2 M hidrojen klorür (HCl) (Merck)'de çözüldükten sonra filtreden geçirilmiştir. Bu filtrata 5 mL bromokrezol yeşil solüsyonu, 5 mL fosfat tamponu (pH=7.4) ve 5 mL kloroform (Merck) eklenmiştir. Filtratların 470 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kontrole karşı spektrofotometrede okunmuştur. Sonuçlar boldine (Sigma-Aldrich) eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Fazel ve ark. 2010; Ajanal ve ark. 2012).

Bromokrezol Yeşil Solüsyonu

Bromokrezol yeşili (Sigma-Aldrich).....69.8 mg
Sodyum hidroksit (NaOH) (2 M) (Merck).....3 mL
ddH₂O.....Hacim 1000 mL olana dek

Fosfat Tamponu (pH=7.4)

Sodyum fosfat (Na_2HPO_4) (Sigma-Aldrich).....71.6 g
ddH₂O.....1000 mL
Sitrik asit (0.2 M) (Merck).....pH=7.4'e ayarlanır

3.4.4. Total Flavonoid İçeriği

2 mL bitki ekstraktı (0.3 mg/mL), 0.1 mL %10'luk alüminyum klorür heksahidrat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Merck), 0.1 mL 1 M potasyum asetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) (Merck) ve 2.8 mL ddH₂O ile karıştırılmış ve 40 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra çözeltilerin 415 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kontrole karşı spektrofotometrede okunmuştur. Sonuçlar rutin (Sigma-Aldrich) eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Stanojevic ve ark. 2009).

3.4.5. Total Fenolik İçeriği

0.1 mL bitki ekstraktı (1 mg/mL), 0.2 mL %50'lik Folin–Ciocalteu reaktifi (Merck) ile karıştırılmış ve 3 dakika inkübe edilmiştir. Bu karışıma 1 mL %2'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck) eklenmiş ve 45 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra çözeltilerin 760 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kontrole karşı spektrofotometrede okunmuştur. Sonuçlar gallik asit (Sigma-Aldrich) eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Singleton ve Rossi 1965; Yaltrak ve ark. 2009).

3.4.6. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi

Çeşitli konsantrasyonlardaki 1 mL bitki ekstraktına 3.7 mL metanol, 0.1 mL 2 mM ferröz klorür (FeCl_2) (Sigma-Aldrich) ve 0.2 mL 5 mM ferrozin (Sigma-Aldrich) çözeltisi ilave edilmiştir. Çözelti vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı kontrole karşı okunmuştur. İnhibisyon (%)=100-(örnek absorbansı/kontrol absorbansı)x100 eşitlik kullanılarak % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Pozitif kontrol olarak etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Merck) kullanılmıştır (Decker ve Welch 1990; Danis ve ark. 1994).

3.4.7. Plazma Lipit Peroksidasyon İnhibisyonu

0.4 mL plazma, 0.1 mL 0.5 mM demir (II) sülfat (FeSO_4) (Merck), 0.1 mL 0.5 mM hidrojen peroksit (H_2O_2) (Sigma-Aldrich) ve 0.2 mL bitki ekstraktı (2 mg/mL) karıştırılmış ve 37°C 'de 12 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışıma 375 μL %4'lük trikarboksilik asit (TCA) (Merck) ve 75 μL 0.5 mM bütil hidroksi toluen (BHT) (Sigma-Aldrich) eklenmiş ve 5 dakika buz banyosunda bekletilmiştir. 15 dakika 5000 g'de soğutmalı santrifüjde (Sigma 3-30K) santrifüjlenerek elde edilen üst faza, 0.2 mL %0.6'lük tiyobarbitürik asit (TBA) (Merck) ilave edilmiştir. Bu karışım, 95°C 'de 30 dakika inkübe edildikten sonra, 15 dakika 5000 g'de santrifüj yapılarak elde edilen üst fazın 532 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. İnhibisyon (%)=100-(örnek absorbansı/kontrol absorbansı)x100 eşitlik kullanılarak % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (Rodriguez-Martinez ve Ruiz-Torres 1992).

3.4.8. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Radikali Giderme Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlardaki 1 mL bitki ekstraktı, 1 mL %0.004 DPPH (Sigma-Aldrich) çözeltisi ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. İnhibisyon (%)=100-(örnek absorbansı/kontrol absorbansı)x100. Pozitif kontrol olarak BHT, bütil hidroksi anizol (BHA) (Sigma-Aldrich) ve α -tokoferol (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır (Blois 1958; Brand-Williams ve ark. 1995).

3.5. Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) Analizi

Analizler Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Araştırma-Geliştirme Merkezi, Kütle Spektroskopi Laboratuvarı tarafından, AGILENT 1200 serisi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)'ye bağlı AGILENT 6460 tandem kütle spektrometre (ESI+Agilent Jet Stream) kullanılarak yapılmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. LC-MS/MS'in çalışma koşulları.

| Sıvı kromatografisi | |
|--------------------------------|---|
| Ekipman | AGILENT 1200 HPLC Serisi |
| Kolon | Zorbax SB-C18 (2.1x50 mmx1.8 µ) |
| Mobil faz | Çözücü A: %0.05 formik asit (Merck)+5 mM amonyum format (Merck) Çözücü B: Metanol (MS kalite, Merck) |
| Kolon sıcaklığı | 35°C |
| Akış hızı | 0.5 mL/dakika |
| Çalışma süresi | 13 dakika |
| Akış modu | Gradient |
| Enjeksiyon hacmi | 5 µL |
| Standart körv aralığı | 0.019; 0.039; 0.078; 0.156; 0.31; 0.625; 1.25 ppm |
| Kütle spektrometresi | |
| Ekipman | AGILENT 6460 LCMSMS |
| İyonizasyon kaynağı | ESI+Agilent Jet Stream |
| Pompa | AGILENT BinPump-SL (G1312B9) |
| Otomatik örnekleme | AGILENT h-ALS-SL+ (G1367D) |
| Kolon bölmesi | AGILENT G1316B 1200 Serisi Thermost. Col. Compart SL |
| Mikro degasser | AGILENT G1379B 1200 Serisi Micro Degasser |
| Yazılım | AGILENT G3793AA Mass Hunter Optimizer Software |
| Azot jeneratörü | Peak Scientific |
| Tarama modu | MRM |
| Gaz sıcaklığı | 300°C |
| Gaz akışı | 9 mL/dakika |
| Nebülizör | 45 psi |
| Perdeleme gaz sıcaklığı | 300°C |
| Perdeleme gaz akış hızı | 9 mL/dakika |
| Kapiller | 4000 V |
| Nozzle voltajı | 500 V |

3.6. HT-29 Hücre Hattının Geliştirilmesi İçin Kullanılan Besiyeri ve Gelişme Şartları

Hücre hattı alınıp laboratuvara getirildikten sonra -196°C'de sıvı nitrojen tankında (Cyrogenics) saklanmıştır. Çalışmada kullanılan hücre hattının gelişimini sağlamak amacıyla 37°C'deki sıcak su banyosunda (Memmert) bekletilmiştir. Hücreler, içerisinde besiyeri bulunan tüplere aktarılmıştır. Hücre sayımı için 50 µL hücre süspansiyona eşit miktarda Tripan mavi boyası (Sigma-Aldrich) ilave edilerek iyice karışması sağlanmıştır. Bu karışımın 50 µL'si alınıp thoma lamı (Isolab) üzerine konulmuştur. Thoma lamı üzerindeki 16 kare inverted mikroskopta (Leica) sayılmıştır. Toplam sayı sulandırma katsayısı ile çarpılarak 1 mL besiyerinde ne

kadar hücre olduğu bulunmuştur. Hücreler, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Gibco) içerisine %10 fetal sığır serumu (FBS) (Gibco), %1 L-glutamin (Gibco), %1 penisilin/streptomisin (Gibco) ve %40 MCDB-201 (Gibco) katılarak hazırlanmış besiyeri içinde flasklarda (Corning), 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde (Sanyo) geliştirilmiştir. Besiyeri gün aşırı değiştirilerek hücre gelişimi takip edilmiştir. Flasklarda %80-90 yayılma gösteren hücreler Tripsin/EDTA (Gibco) ile kaldırılarak 96 ve 6 kuyucuklu mikropalakalara (Corning Costar) aktarılmıştır. 96 kuyucuklu mikropalakalarda 1x10⁴ hücre/kuyucuk olacak şekilde hücreler antiproliferatif etkiye bakılmak üzere çalışmaya alınmıştır. 6 kuyucuklu mikropalakalarda ise 1x10⁵ hücre/kuyucuk olacak şekilde hücreler apoptozda rol oynayan genlerin ve proteinlerin ekspresyon düzeylerine bakılmak üzere çalışmaya alınmıştır (Hadjiakhoondi ve ark. 2013).

3.7. Bitki Ekstraktının Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi

Mikropalakalara (96 kuyucuklu) HT-29 hücreleri 1x10⁴ hücre/kuyucuk gelecek şekilde ekilmiştir. Hücrelerin besiyeri gün aşırı değiştirilerek %80-90 yoğunluğa gelmeleri beklenmiştir. Daha sonra, DMEM'de çözünmüş farklı konsantrasyonlardaki (0-1000 µg/mL) bitki ekstraktı HT-29 hücreleri üzerine uygulanmıştır. Uygulama yapılmadan normal şartlarda büyütülen HT-29 hücreleri kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. Kontrol grubundan elde edilen absorbans değeri %100 hücre canlılığı olarak dikkate alınmıştır. Kontrole göre hücre canlılıkları 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5-difenil tetrazolium bromid; tiazolil mavi (MTT) yöntemi ile belirlenmiştir. Uygulama yapılmış her bir kuyucuğa 20 µL MTT (Sigma-Aldrich) eklenerek, 4 saat 37°C'de CO₂'li etüvde bekletilmiştir. Kuyucuklardaki sıvı çekilerek tüm kuyucuklara 200 µL dimetilsülfoksit (DMSO) (Sigma-Aldrich) konulmuştur. 30 dakika 37°C'de CO₂'li etüvde bekletildikten sonra mikropalakalar mikropalaka okuyucuda (Biotek) 570 nm'de okutulmuştur. Hücre canlılığı (%)=(Ortalama örnek absorbansı/ortalama kontrol absorbansı)x100'e göre hesaplanmıştır. (Hadjiakhoondi ve ark. 2013).

3.8. Gerçek Zamanlı PZR ile Apoptozda Rol Oynayan Genlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Mikroplakaya (6 kuyucuklu) HT-29 hücreleri 1×10^5 hücre/kuyucuk gelecek şekilde ekilmiştir. Hücreler 37°C 'de %5 CO_2 'li etüvde geliştirilmiştir. Gün aşırı besiyeri tazelenmiştir. DMEM'de çözünmüş bitki ekstraktı kuyucuklara uygulanmıştır. Bitki ekstraktı uygulaması yapılmadan, normal şartlarda büyütülen HT-29 hücreleri kontrol grubunu oluşturmuştur.

The RNeasy Mini kit (Qiagen) ile hücrelerden total RNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen total RNA'ların kalite kontrolü %1'lik agaroz jelde etidyum bromür (Sigma-Aldrich) ile boyanarak ve Epoch Take 3 Plate cihazı (Biotek) kullanılarak 260 ve 280 nm'de RNA miktarı ve saflığı ölçülerek belirlenmiştir. Saflık derecesi ve miktarı yüksek olan örneklerle çalışmaya devam edilmiştir.

QuantiTect Reverse Transcription kiti (Qiagen) kullanılarak RNA örneklerinden cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA sentez reaksiyonu kit protokolünde belirtilen şartlara göre programlanan PZR cihazında gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen cDNA'ların absorbans değerleri Epoch Take 3 Plate cihazı kullanılarak 260 ve 280 nm'de ölçülüp saflık dereceleri ve miktarları belirlenmiştir. Saflık derecesi ve miktarı yüksek olan örneklerle çalışmaya devam edilmiştir.

cDNA'lar kalıp olarak kullanılarak spesifik primerler (Tablo 4) aracılığıyla PZR reaksiyon koşulları oluşturulmuştur. Bu çalışma için QuantiFast SYBR Green PCR Kiti (Qiagen) kullanılmıştır. PZR reaksiyonu, BCL2 associated X (*BAX*), *BCL2*, kaspaz-3 (*CASP3*), kaspaz-7 (*CASP7*), kaspaz-8 (*CASP8*), kaspaz-9 (*CASP9*), sitokrom C (*CYCS*), Fas hücre yüzeyi ölüm reseptörü (*FAS*) ve tümör protein p53 (*TP53*) için; 95°C 'de 5 dakika, 95°C 'de 10 saniye, 60°C 'de 30 saniyeye (40 döngü) ayarlanan CFX Connect Real Time PCR Detection System (BioRad) cihazında yapılmıştır. Genlerin ekspresyon miktarlarındaki değişim sayısal veri olarak cihazdan alınmış, transkript seviyeleri $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ metodu ile hesaplanıp kontrol grupları, β -aktin (*ACTB*) ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (*GAPDH*) ile normalize edilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler.

| Gen adı | İleri primer 5'→3' | Geri primer 5'→3' |
|--------------|-------------------------|------------------------|
| <i>BAX</i> | GGAGCTGCAGAGGATGATTG | GGCCTTGAGCACCAGTTT |
| <i>BCL-2</i> | GTGGATGACTGAGTACCTGAAC | GAGACAGCCAGGAGAAATCAA |
| <i>CASP3</i> | GAGCCATGGTGAAGAAGGAATA | TCAATGCCACAGTCCAGTTC |
| <i>CASP7</i> | CGAAACGGAACAGACAAAGATG | TTAAGAGGATGCAGGCGAAG |
| <i>CASP8</i> | GCCCAAACCTTCACAGCATTAG | GTGGTCCATGAGTTGGTAGATT |
| <i>CASP9</i> | CGACCTGACTGCCAAGAAA | CATCCATCTGTGCCGTAGAC |
| <i>CYCS</i> | GGAGAGGATACACTGATGGAGTA | GTCTGCCCTTTCTTCTTCTT |
| <i>FAS</i> | GTGATGAAGGACATGGCTTAGA | GTGTGCATTCTTGATGATTCC |
| <i>TP53</i> | GAGATGTTCCGAGAGCTGAATG | TTTATGGCGGGAGGTAGACT |
| <i>ACTB</i> | TGGCTGGGGTGTGAAGGTCT | AGCACGGCATCGTCACCAACT |
| <i>GAPDH</i> | TGAACGGGAAGCTCACTGG | TCCACCACCCTGTTGCTGTA |

3.9. Western Blot ile Apoptozda Rol Oynayan Proteinlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Hücrelerden elde edilen proteinlerin Bradford yöntemi ile konsantrasyonları belirlenmiştir. Proteinler ve protein belirteci (Thermo Fischer Scientific) %4-12'lik hazır bis-tris jele (NuPAGE, Thermo Fischer Scientific) yüklendikten sonra dikey jel elektroforez sisteminde (XCell SureLock, Thermo Fischer Scientific) 120 V'ta yaklaşık 60 dakika yürütülmüştür. iBlot jel transfer cihazı (iBlot, Thermo Fischer Scientific) kullanılarak proteinler jelden polivinilidenflorür (PVDF) membrana (NuPAGE, Thermo Fischer Scientific) yarı kuru transferle aktarılmıştır (Resim 2).



Resim 2. Dikey jel elektroforez sistemi ve jel transfer cihazı.

Bundan sonraki aşamalar Western Breeze kiti (Thermo Fischer Scientific) kullanılarak yapılmıştır. Kit bloklayıcı solüsyonunu, birincil antikor seyrelticiyi, ikincil antikor solüsyonunu (anti-fare), kromojenik substratı ve yıkama solüsyonlarını içermektedir. Membran deterjan içeren konsantre salin tampon

solüsyonu ve Hammerstein kazein solüsyonu ile 30 dakika bloke edilmiştir. Daha sonra birincil antikor (Santa Cruz Biotechnology) ile 1 saat boyunca işaretlenmiştir (Tablo 5). Membran deterjan içeren konsantre salin tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra proteine özgü birincil antikora bağlanacak olan alkalın fosfataz bağlı ikincil antikor (anti-fare IgG) ile 30 dakika muamele edilmiştir. Fazla ikincil antikor, deterjan içeren konsantre salin tampon solüsyonu yıkamaları ile uzaklaştırıldıktan sonra kromojenik substrat (alkalin fosfataz için 5-bromo, 4-kloro, 3-indol fosfat/nitro-mavi tetrazolium (BCIP/NBT)) ile membranda mor bantlar oluşana kadar muamele edilmiştir. Mor bantların oluşumu 1 ile 60 dakika arasında gerçekleşmektedir. Oluşan kromojenik bant, görüntüleme sisteminde Molecular Imager Gel Doc XR+ System programı (Biorad) ile tespit edilmiştir.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan primer antikorlar.

| Protein adı | Primer antikor | Dilüsyon aralığı |
|----------------|-------------------------------------|--|
| Bcl-2 | Bcl-2 (N-19): sc-492 | 1:100-1:1000 Başlangıç dilüsyonu 1:200 |
| Bax | Bax (N-20): sc-493 | 1:50-1:500 Başlangıç dilüsyonu 1:100 |
| Kaspaz-3 | Kaspaz-3 (E-8): sc-7272 | 1:100-1:1000 Başlangıç dilüsyonu 1:200 |
| Kaspaz-9 | Kaspaz-9 p10 (H-83): sc-7885 | 1:100-1:1000 Başlangıç dilüsyonu 1:200 |
| β -aktin | β -aktin (N-21): sc-130656 | 1:100-1:1000 Başlangıç dilüsyonu 1:200 |

3.10. İstatiksel Analiz

Tüm çalışmalar 3 paralelli ve 3 tekrarlı olarak yapılmış ve çalışmaların ortalama sonuçları verilmiştir. İstatistiksel analizler, SPSS versiyon 22.0.0.0 (SPSS 2017) programı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) *post host* Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Apoptozda rol oynayan genlerin kantitasyon değerlerinin istatistiksel analizi için RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis versiyon 3.5 (RT² Profile PCR Array Data Analysis 2017) programı volcano plot analizi, kontrol ve doz gruplarının karşılaştırılması RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis versiyon 3.5

programı student t -testi analizi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ alınmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Bitki Ekstraktının Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi

Bitki ekstraktının askorbik asit, β -karoten, likopen, total alkaloid, total flavonoid ve total fenolik içeriği spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Standart eğri denklemi eşdeğer kullanılarak bulunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri standart eğri denkleminde konulmuş ve içerik miktarı mg/g cinsinden hesaplanmıştır. Bitki ekstraktının en fazla total fenolik içeriğine, en az ise likopen içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Bitki ekstraktının antioksidan içeriği ve miktarı.

| İçerik | Eşdeğer | Standart eğri denklemi | Miktar (mg/g) |
|------------------|-----------------|--|-------------------|
| Askorbik asit | L-askorbik asit | $y=0.0033x-0.0597$, $R^2=0.952$ | 5.37 ± 0.01^a |
| β -karoten | Karotenoid | $y=(-0.216x A663)-$ $(0.304x A505)+$ $(0.452x A453)$ | 0.30 ± 0.00^b |
| Likopen | Karotenoid | $y=(-0.0458x A663)+$ $(0.372x A505)-$ $(0.0806x A453)$ | 0.05 ± 0.00^c |
| Total alkaloid | Boldine | $y=1.3026x-0.0176$, $R^2=0.992$ | 0.12 ± 0.00^d |
| Total flavonoid | Rutin | $y=0.001x-0.062$, $R^2=0.995$ | 40.98 ± 0.05^e |
| Total fenolik | Gallik asit | $y=0.0063x-0.0101$, $R^2=1$ | 48.85 ± 0.09^f |

* Aynı sütünde farklı küçük harflerle gösterilmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı çıkmıştır ($p<0,05$).

4.2. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi

Bitki ekstraktının ve sentetik şelatörün (EDTA) demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi 5 farklı konsantrasyonda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür ve bu değerlere göre versus log IC50 değerleri hesaplanmıştır. Düşük absorbans değeri ve yüksek IC50 değeri yüksek şelat oluşturma kapasitesini göstermektedir. Bitki ekstraktı EDTA ile kıyaslandığında; EDTA'nın bitki ekstraktından daha yüksek bir IC50 değerine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 7).

Tablo 7. Bitki ekstraktının ve EDTA'nın demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi.

| Materyal | IC50 (mg/mL) |
|-------------------|-------------------------|
| <i>S. grandis</i> | 5.36±0.00 ^a |
| EDTA | 17.40±0.00 ^b |

* Aynı sütünde farklı küçük harflerle gösterilmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı çıkmıştır ($p<0,05$).

4.3. Plazma Lipit Peroksidasyon İnhibisyonu

Bitki ekstraktının plazma lipit peroksidasyon inhibisyonu spektrofotometrik olarak ölçülmüştür ve bu değerlere göre % inhibisyon değeri hesaplanmıştır. Bitki ekstraktının plazma lipit peroksidasyonu sırasında oluşan malondialdehit (MDA) oluşumunu %21.45±0.04 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir.

4.4. DPPH Radikali Giderme Aktivitesi

Bitki ekstraktının ve sentetik antioksidanların (BHT, BHA ve α -tokoferol) % DPPH radikali giderme aktivitesi 0.025-0.200 mg/mL arasında değişen 5 farklı konsantrasyonda ölçülmüştür ve bu değerlere göre versus log IC50 değerleri hesaplanmıştır. Düşük IC50 değeri yüksek DPPH radikali giderme aktivitesini göstermektedir. Bitki ekstraktı BHT, BHA ve α -tokoferol ile kıyaslandığında; BHT, BHA ve α -tokoferol'ün bitki ekstraktından daha düşük bir IC50 değerine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 8).

Tablo 8. Bitki ekstraktının, BHT, BHA ve α -tokoferol'ün DPPH radikali giderme aktivitesi.

| Materyal | IC50 (mg/mL) |
|---------------------|------------------------|
| <i>S. grandis</i> | 0.08±0.00 ^a |
| BHT | 0.02±0.00 ^b |
| BHA | 0.00±0.00 ^b |
| α -tokoferol | 0.01±0.00 ^b |

* Aynı sütünde farklı küçük harflerle gösterilmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı çıkmıştır ($p<0,05$).

4.5. LC-MS/MS Analizi

AGILENT 1200 serisi HPLC'ye bağlı AGILENT 6460 tandem kütle spektrometre (ESI+Agilent Jet Stream) kullanılarak gerçekleştirilen LC-MS/MS

analizi ile bitki ekstraktının fenolik asit kompozisyonu belirlenmiştir. Bitki ekstraktının fenolik asit kompozisyonunda en yüksek miktarda bulunan vanilik asitken, en az miktarda bulunan gallik asittir (Tablo 9).

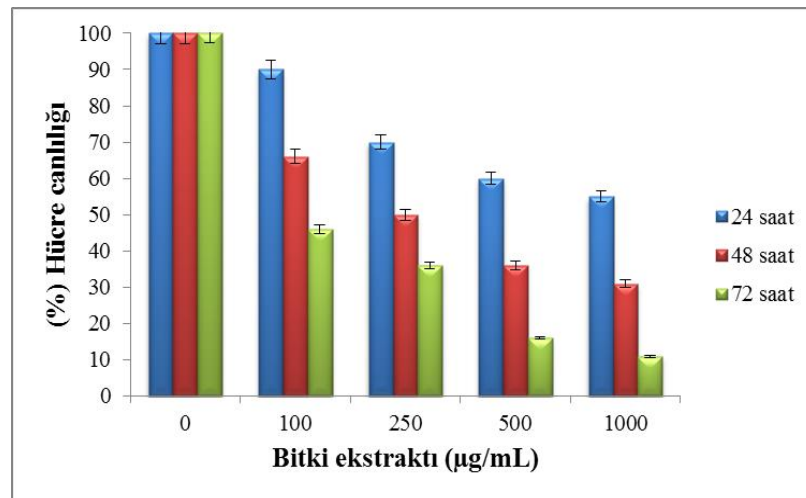
Tablo 9. Bitki ekstraktının fenolik asit kompozisyonu ve miktarı.

| Fenolik asit kompozisyonu | Miktar ($\mu\text{g/g}$) |
|---------------------------|----------------------------|
| Gallik asit | $\leq 0.02^a$ |
| Kafeik asit | 0.02 ± 0.00^b |
| <i>p</i> -kumarik asit | 0.06 ± 0.00^c |
| Vanilik asit | 0.24 ± 0.00^d |
| Klorojenik asit | 0.03 ± 0.00^e |
| Şirinjik asit | 0.14 ± 0.00^f |

* Aynı sütünde farklı küçük harflerle gösterilmiş değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı çıkmıştır ($p < 0,05$).

4.6. Bitki Ekstraktının Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmada bitki ekstraktının HT-29 hücre hattında antiproliferatif etkisi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktının beş farklı konsantrasyonu (0, 100, 250, 500 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$) üç farklı sürede (24, 48 ve 72 saat) HT-29 hücre hattına uygulanmıştır. Hesaplamalar kontrol grubunda bulunan hücrelerdeki hücre canlılığı göz önüne alınarak yapılmıştır. Konsantrasyon ve süre artışına bağlı olarak bitki ekstraktının HT-29 hücre hattında antiproliferatif etkisinin arttığı bulunmuştur. Bitki ekstraktının IC₅₀ dozu 250 $\mu\text{g/mL}$ 48 saat olarak hesaplanmıştır. Bundan sonraki çalışmalara belirlenen IC₅₀ dozu ile devam edilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Bitki ekstraktının antiproliferatif etkisi.

4.7. Gerçek Zamanlı PZR ile Apoptozda Rol Oynayan Genlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

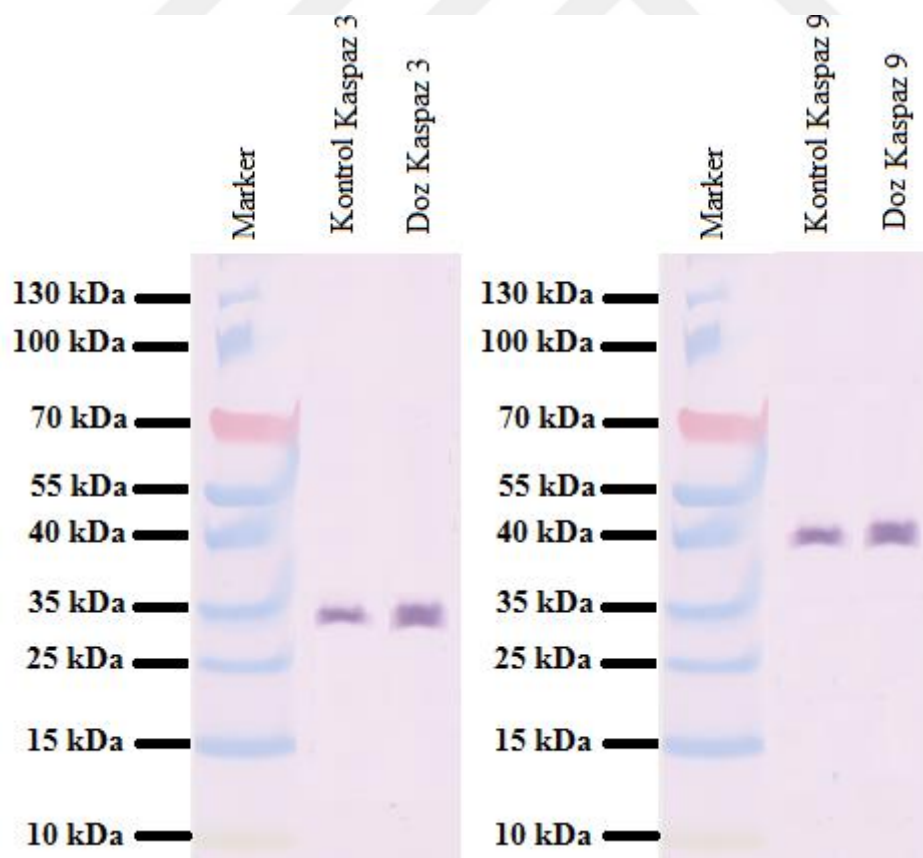
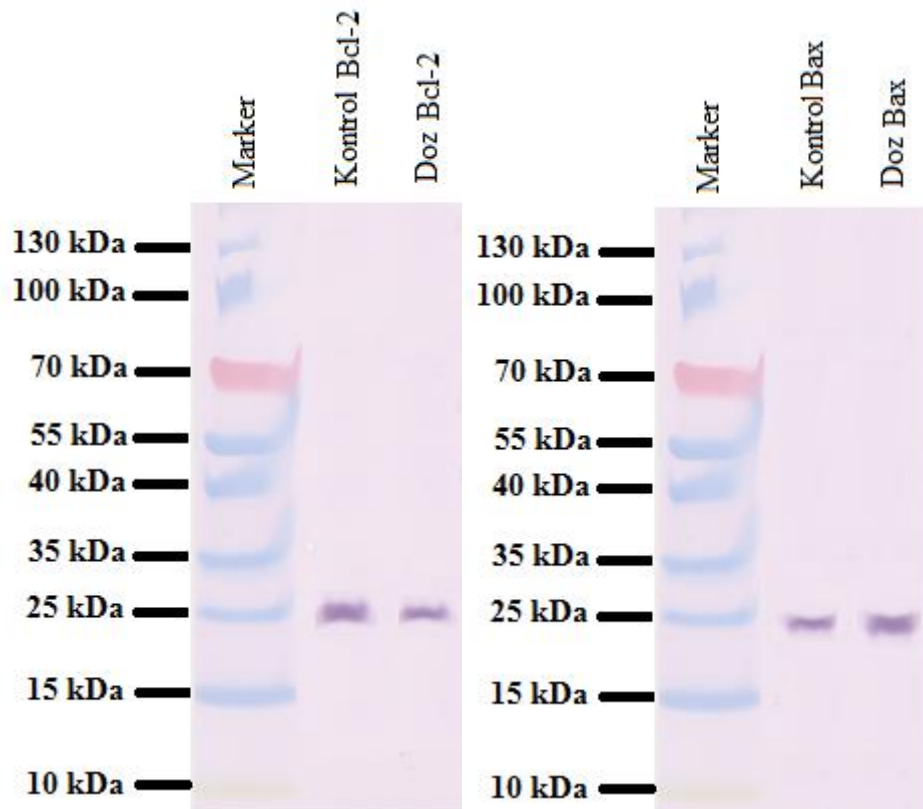
Çalışmada HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan genlerin (*BAX*, *BCL2*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53*) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi gerçek zamanlı PZR ile gerçekleştirilmiştir. *BCL2* geninin ekspresyonunda konrole göre dozda azalma; *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53* genlerinin ekspresyonunda kontrole göre dozda artma belirlenmiştir (Tablo 10).

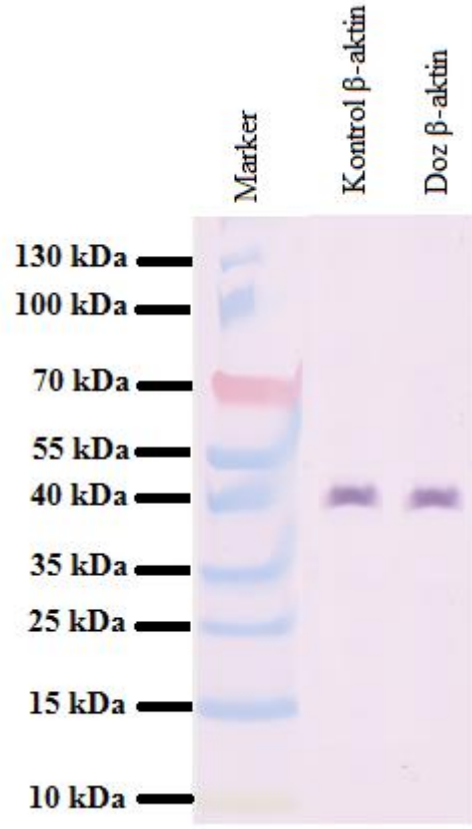
Tablo 10. Bitki ekstraktının apoptozda rol oynayan genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi.

| Gen | Azalış | <i>p</i> değeri |
|--------------|------------|-----------------|
| <i>BCL2</i> | 1.63 ±0.40 | <i>p</i> <0,05 |
| Gen | Artış | <i>p</i> değeri |
| <i>BAX</i> | 1.52±0.13 | <i>p</i> <0,05 |
| <i>CASP3</i> | 1.52±0.30 | <i>p</i> <0,05 |
| <i>CASP7</i> | 1.76±0.02 | <i>p</i> <0,05 |
| <i>CASP8</i> | 1.81±0.06 | <i>p</i> <0,05 |
| <i>CASP9</i> | 1.46±0.06 | <i>p</i> <0,05 |
| <i>CYCS</i> | 1.91±0.03 | <i>p</i> <0,05 |
| <i>FAS</i> | 1.18±0.10 | <i>p</i> >0,05 |
| <i>TP53</i> | 1.79±0.07 | <i>p</i> <0,05 |

4.8. Western Blot ile Apoptozda Rol Oynayan Proteinlerin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışmada HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan proteinlerin (*Bax*, *Bcl-2*, *kaspaz-3* ve *kaspaz-9*) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi Western blot yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *Bcl-2* proteinin ekspresyonunda konrole göre dozda azalma; *Bax*, *kaspaz-3* ve *kaspaz-9* proteinlerinin ekspresyonunda kontrole göre dozda artma belirlenmiştir. Elde edilen proteinlerin ekspresyon düzeyleri, genlerin ekspresyon düzeyleri ile uyumlu bulunmuştur (Resim 3).





* Bcl-2 26 kDa, Bax 23 kDa, Kaspaz-3 35 kDa, Kaspaz-9 46 kDa ve β -aktin 43 kDa molekül ağırlığındadır.

Resim 3. Apoptozda rol oynayan proteinlerin western blot görüntüleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürde *S. grandis* ile yapılan çalışmalar tarandığında bu çalışmaların farklı alanlarda ve kısıtlı sayıda olduğu gözlenmiştir (Freitag ve ark. 1999; Doğru ve ark. 2004; Çınar ve Tuğ 2015; Çınar ve ark. 2016; Küçükboyacı ve ark. 2016; Orhan ve ark. 2016). SGME'nin antioksidan ve HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinin araştırılması ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

Oksidatif hasara ya da oluşan oksidatif hasar sonucu kanser başta olmak üzere, kalp ve nörodejeneratif rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıklara neden olan reaktif oksijen türlerinin metabolizmasının inhibe edilmesi ya da engellenmesi konusunda antioksidan sistemlerini indükleyen bitki ekstraktları indirekt olarak antikanser mekanizmasında önemli ve etkin rol oynamaktadır (Veskoukis ve ark 2012).

Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapmaktadır (Kağa 2007). Sıvı fazdaki tüm peroksil radikallerini plazma lipitlerine difüze olmadan tutmakta ve bu şekilde lipit peroksidasyonunun başlamasını engellemektedir. Askorbik asit, β -karoten ve likopen, radikaller (süperoksit, hidroksil, peroksil, hipoklorit ve hidrojen peroksit) ve singlet oksijen ile reaksiyona girerek onları ortamdan uzaklaştırmaktadır. β -karoten ve likopen lipofilik özelliklerinden dolayı, oksidatif hasara karşı hücrel membranları ve lipoproteinleri korumada önemli rol oynamaktadırlar (İşbilir 2008).

Akhtar ve ark. (2012), *S. grandis* ile aynı familyada yer alan *Beta vulgaris* var. *bengalensis* ekstraktının askorbik asit ve β -karoten içeriğini mg/100g ve μ g/100g cinsinden L-askorbik asit ve karotenoid eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. *B. vulgaris* var. *bengalensis* ekstraktının askorbik asit içeriği 44.27 mg/100g ve β -karoten içeriği ise 2740.58 μ g/100g olarak tespit edilmiştir.

Yoon ve ark. (2012), aynı familyadan *B. vulgaris*, *B. vulgaris* var. *cicia* ve *Spinacia oleraceae* ekstraktlarının β -karoten ve likopen içeriğini mg/g cinsinden karotenoid eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. *B. vulgaris* var. *cicia* ekstraktının β -karoten içeriği 2.94 ± 0.12 mg/g ve *S. oleraceae* ekstraktının β -karoten içeriği ise 3.25 ± 0.07 mg/g olarak tespit edilmiştir. *B. vulgaris* ekstraktında β -karoten ve likopen içeriği, *B. vulgaris* var. *cicia* ve *S. oleraceae* ekstraktlarında ise likopen içeriği tespit edilememiştir.

Çalışmada SGME'nin askorbik asit, β -karoten ve likopen içeriği sırasıyla 5.37 ± 0.01 mg/g; 0.30 ± 0.00 mg/g; 0.05 ± 0.00 mg/g cinsinden L-askorbik asit ve karotenoid eşdeğeri olarak belirlenmiştir. SGME'nin Akhtar ve ark. (2012) çalışmasındaki *B. vulgaris* var. *bengalensis* ekstraktından daha fazla miktarda askorbik asit ve β -karoten içeriğine, Yoon ve ark. (2012) çalışmasındaki *B. vulgaris*, *B. vulgaris* var. *cicia* ve *S. oleraceae* ekstraktlarından daha az miktarda β -karoten içeriğine ve daha fazla miktarda likopen içeriğine sahip olduğu dikkat çekmektedir.

Alkaloidler gerçek, proto ve yalancı alkaloidler olarak 3'e ayrılırlar. Günümüzde bitkilerden izole edilen 12,000 alkaloid bilinmektedir (Gürkök ve ark. 2010). Alkaloidler antioksidan etkilerini serbest radikalleri giderme aktivitesi, metalleri şelatlama aktivitesi, elektron ve hidrojen verme kabiliyeti ile göstermektedirler (Kaur ve Arora 2015).

Zhao ve Ding (2004), *S. collina*'da bulunan alkaloidlerin içeriğini infrared spektroskopisi (IR), kütle spektroskopisi (MS), 1H ve ^{13}C nükleer manyetik rezonans kütle spektroskopisi (NMR), heteronükleer tek kuantum tutarlılık (HMQC) ve heteronükleer birden fazla bağ tutarlılık (HMBC) ile belirlemişlerdir. *S. collina*'da bulunan amid alkaloidleri N-transferuloil-3-metildopamin ve (10bS)-1,2,3,5,6, 10b-hekzahidropirol[2,1-a]-8,9-dihidroksizokinolin-3-bir olarak tanımlamışlardır. N-transferuloil-3-metildopamin *Salsola* cinsinden ilk defa izole edilmiştir. (10bS)-1,2,3,5,6, 10b-hekzahidropirol[2,1-a]-8,9-dihidroksizokinolin-3-bir ise yeni bir bileşik olup salsolin A olarak isimlendirilmiştir.

Tundis ve ark. (2009), *Salsola* türlerinde bulunan tetrahidroizokinolin alkaloidlerinin içeriğini gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS) analizleri ile belirlemişlerdir. *S. oppositifolia*, *S. soda* ve *S. tragus*'da bulunan major alkaloidler salsolin, salsolidin, N-metilsalsolidin ve karnegin'dir.

Çalışmada ise SGME'nin total alkaloid içeriği 0.12 ± 0.00 mg/g cinsinden boldine eşdeğeri olarak belirlenmiştir. SGME'nde bulunabilecek amid ve tetrahidroizokinolin alkaloidlerinin belirlenebilmesi için daha ileri düzeyde analizlere (IR, MS, 1HNMR , $^{13}CNMR$, HMQC, HMBC ve GC/MS, vb.) ihtiyaç duyulmaktadır.

Mevcut olarak bitkilerden dört binden fazla flavonoid elde edilmiştir. Halka yapılarına göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonoidler, kateşinler ve antosiyaninler olarak sınıflandırılırlar. Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin süperoksit, lipit alkoksil, lipit peroksil ve nitrik oksit radikallerini giderme, demir (II) ve bakır (II) iyonlarını şelatlama ve α -tokoferol rejenerasyonu gibi fonksiyonlara katıldığı bildirilmiştir (Rice-Evans ve ark. 1999; Bilaloğlu ve Harmandar 2000; Ross ve Kasum 2002; Miller ve Ruiz-Larrea 2002; İşbilir 2008).

Asan-Özüsağlam ve ark. (2015), *S. stenoptera* metanol, etanol, su, *n*-hekzan ve diklorometan ekstraktlarının (kök ve meyve+yaprak) total flavonoid içeriğini $\mu\text{g}/\text{mg}$ cinsinden kuersetin eşdeğeri olarak belirlemiştir. Metanol ekstraktının total flavonoid içeriği $61.51 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg}$; $24.91 \pm 0.20 \mu\text{g}/\text{mg}$, etanol ekstraktının $34.53 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg}$; $36.79 \pm 0.20 \mu\text{g}/\text{mg}$, su ekstraktının $42.83 \pm 0.20 \mu\text{g}/\text{mg}$; $28.59 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$, *n*-hekzan ekstraktının $5.76 \pm 0.00 \mu\text{g}/\text{mg}$; $19.72 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$ ve diklorometan ekstraktının ise $29.06 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg}$; $63.68 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$ olarak tespit edilmiştir.

Shebab ve ark. (2015), *S. imbricata* metanol, etanol, aseton ve etil asetat ekstraktlarının total flavonoid içeriğini $\text{g}/100\text{g}$ cinsinden kuersetin eşdeğeri olarak belirlemiştir. Metanol ekstraktının total flavonoid içeriği $0.571 \text{ g}/100\text{g}$, etanol ekstraktının $0.217 \text{ g}/100\text{g}$, aseton ekstraktının $0.374 \text{ g}/100\text{g}$ ve etil asetat ekstraktının ise $0.11 \text{ g}/100\text{g}$ olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada SGME'nin total flavonoid içeriği $40.98 \pm 0.05 \text{ mg}/\text{g}$ cinsinden rutin eşdeğeri olarak belirlenmiştir. SGME'nin Shebab ve ark. (2015) çalışmasında ki metanol, etanol, aseton, etil asetat ve Asan-Özüsağlam ve ark. (2015) çalışmasındaki metanol (meyve+yaprak), etanol, su (meyve+yaprak), *n*-hekzan ve diklorometan (kök) ekstraktlarından daha fazla, Asan-Özüsağlam ve ark. (2015) çalışmasındaki metanol (kök), su (kök) ve diklorometan (meyve+yaprak) ekstraktlarından ise daha az miktarda total flavonoid içeriğine sahip olduğu dikkat çekmektedir.

Fenolik bileşikler, flavonoidler ve fenolik asitler olarak iki temel gruba ayrılırlar. Fenolik asitler de kendi içinde hidroksi benzoik ve hidroksi sinamik asitler olarak iki temel gruba ayrılırlar. Fenolik asitlerin yapısı, serbest radikal giderme aktivitesini ve metal şelatlama özelliğini oluşturur. Fenolik asitlerin

antioksidan aktivitesi, hidroksil grupların sayısı ve pozisyonuna bağlıdır (Nizamliöglu ve Nas 2010; Meral ve ark. 2012).

Shebab ve ark. (2015), *S. imbricata* metanol, etanol, aseton ve etil asetat ekstraktlarının total fenolik içeriğini mg/g cinsinden gallik asit eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. Metanol ekstraktının total fenolik içeriği 2.60 mg/g, etanol ekstraktının 0.64 mg/g, aseton ekstraktının 4.00 mg/g ve etil asetat ekstraktının ise 0.93 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Küçükboyacı ve ark. (2016), *S. grandis* etanol ekstraktının ve bu ekstraktın çeşitli subekstraktlarının total fenolik içeriklerini mg/g cinsinden gallik asit eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. Etanol ekstraktının total fenolik içeriği 29.61 ± 1.21 mg/g, *n*-hekzan subekstraktının 27.56 ± 0.67 mg/g, kloroform subekstraktının 56.10 ± 1.34 mg/g, etil asetat subekstraktının 40.66 ± 0.56 mg/g, *n*-bütanol subekstraktının 45.70 ± 0.89 mg/g ve R-H₂O subekstraktının ise 18.60 ± 1.65 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada SGME'nin total fenolik içeriği 48.85 ± 0.09 mg/g cinsinden gallik asit eşdeğeri olarak belirlenmiştir. SGME'nin her iki çalışmadaki metanol, etanol, aseton, etil asetat ekstraktından ve *n*-hekzan, etil asetat, *n*-bütanol, R-H₂O subekstraktlarından daha fazla, Küçükboyacı ve ark. (2016) çalışmasındaki kloroform subekstraktından ise daha az miktarda total fenolik içeriğine sahip olduğu dikkat çekmektedir.

Hidrojen peroksit, demir (II) ve diğer geçiş metalleri ile Fenton reaksiyonu sonucunda, süperoksit radikali ile Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda hidroksil radikalini oluşturmaktadır. Hidroksil radikali biyomembranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir hidrojen atomu kopmasına ve lipid peroksidasyonunun başlamasına neden olmaktadır. Metal şelatörler oksidasyonu katalize eden demir (II) veya diğer geçiş metalleri ile kompleks oluşturarak onların katalitik etkisini engellemektedirler (Uyumlu 2007).

Ksouri ve ark. (2008), *S. kali* metanol ekstraktının (yaprak ve çiçek) demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesine sahip olmadığını tespit etmişlerdir.

Gawlik-Dziki ve ark. (2013), *Chenopodium quinoa* etanol ekstraktının demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesini ≈ 1 mg/mL (IC50) olarak tespit etmişlerdir. *C. quinoa* ve *S. grandis* aynı familyada yer almaktadır.

Çalışmada SGME'nin demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi 5.36 ± 0.00 mg/mL (IC50) olarak belirlenmiştir. SGME'nin Ksouri ve ark. (2008) *S. kali* metanol ekstraktından ve Gawlik-Dziki ve ark. (2013) *C. quinoa* etanol ekstraktından daha yüksek demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesine (IC50) sahip olduğu dikkat çekmektedir.

MDA, lipit peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan bir son üründür. TBA reaksiyonu ile plazma MDA düzeyinin belirlenmesi dokulardaki lipit peroksidasyonunun, dolayısıyla oksidatif stresin en duyarlı göstergelerinden biridir (Acer Bilazer 2006).

Gawlik-Dziki ve ark. (2013), *C. quinoa* etanol ekstraktının plazma lipit peroksidasyon inhibisyonunu ≈ 3 mg/mL olarak tespit etmişlerdir. Shebab ve ark. (2015), *S. imbricata* etanol ekstraktının plazma lipit peroksidasyon inhibisyonunu *in vivo* koşullarda %92.8 olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmada SGME'nin plazma lipit peroksidasyon inhibisyonu 21.45 ± 0.04 olarak belirlenmiştir. SGME'nin Gawlik-Dziki ve ark. (2013) *C. quinoa* etanol ekstraktından ve Shebab ve ark. (2015) *S. imbricata* etanol ekstraktından daha düşük oranda plazma lipit peroksidasyon inhibisyonuna sahip olduğu dikkat çekmektedir.

DPPH stabil organik nitrojen radikalidir. Bitki ekstraktı tarafından DPPH stabil organik nitrojen radikaline elektron transferi 517 nm'de absorbansın düşmesine sebebiyet vermektedir. DPPH-H indirgenmiş formdur. Yöntemin sonunda IC50 adı verilen ve bitki ekstraktının DPPH radikalinin yarısını giderebildiği konsantrasyon elde edilmektedir. Bu IC50 değeri bitki ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesini göstermektedir (Arkan 2011; Okan ve ark. 2013).

Tundis ve ark. (2009), *S. oppositifolia* alkaloid ekstraktının DPPH radikali giderme aktivitesini 16.3 ± 0.17 $\mu\text{g/mL}$ (IC50), *S. soda* alkaloid ekstraktının 24.3 ± 0.11 $\mu\text{g/mL}$ (IC50) ve *S. tragus* alkaloid ekstraktının ise 26.2 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$ (IC50) olarak tespit etmişlerdir.

Asan-Özüsağlam ve ark. (2015), *S. stenoptera* etanol ekstraktının DPPH radikali giderme aktivitesini 29.84 µg/mL (IC50) olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmada SGME'nin DPPH radikali giderme aktivitesi 0.08±0.00 mg/mL (IC50) olarak belirlenmiştir. DPPH radikali giderme aktivitesi diğer türlerinki ile karşılaştırıldığında SGME'nin Tundis ve ark. (2009)'nın *S. oppositifolia*, *S. soda* ve *S. tragus* alkaloid ekstraktlarında (16.3, 24.3 ve 26.2 µg/mL) ve Asan-Özüsağlam ve ark. (2015)'ın *S. stenoptera* etanol ekstraktında (29.84 µg/mL) saptadıklarından daha az DPPH radikali aktivitesine sahip olduğu görülmektedir.

Bitki materyallerinin farklı lokasyonlardan değişik zamanlarda toplanması, farklı bitki kısımlarının çalışılmış olması, bitki ekstraktının elde edilmesi ve antioksidan etkisinin belirlenmesi sırasında kullanılan yöntemlerdeki farklılıklar gibi nedenler birbirinden farklı antioksidan etkinin gözlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Gallik asit, reaktif oksijen türlerini giderme aktivitesi gösteren (Locatelli ve ark. 2013) ve *in vitro* lipit peroksidasyonunu inhibe eden kuvvetli bir antioksidandır (Bertazzo 2013). Zayıf şelat oluşturma ve kuvvetli indirgeme özelliklerine sahiptir (Barcelo ve ark. 2014). Depresyon, kanser, mikrobiyal enfeksiyonlar ve lipitlerle ilişkili hastalıklar gibi kritik hastalıkların tedavi edilmesinde kullanımlarının yanı sıra, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antimutajenik, antianjiyogenik ve antiinflamatuvar ajanlar ile de ilişkili olduğu bilinmektedir (Choubey ve ark. 2015). Çalışmada SGME'nda gallik asidin minör fenolik asit bileşeni olduğu belirlenmiştir. Gallik asit içeriğinin SGME'nin antioksidan etkisinde düşük bir paya sahip olduğu düşünülmektedir.

Kafeik asit antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antikanser aktivite göstermektedir (Magnani ve ark. 2014; Murtaza ve ark. 2015). Kafeik asidin antioksidan etkilerini dört özellik üzerinden gösterdiği düşünülmektedir: (1) antilipit peroksidasyonu, (2) radikal giderimi, (3) düşük yoğunluklu lipoprotein antioksidasyonu ve (4) şelat oluşturabilme özelliği (Jacobsen 2010). Kafeik asit inflamasyon, kanser, enfeksiyon ve nörodejenerasyon gibi çeşitli hastalıklara karşı ümit verici bir terapötik potansiyele sahiptir (Murtaza ve ark. 2015).

p-kumarik asit antioksidan, antikanser, antimikrobiyal, antivirüs, antiinflamatuvar, antitrombotik, anksiyolitik, antipiretik, analjezik ve antiartrit aktivite göstermektedir. Diyabet, obezite, hiperlipidemi ve guta karşı yatıştırıcı etkileri bulunmaktadır (Pei ve ark. 2016). *p*-kumarik asit, hidrojen veya elektron verici kapasitesi ile ortaya çıkan fenoksil radikalini yapısı bünyesinde delokalize/stabilize edebilme özelliği ile radikal giderme aktivitesi yoluyla etki eden bir zincir-kıran antioksidan olarak tarif edilmektedir. Antioksidanların serbest radikal giderme aktivitesi, standart tek elektron potansiyellerinden tahmin edilebilmektedir (Teixeira ve ark. 2013). Düşük yoğunluklu lipoprotein peroksidasyonunu azaltmaktadır (Boz 2015). Ayrıca, metaller ile şelat oluşturabilmektedir (Rivas ve ark. 2001).

Gıdalarda, içeceklerde, kozmetik ürünlerde ve ilaçlarda yaygın şekilde kullanılan bir bileşik olan vanilik asidin, antimutajenik, antianjiyogenetik, antikolit, antioraklaşma ve antianaljezik etkiler gibi birden çok işleve sahip olduğu bilinmektedir. İndirgeme gücü, protein oksidasyonunun inhibisyonu ve lipit peroksidasyonunun inhibisyonu açılarından kuvvetli bir antioksidandır (Chou ve ark. 2010). Radikal giderme aktivitesi (Tai ve ark. 2012) ve metaller ile şelat oluşturma aktivitesi göstermektedir (Acton 2011). Huntington hastalığı, kanser, global iskemi, ülseratif kolit gibi önemli hastalıkları tedavi etmektedir (Kim ve ark 2010). Çalışmada SGME’nda vanilik asidin major fenolik asit bileşeni olduğu belirlenmiştir. Vanilik asit içeriğinin SGME’nın antioksidan etkisinde yüksek bir paya sahip olduğu düşünülmektedir.

Klorojenik asit antioksidan (reaktif oksijen türlerini giderme aktivitesi gösteren, *in vitro* lipit peroksidasyonunu inhibe eden (Ohnishi ve ark. 1994), metaller ile şelat oluşturma özelliğine sahip olan (Andjelkovic ve ark. 2006)), antimikrobiyal, antimutajenik ve antiinflamatuvar etki (Xiang ve Ning 2008) göstermektedir. Son birkaç yıl içinde, klorojenik asit kullanımı, bağıl kardiyovasküler hastalık, diyabet tip II ve Alzheimer hastalığı riskinde azalma gibi sağlık açısından faydalı bir dizi etki ile ilişkilendirilmektedir (Farah 2008).

Sirinjik asit kemoprotektif, antimikrobiyal, antioksidan, antiendotoksik ve antikanser aktivite göstermektedir. Ek olarak, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunun, serbest radikallerin giderimini destekleyen ve MDA üretimini

azaltan kuvvetli bir inhibitördür (Güven ve ark. 2015). Ayrıca, metaller ile şelat oluşturma aktivitesi göstermektedir (Acton 2011). Sirinjik asit uygulaması kronik karaciğer hasarında hepatik fibrozis oluşumunu baskılayabilmektedir. Kaspaz-3, kaspaz-8 ve kaspaz-9 aktivitelerinin düzeyini artırarak lösemi hücrelerindeki proliferasyonu azaltarak, apoptozu indüklemektedir (Karthik ve ark. 2013).

Skolowska-Krzaczek ve ark. (2009), *S. kali* metanol-su (8:2) ekstraktının (bitki ve kök) fenolik asit kompozisyonunu belirlemişlerdir. Protokateşik asit, kafeik asit, gentisik asit, *p*-kumarik asit (0.55 mg/100g; 0.11 mg/100g), *p*-OH-benzoik asit, *p*-OH-fenilasetik asit, sirinjik asit, vanilik asit (0.84 mg/100g; 0.26 mg/100g), ferulik asit, α -resorsilik asit ve β -resorsilik asit *S. kali*'nin fenolik asit kompozisyonunu oluşturmaktadır. Ferulik asit, protokateşik asit, *p*-OH-benzoik asit, *p*-kumarik asit ve vanilik asit *S. kali*'nin fenolik asit kompozisyonunda yer alan major fenolik asitlerdir.

Shebab ve ark. (2015), *S. imbricata* metanol ekstraktının fenolik asit kompozisyonunu belirlemişlerdir. Gallik asit (bağıl alan %0.145), protokateşik asit, klorojenik asit (bağıl alan %0.377), kafeik asit (bağıl alan %1.759), vanilik asit (bağıl alan %0.286), ferulik asit, salisilik asit, benzoik asit, kumarik asit (bağıl alan %4.251) ve sinnamik asit *S. imbricata*'nın fenolik asit kompozisyonunu oluşturmaktadır.

Çalışmadaki SGME'nin fenolik asit kompozisyonunda yer alan gallik asit miktarı $\leq 0.02 \mu\text{g/g}$, kafeik asit miktarı $0.02 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$, *p*-kumarik asit miktarı $0.06 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$, vanilik asit miktarı $0.24 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$, klorojenik asit miktarı $0.03 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$ ve sirinjik asit miktarı $0.14 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. SGME'nin Skolowska-Krzaczek ve ark. (2009) çalışmasındaki metanol-su ekstraktından daha az miktarda *p*-kumarik asit ve vanilik aside ve daha fazla miktarda kafeik asit ve sirinjik aside sahip olduğu dikkat çekmektedir. SGME'yi ile Shebab ve ark. (2015) çalışmasındaki metanol ekstraktı birbirine benzer fenolik asit kompozisyonuna sahiptir. Ancak iki çalışmadaki miktar birimlerinin birbirinden farklı olması sebebiyle kıyaslama yapılamamıştır.

Apoptoz, normal hücre büyümesi ve homeostazisi için gerekli bir süreçtir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla bu dengenin bozulması sonucu apoptozun kontrolünde oluşan anormalliklerin kanser başta olmak üzere birçok önemli

hastalığın patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (Mcphie ve ark. 2003; Gökçe ve ark. 2011).

Tundis ve ark. (2008), *S. oppositifolia* metanol ekstraktının *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, dietil eter fraksiyonlarının ve izoramnetin-3-O-glc, izoramnetin-3-O-rut bileşiklerinin ACHN (böbrek kanseri), LNCaP (prostat kanseri), COR-L23 (akciğer kanseri), C32 (deri kanseri) ve MCF-7 (meme kanseri) hücre hatlarında antiproliferatif etkisini belirlemiştir. *S. oppositifolia* metanol ekstraktının *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, dietil eter fraksiyonlarının ve izoramnetin-3-O-glc, izoramnetin-3-O-rut bileşiklerinin IC50 dozu 18.2±0.55 µg/mL ->100 µg/mL aralığında 48 saat olarak tespit etmişlerdir.

Oh ve ark. (2014), *S. collina* etanol ekstraktının HT-29, A549 (akciğer kanseri) ve HepG2 (karaciğer kanseri) hücre hatlarında antiproliferatif etkisini belirlemiştir. *S. collina* etanol ekstraktının IC50 dozu sırasıyla 43.8 µg/mL; 64.1 µg/mL; 92.5 µg/mL 48 saat olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmada SGME'nin IC50 dozu 250 µg/mL 48 saat olarak belirlenmiştir. Tundis ve ark. (2008) *S. oppositifolia* metanol ekstraktının *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, dietil eter fraksiyonlarının ve izoramnetin-3-O-glc, izoramnetin-3-O-rut bileşiklerinden ve Oh ve ark. (2014) *S. collina* etanol ekstraktından daha yüksek IC50 dozuna sahip olduğu dikkat çekmektedir. Tundis ve ark. (2008) yaptıkları çalışma çalışmamız ile karşılaştırıldığında kullanılan bitki türü (*S. oppositifolia*), hücre hatları (ACHN, LNCaP, COR-L23, C32 ve MCF-7), kuyucuk başına düşen hücre yoğunluğu ($5-15 \cdot 10^4$) ve antiproliferatif etkinin belirlenmesinde kullanılan yöntem (sulforodamin B (SRB) yöntemi) ve Oh ve ark. (2014) yaptıkları çalışma çalışmamız ile karşılaştırıldığında ise kullanılan bitki türü (*S. collina*) ve antiproliferatif etkinin belirlenmesinde kullanılan yöntem (suda çözünen tetrazolium tuzları (WST) yöntemi) bakımından birbirinden farklılık göstermektedir.

Ryu ve ark. (2009), *Salicornia herbaceae* polisakkaritlerinin HT-29 hücre hattında antiproliferatif etkisini 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolium (MTS) yöntemi, apoptoz analizi, hücre döngüsü analizi ve gerçek zamanlı PZR ile belirlemiştir. *S. herbaceae* polisakkaritleri G2/M fazının tutuklanmasını indüklemektedir. Dolayısıyla

siklin B1, siklin bağımlı kinaz (Cdk) 2'nin ekspresyonunu azalttıkları ve TP53, Cdk inhibitörü p21'nin ekspresyonunu ise arttırdıkları tespit edilmiştir.

Papi ve ark. (2013), *B. vulgaris* var. *cicia*'dan elde edilen viteksin-2-O-ksilosid, *Raphanus sativus* L. var. *major*'dan elde edilen raphasatin ve hazır alınan (-)-epigallokatekinin-3-gallat (EGCG)'nin LoVo, Caco-2 (kolon kanseri) ve MCF-7, MDA-MB-231 (meme kanseri) hücre hatlarında sinerjistik antiproliferatif etkisini SRB, ROS analizi, apoptoz analizi (Annexin V ve propidyum iyodür (PI) çift boyama, 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI)), hücre döngüsü analizi (PI), kaspaz-3'ün immunositokimyası ve Western blot yöntemleri ile belirlemişlerdir. *B. vulgaris* var. *cicia*'dan elde edilen viteksin-2-O-ksilosid, *R. sativus* L. var. *major*'dan elde edilen raphasatin ve hazır alınan EGCG G0/G1 fazının tutuklanmasını indüklemektedir. Dolayısıyla Bax proteinin ekspresyonunu azalttıkları ve Bcl-2, kaspaz-9, Poli ADP-riboz polimeraz (PARP) proteinlerinin ekspresyonunu ise arttırdıkları tespit edilmiştir.

Han ve ark. (2014), *Kochia scoparia* metanol ekstraktının (meyve) MDA-MB-231 (meme kanseri) hücre hattında antiproliferatif etkisini MTT, hücre döngüsü analizi (Annexin V ve 7-aminoaktinomisin D (7-AAD) çift boyama, Hoechst 33342), hücre içi reaktif oksijen türlerinin tespiti ve Western blot yöntemleri ile belirlemişlerdir. *K. scoparia* metanol ekstraktının hücre döngüsündeki sub G1 fazının tutuklanmasını indüklemektedir. Ayrıca apoptozda rol oynayan proteinlerin (Kaspaz-3, kaspaz-8, kaspaz-9 ve PARP) ekspresyonunu arttırmaktadır.

Oh ve ark. (2014), *S. collina* etanol ekstraktının HT-29 hücre hattında antiproliferatif etkisini WST, hücre döngüsü analizi ve Western blot yöntemleri ile belirlemişlerdir. *S. collina* etanol ekstraktı G2/M fazının tutuklanmasını indüklemektedir. Bunun sonucu olarak da G1 fazındaki hücre popülasyonu azalmaktadır. Dolayısıyla Cdk inhibitörü p21 ve Cdk2'yi fosforilleyen Wee1 kinaz'ın ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Cdk2 ve Cdk25c'nin fosforilasyonunu ise indükledikleri belirlenmiştir. Ayrıca *S. collina* etanol ekstraktı S fazının tutuklanmasını indüklemektedir. Dolayısıyla siklin A, Cdk2 ve Cdk25c'nin ekspresyonunu azalttığı tespit edilmiştir.

Han ve ark. (2016), *K. scoparia* metanol ekstraktının (olgun meyve) OSCC (oral skuamöz kanseri) hücre hattında antiproliferatif etkisini MTT, hücre döngüsü analizi (Annexin V ve PI çift boyama, Hoechst 33342) ve Western blot yöntemleri ile belirlemişlerdir. *K. scoparia* metanol ekstraktının hücre döngüsündeki sub G1 fazının tutuklanmasını, kaspaz-3 ve kaspaz-9 bağımlı apoptozu indüklemektedir. *S. herbaceae*, *B. vulgaris* var. *cicia*, *K. scoparia* ve *S. grandis* aynı familyada yer almaktadır.

Çalışmada SGME'nin HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan genlerin (*BAX*, *BCL2*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53*) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi gerçek zamanlı PZR ile proteinlerin (Bcl-2, Bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi ise Western blot yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *BCL2* geninin ekspresyonunda kontrole göre dozda 1.63 ± 0.40 kat azalma, *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53* genlerinin ekspresyonunda kontrole göre dozda sırasıyla 1.52 ± 0.13 , 1.52 ± 0.30 , 1.76 ± 0.02 , 1.81 ± 0.06 , 1.46 ± 0.06 , 1.91 ± 0.03 , 1.18 ± 0.10 ve 1.79 ± 0.07 kat artma belirlenmiştir. Elde edilen proteinlerin ekspresyon düzeyleri, genlerin ekspresyon düzeyleri ile uyumlu bulunmuştur. Han ve ark. (2014, 2016) yaptıkları çalışma ile çalışmamız karşılaştırıldığında elde ettiğimiz sonuçlar paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, SGME'nin antioksidan ve HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinin araştırılması ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

Bugüne kadar birçok bitki türü ile yapılan antikanser çalışmaları çoğunlukla bitki türünün kanser hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkilerinin değerlendirilmesi şeklindedir. Mevcut çalışma ise hedef bitki türünün antiproliferatif etkisi ile birlikte antioksidan ve antikanserojenik etkilerinin birlikte değerlendirilmesi bakımından bu çalışmalardan ayrılmaktadır.

SGME'nin askorbik asit, β -karoten, likopen, total alkaloid, total flavonoid ve total fenolik içeriği spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. SGME'nin en fazla total fenolik içeriğine, en az ise likopen içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir.

SGME'nin demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi (5.36 ± 0.00 mg/mL), plazma lipid peroksidasyon inhibisyonu ($\%21.45\pm 0.04$) ve DPPH radikali giderme aktivitesi (0.08 ± 0.00 mg/mL) tespit edilmiştir.

SGME'nin fenolik asit kompozisyonu LC-MS/MS analizi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktının fenolik asit kompozisyonunda en yüksek miktarda bulunan vanilik asitken, en az miktarda bulunan gallik asittir. Vanilik asidin SGME'nin antioksidan ve HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinde yüksek bir paya sahip olduğu düşünülmektedir.

SGME'nin HT-29 hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkisi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktının IC₅₀ dozu $250 \mu\text{g/mL}$ 48 saat olarak hesaplanmıştır.

SGME'nin HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan genlerin (*BAX*, *BCL2*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53*) ekspresyon analizlerinde *BCL2* geninin ekspresyonunda konrole göre dozda 1.63 ± 0.40 kat azalma, *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* ve *TP53* genlerinin ekspresyonunda kontrole göre dozda sırasıyla 1.52 ± 0.13 , 1.52 ± 0.30 , 1.76 ± 0.02 , 1.81 ± 0.06 , 1.46 ± 0.06 , 1.91 ± 0.03 , 1.18 ± 0.10 ve 1.79 ± 0.07 kat artma belirlenmiştir. *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9* ve *CYCS* genlerinin ekspresyonunda saptanan artıştan hareketle SGME'nin intrinsik mitokondriyal yolağı kullanarak HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinin olduğunu düşünülmektedir. Bu etkinin moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalar ile aydınlığa kavuşturulması gerekmektedir.

SGME'nin HT-29 hücre hattında apoptozda rol oynayan proteinlerin (Bcl-2, Bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9) ekspresyon düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi Western blot yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen proteinlerin ekspresyon düzeyleri, genlerin ekspresyon düzeyleri ile uyumlu bulunmuştur.

SGME, antioksidan ve HT-29 hücre hattı üzerine antikanserojenik etkisinin yüksek olması bakımından öne çıkmıştır. Bu durum, *S. grandis*'in ekonomik değerinin artmasına ve Türkiye florasındaki yerinin güçlenmesine yol açacaktır. SGME'nin kanser tedavisinde yeni bir terapötik ajan haline geleceği ve özellikle ilaç endüstrisinde ürüne yönelik kullanımlarda öne çıkmasının mümkün olacağı düşünülmektedir. Ayrıca SGME'nin antikanser etkisi ile birlikte antikanser

mekanizmasının da ortaya konulması daha etkin, hedefe yönelik koruyucu ve tedavi edici ilaç formülasyonlarının geliştirilmesini sağlayacaktır.

S. grandis bitki türünün ilk defa antioksidan ve antikanserojenik etkilerinin bir arada değerlendirildiği bir çalışma olması sebebiyle, çalışmamız ile elde edilen sonuçların bu alanda bundan sonra yapılacak yeni çalışmalara ve araştırmalara kaynak teşkil edeceği ve konuyu daha ileri düzeye taşımada önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Acer Bilazer C. Mekonyum boyalı yenidoğanlarda kordon kanı MDA konsantrasyonları ve perinatal döneme ait faktörlerle ilişkisi. Sağlık Bakanlığı, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006 (Tez Danışmanı: Uzm. Dr. Sami Hatipoğlu).
- Acton QA. Protective agents: advances in research and application. Scholarly Editions, Inc. 2012, 2011 Edition, Georgia, USA.
- Ahmad SI. Diseases of DNA Repair. Springer, Inc. 2011, New York, USA.
- Ajanal M, Gundkalle MB, Nayak SU. Estimation of total alkaloid in chitrakadivati by UV-spectrophotometer. Ancient Science of Life. 2012; 31(4): 198-201.
- Akhtar S, Karak C, Biswas P, Chattopadhyay A, Hazra P. Indigenous leafy vegetables: a potential source of β -carotene and ascorbic acid. International Journal of Vegetable Science. 2012; 18(4): 370-5.
- Alaoui-Jamali M. Alternative and complementary therapies for cancer: Integrative approaches and discovery of conventional drugs. Springer, Inc. 2010, New York, USA.
- Allison J, Dranoff G. Cancer immunotherapy. Elsevier Academic Press. 2006, California, USA.
- Al-Rubeai M, Fussenegger M. Cell engineering. Kluwer Academic Press. 2006, New York, USA.
- Andjelković M, Van Camp J, De Meulenaer B, Depaemelaere G, Socaciu C, Verloo M, Verhe R. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. Food Chemistry. 2006; 98(1): 23-31.
- Apte S, Sarangarajan R. Cellular respiration and carcinogenesis. Humana Press, Inc. 2008, Massachusetts, USA.
- Arkan T. *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* ve *Daphne sericea*' nın farklı çözücülerle antioksidan özellikleri. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2011 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Abdurrahman Aktümsek).
- Asan-Ozusaglam M, Erzen M, Darılmaz DO, Erkul SK, Teksen M, Karakoca K. Antimicrobial and antioxidant activity of various solvent extracts of *Salsola stenoptera* Wagenitz and *Petrosimonia nigdeensis* Aellen (Chenopodiaceae) plants. Chiang Mai Journal of Science. 2015; 42(1): 156-72.
- Barcelo JM, Guieb M, Ventura A, Nacino A, Pinasen H, Viernes L, Yodong T, Estrada BL, Valdez D, Binwag T. Antibacterial, prooxidative and genotoxic activities of gallic acid and its copper and iron complexes against *Escherichia coli*. Asia Pacific Journal of Multidisciplinary Research. 2014; 2(6): 45-56.
- Barton-Burke M, Wilkes GM, Ingwersen K. Cancer chemotherapy: A nursing process approach. Jones and Bartlett Publishers, Inc. 2001, Third Edition, London, The United Kingdom.
- Başpınar M. Kanserli kolon hücre dizisinde seranib-2 maddesinin apoptoz oluşumuna ve hücre yaşamına olası etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2015 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa Serdar Erkasap).
- Bertazzo A, Comai S, Mangiarini F. Nutrition and health. In: Chocolate in health and nutrition. Eds: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S. Springer, Inc. 2013, Heidelberg, Germany.
- Bertram JS. The molecular biology of cancer. Molecular Aspects of Medicine. 2001; 21: 167-223.

- Bilaloğlu GY, Harmandar M. Flavonoidler: Molekül yapıları, kimyasal özellikleri, belirleme teknikleri, biyolojik aktiviteleri. Aktif Yayınevi. 2000, İstanbul, Türkiye.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958; 181: 1199-1200.
- Bold RJ, Termuhlen PM, McConkey DJ. Apoptosis, cancer and cancer therapy. *Surgical Oncology*. 1997; 6(3): 133-42.
- Boz H. *p*-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science & Technology*. 2015; 50(11): 2323-28.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 1995; 28(1): 25-30.
- Brown JM, Attardi LD. Opinion: the role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nature Reviews Cancer*. 2005; 5(3): 231.
- Bunz F. Principles of cancer genetics. Springer, Inc. 2008, First Edition, Maryland, USA.
- Busch H. The cell nucleus. Academic Press, Inc. 2012, New York, USA.
- Cain K, Bratton SB, Cohen GM. The APAF-1 apoptosome: a large caspase-activating complex. *Biochimie*. 2002; 84(2-3): 203-14.
- Chou TH, Ding HY, Hung WJ, Liang CH. Antioxidative characteristics and inhibition of α -melanocyte-stimulating hormone-stimulated melanogenesis of vanillin and vanillic acid from *Origanum vulgare*. *Experimental Dermatology*. 2010; 19(8): 742-50.
- Choubey S, Varughese LR, Kumar V, Beniwal V. Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. *Pharm. Pat. Anal*. 2015; 4(4): 305-15.
- Cooper GM. Oncogenes. Jones and Bartlett Publishers, Inc. 1995, Second Edition, Boston, USA.
- Cooper GM, Hausman RE. The cell: A molecular approach. ASM Press, Inc. 2004, Fourth Edition, Michigan, USA.
- Cowell JK. Molecular genetics of cancer. Academic Press, Inc. 2001, Second Edition, New York, USA.
- Çınar İB. *Salsola grandis* Freitag, Vural & N. Adıgüzel'in otekojisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2012 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gül Nihan Tuğ).
- Çınar İB, Ayyıldız G, Yaprak AE, Tuğ GN. Effect of salinity and light on germination of *Salsola grandis* Freitag, Vural & N. Adıgüzel (Chenopodiaceae). *Communications, Faculty of Sciences University of Ankara Series C*. 2016; 25(1-2): 25-32.
- Çınar İB, Tuğ GN. The morphology, ecology, and conservation status of the local endemic species *Salsola grandis*. *Ekoloji*. 2015; 24(96): 41-7.
- Daniel NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell*. 2004; 116: 205-19.
- Danis TCP, Madeira VMC, Almeida MLM. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1994; 315: 161-9.
- Debatin KM, Krammer PH. Death receptors in chemotherapy and cancer. *Oncogene*. 2004; 23: 2950-66.

- Decker EA, Welch B. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1990; 38(3): 674-7.
- Dicato MA. Side effects of medical cancer therapy: Prevention and treatment. Springer, Inc. 2012, New York, USA.
- Dogru A, Cicek N, Cakirlar H. Determination of germination features of *Salsola grandis* under different conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2004; 26(3): 15-6.
- Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annual Review of Biochemistry*. 1999; 68(1):383-424.
- El-Deiry WS. Tumor suppressor genes. Humana Press, Inc. 2003, New Jersey, USA.
- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*. 2007; 35(4): 495-516.
- Farah A, Monteiro M, Donangelo CM, Lafay S. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *The Journal of Nutrition*. 2008; 138(12): 2309-15.
- Fazel S, Hamidreza M, Rouhollah G, Verdian-Rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *The Society for Advancement of Horticulture*. 2010; 12(1): 69-70.
- Fisher DE. Tumor suppressor genes in human cancer. Springer, Inc. 2000, New York, USA.
- Fischer U, Janicke RU, Schulze-Osthoff K. Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. *Cell Death & Differentiation*. 2003; 10: 76-100.
- Foon KA, Muss HB. Biological and hormonal therapies of cancer. Springer, Inc. 2012, New York, USA.
- Freitag H, Vural M, Adigüzel N. A remarkable new *Salsola* and some new records of Chenopodiaceae from Central Anatolia, Turkey. *Willdenowia*. 1999; 123-39.
- Fuentes-Prior P, Salvesen GS. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J*. 2004; 384: 201-32.
- Gawlik-Dziki U, Świeca M, Sułkowski M, Dziki D, Baraniak B, Czyż J. Antioxidant and anticancer activities of *Chenopodium quinoa* leaves extracts—in vitro study. *Food and Chemical Toxicology*. 2013; 57: 154-60.
- Gewirtz D, Holt SE, Grant S. Apoptosis, senescence and cancer. Humana Press, Inc. 2007, Second Edition, New Jersey, USA.
- Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2005; 55(3): 178-94.
- Gökçe Ö, Yılmaz A, Gürbüz V, Konaç E, Ekmekçi A. İnsan servikal kanser hela hücrelerinde vinorelbin'in apoptotik etkisi. *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2011; 25(1): 05-14.
- Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science*. 2004; 305: 626-9.
- Gürkök T, Parmaksız İ, Boztepe G, Kaymak E. Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) bitkisinde alkaloid biyosentez mekanizması. *Electronic Journal of BioTechnology*. 2010; 1(2): 31-45.
- Güven M, Aras AB, Topaloğlu N, Özkan A, Şen HM, Kalkan Y, Okuyucu A, Akbal A, Gökmen F, Coşar M. The protective effect of syringic acid on ischemia injury in rat brain. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2015; 45(1): 233-40.

- Hadjiakhoondi F, Ostad SN, Khanavi M, Hadjiakhoondi A, Farahanikia B, Salarytabar A. Cytotoxicity of two species of *Glaucium* from Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 2013; 12 (45): 85-92.
- Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2009; 22(04):191-7.
- Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*. 1991; 91(3): 14-22.
- Han HY, Kim H, Son YH, Lee G, Jeong SH, Ryu MH. Anti-cancer effects of *Kochia scoparia* fruit in human breast cancer cells. *Pharmacognosy Magazine*. 2014; 10(3): 661.
- Han HY, Lee HE, Kim HJ, Jeong SH, Kim JH, Kim H, Ryu MH. *Kochia scoparia* induces apoptosis of oral cancer cells *in vitro* and in heterotopic tumors. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016; 192: 431-41.
- Hanahan, D, Weinberg, RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000; 100(1), 57-70.
- Henderson BE, Ponder B, Ross RK. Hormones, genes, and cancer. Oxford University Press, Inc. 2003, New York, USA.
- Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2000; 407(6805): 770.
- Hess DJ. Evaluating alternative cancer therapies. Rutgers University Press. 1999, New Jersey, USA.
- Hiyama K. Telomeres and telomerase in cancer. Humana Press, Inc. 2009, Minami-Ku, Japan.
- Hofseth LJ, Hussain SP, Harris CC. p53: 25 years after its discovery. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2004; 25(4): 177-81.
- https://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/HTB-38.aspx?geo_country=tr#generalinformation (01 Ocak 2017)
- <http://www.scilabware.com/Extraction-&-Fractionation/Soxhlet--Extraction/Soxhlet-complete-assemblies/p-51-52-208/> (01 Ocak 2017)
- <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/z335088?lang=en®ion=TR> (01 Ocak 2017)
- http://docs.neu.edu.tr/staff/yasemin.sezgin/neoplazi-signed_10.pdf (13 Ağustos 2017).
- <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html> (13 Ağustos 2017).
- http://tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=1947 (13 Ağustos 2017).
- Huet C, Sahuquillo-Merino C, Coudrier E, Louvard D. Absorptive and mucus-secreting subclones isolated from a multipotent intestinal cell line (HT-29) provide new models for cell polarity and terminal differentiation. *The Journal of Cell Biology*. 1987; 105(1): 345-57.
- Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2003; 3(4): 276-85.
- İşbilir SŞ. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Trakay Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Edirne, 2008 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayten Sağıroğlu).
- Jacobsen C. Management in different industry sectors. In: Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Eds: Decker EA, Elias RJ, McClements DJ. Woodhead Publishing, Inc. 2010, Cambridge, England.

- Jiang X, Wang X. Cytochrome C-mediated apoptosis. *Annu Rev Biochem.* 2004; 73: 87-106.
- Jiang WG, Mansel RE. Cancer metastasis, molecular and cellular mechanisms and clinical intervention. Kluwer Academic Publishers, Inc. 2006, New York, USA.
- Kaça E. Homosisteinin indüklediği oksidatif stres üzerine siyah üzüm suyunun koruyucu etkisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, 2007 (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ahmet Kahraman).
- Karthik G, Vijayakumar A, Natarajapillai S. Preliminary study on salubrious effect of syringic acid on apoptosis in human lung carcinoma A549 cells and *in silico* analysis through docking studies. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2013; 1(2): 46-9.
- Kaur R, Arora S. Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *Journal of Critical Reviews.* 2015; 2(3): 1-8.
- Kav S, Hanoğlu Z, Algier L. Türkiyede kanserli hastalarda tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımı: literatür taraması. *International Journal of Hematology & Oncology/UHOD: Uluslararası Hematoloji Onkoloji Dergisi.* 2008; 18(1).
- Kim SJ, Kim MC, Um JY, Hong SH. The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. *Molecules.* 2010; 15(10): 7208-17.
- Klein BP, Perry AK. Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science.* 1982; 47(3): 941-45.
- Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A, Abdelly C. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies.* 2008; 331(11): 865-73.
- Küçükboyacı N, Akkol EK, Suntar İ, Çalış İ. *In vivo* anti-inflammatory and antinociceptive activities of the extracts and chemical constituents of an endemic Turkish plant, *Salsola grandis*. *Records of Natural Products.* 2016; 10(3): 369-79.
- Lee JM, Bernstein BA. Apoptosis, cancer and the p53 tumour suppressor gene. *Cancer and Metastasis Reviews.* 1995; 14(2): 149-61.
- Levitt SH, Purdy JA, Perez CA. Technical basis of radiation therapy: Practical clinical applications. Springer, Inc. 2008, Fifth Edition, Heidelberg, Germany.
- Lieberman MA, Marks A, Peet A. Marks basic medical biochemistry. Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2012, Fourth Edition, Philadelphia, USA.
- Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research.* 2010; 44(5): 479-96.
- Locatelli C, Filippin-Monteiro FB, Creczynski-Pasa TB. Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2013; 60: 233-9.
- Los M, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. The role of caspases in development, immunity, and apoptotic signal transduction: lessons from knockout mice. *Immunity.* 1999; 10: 629-39.
- Lyden D, Welch DR, Psaila B. Cancer metastasis: Biologic basis and therapeutics. Cambridge University Press, Inc. 2011, New York, USA.
- Magwebeba T, Van Zyl A, Swart A, Swart P. The effect of *Salsola tuberculata* extracts and compound A against intracellular interleukin-1 alpha (icIL-1 α) in the UVB in vitro model for inflammation and chemoprevention in skin. *Cytokine.* 2014; 70(1): 56-7.
- Magesh V, Yuvaraj G, Deecaraman M, Kalaichelvan PT. Methanol extract of *Indigofera tinctoria* induces apoptosis in HCT116 cells. *Journal of Applied Biosciences.* 2009; 14: 768-74.

- Magnani C, Isaac VLB, Correa MA, Salgado HRN. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods*. 2014; 6(10): 3203-10.
- Marme D, Fusenig N. Tumor angiogenesis: Basic mechanisms and cancer therapy. Springer, Inc. 2007, Heidelberg, Germany.
- McKinnell RG. The biological basis of cancer. Cambridge University Press, Inc. 1998, Second Edition, New York, USA.
- Mcphie DL, Coopersmith R, Peralta AH, Chen Y, Ivins KJ, Manly SP, Kozlowski MR, Neve KA, Neve RL. DNA synthesis and neuronal apoptosis caused by familial alzheimer disease mutants of the amyloid precursor protein are mediated by the p21 activated kinase PAK3. *The Journal of Neuroscience*. 2003; 23(17): 6914–27.
- Meier P, Vousden KH. Lucifer's labyrinth--ten years of path finding in cell death. *Mol Cell*. 2007; 28: 746-54.
- Meng XP, Liu JX. Antihypertensive effects of alcoholic extracts from *Salsola* [J]. *Modern Food Science and Technology*. 2007; 4: 005.
- Meral R, Doğan İS, Kanberoğlu GS. Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2012; 2(2).
- Miller NJ, Ruiz-Larrea MB. Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*. 2002; 12(1): 39-51.
- Minev B. Cancer management in man: Chemotherapy, biological therapy, hyperthermia and supporting measures. Springer, Inc. 2011, California, USA.
- Molls M, Vaupel P, Nieder C. The impact of tumor biology on cancer treatment and multidisciplinary strategies. Springer, Inc. 2009, Berlin, Germany.
- Murtaza G, Sajjad A, Mehmood Z, Shah SH, Siddiqi AR. Possible molecular targets for therapeutic applications of caffeic acid phenethyl ester in inflammation and cancer. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2015; 23(1): 11-8.
- Nagata M, Yamashita I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*. 1992; 39: 925-8.
- Nizamlioğlu NM, Nas S. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*. 2010; 5(1): 20-35.
- Oh YN, Jin S, Park HJ, Kwon HJ, Kim BW. Anti-oxidative and anti-cancer activities by cell cycle regulation of *Salsola collina* extract. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 2014; 42(1): 73-81.
- Ohnishi M, Morishita H, Iwahashi H, Toda S, Shirataki Y, Kimura M, Kido R. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry*. 1994; 36(3): 579-83.
- Okan OT, Varlıbaş H, Öz M, Deniz İ. Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*. 2013; 13(1): 48-59.
- Orhan IE, Kucukboyaci N, Calis I, Cerón-Carrasco JP, den-Haan H, Peña-García J, Pérez-Sánchez H. Acetylcholinesterase inhibitory assessment of isolated constituents from *Salsola grandis* Freitag, Vural & Adıgüzel and molecular modeling studies on N-acetyltryptophan. *Phytochemistry Letters*. 2016; (In press).
- Panno J. Cancer: The role of genes, lifestyle, and environment. Facts on File, Inc. 2005, New York, USA.

- Papi A, Farabegoli F, Iori R, Orlandi M, De Nicola GR, Bagatta M, Angelino D, Gennari L, Ninfali, P. Vitexin-2-O-xyloside, raphasatin and (-)-epigallocatechin-3-gallate synergistically affect cell growth and apoptosis of colon cancer cells. *Food Chemistry*. 2013; 138(2): 1521-30.
- Pei K, Ou J, Huang J, Ou S. *p*-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. (2016); (In press).
- Penning, TM. *Chemical carcinogenesis*. Springer, Inc. 2011, Philadelphia, USA.
- Perry MC. *The chemotherapy source book*. Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2008, Fourth Edition, Philadelphia, USA.
- Peter ME, Budd RC, Desbarats J, Hedrick SM, Hueber AO, Newell MK, Owen LB, Pope RM, Tschopp J, Wajant H, Wallach D, Wiltout RH, Zornig M, Lynch DH. The CD95 receptor: apoptosis revisited. *Cell*. 2007; 129: 447-50.
- Ponder BA, Waring M. *The science of cancer treatment*. Kluwer Academic Press. 2012, Boston, USA.
- Priestman T. *Cancer chemotherapy in clinical practice*. Springer, Inc. 2012, Second Edition, London, The United Kingdom.
- Rath AK, Sahoo N. *Particle radiotherapy: Emerging technology for treatment of cancer*. Springer, Inc. 2016, New York, USA.
- Reece JB, Meyers N, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RN, Cooke B. *Campbell biology*. Pearson, Inc. 2015, Tenth Edition, Melbourne, Australia.
- Rees RC. *Tumor immunology and immunotherapy*. Oxford University Press. 2014, Oxford, The United Kingdom.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996; 20(7): 933-56.
- Rivas FJ, Beltran FJ, Frades J, Buxeda P. Oxidation of *p*-hydroxybenzoic acid by Fenton's reagent. *Water Research*. 2001; 35(2): 387-96.
- Rodriguez-Martinez MA, Ruiz-Torres A. Homeostasis between lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in healthy human aging. *Mechanisms of Ageing and Development*. 1992; 66(2): 213-22.
- Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*. 2002; 22(1): 19-34.
- Rousset M. The human colon carcinoma cell lines HT-29 and Caco-2: two in vitro models for the study of intestinal differentiation. *Biochimie*. 1986; 68(9): 1035-40.
- RT² Profile PCR Array Data Analysis versiyon 3.5, QIAGEN Inc. 2017.
- Ruddon RW. *Cancer biology*. Oxford University Press, Inc. 2007, Fourth Edition, New York, USA.
- Ryu DS, Kim SH, Lee DS. Anti-proliferative effect of polysaccharides from *Salicornia herbacea* on induction of G2/M arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2009; 19(11): 1482-9.
- Sarkar A. *Biology of cancer*. Discovery Publishing House, Inc. 2011, New Delhi, India.
- Schneider P, Tschopp J. Modulation of death receptor signalling. *Symp Soc Exp Biol*. 2000; 52: 31-42.

- Schumacker PT. Reactive oxygen species in cancer cells: live by the sword, die by the sword. *Cancer Cell*. 2006; 10(3): 175-6.
- Shebab NG, Abu-Gharbieh E. Phenolic profiling and evaluation of contraceptive effect of the ethanolic extract of *Salsola imbricata* Forssk. in male albino rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014; 2014: 1-8.
- Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*. 2000; 5(5): 415-8.
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965; 16: 144-58.
- Skeel RT, Khleif SN. *Handbook of cancer chemotherapy*. Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2011, Eighth Edition, Philadelphia, USA.
- Skolowska-Krzaczek A, Skalicka-Wozniak K, Czubkowska K. Variation of phenolic acids from herb and roots of *Salsola kali* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2009; 78(3): 197-201.
- SPSS version 22.0.0.0, SPSS Inc. 2017.
- Stanojević L, Stanković M, Nikolić V, Nikolić L, Ristić D, Čanadanovic-Brunet J, Tumbas V. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* L. extracts. *Sensors*. 2009; 9(7): 5702-14.
- Tai A, Sawano T, Ito H. Antioxidative properties of vanillic acid esters in multiple antioxidant assays. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2012; 76(2): 314-8.
- Tarañçı Ö. Bazı bitki ekstraktlarının kanser hücrelerinde antioksidan, antikanserojenik ve apoptotik etkisinin belirlenmesi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2014 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Belma Aslım).
- Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9: 231-41.
- Teixeira J, Gaspar A, Garrido EM, Garrido J, Borges F. Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *BioMed Research International*. 2013; 2013.
- Timmerman RD, Xing L. *Image-guided and adaptive radiation therapy*. Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2012, Philadelphia, USA.
- Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M, Menichini F, Statti GA, Menichini F. *In vitro* cytotoxic activity of *Salsola oppositifolia* Desf. (Amaranthaceae) in a panel of tumour cell lines. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2008; 63(5-6): 347-54.
- Tundis R, Menichini F, Conforti F, Loizzo MR, Bonesi M, Statti G, Menichini F. A potential role of alkaloid extracts from *Salsola* species (Chenopodiaceae) in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2009; 24(3): 818-24.
- Ülgen ÖS. Halofitik *Salsola grandis* Freitag, Vural & N. Adıgüzel ve *Anabasis aphylla* L.'nin ekofizyolojisi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2013 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat Ekici).
- Uyumlu AB. Tüm vücut radyoterapisinin farklı yaş gruplarındaki ratlarda beyin dokusu lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem parametreleri üzerine etkileri. İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Malatya, 2007 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kadir Batçioğlu).
- Vainio HU, Hietanen EK. *Mechanisms in carcinogenesis and cancer prevention*. Springer, Inc. 2013, Lyon, France.

- Veskoukis AS, Tsatsakis AM, Kouretas D. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. *Cell Stress and Chaperones*. 2012; 17(1), 11-21.
- Xiang Z, Ning Z. Scavenging and antioxidant properties of compound derived from chlorogenic acid in South-China honeysuckle. *LWT-Food Science and Technology*. 2008; 41(7): 1189-1203.
- Waalkes MP. *Carcinogenesis*. Raven Press, Inc. 1994, New York, USA.
- Wakefield L, Hunter KW. *Metastasis*. IOS Press, Inc. 2007, Amsterdam, The Netherlands.
- Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of Carcinogenesis*. 2006; 5(1): 14.
- Warshawsky D, Landolph JR. *Molecular carcinogenesis and the molecular biology of human cancer*. Taylor Francis, Inc. 2005, New York, USA.
- Wei Q, Li L, Chen D. *DNA repair, genetic instability, and cancer*. World Scientific, Inc. 2007, New Jersey, USA.
- Weisburger EK. *Mechanisms of carcinogenesis*. Kluwer Academic Publishers, Inc. 2012, Boston, USA.
- Welch DR. *Cancer metastasis - related genes*. Kluwer Academic Publishers, Inc. 2006, New York, USA.
- Yaltirak T, Aslim B, Ozturk S, Alli H. Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47(8): 2052-6.
- Yoon G, Yeum KJ, Cho YS, Chen CY, Tang G, Blumberg JB, Russell RM, Yoon S, Lee-Kim YC. Carotenoids and total phenolic contents in plant foods commonly consumed in Korea. *Nutrition Research and Practice*. 2012; 6(6): 481-90.
- Ze X, Jie X, Wu B. *New concept and new way of treatment of cancer*. Author House, Inc. 2013, Indiana, USA.
- Zhao YX, Ding XB. Studies on the alkaloids from *Salsola collina* Pall. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 2004; 39(8): 598-600.



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNATÖRLÜĞÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ PROJESİ SÖZLEŞME PROTOKOLÜ

PROJE NO: 151318004

BAP tarafından desteklenmesine karar verilen projenin yürütücüsü ve BAP Komisyonu Başkanı arasında aşağıda belirtilen protokol imzalanır ve proje bu sözleşme esaslarına göre desteklenir.

Yüksek Lisans Tez Projesi Destekleme Protokolü

Taraflar

1. BAP Komisyonu Başkanı ile Proje Yürütücüsü **Yrd.Doç.Dr. Hatice Gül DURSUN** arasında aşağıdaki şartlarla bu Sözleşme Protokolü yapılmıştır.

Protokolün Konusu

2. Bu protokolün konusu, ekli Yüksek Lisans Tez Projesi müracaat formunda ayrıntıların Türkiye'ye endemik olan **Salsola grandis** türünün antioksidan ve insan kolon adenokarsinom hücre hattı (HT-29) üzerine antikanserijenik etkisinin araştırılması adlı projenin, BAP tarafından, bu protokolda gösterilen şekilde desteklenmiştir.

Proje Yürütücüsünün Görevleri

3. Projenin, BAP Proje Destekleme Esaslarına bağlı kalarak protokolda ekli Yüksek Lisans Tez Projesi müracaat formunda belirtilen program içinde, protokoldaki süre, amaç ve şartlara uygun olarak yürütülmesi, geliştirilmesi ve sonuçlandırılmasından proje yürütücüsü sorumludur.

Desteklenmesi kabul edilmiş projenin amaç, kapsam, süre, program ve bütçesinde BAP'ın yazılı izni alınmadan hiçbir değişiklik yapılamaz.

Araç, Gereç ve Donanım

4. Projeye Tahsis Edilen Teçhizat

a) Fakülte, Enstitü ve Yükseköğretilere, temel teçhizat sağlamayı öngören çeşitli projeler BAP'ca desteklenmez. Bir kuruluşa proje verilebilmesi için, orada en azından öğretim için yeterli altyapı ve teçhizatın mevcut olması şartı aranır.

b) Proje bütçesi gereğince, BAP tarafından, yurt içinden veya dışından temin edilerek, projeye tahsis edilen her türlü teçhizat BAP'ın malıdır.

c) Bu teçhizat proje süresince, proje yürütücüsünün gözetimi altında ve sorumluluğundadır.

Gelişim Raporu

5. Proje yürütücüsü projenin devamı süresince her 6 ayda bir çalışmaların gidişi ve harcama durumlarıyla ilgili bir gelişim raporu ve ayrıca istenildiğinde proje ile ilgili ayrıntılı bilgileri BAP'a vermekle yükümlüdür. Gelişim raporları tek nüsha olarak verilir.

BAP gerekli görürse projeye ilgili çalışmaları çalışma yerinde inceleyebilir. Bu durumlarda proje yürütücüsü projeye ilgili her türlü teknik, idari ve mali bilgileri ve belgeleri incelemeye hazır bulundurmak ve incelemeyi kolaylaştıracak bütün yardımları yapmakla görevlidir.

Kesin Rapor

6. Proje yürütücüsü, projenin bitiminde bütün teknik ayrıntıları ve belgeleri kapsayan kesin raporu hazırlamak ve araştırmaları 3 nüsha, tez çalışmalarını ise 1 nüsha olarak BAP'a vermekle yükümlüdür.

Güvenlik Tedbirleri

7. Proje yürütücüsü, proje yerinde kazaları önleme ve sağlık şartları bakımından iş kanunu, sosyal sigortalar kanunu ve ilgili diğer kanun, tüzük ve yönetmeliklere göre gerekli her türlü güvenlik tedbirlerinin alınmasından sorumludur.

Personel ve Harcamalar

8. Projede çalışacak laborant ve teknisyen gibi yardımcı personel ile tam zamanlı araştırmacılar proje yürütücüsü tarafından bulunup seçilir ve proje müracaat formüllerindeki esaslar çerçevesinde görevlendirilir. Bu elemanlara yapılacak ödemeler ve proje bakımından gerekli başka harcamalar proje yürütücüsü tarafından, BAP'dan alınacak avansın, müsbet evrak karşılığı yapılır. Ücretler ve ödemelerden yapılacak gelir vergisi, Mali Denge Vergisi, sigorta primi, damga vergisi gibi her türlü kesintilerin yapılmasından ve gerekli mercilere yatırılmasından proje yürütücüsü sorumludur.

Avans, bir aylık yaklaşık harcama miktarını geçemez. Verilen bir avansın usulüne uygun mahsubu yapılmadan yeniden avans verilemez.

Patent Hakları

9. 17.7.1963 tarih ve 278 sayılı Kanunun 2/a maddesine göre BAP'ca desteklenmek suretiyle ele alınan bu projenin sonucunda bir iktisadi meydana gelirse bu iktisadi aynı Kanunun 21. maddesi uyarınca BAP'a ait olacaktır.

Destek Miktarı

10. Projeyi desteklemek amacıyla BAP'ca ayrıntıların protokolda ekli Yüksek Lisans Tez Projesi müracaat formunda gösterilen toplam **12,000.00 TL** destek sağlanacaktır.

Ödemenin Kesilmesi

11. Sözleşme gereğince yapılan ödemelerin, proje amaç ve programına, sözleşme şartlarına uygun olarak kullanılmadığı; gelişim raporlarında, istenen ayrıntılı bilgilerden, yapılan incelemelerden veya başka şekillerde anlaşılırsa veya proje gelişim raporları yapılan hatırlatmaya rağmen zamanında verilmemişse, başkaca ihbara lüzum kalmadan, sözleşme gereğince yapılan ödemeler her zaman durdurulabilir. Başka talepler saklı kalmak üzere verilmiş araç-gereç ve donatım derhal geri alınır ve BAP'ca gerekli görüldüğü takdirde, proje, güdümlü olarak başka bir araştırmacıya - veya araştırma grubuna- verilebilir. Projenin bu yolla sonuçlanması ile sağlanacak yararlarından, proje ile ilişkisi kesilenler hiçbir hak talep edemez.

Yürürlük Süresi

12. Bu Protokol **08-10-2015** tarihinden **07-04-2017** tarihine kadar yürürlüktedir.

Protokolün Uzatılması

13. Protokol süresinin uzatılması uzatmanın protokol süresinin bitimi tarihinden 2 ay önce teklif edilmesine ve BAP Komisyonunca uygun görülerek bu konudaki esaslar gereğince kararlaştırılmasına bağlıdır.

İkametgahın Değiştirilmesi

14. Bu protokolla ilgili yazışma ve tebligat birinci maddede yazılı adrese yapılır. Proje yürütücüsü adresini değiştirdiği takdirde bunu en geç 10 gün içinde BAP'a bildirmeye mecburdur. İkametgah değişikliği bildirilmemişse, eski ikametgaha gönderilen yazı ve tebligat yeni ikametgaha yapılmış sayılır.

Protokol Giderleri

15. Protokol giderleri BAP tarafından ödenir.

Yetkili Merc

16. Araştırmacının her ne sebeple olursa olsun protokol yürürlük süresi içerisinde Araştırmacı tarafından tamamlanamaması halinde BAP tarafından araştırma için verilen kullanılmış ödeneğinin tamamı, ödeneği kullanmaya başladığı tarihten itibaren 6183 Sayılı Amme Alacaklarına uygulanacak Kanun Hükümleri çerçevesinde (En yüksek faiz ile birlikte) tahsil edilecektir.

17. Anlaşmazlık halinde yetkili merci, KONYA Mahkeme ve İcra Daireleridir.

Proje Yürütücüsü

Yrd.Doç.Dr. Hatice Gül DURSUN

Komisyon Başkanı

Prof.Dr. Tahir YÜKSEK




T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
Meram Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 14567952-050/
Konu :



NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
KONYA
MERAM TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
e
29/09/2015 Sayı: 5615

giden 
2015.09.29.5615

Sayın
Yrd. Doç. Hatice Gül DURSUN
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

İlgi:07.09.2015 tarihli dilekçeniz;

“Türkiye’ye endemik olan *Salsola grandis* türünün antioksidan ve insan kolon adenokarsinom hücre hattı (HT-29) üzerine antikanserojenik etkisinin araştırılması” başlıklı, Yrd. Doç. Hatice Gül DURSUN’ nun sorumluluğunda, Arş. Gör. Seda ŞİRİN’ nin yardımcı araştırmacısı olduğu yüksek lisans tez çalışması hakkında Fakültemiz İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulunun 18 Eylül 2015 tarihinde aldığı 2015/329 sayılı karar ilişikte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Saim AÇIKGÖZOĞLU
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: 1

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ
İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ DIŞI ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Toplantı Sayısı: 18

Toplantı Tarihi: 18.09.2015

Karar Sayısı:2015/329:Fakültemiz Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN' un "Türkiye'ye endemik olan *Salsola grandis* türünün antioksidan ve insan kolon adenokarsinom hücre hattı (HT-29) üzerine antikanserojenik etkisinin araştırılması" başlıklı yüksek lisans tez çalışması ile ilgili 07.09.2015 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü, Arş. Gör. Seda ŞİRİN' in yüksek lisans tez çalışmasının Fakültemiz Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN' un sorumluluğunda bütçe desteğinin sağlandığına dair belgenin İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kuruluna sunulduktan sonra çalışmanın başlamasının uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.
Sorumlu Araştırmacı: Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN
Yardımcı Araştırmacı: Arş. Gör. Seda ŞİRİN

ASLI GİBİDİR

18.09.2015

Prof. Dr. Saim AÇIKGÖZÖĞLU
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Başkanı



Presentation Abstract

Add to Itinerary

Print

Title: E-P12.03 - Investigation of anticarcinogenic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) and antioxidant effect of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey

Keywords: Antioxidant effect; Anticarcinogenic effect; *Salsola grandis*

Authors: S. Şirin^{1,2}, H. Dursun¹, B. Aslım²;
¹Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey, ²Gazi University, Ankara, Turkey.

Abstract: Introduction: Plants constitute a primary source of traditional drugs which are highly effective in the treatment of many forms of cancer. Materials and Methods: Antioxidant content of *S. grandis* methanol extract (SGME) was determined spectrophotometrically. The phenolic acid composition of SGME was determined by LC-MS/MS analysis. The antiproliferative effect of SGME on the HT-29 was determined by MTT method. Following the treatment with SGME, the change in the expression levels of the genes and proteins involved in the apoptosis in HT-29 was determined by RT-PCR and Western blot. Results: It was shown that while its total phenolics content is the highest, SGME's lycopene content is the lowest. In the phenolic acid composition of the plant extract, vanillic acid is the component with the highest amount, while the component with the lowest amount is gallic acid. The IC₅₀ dose of the plant extract was calculated as 250 µg/mL for 48 hours. The decrease was identified as 1.63 fold in the expression of the *BCL2* gene, compared to the control. The expression of *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, *CYCS*, *FAS* and *TP53* genes increased to 1.52, 1.52, 1.76, 1.81, 1.46, 1.91, 1.18 and 1.79 fold, respectively, compared to the control. According to western blot analyses, the expression levels of proteins were consistent with the expression levels of the genes. Conclusions: It is believed that SGME would become a new therapeutic agent for cancer treatment and that it may stand out in the product-oriented applications in the pharmaceutical industry.

Presentation Time: Sunday, May 28, 2017, 9:00 AM - 5:45 PM

Investigation of anticancerogenic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) and antioxidant effect of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey

Seda Sirin^{1,2}, Hatice Gül Dursun², Belma Aslım¹

¹Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

²Necmettin Erbakan University, Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Konya, Turkey

sdasirin@hotmail.com

Introduction

Plants constitute a primary source of traditional drugs which are highly effective in the treatment of many forms of cancer.

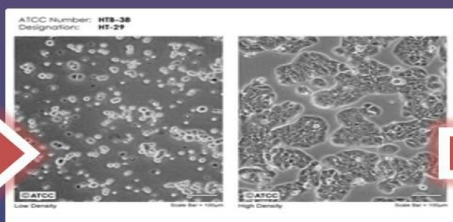
Materials and Methods

Antioxidant content of *S. grandis* methanol extract (SGME) was determined spectrophotometrically.

The phenolic acid composition of SGME was determined by LC-MS/MS analysis.

The antiproliferative effect of SGME on the HT-29 was determined by MTT method.

Following the treatment with SGME, the change in the expression levels of the genes and proteins involved in the apoptosis in HT-29 was determined by RT-PCR and Western blot.



This research was supported by project number 151318004 by Necmettin Erbakan University Scientific Research Projects (BAP) Coordinator.

Investigation of anticancerogenic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) and antioxidant effect of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey

Seda Şirin^{1,2}, Hatice Gül Dursun², Belma Aşım¹

¹Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

²Necmettin Erbakan University, Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Konya, Turkey

sdasirin@hotmail.com

Results

It was shown that while its total phenolics content is the highest, SGME's lycopene content is the lowest.

Table 1. Antioxidant content of the methanolic extract

| Antioxidant content (mg/g) | | | | | |
|----------------------------|-------------|-------------|----------------|-----------------|----------------|
| Ascorbic acid | β-Carotene | Lycopene | Total alkaloid | Total flavonoid | Total phenolic |
| 5.37 ± 0.01 | 0.30 ± 0.00 | 0.05 ± 0.00 | 0.12 ± 0.00 | 40.98 ± 0.05 | 48.85 ± 0.09 |

Table 2. Antioxidant activity of the methanolic extract

| Antioxidant activity | | |
|--|-------------------------------|-------------------------------|
| Metal chelating IC ₅₀ (mg/mL) | Plasma lipid peroxidation (%) | DPPH IC ₅₀ (mg/mL) |
| 5.36 ± 0.00 | 21.45 ± 0.04 | 0.08 ± 0.00 |

In the phenolic acid composition of the plant extract, vanillic acid is the component with the highest amount, while the component with the lowest amount is gallic acid.

Table 3. Phenolic acid composition of the methanolic extract

| Phenolic acid composition (µg/g) | |
|----------------------------------|-------------|
| Gallic acid | ≤ 0.02 |
| Caffeic acid | 0.02 ± 0.00 |
| p-Coumaric acid | 0.06 ± 0.00 |
| Vanillic acid | 0.24 ± 0.00 |
| Chlorogenic acid | 0.03 ± 0.00 |
| Syringic acid | 0.14 ± 0.00 |

This research was supported by project number 151318004 by Necmettin Erbakan University Scientific Research Projects (BAP) Coordinator.

Investigation of anticancerogenic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) and antioxidant effect of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey

Seda Şirin^{1,2}, Hatice Gül Dursun², Belma Aslım¹

¹Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

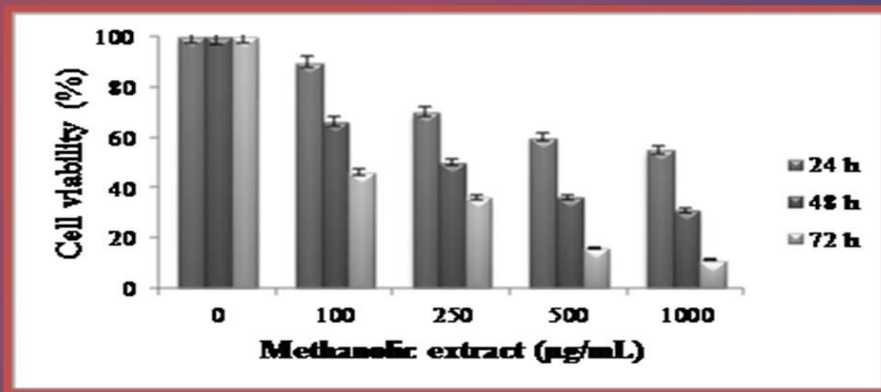
²Necmettin Erbakan University, Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Konya, Turkey

sdasirin@hotmail.com

Results

The IC₅₀ dose of the plant extract was calculated as 250 µg/mL 48 hours.

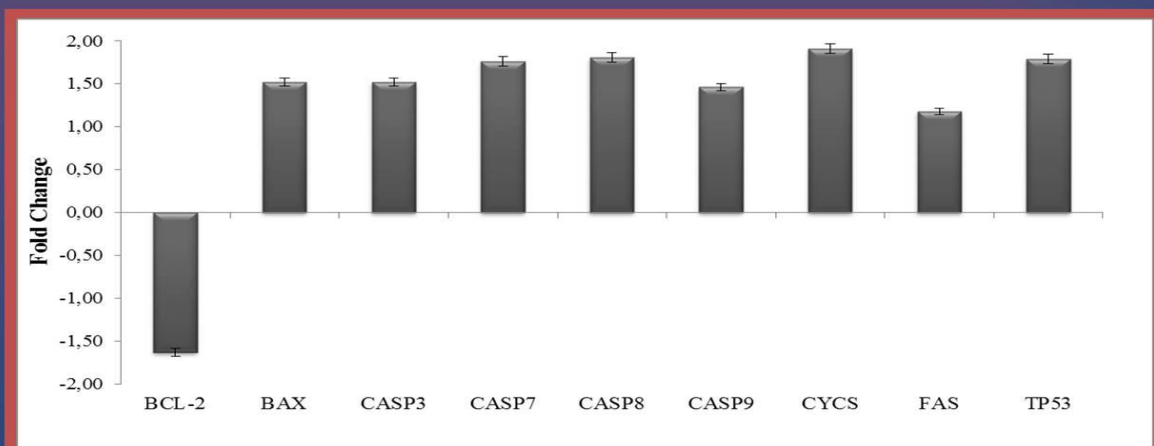
Figure 1. Antiproliferative effect of the methanolic extract on HT-29 cells for 24, 48 and 72 h.



In the expression of the BCL2 gene, compared to the control, a decrease of 1.63 times per dose was identified.

In the expression of BAX, CASP3, CASP7, CASP8, CASP9, CYCS, FAS and TP53 genes, there was an increase of 1.52, 1.52, 1.76, 1.81, 1.46, 1.91, 1.18 and 1.79 fold per dose, respectively, compared to the control.

Figure 2. Effect of the methanolic extract on expression levels of genes role in apoptosis on HT-29 cells for 48 h.



This research was supported by project number 151318004 by Necmettin Erbakan University Scientific Research Projects (BAP) Coordinator.

Investigation of anticancerogenic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) and antioxidant effect of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey

Seda Şirin^{1,2}, Hatice Gül Dursun², Belma Aslım¹

¹Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

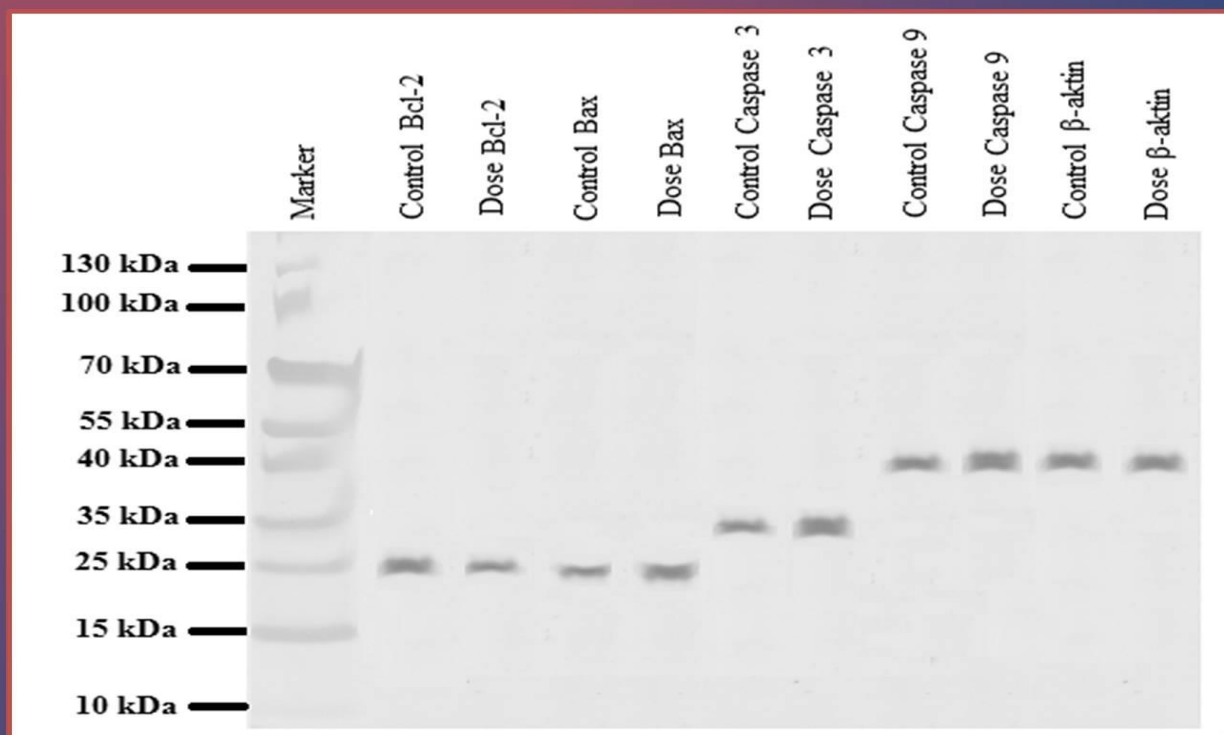
²Necmettin Erbakan University, Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Konya, Turkey

sdasirin@hotmail.com

Results

The expression levels of obtained proteins were considered consistent with the expression levels of the genes.

Figure 3. Effect of the methanolic extract on expression levels of proteins role in apoptosis on HT-29 cells for 48 h.



Conclusion

It is believed that SGME would become a new therapeutic agent for cancer treatment and that it may stand out in the product-oriented applications in the pharmaceutical industry.

This research was supported by project number 151318004 by Necmettin Erbakan University Scientific Research Projects (BAP) Coordinator.

**CERTIFICATE OF ATTENDANCE
CONFIRMATION OF PAYMENT**

This is to confirm that

Seda SIRIN

has participated in the European Human Genetics Conference 2017,

May 27 – 30, 2017 in Copenhagen, Denmark

and has paid the registration fee in the amount of

EUR 250 ,-

free of VAT according to §2/paragraph 5/Zi.2/UStG

For the conference organising office



ESHG 2017

c/o Vienna Medical Academy
Alser Strasse 4
1090 Vienna, Austria

The European Society of Human Genetics is accredited by the European Accreditation Council for Continuing Medical Education (EACCME) to provide the following CME activity for medical specialists. The EACCME is an institution of the European Union of Medical Specialists (UEMS), www.uems.net.

The European Human Genetics Conference is designated for a maximum of 22 European CME credits. Each medical specialist should claim only those hours of credit that he/she actually spent in the educational activity.

EACCME credits are recognized by the American Medical Association towards the Physician's Recognition Award (PRA). Information on the process to convert EACCME credit to AMA credit can be found at www.ama-assn.org/go/internationalcme.

8. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı : Seda ŞİRİN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri : Altındağ/ANKARA
Doğum Tarihi : 11.06.1989



İLETİŞİM BİLGİLERİ

E-posta : sdsirin@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Doktora : Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Ankara) (2013-)

Tezli Yüksek Lisans : Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (Konya) (2014-2017)

Tez : Türkiye’ye Endemik Olan *Salsola grandis* Türünün Antioksidan ve İnsan Kolon Adenokarsinom Hücre Hattı (HT-29) Üzerine Antikanserojenik Etkisinin Araştırılması

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURAKBAŞI DURSUN

Tezli Yüksek Lisans : Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı (2011-2013) (Ankara) 3.93/4

Tez : Stres Altındaki Bazı Bitkilerde Biyoteknolojik Önemi Olan Fenilalanin Amonyum Liyaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi, Optimizasyonu ve Karakterizasyonu (II. Sanayi ve Teknoloji Tezleri Üçüncülük Ödülü (1.500 TL))

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Belma ASLIM

Lisans : Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (Ankara) (2007-2011) 3.80/4

Lise : Öğretmen Necla Kızıllıbağ Anadolu Lisesi (Ankara) (2003-2007) 86.01/100

İŞ BİLGİLERİ

T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), Kimya ve Biyoloji Araştırma Destek Grubu Bilimsel Programlar Uzman Yardımcısı (Ankara) (28 Aralık 2015-)

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi (Konya) (26 Şubat 2014-25 Aralık 2015)

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce (Intermediate)

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

Microsoft Word, Excel, Powerpoint, Windows XP, Windows 7, Windows 8, Windows 10

Doruk Bilgi Teknolojileri Bilgisayar İşletmenlik Sertifika Programı (Ankara) (19 Nisan-18 Mayıs 2014) (92/100)

DIĞER BİLGİLER

STAJ:

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı (GATA) (Ankara) Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anadalı (14 Haziran- 02 Temmuz 2010)

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı (GATA) (Ankara) Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Genetik Bilim Dalı (05 Temmuz- 23 Temmuz 2010)

Yenimahalle Mustafa Kemal Lisesi (Ankara) Öğretmenlik Uygulaması (11 Şubat-14 Haziran 2013)

KONGRE:

Osmangazi Üniversitesi 22. Ulusal Biyoloji Kongresi (Eskişehir) (23-27 Haziran 2014)

Ege Üniversitesi 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (İzmir) (03-07 Eylül 2012)

POSTER:

Seda Şirin, Belma Aslım, “Determination of antioxidant capacity, phenolic acid composition and antiproliferative effect associated with phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity in some plants naturally growing under salt stress”, 2nd International Conference on Natural Products for Cancer Prevention and Therapy, 08-11 Kasım 2017, Kayseri, Türkiye.

Seda Şirin, Hatice Gül Durakbaşı Dursun ve Belma Aslım, “Investigation of antimetastatic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey”, 1. Uluslararası Kanser ve İyon Kanalları Kongresi, 21-23 Eylül 2017, Şanlıurfa, Türkiye.

Seda Şirin, Hatice Gül Durakbaşı Dursun ve Belma Aslım, “Investigation of anticancerogenic effect on human colon adenocarcinoma cell line (HT-29) and antioxidant effect of *Salsola grandis* species which is endemic in Turkey”, European Conference of Human Genetics 2017, 27-30 Mayıs 2017, Kopenhag, Danimarka.

Sümeýra Çetinkaya, İlknur Çınar, Seda Şirin, Hatice Gul Dursun, “Türkiye’ye Endemik *Achillea ketenoglui* (Ankara civanperçemi) Türüne ait Metanol ve Su Ekstraktlarının Kolorektal Kansere Hücre Hatları (HCT 116 ve HT-29) Üzerindeki Sitotoksik Etkileri”, 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, 26-29 Nisan 2017, İstanbul, Türkiye.

Eda Büker, Sümeýra Çetinkaya, Seda Şirin, İlknur Çınar, Hatice Gül Dursun, “*Achillea ketenoglui* Türüne ait Farklı Ekstraktların Total Fenolik ve Total Flavonoid Madde Miktarlarının Karşılaştırılması”, 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, 26-29 Nisan 2017, İstanbul, Türkiye.

Seda Şirin, Selcen Babaoğlu Aydaş ve Belma Aslım, “Fenilketonüri Hastalara Yönelik Diyet Tedavisinde Enzim İlaveli Fonksiyonel Kullanılabilecek Bitkisel Kaynaklı Fenilalanin Amonyum Liyaz Eldesi”, Türkiye Cumhuriyeti Ekonomi Bakanlığı, Türkiye İhracatçılar Meclisi, Türkiye İnovasyon Haftası, 03-05 Aralık 2015, İstanbul.

Seda Şirin, Selcen Babaoğlu Aydaş ve Belma Aslım, “Fenilketonüri Hastalara Yönelik Diyet Tedavisinde Enzim İlaveli Fonksiyonel Kullanılabilecek Bitkisel Kaynaklı Fenilalanin Amonyum Liyaz Eldesi”, III. Gıda Ar-Ge Proje Pazarı Sürdürülebilirlik ve Rekabetçilik için İnovasyon, 21-22 Nisan 2015, İzmir (Mansiyon Ödülü 1500 TL).

Seda Şirin, Selcen Babaoğlu Aydaş ve Belma Aslım, “Fenilketonüri Tedavisinde Biyoteknolojik Önemi Olan Fenilalanin Amonyum Liyaz Enziminin *Cyathobasis fruticulosa* Bitkisinde Belirlenmesi ve Optimizasyonu”, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir.

Seda Şirin, Selcen Babaoğlu Aydaş ve Belma Aslım, “Fenilketonüri Tedavisinde Biyoteknolojik Önemi Olan Fenilalanin Amonyum Liyaz Enziminin *Cyathobasis fruticulosa* Bitkisinde Belirlenmesi ve Optimizasyonu”, Çocuk Beslenme ve Metabolizma Derneği, PKU’da Yenilikler II Toplantı Programı, 21-22 Şubat 2014, Ankara.

Seda Şirin, Selcen Babaoğlu Aydaş ve Belma Aslım, “Fenilalanin Amonyum Liyaz’ın Biyoteknolojik Kullanımı İçin Bazı Bitkilerde Taranması ve Farklı Koşullarda Aktivitesinin Belirlenmesi”, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, İzmir, PC-116, Sayfa: 786.

SEMİNER:

Mega Hafıza, Beyni Etkin Kullanma Semineri (Ankara) (27 Kasım-11 Aralık 2013)

Mega Hafıza, Mega Hızlı Okuma Semineri (Ankara) (30 Eylül-11 Ekim 2013)

Kaplan Uluslararası Medikal Sağlık İnşaat Taahhüt Sanayi ve Tic A.Ş., Thermo Scientific Pataloji ve Sitoloji Semineri (Ankara) (8 Mayıs 2013)

Qiagen SABioscience, Real-Time PCR Tabanlı Gen Ekspresyonu, Mutasyon ve Metilasyon Profilleme Semineri (Ankara) (29 Mart 2012)

İncekaralar, Eppendorf Pipet Klinik, Pipetlemede Prensipler, Pipetlerde Ergonomi ve Dezenfeksiyon Konularına İlişkin ‘‘Eppendorf Pipet Semineri’’ (Ankara) (13 Mart 2013)

PLATFORM:

Ege Üniversitesi, Uluslararası Katılımlı 4. Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma ile Uygulama Platformu (İzmir) (27-30 Ağustos 2010)

ETKİNLİK:

Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji ve Genetik Topluluğu, ‘Biyçeşitlilik 2010: Tüm Çeşitliliğiyle Yaşam’ Etkinliği (Ankara) (30-31 Ekim 2010)

KURS:

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü, Temel İlk Yardım Kursu (Ankara) (15-16 Mart 2014)

Biyologlar Dayanışma Derneği, Çevresel Etki Değerlendirmesi Kursu (Ankara) (25-26 Eylül 2010)

SERTİFİKA:

Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (Konya) (16-25 Şubat 2015)

TSC Akademi, Başarı Sertifikası ISO 13485 Tıbbi Cihazlar Kalite Yönetim Sistemi (Ankara) (29-30-31 Ağustos 2014)

TSC Akademi, Başarı Sertifikası ISO/IEC 17025:2005 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği, GMP- İyi Üretim Uygulamaları, GLP- İyi Laboratuvar Uygulamaları (İzmir) (24-25 Ağustos 2013)

Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü, Pedagojik Formasyon Sertifikası (Ankara) (2012-2013)

TSC Akademi, Başarı Sertifikası ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi (HACCP), BRC Gıda Güvenliği Global Standartı-Versiyon 6 (Ankara) (18 Mayıs 2013)

Artibel, Başarı Sertifikası ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi, ISO 14001:2004 Çevre Yönetim Sistemi, OHSAS 18001:2007 İş Sağlığı Güvenliği Yönetim Sistemi İç Tetkikçi Eğitimi (Ankara) (10-11 Kasım 2012)

Artibel, Başarı Sertifikası ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi, ISO 14001:2004 Çevre Yönetim Sistemi, OHSAS 18001:2007 İş Sağlığı Güvenliği Yönetim Sistemi, KAIZEN (Sürekli İyileştirme) Sistemi Temel Eğitimi (Ankara) (13-14 Ekim 2012)

Turkish British Association (TBA) - İngilizce Intermediate Seviye (Ankara) (2 Eylül 2008- 11 Ocak 2009)

Turkish British Association (TBA) - İngilizce Lower Intermediate Seviye (Ankara) (4 Şubat-30 Mayıs 2008)

Turkish British Association (TBA) - İngilizce Elementary Seviye (Ankara) (1 Aralık 2007-1 Şubat 2008)

BURS:

TÜBİTAK 2210-Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı 2012-Normal Dönem Bursiyeri (Ekim 2012-Haziran 2013)

TÜBİTAK 2211-E Doğrudan Yurt İçi Doktora Burs Programı 2013-2. Dönem Bursiyeri (Feragat)

ARAŞTIRMA PROJELERİ:

Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Türkiye'ye Endemik Olan *Salsola grandis* Türünün Antioksidan ve İnsan Kolon Adenokarsinom Hücre Hattı (HT-29) Üzerine Antikanserojenik Etkisinin Araştırılması”, Proje Yürütücüsü: Yrd. Doç. Dr. H. Gül DURSUN, Araştırmacı: Arş. Gör. Seda Şirin (2015)

Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Türkiye'ye Endemik Olan *Achillea ketenoglui* (Ankara Civanperçemi) Türünün ve Casticin Flavonoidinin Kolon Kanseri Hücreleri Üzerindeki Anti-kanser Potansiyellerinin Değerlendirilmesi, Proje Yürütücüsü: Yrd. Doç. Dr. H. Gül DURSUN, Araştırmacılar: Arş. Gör. İlknur Çınar, Uzman Bio. Sümeyra Çetinkaya, Arş. Gör. Canan Eroğlu Arş. Gör. Seda Şirin (2015)

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Stres Altındaki Bazı Bitkilerde Biyoteknolojik Önemi Olan Fenilalanin Amonyum Liyaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi, Optimizasyonu ve Karakterizasyonu, Proje Kodu:46/2012-01, Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Belma Aslim, Araştırmacılar: Yrd. Doç. Dr. Selcen Babaoğlu Aydaş, Seda Şirin (2012)

Gazi Üniversitesi, Fenilketonüri, Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ (2011)

Gazi Üniversitesi, Nanomateryaller ve Genotoksik Etkileri, Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Fatma ÜNAL (2011)

EĞİTİMLER:

Biyoakademi, Gerçek Zamanlı (Real Time) PCR Veri Analizi (Ankara) (28 Ocak 2015)

Tübitak, Oryantasyon Eğitimi (Ankara) (25 Ocak-3 Şubat 2016)

Tübitak MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, İleri Moleküler Hücre Biyolojisi Teknikleri Uygulamalı Eğitimi (Gebze) (08-12 Haziran 2015)

Tübitak MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Moleküler Hücre Biyolojisi Teknikleri Uygulamalı Eğitimi (Gebze) (04-08 Mayıs 2015)

Biyoakademi, Filogenetik Ağaçlar, Moleküler Evrim ve Uygulamalar (Ankara) (25-26 Nisan 2015)

Gazi Üniversitesi Proje Koordinasyon Uygulama ve Araştırma Merkezi, Proje Döngüsü Yönetimi (PCM) Eğitimi (Ankara) (21-21/28-29 Eylül 2014)

Gazi Üniversitesi Kariyer Planlama Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kendini Bil, Kendini Bul Eğitimi (Ankara) (20 Şubat 2014)

Biyoakademi, Biyoinformatiğin Temelleri Hızlandırılmış Eğitimi (Ankara) (28 Aralık 2013)

Gazi Üniversitesi Kariyer Planlama Uygulama ve Araştırma Merkezi, İlk Adım: İyi Bir Başlangıç (Mülakat Teknikleri) (Ankara) (29 Kasım ve 13 Aralık 2013)

Yedi Yıldız Akademi, C Sınıfı İş Güvenliği Uzmanlığı Temel Eğitim Programı (Ankara) (4 Kasım-2 Aralık 2013)

Gazi Üniversitesi Kariyer Planlama Uygulama ve Araştırma Merkezi, Özgeçmiş Hazırlama Teknikleri Eğitimi (Ankara) (31 Ekim 2013)

TOPLANTILAR:

Çocuk Beslenme ve Metabolizma Derneği, PKU'da Yenilikler II Toplantı Programı (Ankara) (21-22 Şubat 2014)

PATENT:

Tuz Stresi ile İndüklenmiş Bitkilerden Elde Edilen Fenilalanin Amonyum Liyaz Enzimi (Seda ŞİRİN, Yrd. Doç. Dr. Selcen BABAĞLU AYDAŞ ve Prof. Dr. Belma ASLİM) Başvuru Numarası: 2013/10273

ÇALIŞTAYLAR:

Dokuz Eylül Üniversitesi, 1. Deneysel Hayvan Araştırmalarında Tasarım, Modeller ve Yayın Çalıştayı (İzmir) (16-17 Ocak 2016)

CALIŞMALAR:

Akademik Koçluk ve Danışmanlık Hizmetleri (ALİFECO), Temel Makale Yazımı Atölye Çalışması (Ankara) 30 Ağustos 2014

YAYINLAR:

Babaoğlu Aydaş, S., Şirin, S., Aslim, B. Biochemical analysis of *Centaurea depressa* phenylalanine ammonia lyase (PAL) for biotechnological applications in phenylketonuria (PKU). *Pharmaceutical Biology* 2016. 54 (12), 2838-2844.

Şirin, S., Babaoğlu Aydaş, S., Aslim, B. Biochemical evaluation of phenylalanine ammonia lyase from endemic plant *Cyathobasis fruticulosa* (Bunge) Aellen. for the Dietary Treatment of Phenylketonuria. *Food Technology and Biotechnology* 2016. 54 (3) 296-303.