

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *SALVIA* TÜRLERİNİN
ANTİKANSER POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

AYDIN SEVER

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi. Mehmet Kadir ERDOĞAN

BİNGÖL-2024

ÖNSÖZ

Tez kapsamında yapılan deneylerde ve tezin yazım aşamasında gösterdiği sabır ve esirgemediği desteğinden dolayı danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kadir ERDOĞAN'a teşekkür ederim.

Tanıştığım günden bu yana beni yönlendiren, yardımcı olan ve desteğini her zaman hissettiğim Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜNDOĞDU hocama teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Mahinur KIRICI hocama teşekkür ederim. Katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Abdullah ASLAN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sibel SARI hocalarıma teşekkür ederim. Tez çalışmalarına ve yazım sürecine katkılarından dolayı Sayın. Prof. Dr. Lütü BEHÇET, Sayın Doç. Dr. İbrahim GEÇİBESLER, ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yakup YAPAR hocalarıma teşekkür ederim. Uzun yıllar aynı laboratuvarıda birlikte çalıştığım, desteğini ve yardımlarını gördüğüm Yusuf TOY, Ronahi AŞKAN ve Biritan AVCI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarına proje (BAP-FEF.2023.005) desteğinden dolayı Bingöl Üniversitesi BAP birimine ve doktora süresince TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında bursiyer olarak destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

2237-A etkinlikleri kapsamında verdikleri eğitim ile tezin yazım sürecine sundukları katkı sebebiyle Prof. Dr. Kürşad ÖZKAN, Doç. Dr. Halil SÜEL ve tüm ekip hocalarıma teşekkür ederim.

Akademik hayata başlarken beni destekleyen ve teşvik eden Doç. Dr. Halil ŞİMŞEK ve Dr. Faruk DİŞLİ hocalarıma teşekkür ederim. Tez süresince sabır gösteren aileme teşekkür ederim.

Aydın SEVER

Bingöl, 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Kanser.....	5
2.2 Kolon Kanseri.....	11
2.3. Hücre Döngüsü ve Kanser.....	17
2.4. DNA Hasarı ve Kanser.....	19
2.5. Apoptoz-Otofaji.....	21
2.6. Anjiyogenez.....	26
2.7. Cisplatin.....	29
2.8. Fitoterapi.....	32
2.9. <i>Salvia</i> Türleri.....	38
2.9.1. <i>Salvia euphratica</i>	40
2.9.2. <i>Salvia staminea</i>	41
2.9.3. <i>Salvia trichoclada</i>	43
2.10. İlaç Direnci	44
2.11. Sinerjizim-Antagonizim	46
3. MATERYAL VE YÖNTEM	48
3.1. Materyal.....	48
3.2. Yöntem	49
3.2.1. Bitkilerin Toplanması, Teşhisi ve Herbaryum Kayıtlarının Oluşturulması	49
3.2.2. Bitkilerin Ekstraksiyonu.....	49

3.2.3. Hücre Kültürü.....	52
3.2.3.1. Hücre Kültürü Koşulları	52
3.2.3.2. İlaç ve Bitki Stoklarının Hazırlanması.....	52
3.2.3.3. Hücre Canlılığının Belirlenmesi	52
3.2.3.4. Sinerjizmin Belirlenmesi	53
3.2.3.5. Koloni Sağkalım Deneyi.....	53
3.2.3.6. 3D Soft Agar Deneyi	54
3.2.3.7. Wound Healing Analizi	55
3.2.3.8. Western Blot ile Protein Ekspresyonlarının Belirlenmesi	55
3.2.4. DNA Agaroze Jel Deneyi.....	56
3.2.5. İstatistiksel Analiz	57
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	58
4.1. Sitotoksikite ve Kombinasyon İndeksi Bulguları	58
4.2. Koloni Sağ Kalımı Bulguları.....	70
4.3. Soft Agar Bulguları	76
4.4. Wound Healing Bulguları.....	78
4.5. Western Blot Bulguları.....	83
4.6. DNA Agaroze Bulguları.....	91
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	94
KAYNAKLAR	95

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
A549	: İnsan akciğer kanseri hücre hattı
ABD	: Amerikan Birleşik Devletleri
AIF	: Apoptoz indükleyici faktör (Apoptosis Inducing Factor)
Akt	: A serine/threonine protein kinase
ATG	: Otofaji ile ilişkili genler
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
APC	: Adenomatosis poliposis koli
Bax	: Bcl-2 ilişkili x proteini
Bcl-2	: B Hücreli Lenfoma 2
BT-474	: Meme kanseri hücre hattı
Caco-2	: İnsan kolon adenokarsinom hücre hattı
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
Cis	: Cisplatin
CO ₂	: Karbondioksit
cPARP	: Cleaved Poli (ADP-riboz) Polimeraz
ddH ₂ O	: Double distillation of water
DMEM	: Dulbecco Modifiye Eagle Besiyeri
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DPBS	: Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline
DTT	: Dithiothreitol
DU 145	: İnsan prostat kanseri hücre hattı
ECL	: Hassas kemilüminesans görüntüleme
E.Coli	: Escherichia coli
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit

EGTA	: Etilenglisoltetraasetik Asit
FAP	: Familyal Adenomatör Polipozis
FBS	: Fetal Bovine Serum
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
GCCP	: Good Cell Culture Practice
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCL	: Hidroklorik asit
HCT116	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
HeLa	: Henrietta Lacks
HRP	: Horseradish peroxidase
HT-29	: İnsan Kolon Kanseri Hücre Hattı
HUVEC	: Human Umbilical Vein Endothelial Cells
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IC50	: Yarı maksimum inhibitör konsantrasyon
IC50/2	: Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonun yarısı
JNK	: Jun N-Terminal Kinaz
K562	: Chronic myelogenous leukemia
KCL	: Potasyum Klorür
kDa	: Kilo Dalton
KI	: Kombinasyon indeksi
KRAS	: Kirsten rat sarkomu viral onkogeni
KRK	: Kolorektal kanser
M	: Molar
MCF-7	: İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı (Michigan Cancer Foundation-7)
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mTOR	: Mammalian Target of Rapamycin
NaCl	: Sodyum Klorür
NaF	: Sodyum Florür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
Na ₃ VO ₄	: Sodium Orthovanadate
NER	: Nucleotide Excision Repair
nM	: Nanomolar

nm	: Nano metre
NP-40	: Nonidet P40
p53	: Tümör Baskılayıcı Protein 53
p21	: Sikline bağlı kinaz inhibitörü 1
PBS	: Phosphate Buffered saline
PC-3	: Prostat kanseri hücre hattı
PMSF	: Fenil Metil Sülfonil Florür
PVDF	: Poliviniliden Diflorid
ROS	: Reactive oxygen species
RPE-1	: İnsan sağlıklı hücre hattı
RPM	: Dakikada Devir Sayısı
SE	: <i>S. euphratica</i>
SS	: <i>S. staminea</i>
ST	: <i>S. trichoclada</i>
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
T47D	: Human breast cancer cell line
TAE	: Tris Asetik Asit
TEMED	: N, N, N, N-tetrametietilendiamin
TBS-T	: Tris tamponlu salin ve Tween 20 karışımı
TNF	: Tumor necrosis factor.
TRAIL	: TNF ilişkili apoptozis indükleyici ligand
Tris	: Trihidroksimetil Aminometan
UV	: Ultraviyole
IR	: İyonize Radyasyon
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
w / v	: Hacimde ağırlıkça yüzde
v / v	: Hacimde hacimce yüzde

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Cisplatin etki mekanizması.....	2
Şekil 2.1.	Kanserleşme süreci	6
Şekil 2.2.	Kanser hücrelerinin özellikleri	8
Şekil 2.3.	Yıllara göre kalp damar hastalıkları ve kanser nedeniyle ölenlerin sayısı	9
Şekil 2.4.	2023 Yılı Kanser Verileri	10
Şekil 2.5.	Kolon kanseri oluşum basamakları.....	12
Şekil 2.6.	Kolorektal kanser 2023 istatistikleri.....	13
Şekil 2.7.	Ülkelere göre KRK görülme sıklığı tahminleri.....	15
Şekil 2.8.	Hücre döngüsü.....	18
Şekil 2.9.	Cisplatin etki mekanizması	20
Şekil 2.10.	Otofaji türleri	24
Şekil 2.11.	Otofaji Süreci	25
Şekil 2.12.	Otofajide etkili proteinler	26
Şekil 2.13.	VEGF etki mekanizması.....	28
Şekil 2.14.	Metastaz oluşum şeması.....	29
Şekil 2.15.	Cisplatin ile DNA hasarı oluşumu.....	30
Şekil 2.16.	Türkiye’de <i>S. euphratica</i> türünün en çok yetiştiği bölgeler.....	40
Şekil 2.17.	<i>S. euphratica</i> arazi görünümü.....	41
Şekil 2.18.	Türkiye’de <i>S. staminea</i> türünün en çok yetiştiği bölgeler.....	42
Şekil 2.19.	<i>S. staminea</i> arazi görünümü.....	42
Şekil 2.20.	Türkiye’de <i>S. trichoclada</i> türünün en çok yetiştiği bölgeler.....	43
Şekil 2.21.	<i>S. trichoclada</i> arazi görünümü.....	43
Şekil 2.22.	İlaç direnci mekanizması.....	46
Şekil 3.1.	Bitkilerin etil alkolde bekletilmesi.....	50
Şekil 3.2.	Süzülen etil alkol.....	50
Şekil 3.3.	Evaporatör sonrası kurumaya bırakılan ekstraktlar.....	51
Şekil 3.4.	Falkon ve endorf tüplere alınan çözünmüş ekstraktlar.....	51
Şekil 4.1.	A549 <i>S.</i> tedavisi canlılık grafiği.....	62

Şekil 4.2.	MCF-7 <i>S.</i> tedavisi canlılık grafiği.....	62
Şekil 4.3.	RPE-1 <i>S.</i> tedavisi canlılık grafiği.....	63
Şekil 4.4.	HT-29 <i>S.</i> tedavisi canlılık grafiği.....	63
Şekil 4.5.	HT-29 <i>S.</i> tedavisi canlılık grafiği 2.....	64
Şekil 4.6.	Cisplatin canlılık grafiği.....	64
Şekil 4.7.	Cisplatin canlılık grafiği 2.....	65
Şekil 4.8.	Kombinasyon tedavisi canlılık grafiği.....	67
Şekil 4.9.	Sinerjizm tedavi planlaması.....	68
Şekil 4.10.	Sinerjizm canlılık deneyi 1.....	68
Şekil 4.11.	Sinerjizm canlılık deneyi 2.....	69
Şekil 4.12.	A549 Koloni formasyon deneyi.....	71
Şekil 4.13.	MCF-7 Koloni formasyon deneyi.....	72
Şekil 4.14.	HT-29 Koloni formasyon deneyi.....	73
Şekil 4.15.	HT-29 Kombinasyon tedavisi koloni formasyon deneyi.....	75
Şekil 4.16.	3D Soft Agar deneyi.....	77
Şekil 4.17.	Yara iyileşmesi deneyi	79
Şekil 4.18.	Yara iyileşmesi deneyi 6. saat grafiği.....	80
Şekil 4.19.	Yara iyileşmesi deneyi 12 saat grafiği.....	81
Şekil 4.20.	Yara iyileşmesi deneyi 24 saat grafiği.....	82
Şekil 4.21.	p53 protein ifade düzeyi	84
Şekil 4.22.	cPARP protein ifade düzeyi.....	85
Şekil 4.23.	Beclin-1 protein ifade düzeyi.....	86
Şekil 4.24.	Akt1 protein ifade düzeyi.....	87
Şekil 4.25.	mTOR protein ifade düzeyi.....	88
Şekil 4.26.	VEGF protein ifade düzeyi.....	89
Şekil 4.27.	P38 MAPK protein ifade düzeyi.....	90
Şekil 4.28.	Cas-9 protein ifade düzeyi.....	91
Şekil 4.29.	DNA Agaroz jel görüntüsü.....	93

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Western blot primer ve sekonder antikorların isimleri ve dilüsyon oranları 56

Tablo 2. Canlılık deneylerinde tespit edilen IC₅₀/2 ve IC₅₀ değerleri 61

BAZI *SALVIA* TÜRLERİNİN ANTİKANSER POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Kanser her yıl milyonlarca insanın yaşamını yitirmesine sebep olan önemli bir hastalıktır. Etkilediği geniş kitle, mevcut tedavi seçeneklerinin yetersizliği, tedavilere karşı direnç, ilaçların yan etkilerinin ve tedavi maliyetlerinin çok fazla olması sebebiyle kanser tedavisinde ve kanserden korunma süreçlerinde yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bitkiler ve bitkisel ürünler uzun yıllardır kanser dahil birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Kanser hücrelerinde mevcut tedavi yaklaşımlarının etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak amacıyla birçok bitki kemoterapik ajanlar ile birlikte tercih edilmektedir. Genellikle sinerjizmin ortaya çıktığı bu kombine tedavilerde bazen antagonistik etki ortaya çıkabilmektedir. Bu sebeple kombine tedavilerin ortaya çıkardığı etkileşimlerin ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada; dünyanın birçok bölgesinde hastalıklardan korunmak amacıyla tercih edilen 3 farklı *Salvia* türünün çeşitli kanser hücre hatlarında gösterdiği antikanser etki monoterapi olarak incelendi. Buna ek olarak, farklı kanser türlerinin tedavisinde sıklıkla tercih edilen cisplatin ile bu *Salvia* türlerinin birlikte kullanımının HT-29 kolon kanseri hücre hattında gösterdiği etki araştırıldı. Kristal viyole canlılık deneyleri ile ilgili *S.* türlerinin en etkili olduğu hücre hattı tespit edildi. Sinerjizmin belirlenmesi amacıyla yapılan kristal viyole canlılık deneylerinde *Salvia* türleri ile cisplatin arasında antagonizm tespit edildi. Hücrelerde mono/kombine tedavi ile ortaya çıkan koloni oluşturma kabiliyeti koloni formasyon ve 3D soft agar koloni oluşturma deneyleri ile, migrasyon yeteneği Wound healing deneyleri ile, apoptoz, otofaji, anjiyogenez sürecinde etkili olan protein seviyelerinin değişimi Western blot ile, ortaya çıkan DNA hasarı DNA Agaroz jel deneyi ile test edildi.

Yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen bulgular; ilgili *Salvia* türlerinin ve cisplatinin HT-29 hücre hattında tek başına kullanılmasıyla sitotoksik etkinin ve DNA fragmentasyonunun daha fazla olduğu, koloni oluşturma ve migrasyon yeteneğinin daha iyi baskılandığı, p53, p38, cPARP, Cas-9, Beclin-1 protein seviyelerinin yükseldiği, mTOR, VEGF, Akt1 protein seviyelerinin düştüğü görüldü. Bu sonuçlar kullanılan *Salvia* türleri ile cisplatin arasında antagonistik etki olduğunu, kanser tedavisinde ve kanserden korunma sürecinde birlikte kullanımına dikkat edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Salvia*, Cisplatin, HT-29, Kanser, Apoptoz, Anjiyogenez, Otofaji.

INVESTIGATION OF ANTI-CANCER POTENTIAL OF SOME *SALVIA* SPECIES

ABSTRACT

Cancer is a major disease that causes millions of people to lose their lives every year. Due to the large population it affects, the inadequacy of current treatment options, resistance to treatments, the side effects of drugs and the high cost of treatment, new approaches are needed in cancer treatment and cancer prevention processes. Plants and herbal products have been used in the treatment of many diseases, including cancer, for many years. Many plants are preferred with chemotherapeutic agents in order to increase the effectiveness of current treatment approaches in cancer cells and to reduce their side effects. In these combined treatments, where synergism usually occurs, sometimes antagonistic effects may occur. For this reason, the interactions that occur in combined treatments need to be examined in detail.

In this study; the anticancer effect of 3 different *Salvia* species, which are preferred in many parts of the world for protection against diseases, was examined as monotherapy in various cancer cell lines. In addition, the effect of the combined use of these *Salvia* species with cisplatin, which is frequently preferred in the treatment of different types of cancer, was investigated in the HT-29 colon cancer cell line. The cell line in which the *S.* species were most effective was determined with crystal violet viability experiments. In crystal violet viability experiments performed to determine synergism, antagonism was detected between *Salvia* species and cisplatin. Colony formation ability resulting from mono/combined treatment in cells was tested with colony formation and 3D soft agar colony formation experiments, migration ability with Wound healing experiments, change in protein levels effective in apoptosis, autophagy, angiogenesis processes was tested with Western blot, and DNA damage was tested with DNA agarose gel experiment.

The findings obtained as a result of the studies were; It was observed that when the relevant *Salvia* species and cisplatin were used alone in the HT-29 cell line, cytotoxic effect and DNA fragmentation were higher, colony formation and migration ability were better suppressed, p53, p38, cPARP, Cas-9, Beclin-1 protein levels increased, mTOR, VEGF, Akt1 protein levels decreased. These results show that there is an antagonistic effect between the *Salvia* species used and cisplatin, and caution should be exercised when used together in cancer treatment and cancer prevention.

Keywords: *Salvia*, Cisplatin, HT-29, Cancer, Apoptosis, Angiogenesis, Autophagy.

1. GİRİŞ

Kanser; DNA hasarı sonucu çoğunlukla somatik hücrelerde meydana gelen kontrolsüz hücre çoğalması, apoptotik süreçte hasar, hücre döngüsü kontrolünün kaybedilmesi gibi karakterize özellikler taşıyan, 100'den fazla çeşidi bulunan bir hastalık grubudur (Pecorino, 2012; Alberts vd., 2017).

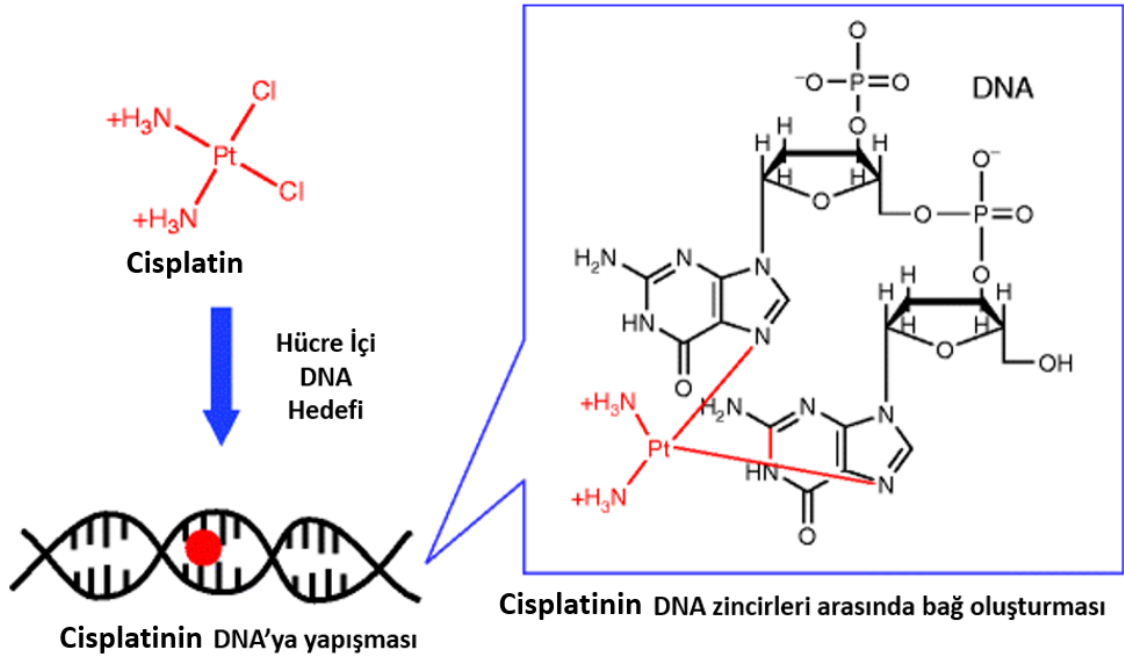
Dünya genelinde her yıl yaklaşık 20 milyon insana kanser teşhisi konulmaktadır ve 10 milyona yakın insan kanser sebebiyle yaşamını yitirmektedir (Chhikara and Parang, 2023). Yüksek oranda mortalite ve morbidite sonucunu ortaya çıkarması sebebiyle kanser önemli bir halk sağlığı problemi olarak görülmektedir (Miller et al., 2019).

Kolorektal kanserler (KRK), erkek ve kadınlarda en fazla teşhis edilen 3. kanser türüdür (Thanikachalam and Khan, 2019). 2020 yılında görülen 19,3 milyon yeni kanser vakasının yaklaşık 2 milyonu kolorektal kanser grubuna aittir. Bu vakaların büyük çoğunluğu gelişmiş ülkelerde görülmektedir. Ülkelerin gelişmişlik düzeyi ile KRK kaynaklı ölüm sayısının doğru orantılı olduğu bildirilmektedir (Hossain et al., 2022). Kolon, rektum ve anal kanalda yer alan hücrelerin farklılaşması sonucu KRK oluşmaktadır. Bu oluşum süreci polip şeklinde başlayıp tümör ile sonuçlanan uzun bir dönemi ifade edebilir. Ancak polipler bazı durumlarda kansere neden olmayabilir (Zor Sönmez, 2023).

Kanserin türüne göre farklı tedavi yaklaşımları ortaya çıkabilmektedir. Yaygın tedavi yöntemleri olarak bilinen cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin yanında immünoterapi, selektif tedavi, hormon tedavisi, gen terapisi ve fotodinamik terapi gibi yaklaşımlar uzun zamandır tercih edilmektedir (Ghosh, 2019). Cerrahi tedavide amaç tümörlü yapının uzaklaştırılmasıyken, ışın tedavisinde yüksek frekanslı ışınlar kullanılarak kalan kanser hücrelerinin küçültülmesi ve öldürülmesi hedeflenmektedir (Baskar et al., 2012; Skowron et al., 2018). Birçok kanser tedavisinde yaygın olarak tercih edilen kemoterapide bir veya birden fazla ajanın kullanılması ile kanser hücrelerinin ölümü amaçlanmaktadır (Lind, 2008; Shewach and Kuchta, 2009). Kemoterapik ajanların kanser hücrelerinin yanında sağlıklı hücreleri hedef alması sebebiyle hastalarda; saç dökülmesi, bulantı, kusma,

yorgunluk gibi belirtiler ortaya çıkabilmektedir. Bunun yanında bağışıklık baskılanması sebebiyle hastaların enfeksiyonel hastalıklara karşı direnci azalmaktadır (Abbas and Rehman, 2018). Milyonlarca insanı etkileyen kanserin üstesinden gelmek için sadece 2005-2018 yılları arasında 1100'den fazla anti-kanser ilaç geliştirilmiştir (Chen et al., 2021). Buna rağmen yeterli başarı elde edilememiştir. Ortaya çıkan başarısızlığın bir sebebi de ilaç direncidir ve aşılması gereken önemli bir problem olarak karşımızda durmaktadır (Zahreddine and Borden, 2013). İlaç direncinin invazyon ve metastaz gelişimine destek vererek tedavinin başarısız olmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Mansoori et al., 2017).

Cisplatin, dünya genelinde solid kanser türlerinden testis, yumurtalık, baş-boyun, akciğer ve lenfoma dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir antineoplastik ajandır. Etkisini farklı mekanizmalar ile göstermektedir. Bu mekanizmalar arasında en çok kabul gören; pürin bazları arasında oluşturduğu köprü aracılığıyla meydana getirdiği DNA lezyonlarıdır (Şekil 1.1). Ortaya çıkan bu lezyonlar neticesinde hücreler çeşitli yolların aktivasyonu ile apoptoza gider. Cisplatin tedavisinde ortaya çıkan ilaç direnci ve yan etkiler önemli bir engel oluşturmaktadır. Bu olumsuz durumların azaltılmasında, kombine tedavilerin tercih edilmesi umut vaat etmektedir (Ghosh, 2019).



Şekil 1.1. Cisplatin Etki Mekanizması (Boffetta and Hainaut, 2018)

Geleneksel tedavi uygulamaları dünyada insanların büyük bölümü tarafından tercih edilmektedir. Bitkisel ürünlerle yapılan tedaviler de geleneksel tedaviler kapsamına girmektedir. Bitkilerin bizzat kendisinin veya ekstraktlarının kullanılması şeklinde uygulanması hastalıklardan korunmanın yanında tedavi sürecinin kolaylaşmasına da yardımcı olmaktadır (Holaday and Berkowitz, 2009; Kooti and Daraei, 2017). Hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde sebze, meyve, ot ve kabuklu yemiş gibi bitkisel ürünlerin önemli etkileri olduğu bildirilmektedir (Kaparapu et al., 2020).

Bitkisel ürünlerin tek başına, başka bir bitkisel ürünle birlikte ya da kemoterapik bir ajana yardımcı olarak kullanılması son zamanlarda ilgi duyulan bir uygulama olmuştur. Bu tedavi opsiyonlarının ilaç sinerjisine katkı sunduğu ve sitotoksositeye karşı organizmaya yardımcı olduğu ortaya konulmuştur (Patra et al., 2021).

Monoterapi yerine kombine tedavinin tercih edilmesinin çeşitli avantajları bulunmaktadır:

- İlacın konsantrasyonunu düşürmek
- Biyoyararlanımı artırmak
- İlaç direncini aşmak
- Dirençli hücreleri daha hassas hale getirmek
- Metastaz ve invazyon riskini azaltmak
- Kanseri nüks ihtimalinin düşürmek
- Tedavinin etkinliğini artırmak (Abotaleb et al., 2019).

Kanser tedavisinde her yıl yeni ilaçlar üretilmektedir. Ancak bu ilaçların kullanımları ile ilgili çeşitli engeller bulunmaktadır. Bunlardan birisi de çoklu ilaç direncidir. Bu direncin aşılmasında bitkisel ürünlerin kullanılması büyük ilgi uyandırmaktadır. Bitkisel ürünlerin tedavi amaçlı kanser hastalarında kullanılmasının klasik kemoterapiye göre birçok avantajının bulunduğu gösterilmiştir (Newman and Cragg, 2012; Nie et al., 2016). Ancak bazı durumlarda birlikte kullanım ile beklenen sinerjizmin görülmediği hatta kullanılan ilacın etkinliğinin azaldığı ve hastalara çeşitli zararlar verdiği bilinmektedir (Werneke et al., 2004).

Salvia (*S.*) kelimesi “kurtarmak, iyileştirmek” anlamına gelmekte olup köken olarak “salvare” kelimesinden türetilmiştir (Yiğit, 2021). Akdeniz bölgesi dahil olmak üzere birçok bölgede 900’den fazla *S.* türü olduğu bilinmektedir (Celep et al., 2009).

S. türleri genel olarak 15-30 cm boyundadır ve çok yıllık ya da tek yıllık olabilen, çeşitli renklerde çiçeklere sahip otsu bitkilerdir. Bu bitki antik çağlardan beri birçok hastalığın tedavisinde tercih edilmektedir. Özellikle ağız içi hijyenin sağlanması amacıyla Avrupa’da evlerde yaygın olarak bulundurulmaktadır. Antioksidan özelliğe sahip olması sebebiyle gıdaların korunması amacıyla da tercih edilmektedir (Topçu, 2006). Birçok akciğer hastalığı ve nörolojik hastalıklara iyi gelmesi sebebiyle uzun yıllardır *S.* türleri tedavi amaçlı tercih edilmektedir (Al-Jaber, 2017).

Kanser hücre hatlarında *S.* türlerinin etkinliğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. *S.* türlerinin meme kanseri (MCF-7), kolon kanseri (HT-29) ve beyin kanseri (SF-268) hücre hatlarında antikanser özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Kamatou et al., 2008). *S. leriifolia* türünün prostat ve Henrietta Lacks (HeLa) hücre hatlarında antiproliferatif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Choudhary et al., 2012). *S. urmiensis* bitkisinin MCF-7 hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Farimani and Miran, 2014).

Bu çalışmanın amacı; Bingöl ilinde toplanmış olan üç farklı *S.* türünün (*S. euphratica*, *S. staminea*, *S. trichoclada*) çeşitli kanser hücre hatlarında (A549, HT-29, MCF-7, RPE-1), sitotoksitesinin monoterapi olarak incelenmesi ve klinikte birçok kanser tedavisinde sıklıkla tercih edilen cisplatin ile kombine tedavi olarak kullanıldığında nasıl etki gösterdiğinin anlaşılmasıdır. Yapılan çalışmalarla; bitkisel ürünlerin geniş bir kitleyi etkileyen ilgili hücre hatlarında etkinliğinin anlaşılması ve bu etkinlikte rol alan moleküler mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır. Farklı kanser türlerinin tedavisinde tercih edilen ancak yan etkileri yönüyle önemli kısıtlamalara sahip cisplatin etkinliğinin, ilgili ada çayları ile kombine edildiğinde etkinliğinin nasıl değiştiği ve bu değişimin anlaşılmasına yönelik katkı sunmak hedeflenmiştir.

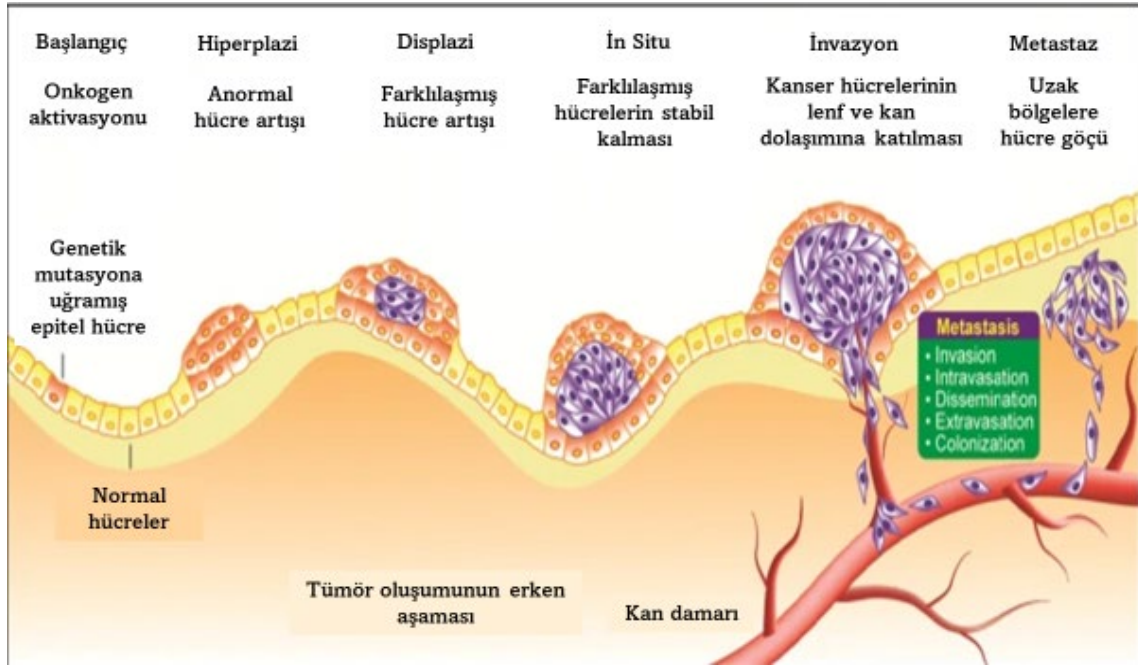
2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kanser

Kanser hücre bölünme sürecinde ve DNA tamir mekanizmalarında meydana gelen patofizyolojik değişimlerin etkili olduğu, dünya genelinde her yıl milyonlarca bireyin ölümüne sebep olan bir hastalıktır (Chhikara and Parang, 2023). Bu hastalıkta hücrelerin bölünmesi, farklılaşması ve apoptozis süreçlerinde görev alan faktörlerin yetersiz veya işlevsiz olması neticesinde meydana gelen kontrol edilemez hücre çoğalması söz konusudur (Weinberg, 2006).

Kontrolsüz hücre çoğalması, ardışık hücresel transformasyon, anjiyogenez, invazyon ve metastaz gibi özelliklere sahip heterojen bir hastalık grubunu ifade eden kanserin görülme sıklığı ve sebep olduğu ölüm oranı her geçen gün artmaktadır. Bu sebeple kanser, insan yaşamını tehdit eden önemli bir problem olarak karşımızda durmaktadır (Erdoğan, 2021). Kanserleşme sürecinde (Şekil 2.1) hücrelerin proliferasyonu, diferansiyonu ve apoptozise gitmesinde görevli genlerin mutasyona uğraması etkin rol almaktadır (Alberts et al., 2002; Pecorino, 2012).

Kanserin somatik hücrelerde ortaya çıkan mutasyonlar sonrasında oluştuğu bilinmektedir. Ancak, eşey hücrelerinde meydana gelebilecek spesifik değişimlerin de kansere sebep olabileceği gösterilmiştir (Nenclares and Harrington, 2020). Kanserinin ortaya çıkmasında kişinin yaşı, ırkı, yaşadığı bölge ve genetik özellikleri etkili olabilmektedir. Genel olarak kanser, sonradan ortaya çıkmaktadır ancak kanserin az bir kısmının genetik geçişli olduğu bildirilmiştir (Kumar et al., 2017).



Şekil 2.1. Kanserleşme süreci (Li et al., 2020)

1950 yılında dünya sağlık örgütü tarafından düzenlenen sempozyum; birçok kanser türünün farklı ülkelere yerleşen bireylerde görünmesi sebebiyle kanserin daha çok çevresel etkenler nedeniyle oluştuğunu düşündürmüştür (Blackadar, 2016). Ancak daha sonraki çalışmalar göstermiştir ki kanserin nedenleri arasında mutasyon, bağışıklık, hormonlar gibi içsel ve sigara, kimyasallar, radyasyon gibi dışsal nedenler bulunabilmektedir (Abbas and Rehman, 2018). Bu sebeplerin yanında kanserin stres, kalıtım gibi faktörler ile de yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak tüm bu faktörler, coğrafik farklılıklar ve kanserin türüne göre farklı seviyelerde etki göstermektedir (Chhikara and Parang, 2023).

Dünya sağlık örgütüne göre kanser genetik ve farklı dış faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkmaktadır. Bu dış faktörler Ultraviyole (UV) ve İyonize Radyasyon (IR) gibi fiziksel karsinojenler, asbest, tütün ürünleri, afla toksin ve arsenik gibi kimyasal karsinojenler ve virüs, bakteri ve mantarlar gibi enfeksiyon kaynağı biyolojik karsinojenlerdir (Blackadar, 2016). Bununla birlikte genetik yatkınlık, çevresel faktörler, yaşam stili, kişinin mesleği ve biyolojik faktörler kansere yol açmaktadır (Verma, 2004).

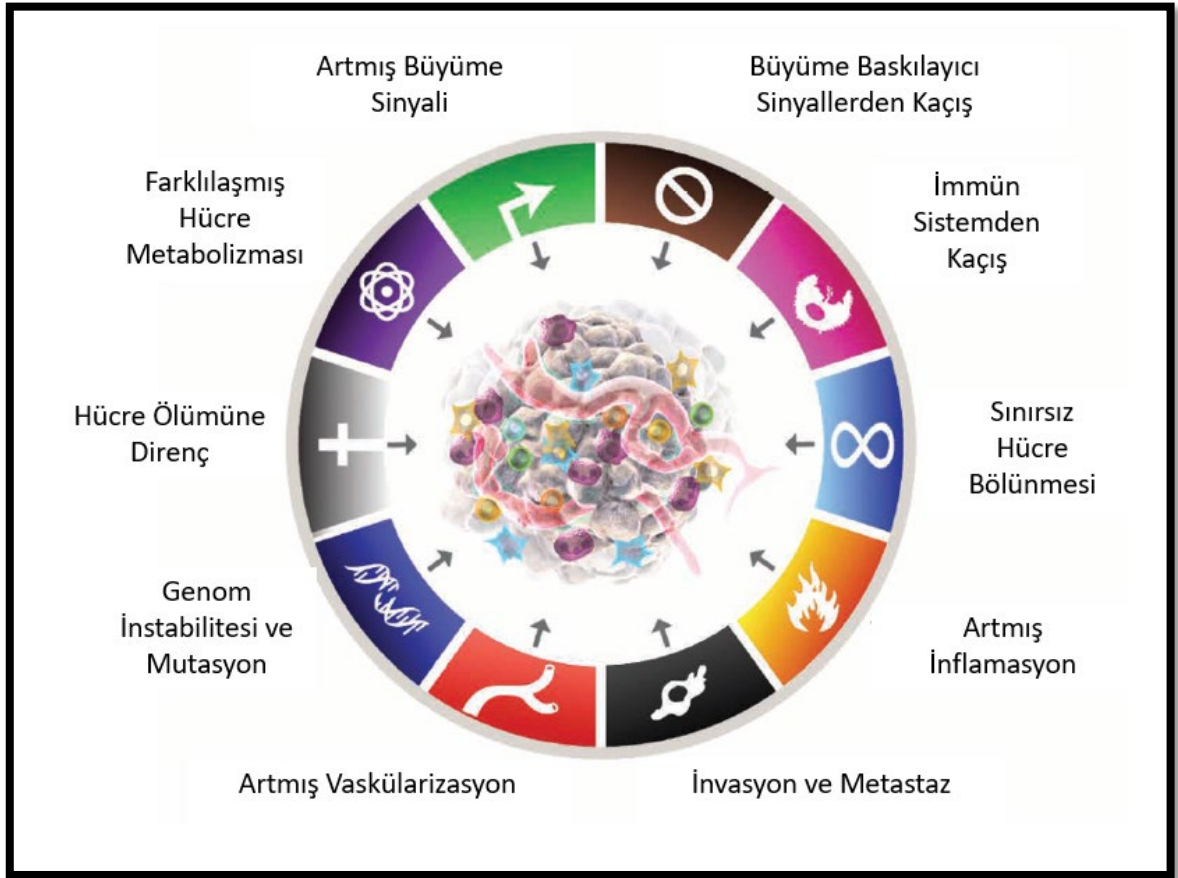
Sağlıklı hücrelerde çeşitli kontrol mekanizmaları ile denetim altında tutulan hücre bölünmesinin kontrolü kaybedilerek anormal hücre toplulukları oluşur. Bu yapılara tümör

adı verilmektedir (Weinberg, 2013). Tümör yapılar benign (iyi huylu) ve malign (kötü huylu) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Benign tümör yapıları, bulundukları bölgeden farklı alanlara metastaz yapmadıkları için gelişim gösterdiği dokudan cerrahi yöntemlerle alınıp tedavi edilebilmektedir. Ancak malign tümörlerin geliştiği dokudan farklı dokulara yayılıp farklı bölgelerde yerleşebilme kabiliyeti vardır ve bu yönüyle büyük tehlike arz etmektedir (Vogelstein and Kinzler, 2002). Tümör doku, tek tip hücreden oluşan bir yığın değildir. Tümör doku farklı yapıda birçok hücrenin bir araya gelerek oluşturduğu homojen olmayan hücre yığınıdır (Hanahan and Weinberg, 2011).

Tümörlerin uzantılı yapılar içermesi sebebiyle yengeç anlamına gelen “Canceros” ve köken anlamına gelen “Genesis” kelimelerinin birleşmesiyle karsinogenez terimi ortaya çıkmıştır. Kansereleşme süreci, hücrenin kontrolsüz çoğalması, büyümesi ve farklılaşması gibi olaylarda görevli yapıların mutasyonlar neticesinde değişmesi ve bozulmasıyla ortaya çıkar. Bu süreçte rol oynayan en önemli yapılar; tümör baskılayıcı genler ve tümör oluşumunu teşvik eden genlerdir. Kansere özelliği göstermeyen hücrelerde, proto-onkogen özellikteki proteinler normal biyolojik sürecin ilerlemesinde etkili ve görevlidir. Büyüme faktörleri, hücrelerel sinyal yolları ve nükleer transkripsiyon süreçlerinde görev olan yapılar bu gruba örnek verilebilir. Bu proteinlerde meydana gelebilecek mutasyonlar onkogenlerin oluşmasına sebep olur. Onkogenlere ek olarak hücrenin büyümesinde, farklılaşmasında ve kansereleşmenin önlenmesinde görevli tümör süpresör genler vardır. Kansere hücrelerinde onkogenlerin aktif ve baskın, tümör baskılayıcı genlerin ise inaktif ve resesif olduğu bilinmektedir.(Vogelstein and Kinzler, 2002; Kontomanolis et al., 2020; Nenclares and Harrington, 2020).

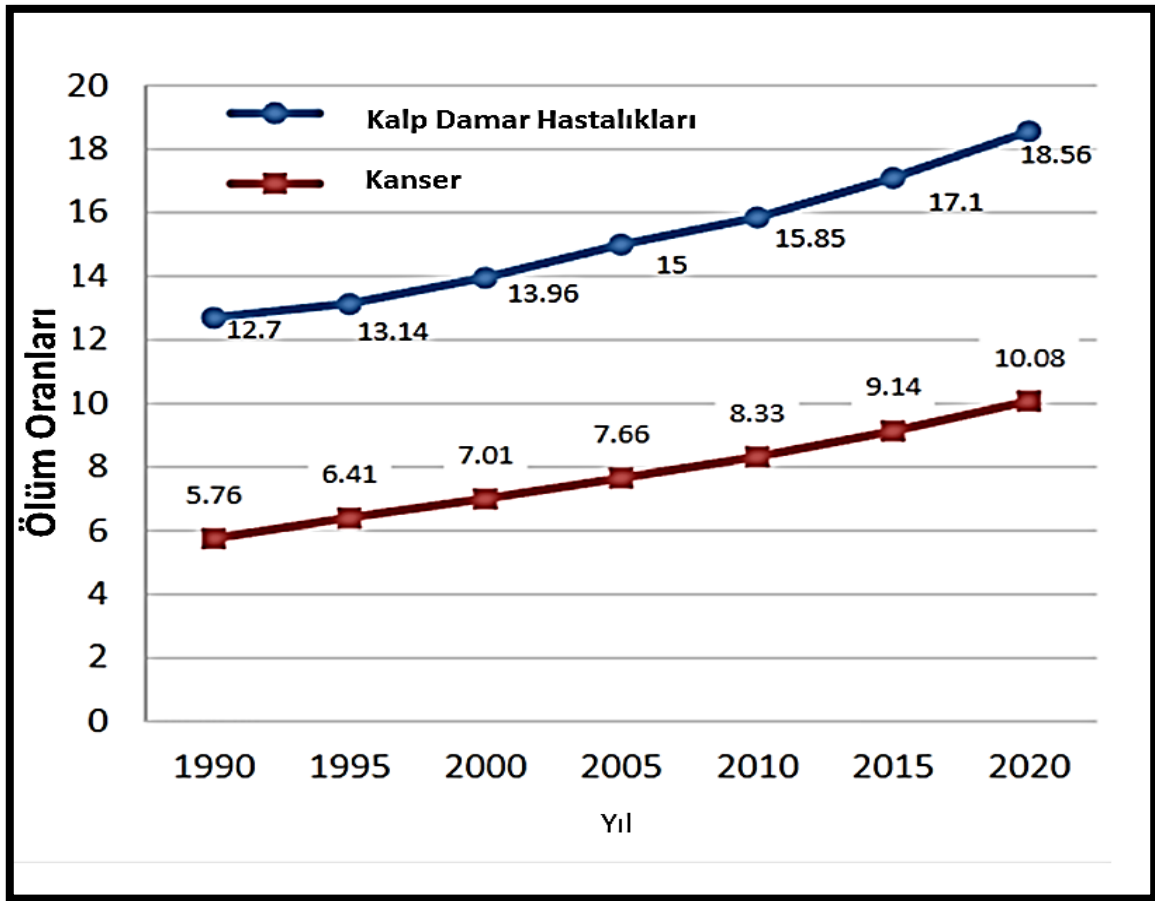
Kansere hücreleri, sağlıklı hücrelerden bazı özellikleri yönüyle belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Kontrollü hücre ölümünden kaçış, büyüme sinyallerinde bağımsızlık, büyüme karşıtı sinyallere duyarsızlık, invazyon ve metastaz yeteneği, limitsiz bölünme kabiliyeti, artmış anjiyogenez, immün sistemden kaçış gibi özellikler (Şekil 2.2) kansere hücrelerinin çoğalması ve hayatta kalmasına katkı sunmaktadır (Hanahan and Weinberg, 2000). Kansere kabul edilen bu ayırt edici özelliklerine; artmış inflamasyon, genomik instabilite, metabolizma değişikliği gibi yeni belirleyici farklılıklar da eklenmiştir. 2022 yılına gelindiğinde ise kansereleşme sürecinde polimorfik mikro biyom, yaşlı hücre, epigenetik programlama ve fenotipik plastisite gibi durumların da etkili olduğu ortaya

konulmuştur. Bu değişimlerin yanında kanser hücrelerinde metabolik olarak da birçok farklılık ortaya çıkmaktadır. Kanser hücreleri bu özelliklerin hepsini veya bir kısmını taşımaktadır (Pavlova and Thompson, 2016; Hanahan, 2022).



Şekil 2.2. Kanser hücrelerinin özellikleri (Hanahan, 2022)

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2020 yılında yaklaşık 19 milyon kanser vakası olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 2040 yılında 30 milyon civarında yeni vakanın görüleceği tahmin edilmektedir. Şekil 2.3'te kansere bağlı ölümlerin kardiyovasküler hastalıklardan sonra 2. sırada yer aldığı görülmektedir (Chhikara and Parang, 2023).



Şekil 2.3. Yıllara göre kalp damar hastalıkları ve kanser nedeniyle ölenlerin sayısı (Chhikara and Parang, 2023)

Görülen vakaların büyük çoğunluğu Afrika, Asya ve Güney Amerika’da yer almaktadır. Benzer şekilde kansere bağlı ölümlerin de %70’inin bu bölgelerde gerçekleştiği belirtilmektedir. Kanser türlerinin cinsiyete bağlı görülme sıklığı ve ölüm oranı değişmektedir (Siegel et al., 2023).

Kanser tedavisinde yaygın olarak; cerrahi girişim, radyoterapi, kemoterapi, hormonal tedavi, immün terapi, lazer tedavisi ve farklı tedavi seçeneklerinin kombinasyonu kullanılmaktadır. Birçok tedavi opsiyonların varlığına rağmen, kanser tedavisi için alternatif tedavi yollarına hala ihtiyaç duyulmaktadır (Kanbur, 2022; Shewach and Kuchta, 2009). Kanser türüne göre farklı tedavi yaklaşımları ortaya çıkabilmektedir. Geleneksel tedavi yöntemleri olarak bilinen cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapinin yanında immün terapi, selektif tedavi, hormon tedavisi, gen terapisi ve fotodinamik terapi gibi yaklaşımlar yakın zamanda tercih edilmektedir (Ghosh, 2019).

Kadın ve erkeklerde en sık görülen kanser türleri Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölüm oranı azaltılamamaktadır, gelişmekte olan ülkelerde ise fakirlik, bilgi eksikliği ve sağlık hizmetlerine erişimde ortaya çıkan engeller sebebiyle hastalığın toplumsal etkileri daha kritik noktalara varmaktadır (Kier, 1998). Bu kritik noktalara ulaşılmasının sebepleri arasında sanayileşme ve yaşam süresinin artmasının bulunduğu bilinmektedir (Gencer et al., 2021).



Şekil 2.4. 2023 Yılı kanser verileri (Siegel et al., 2023)

Kanserin her yıl milyonlarca insanın ölümüne sebep olmasının en önemli sebeplerinden bazıları; tümör dokunun heterojen olması ve geleneksel tedavi seçeneklerinin yetersiz kalmasıdır. Tümörün aynı hastanın farklı dokularında farklı özellikler göstermesi, hastalar

arasında farklılıkların bulunması gibi sebepler, farklı tedavi seçeneklerine olan ihtiyacı artırmaktadır (Krzyszczyk et al., 2018).

Kanser tedavisinde kullanılan cerrahi girişim ve ışın tedavisi ile amaç kanserli yapının lokal olarak temizlenmesidir. Kemoterapi uygulamasıyla da kalan kanser hücrelerinin ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır. Günümüzde kullanılan kemoterapik ajanlar başarılı sonuçlar ortaya koysa da bu tedavinin kanserli hücrelere spesifik olmaması, hastaların sağlık durumunu ciddi oranda etkileyen yan etkilerinin bulunması ve uygulanan ajana karşı ilaç direncinin varlığı uzun vadede tedavinin başarısını olumsuz etkilemektedir (Zugazagoitia et al., 2016).

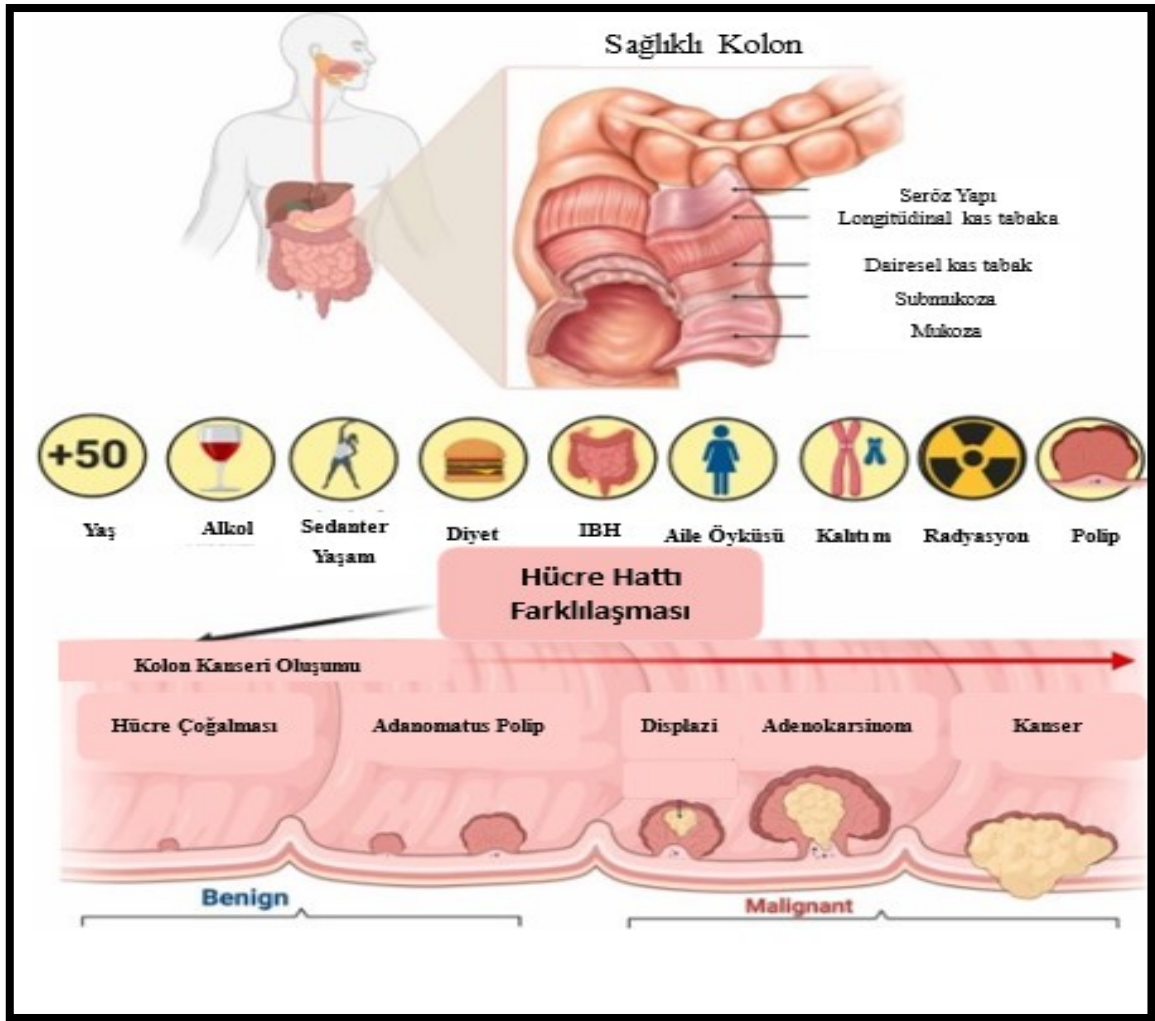
Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; uygulanan tedavinin başarısında kanserli doku hücrelerinin genomik ve proteomik özellikleri büyük önem taşımaktadır. Gerek aynı kansere dair farklı hastaların gerekse aynı hastanın tümör hücrelerinin tedaviye gösterdiği yanıtın farklılık göstermesi farmakogenomik ve farmakoproteomik alanlarında yapılan çalışmalara olan ilgiyi artırmıştır (D'Alessandro ve Zolla, 2010; Crews vd., 2012; Whirl-Carrillo vd., 2012; Hess, 2013; Wheeler vd., 2013; Chambliss ve Chan, 2016; Nandal ve Burt, 2017; Crabtree, 2019; Roden vd., 2019).

2.2. Kolon Kanseri

İleumun bitiş kısmı ve çekumun girişinden başlayıp rektuma kadar uzanan kolon; çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolon gibi bölümler içermektedir. İnce bağırsakların etrafını saran kolon, çekumdan sigmoid bölgeye kadar daralan bir yapıya sahiptir (Arıncı and Elhan, 2014). Çıkan kolonun arka yüzü dışında tüm bölümleri peritonla kaplanmıştır. 15 cm civarı uzunluğa sahip olup, her iki tarafında parakolik oluklar barındırır. Çekumdan başlayıp karaciğerin sağ lobuna kadar uzanır. Sola ve öne doğru kıvrılıp transvers kolon olarak devam eder (Waschke and Paulsen, 2022). Transvers kolon, ortalama 50 cm uzunluğundadır ve tamamı intraperitoneal bölgede yer alır. En mobil ve uzun kısım olan bu bölge, sağ ve sol kolik fleksuralar içinde bulunur. Coli sinistra olarak bilinen kıvrımı yaptıktan sonra inen kolonu oluşturur (Waschke and Paulsen, 2022). Yaklaşık olarak 25 cm olan inen kolon, retroperitoneal olup her iki tarafında parakolik oluklar barındırır. Pelvise ulaştığında sigmoid kolonu oluşturur (Corman et al., 2004). Şekil

olarak S harfine benzeyen sigmoid kolon, 25/40 cm uzunluğu sahiptir. Tamamen peritonla çevrili olup, kolonun en dar kısmını oluşturur. Sol alt kadranda bulunan bu yapı hareketli bir yapıya sahiptir. Bu sebeple karın boşluğu ve sağ alt kadranda yer alabilir (Corman et al., 2004). Kolonu besleyen arteriyal yapılar süperior-inferiyor mezenterik arterlerdir. Venöz drenaj ise yine süperior-inferiyor mezenterik venler tarafından sağlanmaktadır (Skandalakis et al., 2010).

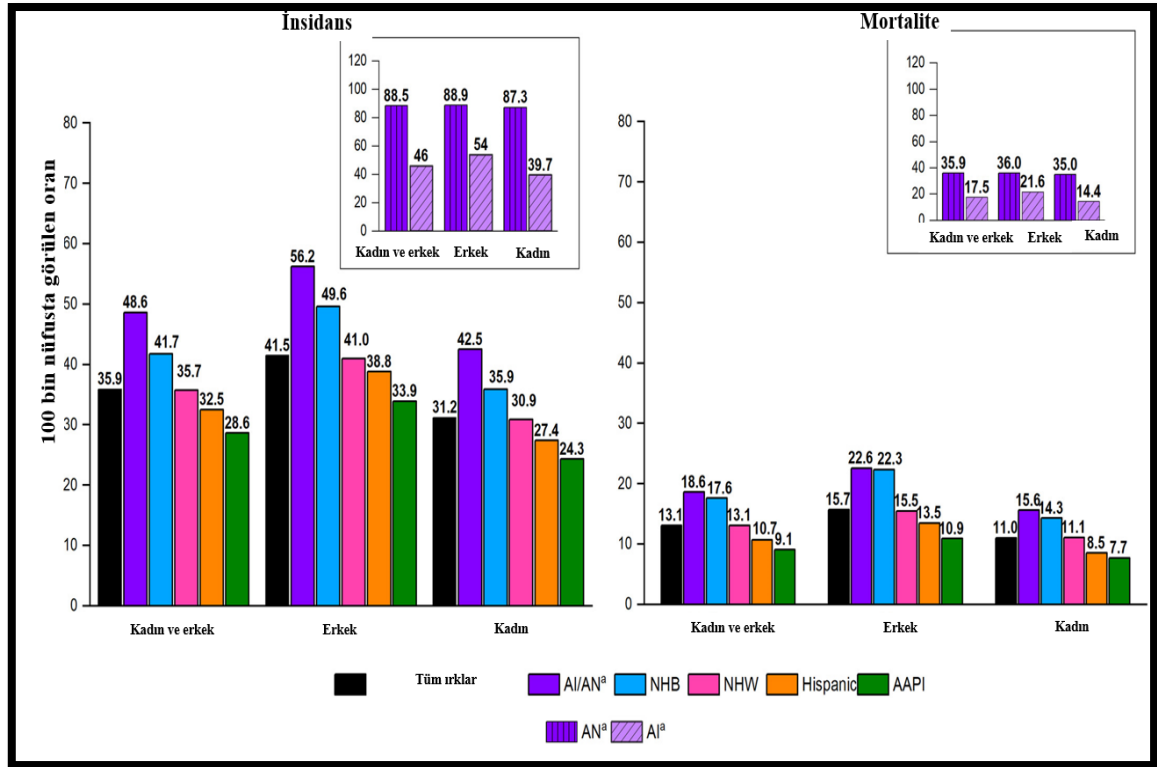
Kolon, rektum ve anal kanalda yer alan hücrelerin farklılaşması sonucu KRK oluşmaktadır (Şekil 2.5). Bu oluşum süreci polip şeklinde başlayıp tümör ile sonuçlanan uzun bir dönemi ifade edebilir. Polipler bazı durumlarda kansere neden olmayabilir (Zor Sönmez, 2023).



Şekil 2.5. Kolon kanseri oluşum basamakları (Wahab et al., 2021)

KRK, erkek ve kadınlarda en fazla teşhis edilen 3. kanser türüdür (Thanikachalam and Khan, 2019). 2020 yılında görülen 19,3 milyon yeni kanser vakasının yaklaşık 2 milyonu KRK'ye aittir. Kanser ölümlerinin ise 900 bine yakını KRK grubuna aittir Ülkelerin gelişmişlik düzeyi ile KRK kaynaklı ölüm sayısının doğru orantılı olduğu bildirilmektedir (Hossain et al., 2022; Chhikara and Parang, 2023). Başka bir kaynakta ise KRK ile ilgili olarak tüm dünya genelinde görülme sıklığı açısından erkeklerde üçüncü, kadınlarda ise ikinci sırada yer aldığı bildirilmektedir. Şekil 2.6'da kadın ve erkeklerde KRK insidansı gösterilmektedir. Amerika birleşik devletlerinde tespit edilen kolorektal kanserlerin 2/3'ünü kolon kanseri oluşturmaktadır (Yabroff et al., 2021). 2022 yılı verilerine göre ABD'de 100 binden fazla kolon kanseri vakası ve 50 bin civarında ise rektum kanseri vakası tahmin edilmektedir (American Cancer Society, 2020).

KRK'nin yarısından fazlası gelişmiş ülkelerde görülmektedir. Bununla birlikte gelişmekte olan ülkelere yaygınlığı artmaktadır (Rawla et al., 2019). Bu artışın beslenme ve zararlı alışkanlıklarla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Alsheridah and Akhtar, 2018).

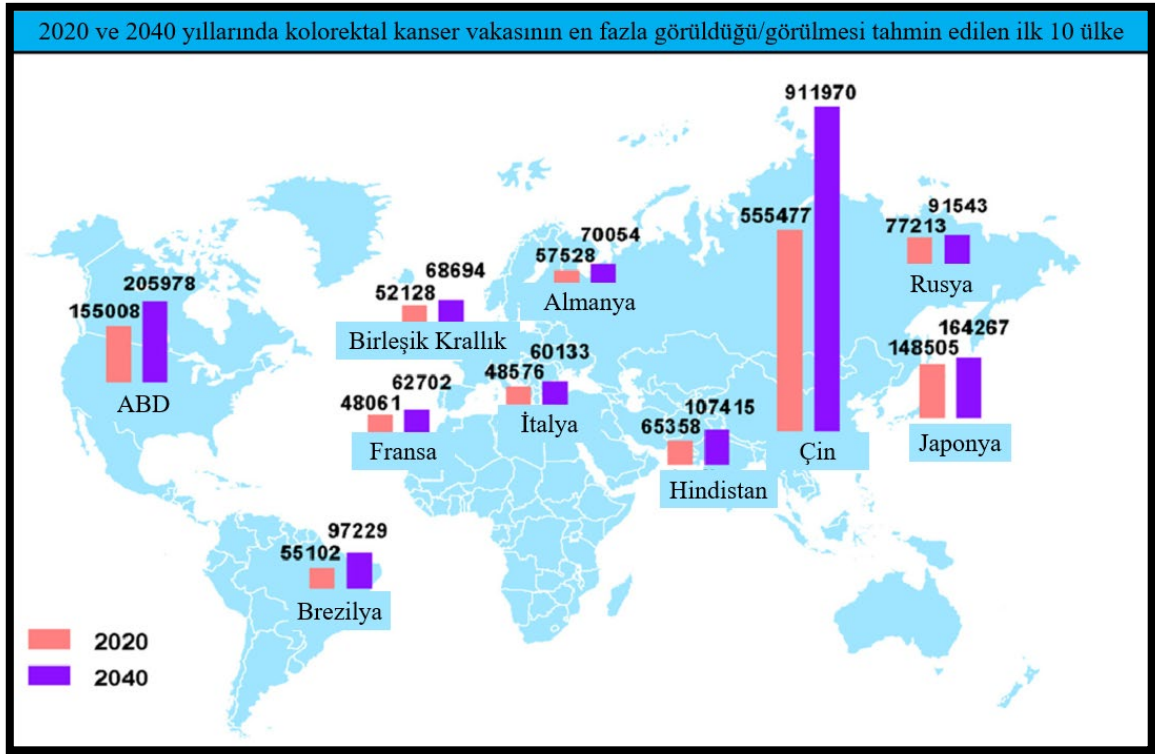


Şekil 2.6. Kolorektal kanser 2023 istatistikleri (Siegel et al., 2023)

2030 yılı için yapılan tahminlere göre KRK kaynaklı 1.1 milyon ölüm ve 2.2 milyon yeni vaka görülecektir (Ferlay et al., 2013). Başka bir çalışmada ise 2040 yılı için 3,2 milyon KRK kaynaklı ölüm tahmini bildirilmektedir (Chhikara and Parang, 2023). Nüfusun artması ve yaşlı nüfus payının artış göstermesinin KRK verilerini yukarı çekeceği değerlendirilmektedir (Araghi et al., 2019).

KRK insidansı bölgesel olarak farklılık göstermektedir (Şekil 2.7). Bu farklılığın ortaya çıkmasında genetik, beslenme ve çevresel faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (Macrae, 2016). Yapılan bir çalışmada KRK insidans ve mortalitesinin insani gelişim indeksiyle yakın ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Gelişmiş ülkelerde KRK görülme sıklığının ve ölüm oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur (Goodarzi et al., 2019). Kolonda kanserleşmenin ortaya çıkması, kişinin yaşı, cinsiyeti ve yaşadığı coğrafi konumla ilişkilidir (Zor Sönmez, 2023). KRK'nin en fazla görüldüğü ülkeler Avustralya, Yeni Zelanda gibi ülkelerdir. En az görüldüğü ülkeler ise Afrika ve Güney-Orta Asya ülkeleridir (Fitzmaurice et al., 2017).

KRK tedavisinde geliştirilen yeni tedavi yöntemlerine rağmen ölüm oranı hala yüksektir ve bu durumun en önemli sebebi hastalığın nüks etmesi ve meydana gelen metastazlardır (Fakih, 2015). KRK'nin 40 yaşından önce görülmesi nadirken, bu yaştan sonra görülme sıklığının arttığı görülmektedir. En yüksek görüldüğü yaş grubu ise 70 ve üzeri yaş grubudur (Meester et al., 2019; Lewandowska et al., 2022). Erken yaşlarda görülen KRK vakalarının kalıtsal olduğu ve çevresel faktör/yaşam tarzı gibi durumların bu durumun ortaya çıkmasında etkili olduğu anlaşılmıştır (Murphy et al., 2021). Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermektedir ki, 50 yaş altı bireylerde KRK görülme sıklığı artmaktadır (Howren et al., 2021).



Şekil 2.7. Ülkelere göre KRK görülme sıklığı tahminleri (Xi and Xu, 2021)

KRK'nin düzenlenmesinde genetik, epigenetik ve metabolik mekanizmalar görev almaktadır (Network, 2012). KRK'nin erken teşhisi semptomsuz ilerlemesi sebebiyle pek mümkün değildir. Klinik tablo, tümörün bulunduğu bölge ve büyüklüğüne bağlıdır. Ayrıca metastaz durumu büyük önem taşımaktadır (Cross et al., 2019).

Yapılan bazı çalışmalar diyetle KRK arasında sıkı ilişki olduğunu ortaya koymaktadır (Kim and Mason, 1996). Kolon ve rektumun genel sağlık durum KRK gelişimiyle yakından ilişkilidir. İmmün ve stromal hücrelerin yanında intestinal mikrobiyom ve bunlarla ilişkili olan inflamatuvar süreç KRK ile yakından ilişkilidir (Chhikara and Parang, 2023).

KRK'nin risk faktörlerine bakıldığında; Familial Adenomatöz Polipozis (FAP), MUTYH ile ilişkili polipozis, Lynch Sendromu, aile öyküsü, ülseratif kolit, Crohn hastalığı, yaş, alkol ve sigara kullanımı, kırmızı ve işlenmiş et tüketimi, obezite, diyabet gibi birçok faktörün etkili olduğu görülmektedir (Keçelioğlu, 2022). Beslenme, fiziksel aktivite, meyve sebzenin az tüketilmesi gibi faktörlerin de KRK yakalanma ihtimaliyle yakında

ilişkilidir (Fang et al., 2012). FAP kolorektal kanserlerin %1'inde görülmektedir. FAP oluşumunda 5q21-5q22 kromozomunda ortaya çıkan mutasyon sonucunda APC geninin bozulması önemli bir faktördür (Burt et al., 1995). APC geni, embriyogenezde görevli olan WNT yolağının düzenleyicileri arasında yer alır. Bu gendeki sporadik mutasyonlar KRK kanser vakalarının %60-80'inde görülmektedir (Waller et al., 2016). FAP öykülü hastalar ilerleyen dönemde ishal, karın ağrısı gibi şikayetlerle doktora başvururlar (Croner et al., 2005). Lynch sendromunda ise DNA tamirinde rol alan (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) genlerin birinde meydana gelen mutasyon sonucunda MSH2 ekspresyonu görülmez (Win et al., 2017).

Kolon kanserinin oluşması sürecinin kavranmasında adenom karsinom sekansı hipotezi yardımcı olmaktadır. Bu hipotezi destekleyen birçok kanıt bulunmaktadır. APC geninin mutasyona uğraması sonrasında epitel dokuda displazi ortaya çıkmaktadır. Sonrasında meydana gelen DNA metilasyonunda değişikliklerle erken adenom evresine geçilmiş olur. Orta evreye ise KRAS mutasyonu ile geçilmektedir. Son olarak p53 mutasyonu ile karsinom ortaya çıkar (Steele et al., 2021).

Tarama testlerinin KRK ile ilişkili ölümlerin azaltılmasında önemli etkisinin olduğu belirtilmektedir (Steele et al., 2021). Tarama testleri olarak: gaitada gizli kan testi, fekal immunokimyasal testi, çok hedefli gaita DNA testi, septin-9, rektosigmoidoskopi, kolonoskopi, Bilgisayarlı tomografi kolonografi gibi testler kullanılmaktadır (Keçelioğlu, 2022).

Kolon kanserinde genel bulgulara bakıldığında; hastaların kabız olması, dışkıda kan görülmesi, hastaların kilo kaybı, bulantı ve kusma gibi belirtiler görülmektedir. Ancak, hastalık hiçbir belirti göstermeden de ilerleyebilmektedir (McLeod and Murray, 1999).

KRK evrelemesinde yaygın olarak kullanılan evreleme sistemi, American Joint Committee on Cancer (AJCC)'nin hazırlamış olduğu TNM evreleme sistemidir. Bu sisteme göre T harfi tümörün boyutu ve yayılımını, N harfi lenf nodu yayılım durumunu, M harfi ise metastaz durumunu göstermektedir (Weiser, 2018). Ancak bu sınıflamanın yetersiz olduğun belirten kaynaklar mevcuttur (S. Kim et al., 2022).

Kolon kanseri teşhisi konulan hastalardan cerrahi ve kemoterapi sonrasında her 4 hastadan birinde hastalığın nüksettiği bildirilmiştir. Tümör dokunun heterojen yapıya sahip olmasının etkili olduğu bu sorunun aşılması için kişiselleştirilmiş tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Marisa et al., 2021). KKK tedavisinde günümüzde farklı seçenekler değerlendirilmektedir. Cerrahi, kemoterapi, radyoterapi gibi seçenekler günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (Hoffe et al., 2010; Stintzing, 2014; Vogel et al., 2022).

Kolon kanseri tedavisinde mevcut tedavilere kıyaslandığında bitkilerin daha az yan etki gösterdiği ve bir seçenek olarak değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmektedir (Samani et al., 2016). Yapılan çalışmalarda bazı bitki türlerinin hücre çoğalmasını engelleyerek ve hücreyi ölüme sevk ederek KKK riskini azalttığı tespit edilmiştir (Xavier and Pereira-Wilson, 2016).

KKK kanserlerinde doğal ürünlerin sentetik ilaçlarla birlikte kullanılması son yıllarda görülen yaygın bir tedavi yöntemidir. Bitkisel ürünlerin kanserden koruyucu ve kanser hücrelerinde sitotoksik etki göstermesi bu kullanımda büyük rol oynamaktadır (Jaganathan and Mandal, 2009).

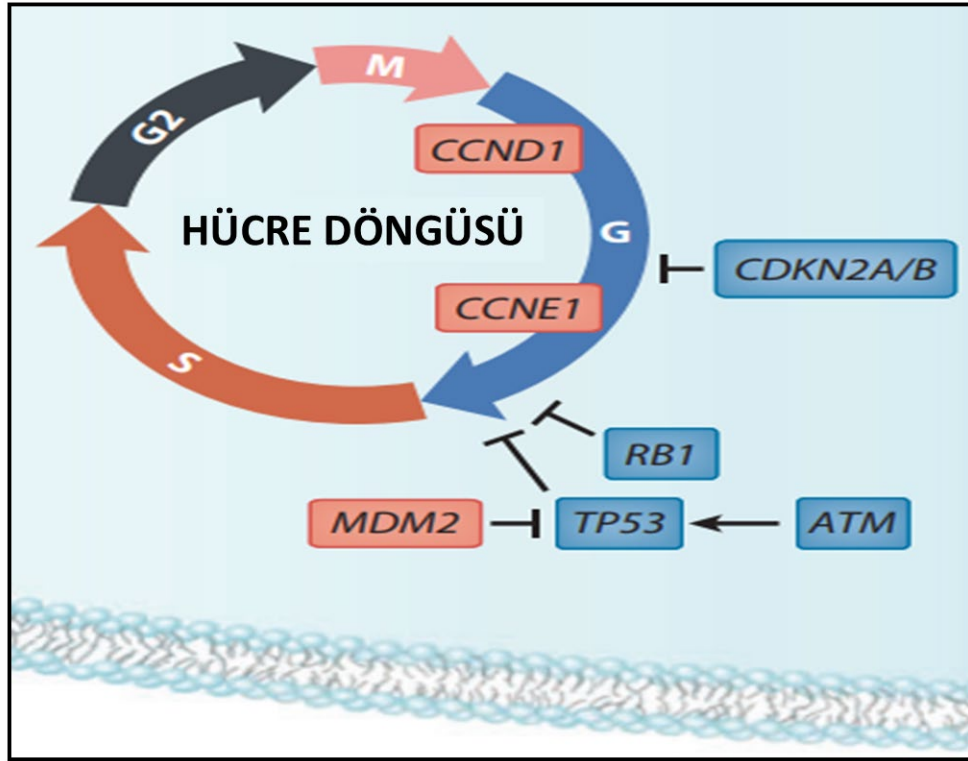
2.3. Hücre Döngüsü ve Kanser

Ökaryot hücrelerde hücre bölünmesiyle genetik materyalin yavru hücrelere aktarılması sağlanır. Bu süreç birden fazla yapının koordinasyon halinde görev aldığı karmaşık mekanizmalar ile gerçekleşir. Bölünmenin sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için siklin ve siklin bağımlı kinazlar (CDK) önemli roller üstlenir (Nakayama et al., 2001). Protein yapıda olan siklin ve CDK'ler, hücre döngüsünün kontrolünü ve devamlılığını sağlar (Murray, 2004). Kanserli hücrelerde oluşan çeşitli mutasyonlar neticesinde anormal ekspresyonlar gerçekleşir ve bunlar CDK-Siklin seviyelerinde düzensizliklere yol açar. Değişen sinyal seviyeleri farklı yolların aktifleşmesine ve kontrolsüz hücre bölünmelerine yol açar (Caon et al., 2020).

Hücre bölünmesi çeşitli fazların yer aldığı ardışık bir süreç içerir (Şekil 2.8). G1, S, G2 ve M fazlarının birbirini takip etmesiyle oluşan bu döngüde, parental hücredeki genetik

materyal gelecek nesillere aktarılır. Bu kritik sürecin hatasız bir şekilde gerçekleştirebilmesi adına çeşitli kontrol noktaları bulunmaktadır (Massagué, 2004).

Normal hücrelerde bölünme, uygun koşullar altında gerekli olduğunda gerçekleşir, ancak kanser hücrelerinde ortaya çıkan çeşitli mutasyonlar sebebiyle bölünmenin kontrolü kaybedilmiştir. Bu kontrol kaybının altında yatan ön önemli sebep, hücre döngüsünün ilerlemesinde ve kontrolünde görevli olan yapılarda meydana gelen mutasyonlardır (Aydoğan, 2022). Normalde hücre döngüsü sürecinde DNA'nın eksiksiz ve hatasız bir şekilde sonraki kuşaklara aktarılması hedeflenmektedir. Bu amaçla döngü içerisinde kontrol noktaları bulunmaktadır. Kanser hücrelerinde bu kontrol noktaları işlevini kaybetmiş olabilmektedir (Fışkın, 2002).



Şekil 2.8. Hücre Döngüsü (Chmielecki and Meyerson, 2014)

Hücre döngüsü ve yaşamsal sürecin en önemli aktörlerinden birisi p53 proteinidir. Bu proteinin sentezlenmesinden sorumlu genin, kanser vakalarının yarısından fazlasında mutasyona uğradığı belirtilmiştir (Vazquez et al., 2008). Transkripsiyon faktörü olan ve hücre döngüsünün önemli bir regülatörü olarak kabul edilen bu molekül, DNA hasarı gibi

durumlarda döngünün G1'de durdurulmasını sağlar. DNA tamirinin başarılı olması durumunda döngü devam eder. Aksi durumda hücrenin programlı hücre ölümüne sevk edilmesini teşvik eder (Bozgeyik, 2020).

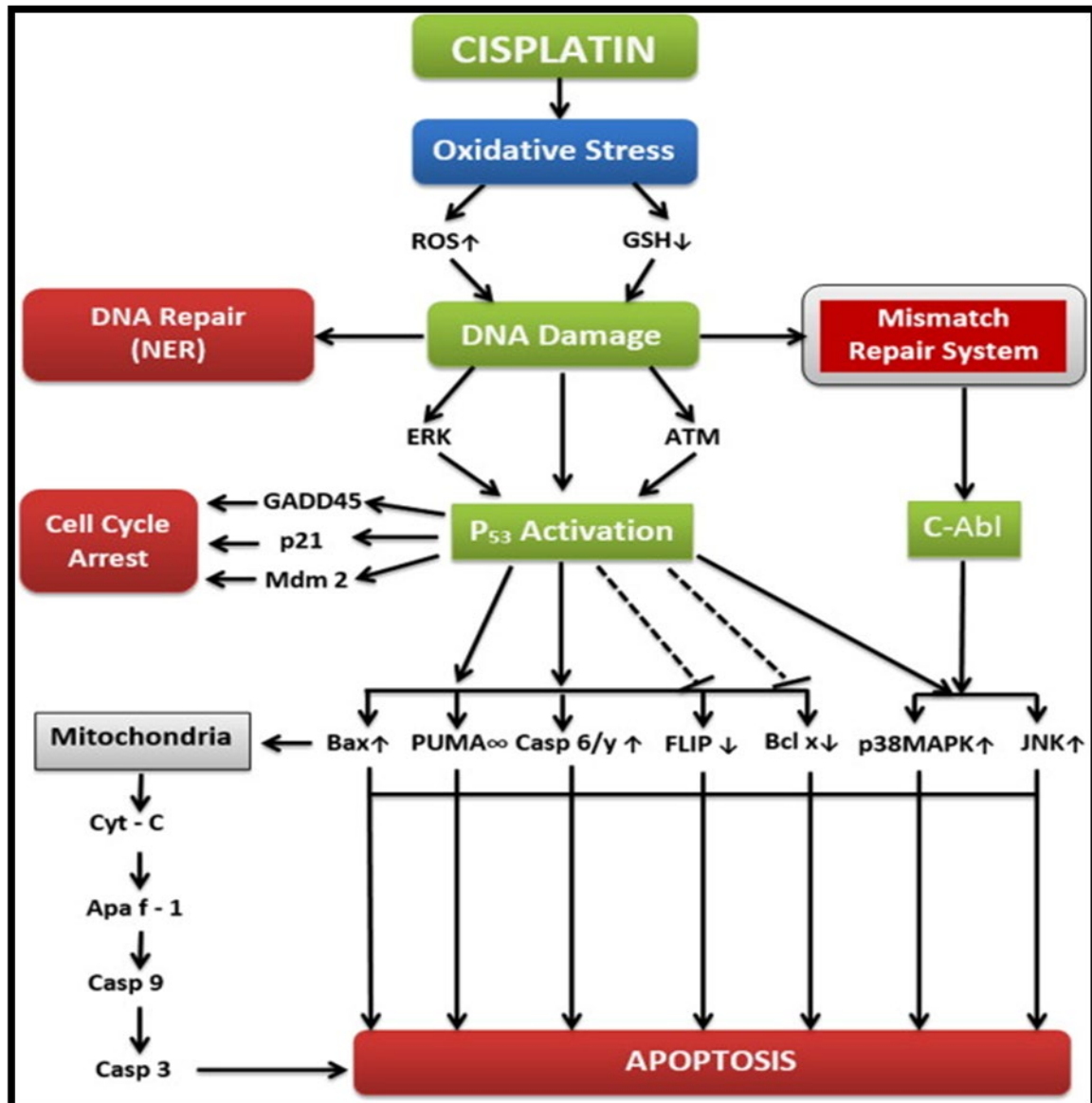
Canlıda yaşamın sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için hücrelerin çoğalması ve ölümü belli kontroller altında gerçekleşmesi gerekmektedir. Normal şartlarda denge halinde olan bu durumun bozulmasıyla kanser dâhil birçok hastalığa kapı aralanmaktadır (Lowe and Lin, 2000).

2.4. DNA Hasarı ve Kanser

DNA hasarı, genetik materyalde ortaya çıkan fiziksel veya kimyasal değişiklikleri ifade eder. Ortaya çıkan bu değişimler genetik bilginin yorumlanması ve aktarılmasını etkileyebilmektedir (Srinivas et al., 2019). Hücreler, içsel ve dışsal kaynaklı birçok strese maruz kalmaktadır. Oluşan bu stresler genetik materyal olan DNA'da hasar oluşturabilmektedir. Genomik instabilitenin oluşturacağı yıkıcı etkilerden korunmak ve organizmanın yaşamını devam ettirebilmesi için gelişmiş bir DNA hasar yanıt sistemi (DDR) bulunmaktadır (Goldstein and Kastan, 2015). DDR sisteminin canlı açısından büyük önemi vardır. Çünkü genetik materyal sürekli olarak mutasyona sebep olan değişimlere maruz kalmaktadır. Örnek vermek gerekirse; güneş ışığının UV bileşeni hücre başına günde 100 bin DNA hasarına sebep olabilmektedir. Benzer şekilde 40 yıl sigara kullanan bir bireyde hücre başına 1000 kadar DNA lezyonu olduğu tahmin edilmektedir. Bu hasarların tespiti ve onarımı için gelişmiş sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Organizmada bu ihtiyaç ileri derecede organize olmuş DNA hasar tespit ve onarım sistemleri ile sağlanmaktadır (Lord and Ashworth, 2012). Hücrelerde mutasyon, DNA replikasyonu sırasında ortaya çıkan hatalar veya oluşan hataların uygun bir şekilde onarılmaması sonucunda oluşmaktadır. Oluşan mutasyonlar bölünme anlamında hücrelere avantaj sağlayabilmektedir. Bu mutasyonların önlenmesi için organizmada çok katmanlı onarım sistemleri evrimleşmiştir (Choi and Lee, 2022).

Kanser tedavisinde DNA tamir ve tespit sistemleri klinik fayda anlamında birer terapötik hedef olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla çeşitli kemoterapik ajanlar geliştirilmiştir. Bunun yanında fiziksel olarak da DNA hasarı oluşturup kanser hücrelerinin ölümü

hedeflenmektedir. DNA tamir sistemlerindeki kusurlar kanserin prognozu açısından bilgi verebildiği gibi seçilecek tedavi yöntemi hakkında yol gösterici olabilmektedir (Goldstein and Kastan, 2015). Cisplatin, kanser tedavisinde DNA hasarı veren ajanlar arasında bulunmaktadır. Sitoplazmaya girdiğinde su ile reaksiyona girerek aktifleşen cisplatin, çekirdekte DNA sarmalları arasında çapraz bağlanmalar oluşturur. Ortaya çıkan DNA hasarı neticesinde hücre döngüsü G2 fazında durur. Hasar şiddetli ise hücreler programlı ölüme yönlendirilir (Torgovnick and Schumacher, 2015).



Şekil 2.9. Cisplatin etki mekanizması (Dasari and Bernard Tchounwou, 2014)

Şekil 2.9’da cisplatinin etki mekanizması görülmektedir. Cisplatinin ortaya çıkardığı etki oksidatif stresin artmasının sonucunda meydana gelen DNA hasarıdır. ROS, çoğunlukla çift zincir kırıklarına yol açarak genotoksik etkiye sebep olmaktadır. Kanser tedavisinde ROS’u modüle eden ajanların kullanımı yaygınlığını korumaktadır (Srinivas et al., 2019).

2.5. Apoptoz-Otofaji

Hücrelerin kontrollü olarak ölmesi olarak tanımlanan apoptoz organizmanın yaşam sürecinde ortaya çıkan doğum, büyüme, yaşlanma süreçlerinin dahil olduğu birçok önemli olayda etkin olarak görev almaktadır. Doku ve organların oluşması, iç dengenin sağlanması, hücrelerin ölmesi apoptoz ile sağlanır (Obeng, 2020). Yunanca “apo” sözcüğü ile düşme anlamına gelen “ptoz” kelimelerinin birleşmesi ile oluşan apoptoz ifadesi ilk olarak 1972 yılında hücre ölümünün bir çeşidini ortaya koymak amacıyla söylenmiştir. Bununla birlikte milattan önce tıbbın atası olarak bilinen Hipokrat tarafından apoptoz için “parçaların kemik üzerinden düşmesi” tabiri kullanılmıştır (Kerr et al., 1972). Apoptoz kavramının şekillenmesi *Caenorhabditis elegans* canlısının incelenmesi ile oluşmuştur. Bu canlıda yeni bireylerin oluşabilmesi için bazı hücrelerin ölmesini ihtiyaç duyulmaktadır. Bu hücreler, programlanmış bir şekilde kontrol altında ölmektedir. Apoptoz, bu sebeple, hücrelerin ölümünün programlanmış şekli olarak tanımlanmaktadır (Formigli et al., 2000).

Hücrelerin ölümü temel olarak nekroz ve apoptoz olmak üzere iki yol üzerinden gerçekleşmektedir. Travma gibi durumlar sebebiyle ortaya çıkan hasarlar nekroza sebep olurken iç ve dış faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan programlı ölümler ise apoptoz ile sonuçlanmaktadır (Aydoğan, 2022). Hücrelerin ölümü programlı ölüm dışında travma sonrasında rastgele olabilir. Buna nekroz denilmektedir. Gelişmiş organizmalarda ise gerek embriyonik gelişim sürecinde gerekse doku ve organ gelişim sürecinde programlanmış bir hücre ölümü olan apoptoz söz konusudur (Nikolopoulou et al., 2013). Apoptoz canlının olağan yaşam sürecinde gelişme ve yaşlanmayı sağlayan bir süreci ifade eder. Ayrıca hastalıklara karşı savunma mekanizmasında önemli görevler alır (Norbury and Hickson, 2001).

Apoptoz organizmanın doku homeostazının sağlanması ve devam ettirilmesinde etkili olan planlı bir intihar yöntemidir. İnsan dahil olmak üzere birçok organizmada gelişim ve

onarım sürecinde sürekli olarak ihtiyaç duyulan bir mekanizmadır. Anormal hücresel çoğalmanın engellenmesinde önemli rol oynar. Kanseri hücrelerinin vücut için bir korunma mekanizması olan bu sistemden kaçabilmesi için sağlıklı hücrelerden farklı bir takım özellikler kazanması gerekmektedir (Shivapurkar et al., 2003).

Apoptotik süreçte etkili olan kaspaz ailesi, başlatıcı kaspazlar (kaspaz 8-9-10) ve efektör kaspazlar (kaspaz 3-6-7) olarak ikiye ayrılmaktadır (Van Opdenbosch and Lamkanfi, 2019).

Kanser tedavilerinde kanser hücrelerinin ölmesini sağlayan en önemli mekanizmalardan birisi hücrelerin kontrollü ölümü olarak isimlendirilen apoptoz mekanizmasıdır (Danial and Korsmeyer, 2004). Kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerle hücrelerin DNA'sında hasar ortaya çıkar. Hasar neticesinde p53'le ilişkili yolların aktivasyonu gerçekleşir ve hücreler programlı ölüme yönlendirilmiş olur (Elmore, 2007).

Apoptotik süreçte hücrelerin küçülmesi, kromatin yoğunlaşması, DNA fragmentasyonu ve apoptotik cisimlerin oluşması gibi çeşitli morfolojik değişimler ortaya çıkar. Hücre membranından salgılanan fosfatidilserin, hücrelerin fagozite edilmesini sağlar (Jeong et al., 2022). Apoptotik sürecin başlamasında içsel ve dışsal yollar bulunur. İçsel yollar hücre içi hedefler üzerinden etkinliğini gösterir. Bcl-2 ailesi, mitokondrinin dış membran bütünlüğünü etkiler Dışsal yollarla, hücre membran proteinlerince başlatılan bir süreci ifade eder. TNF α , Fas (CD95/APO1) ve TRAIL (TNF ilişkili apoptozis indükleyici ligand) ölüm reseptörleri bu süreçte görev almaktadır (Green, 2022). Apoptozis, 3 pathway ile gerçekleşir. Bunlar içsel, dışsal ve perforin/granzim olarak bilinmektedir. Apoptotik sürecin tüm yollarında çeşitli işlemlerin ardından kaspaz 3'ün aktivasyonuna yol açar. Bunun sonucu olarak; endonükleaz aktivasyonu, DNA degradasyonu, kromozomal değişiklikler ve nükleer fragmentasyonu ortaya çıkar (Elmore, 2007).

Organizmanın gelişiminde ve doku homeostazının devam ettirilmesinde önem taşıyan apoptoz, kanser oluşma sürecinde etkinliğini çeşitli sebeplerle yitirerek tümör dokunun hayatta kalmasını ve büyümesini desteklemektedir (Mohammad et al., 2015).

Kanser tedavilerinde önemli hedeflerden birisi kanserli hücrelerin apoptoza yönlendirilerek hücre havuzunda elimine edilmesidir. Bu amaçla hücresel stres ve genetik

materyalde hasar oluşturulması sağlanır. Apoptozun kanser tedavisinde kullanılmasının yanında tümör büyümesini engellemek amacıyla çeşitli kinazların kullanımı konusunda önemli aşamalar kat edilmiştir (Mohammad et al., 2015; Singh and Lim, 2022).

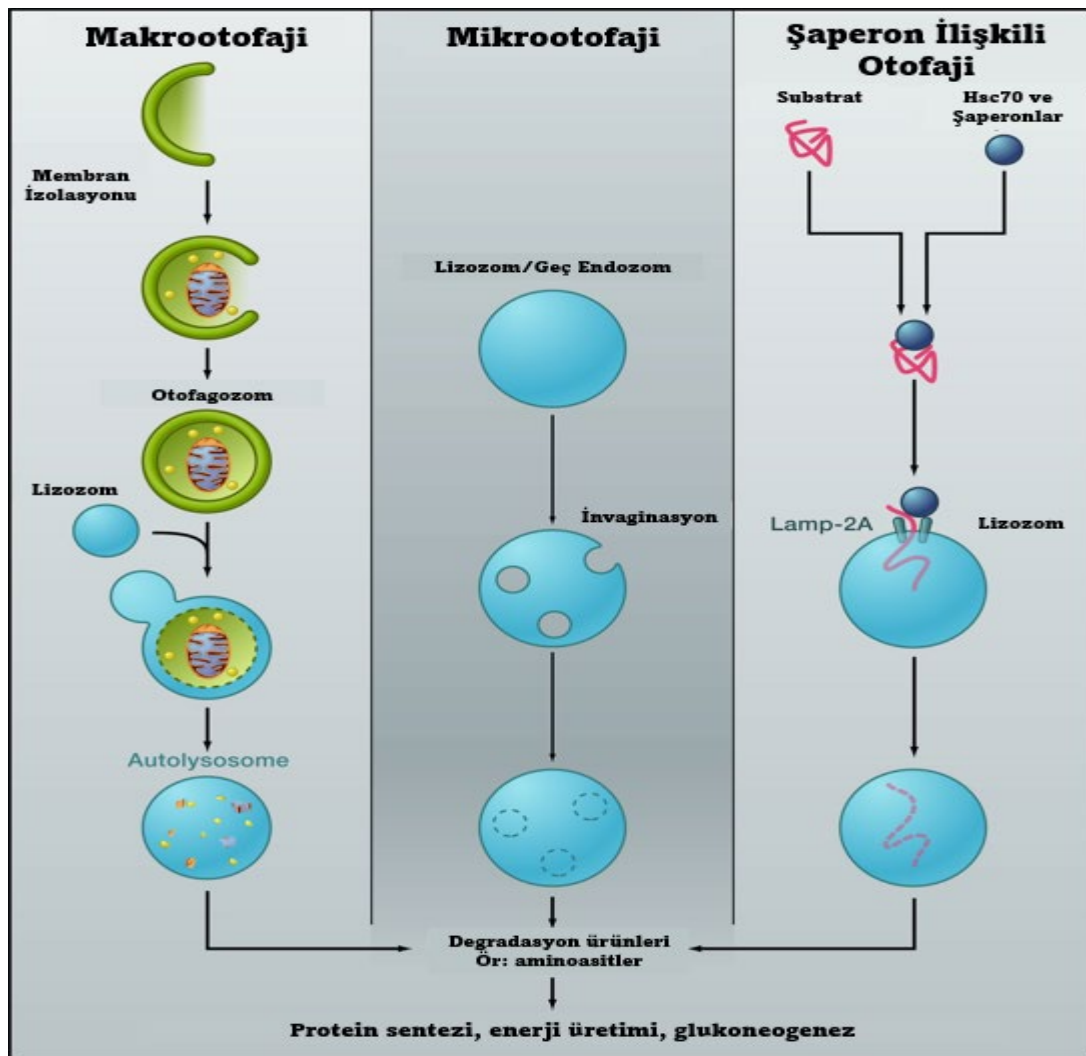
Kanser hücrelerinin tedaviye karşı geliştirmiş olduğu en önemli mekanizmalardan birisi apoptotik süreci yavaşlatma/durdurmasıdır. Bu durum, tümör dokunun büyümesine sebep olur. Kanser tedavisinde etkinliğin azalmasına sebep olan bu direnç mekanizmalarında hangi yolakların etkili olduğunun anlaşılması büyük önem taşımaktadır (Fulda, 2009).

Kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerin çoğu neoplastik hücrelerde apoptozu ind klemeyi hedeflemektedir. Bu sebeple kaspazların kanser tedavisinde ve ilaç direncinde rolü yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Nicholson and Thornberry, 1997).

Kendi kendini yeme anlamına gelen otofaji, hücrenin kendi bileşenlerini dönüştürdüğü bir yıkım sürecini ifade eder. Yıkım sonrasında ortaya çıkan metabolitler, makromoleküllerin sentezi için yapı taşı olarak kullanılmaktadır (Boya et al., 2013). Otofaji, hücrelerde organellerin hasarlı olması veya hücre içinde zararlı maddelerin bulunması durumunda bunların lizozomlarda parçalanmasını sağlayan ve bu şekilde hücrenin korunmasını sağlayan bir süreçtir (Mizushima and Komatsu, 2011).

Otofaji; sitoplazmik makromoleküllerin, kümelenmiş proteinlerin, hasarlı organellerin lizozomal hidrolazlar tarafından sindirildiği, evrimsel olarak korunmuş katabolik bir hücre içi bozunma sürecidir (şekil 2.10). Otofaji kavramı ilk olarak 1963 yılında Belçikalı bilim insanı Christian de Duve tarafından bir sempozyumda tanımlanmıştır ve bu tanımlama kendisine 1974 Nobel  d l nde yer bulmasını sağlamıştır. Otofaji denilince akla genellikle makrotofaji gelmektedir. Ancak, mikrotofaji ve şaperon ilişkili otofaji olmak üzere iki çeşit otofaji türü daha bulunmaktadır. (X. Li et al., 2020). Makrotofajide ara organel olan otofagozomlar kullanılır. Otofagozomlar lizozomla birleşerek otolizozom haline gelir ve içindeki materyalleri degrade eder. Mikrotofajide lizozom, sitoplazmada bulunan küçük bileşenleri lizozomal membranın i e çökmesiyle alır. şaperon aracılı otofajideyse membran düzenlemesi bulunmaz. Bunun yerine substrat proteinleri lizozomal membran boyunca yer değiştirir (Mizushima and Komatsu, 2011).

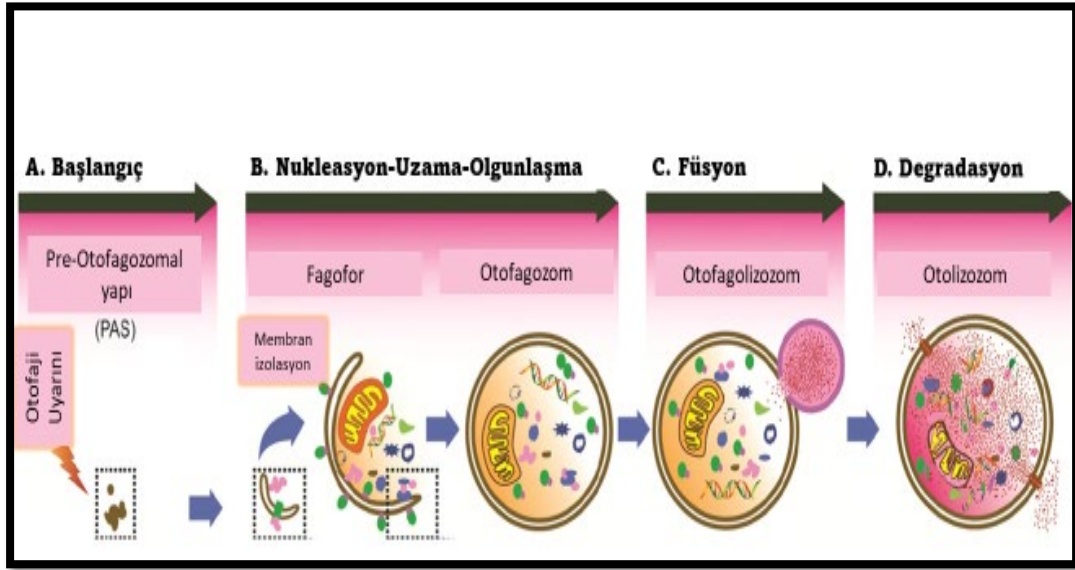
Otofaji her ne kadar memeli canlılar için büyük önem taşısa da otofajinin moleküler mekanizmasına ait çalışmalar daha çok mayalar üzerinde yapılmıştır. 30'un üzerinde tanımlanmış ATG (otofaji ile ilişkili genler) bulunmaktadır (Glick et al., 2010). Otofaji, hasar görmüş, yaşlanmış organel ve proteinlerin ortadan kaldırıldığı hücre içi bir degradasyon sürecidir (Cao et al., 2021). Otofaji, ATG olarak isimlendirilen genlerin ürünü olan proteinler aracılığıyla gerçekleşen bir hücresel denetim sürecidir (Mizushima et al., 2011). Otofaji sürecinde basamaklar halinde devam eden bir dizi reaksiyon zinciri bulunmaktadır ATG proteinleri bu süreçte görev almaktadır (Li et al., 2020).



Şekil 2.10. Otofaji türleri (Mizushima and Komatsu, 2011)

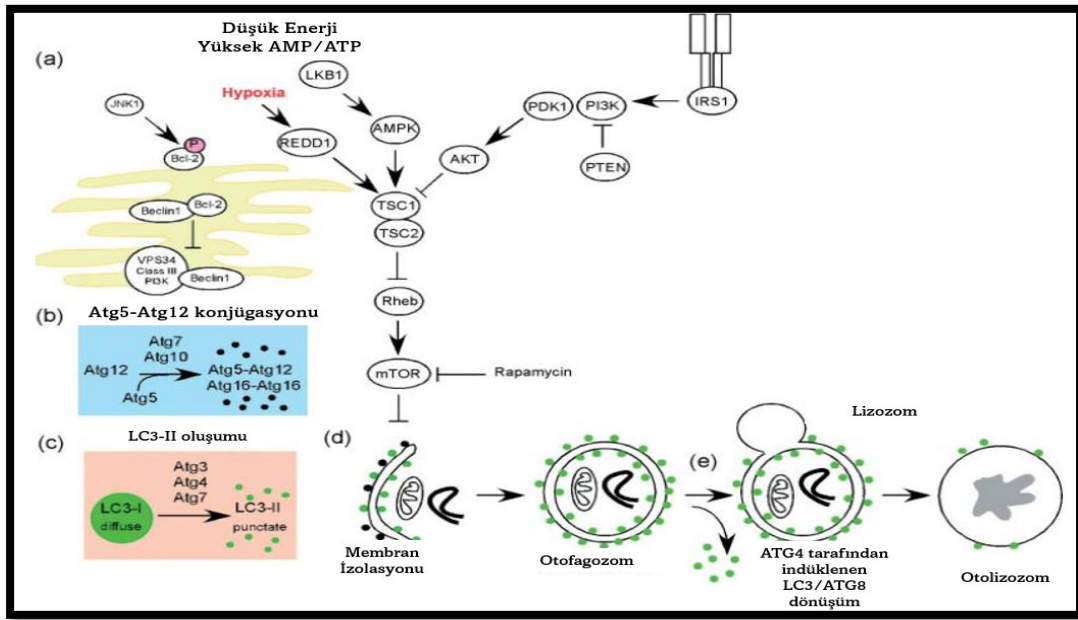
Patojenlerin ve apoptoza uğramış hücrelerin ortadan kaldırılmasında görev alan otofaji, kanser hücrelerinin ortadan kaldırılmasıyla ilişkilendirilmektedir (Chaabane et al., 2013).

Otofaji mekanizmalarında hasar bulunan farelerin tümör oluşumuna daha yatkın olduğu tespit edilmiştir (Qu et al., 2003).



Şekil 2.11. Otofaji Süreci (X. Li et al., 2020)

Otofaji deregülasyonu ile kanser dahil birçok hastalığın ortaya çıktığı bilinmektedir (Ravikumar et al., 2010). Otofajinin birçok faydalı yönünün olmasının yanında hücre hasarına sebep olabileceği belirtilmektedir. Otofajinin tümör oluşumun engellediği ve tümör ilerlemesini sınırladığı belirtilmektedir (Boya et al., 2013; Folkerts et al., 2019). Şekil 2.11’de otofaji sürecinin aşamaları, Şekil 2.12’de otofajide etkili çeşitli proteinler gösterilmektedir.



Şekil 2.12. Otofajide etkili proteinler (Glick et al., 2010)

2.6. Anjiyogenez

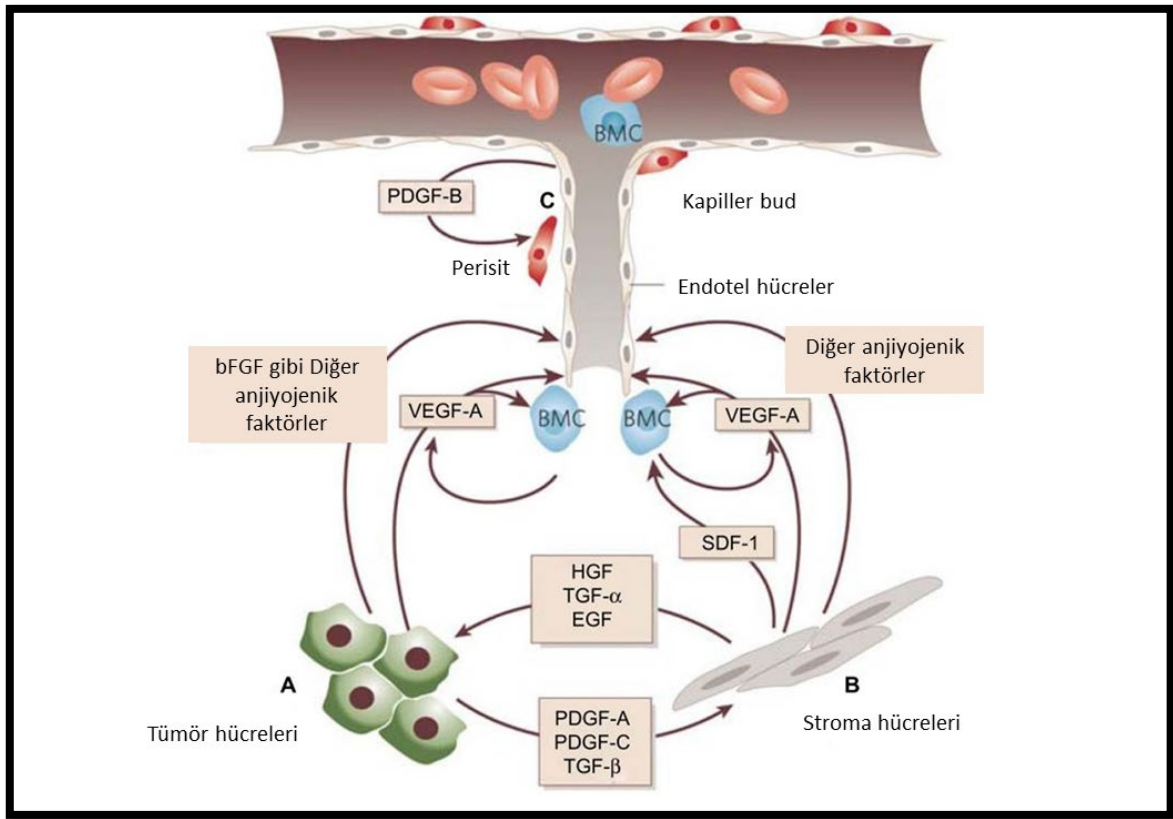
Anjiyogenez var olan damarlardan yeni damarların oluştuğu bir süreci ifade eder. Bu süreci tetikleyen ve inhibe eden etkenler arasında sıkı bir denge vardır. Normal şartlarda anjiyogeneze yalnızca yaraların onarımı, dişilerde üreme döngüsü ve embriyonik gelişim sürecinde rastlanılır. Kanser hücrelerinin hızlı büyümesi sebebiyle ortaya çıkan ihtiyaçların karşılanması adına yeni damarlara gereksinim duyduğu bilinmektedir. Kanser hücrelerinin yaşamını sürdürmesi ve farklı bölgelere ulaşabilmeleri için vaskülarizasyon büyük önem taşımaktadır (Folkman, 1971, 1984). Yeni oluşmuş vasküler yapılarda endotel hücrelerin yaşamlarını sürdürebilmeleri için Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) varlığı zorunludur. Güçlü bir anjiyojenik protein olan VEGF damar permeabilitesini artırır (Connolly et al., 1989). Gelişim ve iç dengenin sağlanması için gerekli olan bu doğal mekanizma, aynı zamanda kanser dokunun büyümesi ve gelişmesi sürecinde etkin rol oynamaktadır (Mousa et al., 2014). İnsan vücudundaki damar ağı hücelere besin ve oksijen sağlamakla görevlidir. Tümör dokunun büyümesinde oksijen kritik rol oynamaktadır. Hızlı bir büyüme sürecinde kanser hücreleri daha fazla oksijen temini için önem taşıyan hipoksi yaşamaktadır (Zhao and Hu, 2013).

Kanserli dokularda ortaya çıkan anjiyogenez, tümör dokunun büyümesi ve çevresel dokulara yayılması için gereklidir. Bu süreçte var olan damarlardan yeni damarların oluşması söz konusudur (Lugano et al., 2020). Oluşan yeni damarlar, gelişmekte olan tümör dokuya oksijen ve besin temin eder. Çevre dokulara metastazın gerçekleşmesini sağlar (Teleanu et al., 2019). Anjiyogenez sürecinde avasküler tümörler, daha hızlı büyüme ve kendileri için gerekli olan kan kaynağına ulaşma fırsatı bulabilir. Neovaskülarizasyon sürecinde hücreler metastatik potansiyel kazanabilir (Holmgren et al., 1995).

Anjiyogenez sürecinin önemli üç adımı vardır. Bunlar; endotel hücrelerin proliferasyonu, hücre dış matrisinin parçalanması ve endotel hücrelerin migrasyonudur (Denijn and Ruiter, 1993). Vaskülarizasyon sürecinde prevasküler ve vasküler olmak üzere iki faz bulunmaktadır. Bu fazda meydana gelen reaksiyonlar vaskülarizasyona yol açmaktadır. Kanser hücreleri anjiyojenik fenotipe dönüştüğünde endotelyal hücrelerin fenotipik değişikliğini tetikleyebilmektedir (Hanahan and Folkman, 1996).

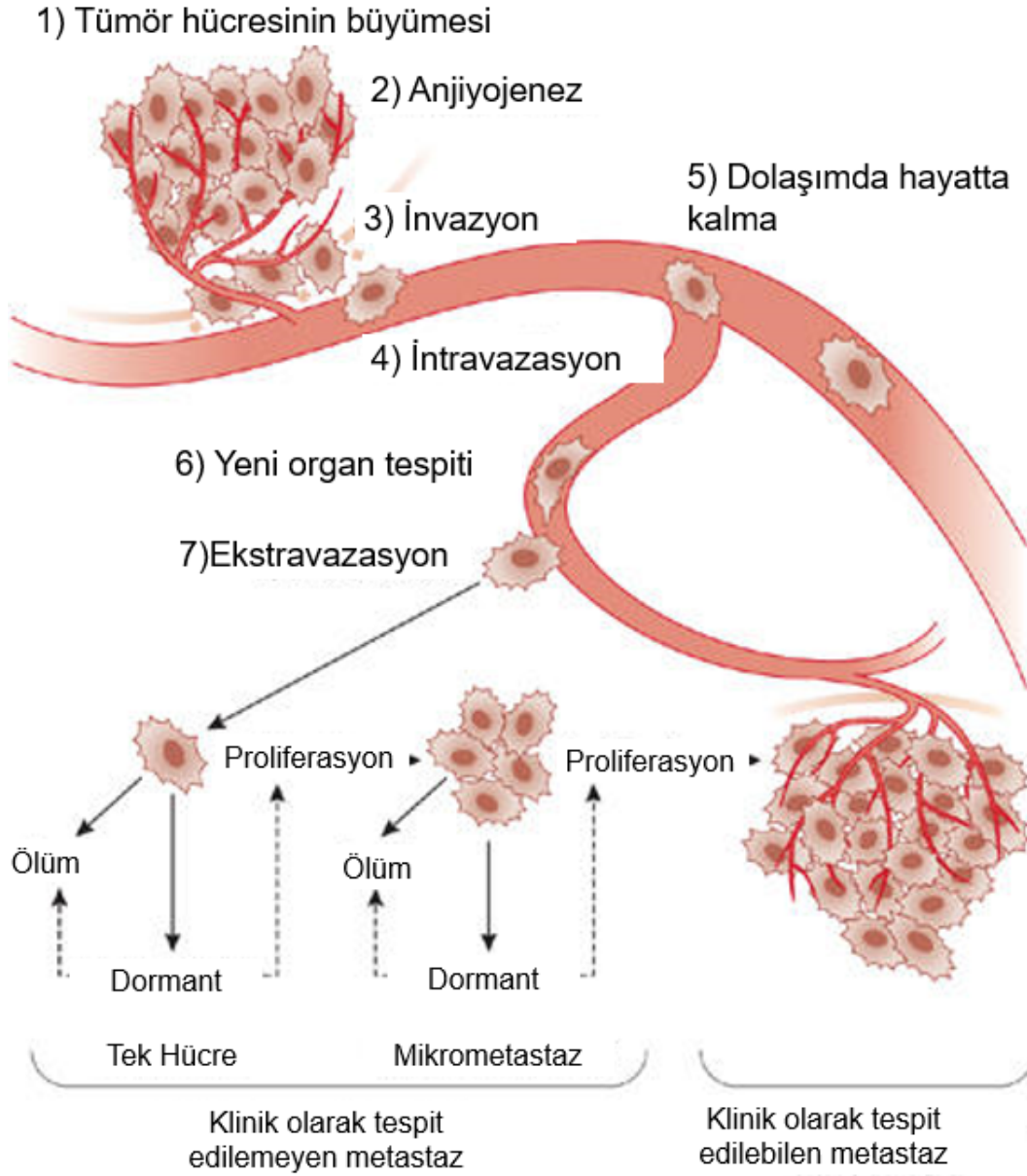
Şekil 2.13'te VEGF etki mekanizması gösterilmiştir. Anjiyogenezin oluşması için kimyasal uyarım gereklidir. Bu uyarım VEGF, nöropilin ve integrin gibi çeşitli büyüme faktörleri ve proteinler tarafından sağlanır. Sinyal proteini olan VEGF vasküler geçirgenliği artırır. Kanserleşme sürecinde farklı tirozin ve tirozin olmayan kinazlara bağlanarak etki gösteren VEGF karşıtı inhibitörlerin geliştirilmesi anti-kanser tedavi yaklaşımlarından birisini oluşturmaktadır (Nishida et al., 2006; Parveen et al., 2019). KRK kanserlerinin de yer aldığı çeşitli kanser türlerinde VEGF seviyesinin hastalığın prognozunda önemli etkisi olduğu ortaya çıkmıştır (D'Haene et al., 2018). VEGF altı üyeden oluşmaktadır. VEGF dışında plasenta büyüme faktörü, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve VEGF-E gibi üyeler barındıran bu aile dimerik glikoprotein yapısında salgılanır. Bu glikoproteinler aynı zamanda büyüme faktörlerinin bir üyesidir (McDonald and Hendrickson, 1993; Pötgens et al., 1994; Neufeld et al., 1999).

Yapılan bazı çalışmalar ortaya koymuştur ki, VEGF kanser hastalarının prognozunda önemli bir role sahiptir. VEGF seviyesinin yüksek olması kötü sağkalım ile ilişkilendirilmektedir (Mashima et al., 2021).



Şekil 2.13. VEGF etki mekanizması (Tomao et al., 2014)

VEGF'nin fazla salınması tümör hücrelerinin çoğalması dahil çeşitli hastalıkların oluşmasında ana faktör olarak gösterilmektedir (Bell et al., 1999). Tümörün oluşmasında gerekli bir adım olan anjiyogenezin oluşabilmesi için VEGF aktivitesine ihtiyaç duyulmaktadır (Silvestre, 2013). Şekil 2.14'te metastaz oluşum aşaması gösterilmiştir. Metastaz ve anjiyogenez süreci birbirini yakından etkilemektedir.



Şekil 2.14. Metastaz oluşum şeması (McGee et al., 2006)

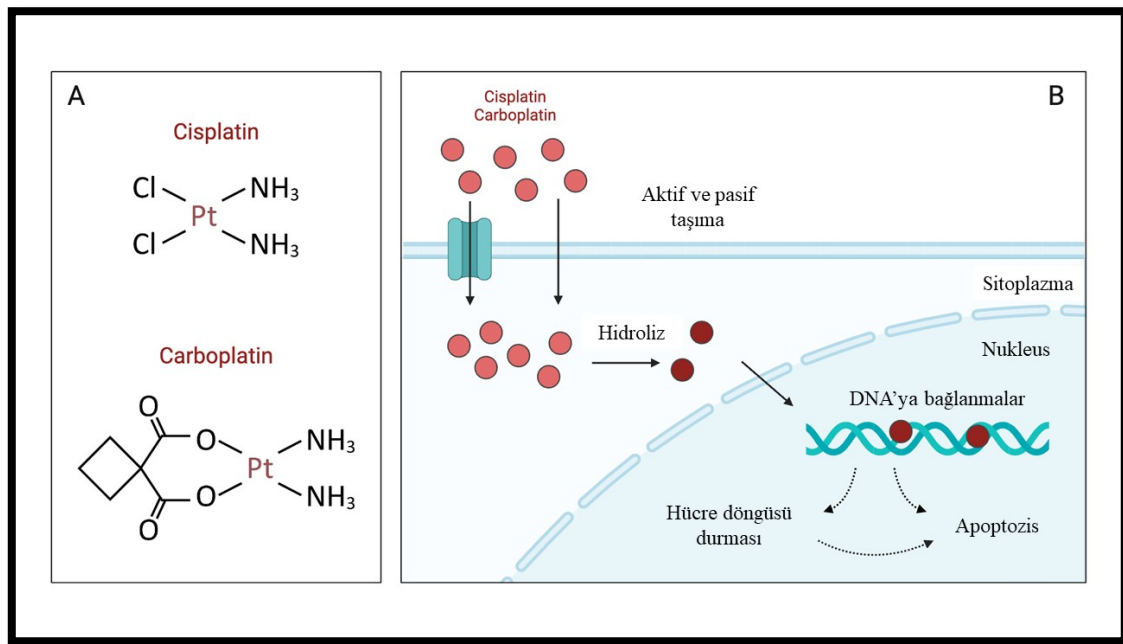
2.7. Cisplatin

Alkilleyici ajanlar; DNA'ya kovalent olarak bağlanan, DNA zincirleri arasında molekül içi ve moleküller arası bağlantılar oluşturan, bu suretle çift zincir ve tek zincir kırıklarına yol açan kimyasal reaktiflerdir. Bu moleküller kanser tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Platin içerikli moleküllerden cisplatin, karboplatin ve oksaliplatin günümüzde kemoterapi ajan olarak kullanılan yaygın ağır metallerdir (Gold and Raja, 2023). Platin bileşikler, muhtelif antikanser ilaçlardan organik türevli olması ve geniş spektrum özelliğine sahip

olması sebebiyle ayrılmaktadır. Bu bileşiklerden tedaviye dahil olan ilk ürün cisplatindir. Solid tümörlerin tedavisinde sıklıkla kullanılır. İlk olarak 1970 yılında bakteride büyüme inhibitörü olarak kullanılmıştır. Bilim insanları platin elektrotları üzerinde elektrik potansiyeli oluşturulunca hücre bölünmesinin durduğunu fark etmişler. Daha sonra yapılan çalışmalarla birçok kanser türünde kullanımı yaygınlaşmıştır (Şentürk, 2020).

Ağır metaller arasında yer alan platin önemli bir anti-kanser ajandır. Bu ajanın anti-kanser ve anti-bakteriyel özelliği E. Coli üzerinde yapılan deneylerde tesadüfen tespit edilmiştir. Genel olarak platinin de üyesi olduğu VIII. Grup metaller, sitotoksik özelliklere sahiptir. Platin grubu kemoterapik ajanlar, Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Sabuncuoğlu and Özgüneş, 2011).

DNA'ya bağlanarak anti-neoplastik özelliğini gösteren cisplatın, alkilleyici özelliğe sahip platin grubu bir antikanser ilaçtır. Alkil özelliği sebebiyle DNA iç sarmallarında çapraz bağlantılar oluşturarak kırıklar oluşmasını sağlar (Şekil 2.15). Oluşan DNA hasarı sebebiyle hücreler apoptoza yönlendirilmektedir (Scagliotti and Vokes, 2018).



Şekil 2.15. Cisplatın ile DNA hasarı oluşumu (Dasari and Bernard Tchounwou, 2014)

Cisplatin hücre içine geçerek direk olarak DNA'ya bağlanır ve bu yaşam molekülünün yapısını değiştirerek zincirler arasında çapraz bağlar oluşturur. DNA'da oluşan bu çapraz bağların sayısı arttıkça oluşabilecek kırık sayısı, dolayısıyla hasar miktarı artmaktadır. Hem mitokondriyal hem de çekirdek DNA'sına bağlanma özelliğine sahiptir. Mitokondriyal DNA'nın onarım sistemine sahip olmaması sebebiyle oluşan hasarlar, mitokondride fonksiyon bozukluğu, enerji metabolizmasında bozulmalar, oksidatif ürünlerin artması gibi sonuçların ortaya çıkmasına sebep olur. Apoptozun başlamasında önemli yeri olan intrinsik faktörlerin aktifleşmesiyle hücre apoptoza yönelir (Ünay, 2022).

Cisplatin, dünya genelinde solid kanser türlerinden testis, yumurtalık, baş-boyun, akciğer ve lenfoma dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir anti-neoplastik bir ajandır. Etkisini birçok mekanizmayla göstermektedir. Bu mekanizmalar arasında en çok kabul gören; pürin bazları arasında oluşturduğu köprü aracılığıyla meydana getirdiği DNA lezyonlarıdır. Bu lezyonlar neticesinde hücreler çeşitli yolların aktivasyonu ile apoptoza gider. Cisplatin tedavisinde ortaya çıkan ilaç direnci ve yan etkiler ilacın kullanımında önemli bir limitasyon oluşturmaktadır. Bu yan etkilerin azaltılmasında, kombine tedavilerin tercih edilmesi umut vaat etmektedir (Ghosh, 2019). Cisplatin, hücreye girdiğinde yaşamsal molekül olan DNA'da 7. azota bağlanır. Replikasyon ve transkripsiyon süreçlerinde DNA'da oluşan bu çapraz bağlantılar, kırılmalara yol açar. Artan DNA hasar neticesinde hücre döngüsünün durması veya apoptozis süreci başlatılır. Hücrenin ölümüne yol açan bu süreçte, NER (Nücleotide Excision Repair) mekanizmasının yetersiz kalmasının etkili olduğu belirtilmektedir. Bu etkili kemoterapik ajana karşı gelişen dirençte; azalmış hücresel alım, artmış hücresel dışı atım, gelişmiş hücresel inaktivasyon ve artmış DNA hasar toleransının etkili olduğu bildirilmektedir. (Skowron et al., 2018).

Cisplatinin hücrede sitotoksik olmasının sebebi oksidatif stres oluşturması, inflamasyon ve apoptozise yol açmasıdır. Hücrelerde 4 aya kadar uzun süre bulunma özelliğine sahiptir. Diğer alkilleyici ajanlar gibi DNA hasarına sebep olarak hücre büyümesinin-çoğalmasının önüne geçmektedir (Chen et al., 2013).

Yapılan araştırmalara göre cisplatin tedavisiyle hücrelerde primer ve sekonder etkiler ortaya çıkmaktadır. Çekirdek hasarı, ribozomal bozuklukların oluşması, mitokondride

glutatyon bozulması primer etkiler grubuna girmektedir. Hücrelerde görevli taşıyıcı proteinlerin inaktive edilmesi, lipid peroksidasyon oluşturmaları, membran potansiyelini bozması gibi etkiler ise sekonder etkiler olarak ifade edilmektedir (Şentürk, 2020).

Her ne kadar cisplatin birçok kanser türünde tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılsa da diğer kemoterapik ajanlar gibi direnç ve istenmeyen toksisitenin gelişmesi önemli sorun oluşturmaktadır. Cisplatinin sadece DNA'ya değil, diğer moleküllere de tutunmaktadır ve bu çeşitli problemlerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Makovec, 2019). Cisplatin tedavisinde ortaya çıkan önemli problemlerden birisi de nefrotoksisitedir. Alınan cisplatin böbreklerde filtre edilir. Bunun sonucunda böbreklerde yüksek miktarda cisplatin konsantrasyonu oluşur. Akut ve kronik böbrek hasarına yol açan bu durum kişilerin yaşamsal fonksiyonlarını etkileyen bir tablo ortaya çıkarmaktadır. İleri yaştaki hastalarda ortaya çıkan hasarın bu çok daha fazla olduğu bildirilmektedir (Pabla and Dong, 2008; Tang et al., 2022). Cisplatin ile yapılan tedavilerde böbrek fonksiyonlarının bozulduğu, glomerüler filtrasyonun azaldığı, serum kreatin düzeyinin yükseldiği ve iskemik-nekrotik hasarın olduğu tespit edilmiştir. Cisplatin ile bitkisel kaynaklı ürünlerin birlikte kullanımının bu olumsuz durumların önüne geçebileceği ifade edilmektedir (Birinci et al., 2021; Gür and Özkanlar, 2021).

Cisplatinin kemoterapide kullanımının önündeki en önemli engellerden bir diğeri yan etki olarak karaciğer toksisitesine yol açmasıdır. Yapılan çalışmalarda cisplatin kaynaklı yan etkilerin azaltılmasında bitkisel ürünlerin kullanımının koruyucu etki ortaya çıkardığı tespit edilmiştir (Abd Rashid et al., 2021). Bu kemoterapik ajanın kullanımında ayrıca kemoresistans, plazma proteinleri ile yüksek seviyede etkileşim içine girmesi ve sınırlı hücre alımının olması diğer problemler olarak bilinmektedir (Date et al., 2022).

2.8. Fitoterapi

Doğada canlı bir organizma tarafından üretilen kimyasal ürünlere doğal bileşik denilmektedir. Bunu üreten bitki, mantar veya bir deniz canlısı olabilmektedir (Dias et al., 2012). Bitkisel ürünler antik çağdan beri birçok alanda terapötik ajan olarak kullanılmaktadır ve modern sağlık dünyasında bitkilerden önemli bir kaynak olarak hala faydalanılmaktadır. Çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların tasarımında

bitkilerden ilham alındığı belirtilmektedir (Wani et al., 2016). Hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde sebze, meyve, ot ve kabuklu yemiş gibi bitkisel ürünlerin önemli etkileri olduğu bildirilmektedir (Kaparapu et al., 2020). Bitkilerin kullanımı farklı şekillerde olabilmektedir. Bazen ürünün doğal hali kullanılırken bazen de kimyasal sentez yoluyla özelliği değiştirilmiş-geliştirilmiş hali kullanılmaktadır (Roche et al., 2019).

Birçok hastalığın tedavisinde ve engellenmesinde kullanılan antioksidan moleküller, bitkilerin yapılarında yüksek oranda bulunmaktadır (Muhtasib et al., 2001). “Sekonder metabolitler”, alkaloidler, fenolik bileşikler ve terpenoidler olarak alt sınıflara ayrılmaktadır. Bunlar arasında önemli bir yere sahip olan fenolik bileşikler basit fenol veya polifenol şeklinde olabilmektedir (Bernards, 2010). Yapılan çalışmalar, meyve ve sebze açısından zengin diyetle beslenen bireylerin kanser riskine karşı daha güvende olduklarını ve bunun bitkilerdeki sekonder metabolitlerin sağladığı antikanser aktiviteyle ilişkili olduğunu gösterilmiştir. *In vivo* çalışmalarda görülmüştür ki ortaya çıkan bu olumlu etki, moleküler seviyede biyolojik aktivitelerin neticesinde gerçekleşmektedir (Johnson, 2007).

Fenolik bileşikler günlük olarak tüketilen birçok yiyecek ve içecekte bulunmaktadır. Bitkinin barındırdığı fenolik bileşiğin miktarı bitkinin türü, mevsimsel koşullar ve bitkinin yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir (Rajasekar et al., 2021).

Fenolik bileşiklerin hücre döngüsünü durdurma, hücre çoğalmasının engellenme, anjiyogenezi durdurma ve apoptotik süreci tetikleme ve tümör süpresör proteinlerin seviyesini düşürme gibi özelliklere sahip olduğu ve bu sebeple anti-kanser özellik taşıdığı belirtilmektedir (Lambert et al., 2005).

Fenolik bileşiğin doğal kaynağından izole olarak elde edilmesi zorlu bir süreç olması sebebiyle gerek *in vivo* gerekse *in vitro* kanser çalışmalarında ham ekstrelerin veya fraksiyonların kullanıldığı görülmektedir. Ekstreler kullanılarak yapılan kimi çalışmalarda çeşitli kanser hücre hatlarında anti-kanser etki tespit edilmiştir (De Oliveira et al., 2013; Ghasemzadeh and Jaafar, 2013). Fenolik asitlerin kanserli hücrelerde; döngüyü durdurmak, proliferasyonu yavaşlatmak, apoptozu indüklemek, ilaç direncinin azaltılması gibi yöntemlerle etkili olduğu belirtilmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların sağlıklı hücreleri de etkilemesi nedeniyle doğal kaynaklardan elde edilen ürünlerin önemi

artmaktadır (H. Rasouli et al., 2016). Polifenoller, antikanser ilaçların zararlarının ve geleneksel tedavilerde ortaya çıkan direncin azaltılmasında etkili olan doğal bileşenlerdir (Bayet-Robert et al., 2010).

Kanser tedavisinde bugüne kadar tercih edilen geleneksel tedavi yöntemlerinin ciddi yan etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Kemoterapide kullanılan ajanların kanser hücrelerinin yanında sağlıklı hücreleri de etkilemesi önemli bir sorun olarak karşımızda durmaktadır (Helleday et al., 2008).

Kanser tedavisi noktasında birçok gelişmeye rağmen önemli bu hastalık bir sağlık sorunu olarak karşımızda durmaktadır. Bu sebeple kanser tedavisinde yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır (Shewach and Kuchta, 2009). Kanser tedavisinin tüm aşamalarında tedaviye destek olması, toksik olmaması, birden fazla yolakta etkili olması ve genellikle ilaçlarla sinerjik etki göstermesi sebebiyle doğal terapötikler büyük önem taşımaktadır (Wani et al., 2016). Büyük ölümlere yol açan kanser vakalarının dünya genelinde hızlı bir şekilde artması sebebiyle kanserin tedavi edilmesi için yeni farmasötiklere ihtiyaç duyulmaktadır (Chhikara and Parang, 2023).

Kanser hücrelerinin en belirgin özelliklerinden birisi aynı anda farklı yollar tarafından etkileniyor olmasıdır. Bu sebeple, bu yollardan sadece birini hedefleyen tedavi ajanlarının çoğu zaman başarıya ulaşma şansı olmayıp kanser hücrelerin canlı kalmasına sebep olmaktadır. Ortadan kaldırılamayan kanser hücreleri hayatta kalmayı başarır ve çeşitli mutasyon, yeniden programlanma gibi etkenlerle ilerleyen süreçte tekrar agresif şekilde çoğalabilmektedir (Çağlar, 2018).

Kanserli hastalarda ölüm oranının yüksek olması ve mevcut tedavi yöntemlerinin yan etki yönüyle hastalarda ağır sonuçlar çıkarması sebebiyle alternatif tedavi yöntemi arayışında bitkileri ön plana çıkarmaktadır (Erdogan et al., 2021).

Son yıllarda ortaya koyulan kimi çalışmalarda, diyetle alınan fenollerin birçok kanser çeşidinde anti-neoplastik etki gösterdiği anlaşılmıştır (Zoberi et al., 2002). Kanserde beslenmenin büyük önem taşıdığı bilinmektedir. Kolon kanserinin diyet değişikliği ile %90 oranında önlenileceği belirtilmektedir (Derry et al., 2013). Kanser tedavisinde uzun

yıllardır kullanılan bitkisel kaynaklı bileşenler vardır. Taksol, irinotekan ve etoposid bunlardan bazılarıdır. Bitkisel ürünlerin kemoterapik ajanların etkinliğini yükselttiği ve toksik etkilerini azalttığı bilinmektedir (Ahmed et al., 2013). Fenolik bileşiklerin kanserleşme sürecinde etkili olan çeşitli serbest radikaller ve diğer oksidatif stres kaynaklarına karşı güçlü anti-oksidan etki gösterdiği bilinmektedir (Yu et al., 2002).

Yeni doğal ürünlerin keşfi konusunda çalışmalar günümüzde hala devam etmektedir. Teknolojinin sunduğu imkanlar ve geçmişin vermiş olduğu bilgi-birikim ile doğada bulunan yeni anti-kanser bileşiklerin keşfi mümkündür (David et al., 2015). Yapılan bir araştırmada kanser tedavisinde faydalı olduğu belirlenen 87 anti-kanser ilacın %62'sinin doğal ürünlerden elde edildiği bulunmuştur (Ferreira, 2021).

Güncel kanser tedavileri arasında yer alan kemo-radyoterapi hastalarda yaşam kalitesinin düşmesine neden olan birçok yan etkiye sahiptir. Bunun yanında bu tedavilerin temini için gereken yüksek maliyetler ve sağlıklı hücrelerde gösterdiği toksisite birer engel teşkil etmektedir. Bu sebeple, yan etkinin minimum olduğu ajanların geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu anlamda fitokimyasallar umut kaynağı olmaya devam etmektedir. Günümüzde bitkisel ürünlerden elde edilen çeşitli antikanser ürünler klinikte kullanılmaya devam edilmektedir (Rasouli et al., 2020).

Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin yüksek miktarda tüketilmesinin kanser vakalarında düşüşü sağlayabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (Ahmed et al., 2013). Sentetik ilaçların yan etkilerinin fazla olması sebebiyle tıbbi bitkilerin kullanımı cazip hale gelmektedir. Dünya sağlık örgütü tarafından 2001 yılında bitkisel ürünlerin tedavide kullanımıyla ilgili iki ciltlik kitap yayınlanmıştır (Mahady, 2001). Bitkisel ürünler antikanser özellikleri sebebiyle tedavide bir önemli seçenek olarak görülmektedir. Diğer kemoterapik ajanların etkinliğini artırması ve birden fazla yolak üzerinden etki göstermesi bitkiler üzerinde yapılan çalışmalara ilgi gösterilmesini sağlamaktadır (Erdoğan, 2016).

Kanser tedavisinde kullanılan ağır kemoterapi ve radyoterapi sebebiyle hastalarda ciddi yan etkiler oluşmaktadır. Bunun yanında gelişen ilaç direnci sebebiyle tedavide başarısızlık söz konusu olabilmektedir. Bu sebeple yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyacın karşılanmasında bitkilerin kullanılması bir umut olarak görülmektedir

(Henkin et al., 2018). Kanser tedavisinde ortaya çıkan önemli sorunlar bulunmaktadır. Kemoterapiye karşı gelişen ilaç direnci ve kemoterapinin oluşturduğu ciddi yan etkiler en önemli problemlerdir. Kanser hücrelerinin alternatif yollar ile hayatta kalması, geleneksel kanser tedavisinin aşması gereken önemli bir sorundur. Bitkisel ürünler ile kanser hücrelerinin kemo-duyarlılığını artırmak, günümüzde önemli bir tedavi hedefi olarak görülmektedir. Bu sebeple gelecekte bitkisel ürünlerin tek başına veya kemoterapik ajanları destekleyici faktör olarak kullanılması önemli bir seçenek olarak görülmektedir (Khatoon et al., 2020).

Yapılan çalışmada bitkilerde bulunan fenollerin farklı kanser çeşitlerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bu etkiyi apoptotik süreç üzerinden gösterdiği ortaya çıkmıştır (Safarzadeh et al., 2014). Benzer şekilde flavonoidlerin ise meme kanseri ve kolon kanserinden korunma süreçlerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Yew et al., 2008).

Bitkisel ürünlerin kanser hücrelerinde birden fazla yolağı aynı anda etkilediği görülmektedir. Bitkilerin immün faktörlerin yeniden aktif hale gelmesini sağladığı belirtilmektedir. Bu sebeple kanserde etkili olan yolların bitkiler aracılığıyla etkilenebileceği aynı zamanda kanserden korunma amacıyla bitkilerden faydalanılabileceği belirtilmektedir (Çağlar, 2018). Bitkilerin kanser tedavisinde ve kanserin önlenmesinde gösterdiği mekanizmaların farklı kanser tiplerinde etkili olduğu anlaşılmıştır (Pierini et al., 2008).

Bitki kaynaklı antikanser özellik gösteren 3000'nin üzerinde bitki olduğu belirtilmektedir. Amerika'da hastaların önemli bir kısmını sadece bitkiler ile veya kemoterapi-radyoterapiye ek olarak bitkisel kaynaklı ürünler ile tedavi edildiği bilinmektedir (Yiğit, 2021).

Günümüz kanser tedavilerinde tercih edilen ilaçların çoğunluğu, kanser hücrelerinde seçici olmayan ve sağlıklı hücrelerde de sitotoksik etki oluşturan ajanların tek başına kullanılması ya da kombinasyonudur. Kemoterapi ajanlarının lenfosit ve kemik iliği hücrelerini baskı altına alarak kişinin bağışıklık sistemine zarar verdiği bilinmektedir. Mevcut ilaçların yüksek toksisiteye sahip olması, düşük verimlilik göstermesi, hücrelerin bu ilaçlara direnç geliştirmesi ve ekonomik olarak yüksek bütçeler gerektirmesi kanser tedavisinde bitkilerin kullanımını ön plana çıkarmaktadır. Bitkiler birden fazla yolağı etkilemesi, düşük maliyetli

olması, yan etkisinin daha az olması gibi özellikleri sebebiyle umut vaat eden bir seçenek olarak görülmektedir (Vickers, 2000; Aggarwal and Shishodia, 2006).

Geleneksel tedavi yöntemlerinde etkinliğin az olması, kanser hücrelerinin spesifik olarak hedeflenememesi ve yan etkilerinin fazla olması gibi olumsuz durumlar, alternatif tedavi seçeneklerinin sorgulanmasına yol açmaktadır. Tıbbi bitkiler ve doğal ürünler, bireylerin sağlık durumunun korunması ve hastalıkların önlenmesinin yanında, hastalık anında tedaviye sunduğu faydalar sebebiyle hastalık durumlarında ve koruyucu tedavi olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır (Bacanlı et al.). Kanser tedavisinde reçete edilen ilaçların büyük bölümünü doğal ürünlerin oluşturduğu bilinmektedir. Bu yüksek bitki kullanım oranına rağmen yeryüzünde bulunan 500 bine yakın bitkisel ürünün sadece %1-10'luk kısmının kimyasal ve farmakolojik potansiyeli keşfedilmiştir (Talib et al., 2012). Tüketilen besinlerin veya geleneksel tıpta kullanılan kimi bitkilerin mutajenik, sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olduğu çeşitli deneylerde gösterilmiştir (Çelik and Aslantürk, 2010).

Kemoterapik ajanın bitkisel bir ürünle kullanımı, çok sayıda mekanizma ve yolağın aynı anda devreye girmesi sebebiyle kemoterapi etkinliğini arttırabilmektedir (Surh, 2003). Bitkiler, tedavilere tamamlayıcı veya alternatif olarak kanserin de içinde bulunduğu birçok hastalığın tedavisinde tercih edilmektedir (Ahmad et al., 2017). Yapılan birçok çalışmada bitkisel ürünlerin anti-kanser özellik gösterebileceği gösterilmiştir. Sebze ve meyvelerin insanda çok düşük düzeyde yan etkiler göstermesi sebebiyle bitkiler ilaçlar için önemli bir kaynak görevi görmektedir. Zerdeçal, pul biber, domates, üzüm, brokoli, sarımsak gibi bitkisel ürünlerden günümüzde elde edilen birçok kanser ilacı bulunmaktadır (Surh, 2003). Doğal bileşiklerin kesin olarak tanımlanması ve izole edilmesi zor ve yüksek maliyet gerektirmesi sebebiyle çalışmalar daha çok bitki ekstraktlarının izolasyonu ve ayrıştırılması üzerin yoğunlaşmıştır (Quinn et al., 2008).

Amerika Birleşik Devletleri'nde ortaya çıkan kanser vakalarının %20-%60'ının beslenme ve diyetle ilişkili olduğu bilinmektedir. Epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar çalışmaları beslenme ve diyetin kanserin gelişmesinde, prognozunda ve teşhis sonrasında yaşam kalitesinin korunması-yükletilmesinde önemli bir yerinin olduğuna işaret etmektedir (Rock et al., 2000) . ABD'de kanser hastalarının yarısından fazlası sadece bitkisel ürünlerden, bu

bitkilerden türetilmiş ajanlardan faydalanarak veya diğer tedavi yöntemleriyle kombinasyon şeklinde tedavi olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra, ilaç piyasasında mevcut ilaçların büyük bir bölümü bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir (Amin et al., 2009).

Bazı bitkilerin antimikrobiyal, antienflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip olduğu uzun süredir bilinmektedir. Benzer şekilde kimi bitkilerin, hayvan deneylerinde tümör inhibisyonuna yol açtığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu önemli bilgiler ışığında bitkilerin antikanser yaklaşımlarda kullanılabileceği savunulmaktadır (Balasundram et al., 2006).

2.9. *Salvia* Türleri

Türkiye'nin fitocoğrafik olarak kesişim noktası olması, iklim ve bitki çeşitliliğine büyük katkı sunmuştur. Geniş yüzölçümü ve yüksek tarımsal potansiyeli hesaba katıldığında zengin biyoçeşitlilik görülmektedir (Acıbuca et al., 2018). Ülkemizin sahip olduğu zengin flora, yetiştirilebilen ürün sayısında önemli bir zenginliğe yol açmıştır. Bu durum da baharat, ilaç ve kozmetik dahil olmak üzere birçok alanda ihracatın önünü açmıştır (Faydaoğlu and Sürücüoğlu, 2011). Ülkemizin ihraç ettiği tıbbi aromatik bitkiler arasında adaçayı önemli bir yer tutmaktadır (Bayraktar et al., 2017). Dünya genelinde kozmopolit yayılım özelliği taşıyan Lamiaceae familyasının üyeleri çoğunlukla tıbbi ve ekonomik olarak büyük öneme sahiptir. Türkiye'de de geniş yayılım gösteren bu familyanın endemizm oranı %44,2'dir. Bunların içerisinde yer alan *S. cinsi* çok eski zamanlardan beri farmakolojik özelliği sebebiyle tercih edilmektedir. Ülkemizde 114 taksona sahip olup, bunların 57'si endemik karaktere sahiptir (Güner et al., 2012). Lamiaceae familyası her iki yarım kürenin sıcak bölgelerinde yetişebilme kabiliyetine sahip olup geniş bir alanda yaşama şansı bulunan bu familyadır. Tek yıllık ya da çok yıllık olabilen bu aile, yaprak yüzeyindeki salgı tüyleri sayesinde zengin uçucu yağ içermektedir. Tedavi olarak sağlıkta ve kozmetik parfümeri alanında sıklıkla tercih edilmektedir (Townsend and Davis, 1973; Harley et al., 2004) . Bu familyanın 250 civarında cinsi bulunmaktadır. 7.000'i aşan tür barındırıp, en çok üyesi bulunan 6. familya olduğu bilinmektedir. Ülkemizde 46 cins ve 758 takson barındıran bu familya Türkiye'deki en büyük 3. familya olarak kayıtlara geçmektedir (Şahin, 2020). Bu familyaya ait bazı türler süs bitkisi ve tıbbi amaçla kullanılmaktadır. Bu sebeplerle bu bitkilerin kültürü yapılmakta ve kimi üyeleri ihraç

ürünü olarak tercih edilmektedir (Baytop, 1999). Türkiye’de adaçayı ihracatının 7.6 milyon dolar, ithalatının ise 3 milyon Amerikan doları civarında olduğu bilinmektedir (Bayraktar et al., 2017).

Bu familyanın genel özelliklerine bakıldığında; genellikle salgı tüylü oldukları, otsu ya da çalimsı özellik gösterdiği, yapraklarının stipulasız, basit, kimi zaman da pennat olduğu görülmektedir. Çiçekleri hermafrodit karakterde olabilmektedir (Townsend and Davis, 1973). “kurtarmak, iyileştirmek” anlamına gelmekte olup köken olarak “salvare” kelimesinden türetilen (Yiğit, 2021) *S. cinsi* Akdeniz bölgesi dahil olmak üzeri birçok bölgede 900’den fazla *S. tür* barındırmaktadır (Celep et al., 2009). Dünyada 900’den fazla tür içeren *S.*, Lamiaceae familyasına ait bir cinsi ifade etmektedir. Latince bir kelime olup iyileşme anlamı taşımaktadır. Akdeniz bölgesinde yaygın olarak bulunan bu bitki; birçok sistemik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Tedavi edici etkilerini antioksidan, anti-inflamatuvar mekanizmaları ile gösterdiği tahmin edilmektedir (Yaman, 2021).

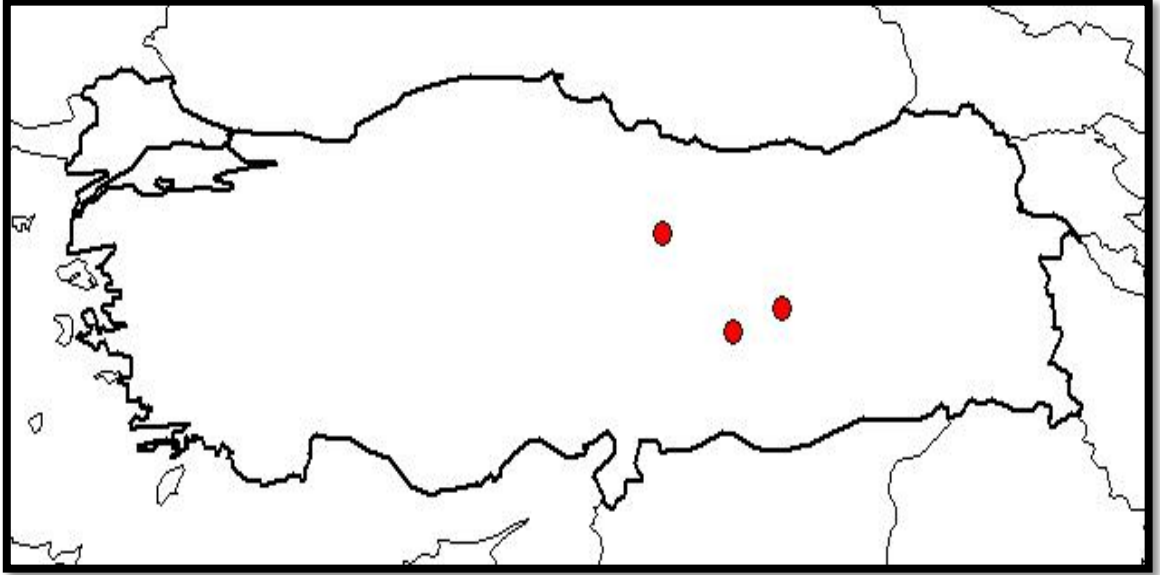
Adaçayı, köken olarak Akdeniz ve çevresi, özellikle Batı Anadolu ve Yunanistan bölgelerinde yetişmektedir. Ülkemizin güney sahillerinin 1300-1500 metre yüksekliklerinde yetiştiği bilinmektedir. Genellikle 1 metre uzunluğa erişebilen bu bitki, 30 cm genişliğe yayılabilmektedir. Saçak köklü ve sert yapıya sahiptir. Yaprakları oval, tüylü ve sert kaplı olmaktadır. Dünya genelinde gıdalarda aroma ve baharat olarak tercih edilen bir bitkidir. Diğer bitkiler ile kıyas edildiğinde yüksek antioksidan özelliği ile ön plana çıkmaktadır (Can, 2019).

Birçok akciğer hastalığı ve nörolojik hastalıklara iyi gelmesi sebebiyle uzun yıllardır *S. türleri* tedavi amaçlı tercih edilmektedir (Al-Jaber, 2017). Türkiye’de 87 *S. türünün* yetiştiği ve bunların antiseptik, antibakteriyel, diüretik, spazmolitik, homeostatik ve yara iyileştirici olarak geleneksel tıpta kullanıldığı belirtilmektedir (Topcu et al., 2003) .

S. cinsi bitkiler dünyanın birçok bölgesinde tedavi edici etkileri sebebiyle uzun süredir kullanılmaktadır. Antioksidan, antitümör, apoptozu indükleyici özellikleri sebebiyle bu bitkinin çeşitli türleri tedavinin asıl unsuru veya diğer tedavi seçeneklerini destekleyici olarak kullanılmaktadır (Kerem, 2015).

2.9.1. *Salvia euphratica*

Aile	: Lamiaceae
Tür	: <i>Salvia L.</i>
Takson	: <i>Salvia euphratica</i> MONTBRET ETE AUCHER EX BENTHAM
Ömür	: Çok yıllık
Yapı	: Odunsu ot
Çiçeklenme	: 4.-5. ay
Habitat	: Kayalık kireçtaşı yamaç, hareketli kayalıklar, kireçli kıyılar, çakıllı akarsu
Yükseklik	: 850-1800 m
Türkiye Dağılımı	: Doğu Anadolu
Genel Dağılımı	: Türkiye (Elâzığ, Malatya, Sivas)



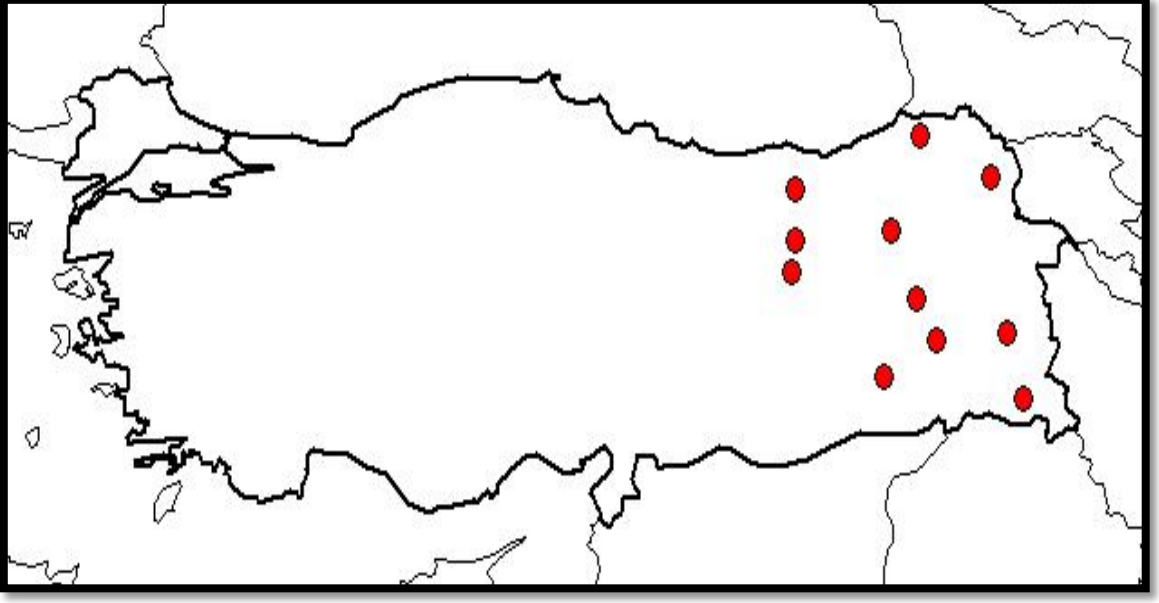
Şekil 2.16. Türkiye’de *S. euphratica* türünün en çok yetiştiği bölgeler (Bakis et al., 2011)



Şekil 2.17. *S. euphratica* arazi görünümü

2.9.2. *Salvia staminea*

Aile	: Lamiaceae
Tür	: <i>Salvia L.</i>
Takson	: <i>Salvia staminea</i> MONTBRET ET AUCHER EX BENTHAM
Ömür	: Çok yıllık
Yapı	: Ot
Çiçeklenme	: 5.-8. ay
Habitat	: Kireçtaşı ve volkanik kayalı yamaçlar, meşe çalı, uçurumlar, hareketli kaya, alpin çayır
Yükseklik	: 1700-3150 m
Türkiye Dağılımı	: Doğu Anadolu
Genel Dağılımı	: Ermenistan, Gürcistan, İran



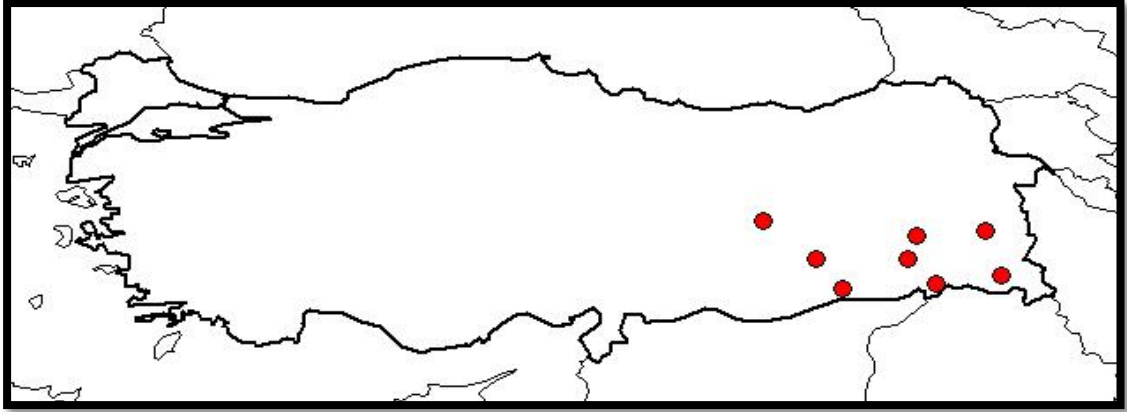
Şekil 2.18. Türkiye’de *S. staminea* türünün en çok yetiştiği bölgeler (Bakis et al., 2011)



Şekil 2.19. *S. staminea* arazi görünümü

2.9.3. *Salvia trichoclada*

Aile	: Lamiaceae
Tür	: <i>Salvia</i> L.
Takson	: <i>Salvia staminea</i> MONTBRET ET AUCHER EX BENTHAM
Ömür	: Çok yıllık
Yapı	: Ot
Çiçeklenme	: 5.-7. ay
Habitat	: Çimenlik kireçtaşı, yamaçlar, bozkır, meşe çalısı, çimenlik alanlar, nadas bölgeleri
Yükseklik	: 300-2000 m
Türkiye Dağılımı	: Güney Doğu Anadolu
Genel Dağılımı	: Irak, İran



Şekil 2.20. Türkiye’de *S. trichoclada* türünün en çok yetiştiği bölgeler (Bakis et al., 2011)



Şekil 2.21. *S. trichoclada* arazi görünümü

Adaçayının antidiyabetik, antiseptik ve anti inflamatuvar özelliklerine ek olarak antikanser özelliklerinin de bulunduğu dair çalışmalar mevcuttur (Yanagimichi et al., 2021). Meme kanseri (MCF-7), kolon kanseri (HT-29) ve beyin kanseri (SF-268) hücre hatlarında antiproliferatif etki gösterdiği bulunmuştur (Kamatou et al., 2008).

S. türlerinden olan S. euphratica (Şekil 2.17), *S. staminea* (Şekil 2.19), *S. trichoclada* (Şekil 2.21) birçok çalışmada antioksidan, biyokimyasal, antibakteriyel ve antikolinesteraz yönleriyle incelenmiştir (Demirezer et al., 2015; Kerem, 2015; Doğan et al., 2022; Emre and Kursat, 2022). *S. pachyphylla* ve *S. clevelandii* türlerinin, akciğer ve meme kanseri hücre hatlarında sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Guerrero et al., 2006).

S. leriifolia türünün prostat ve HeLa hücre hatlarında antiproliferatif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Choudhary et al., 2012). *S. urmiensis* bitkisinin MCF-7 hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Farimani and Miran, 2014). *S. eremophila* türünün ise farklı hücre hatlarında (MCF-7, Hep-2, K562, MOLT-4, HL-60) sitotoksikite yönüyle etkili olduğu görülmüştür (Choudhary et al., 2012). MCF-7 ve PC-3 kanser hücre hatlarında yapılan çalışmada *S. heldreichiana* türünün antiproliferatif etki gösterdiği anlaşılmıştır (Orhan et al., 2013). *S. kronenburgii* türünü incelendiği bir çalışmada yumurtalık kanseri hücre hattında antiproliferatif etki görülmüştür (Topçu et al., 2004). *S. leriifolia* bitkisinden elde edilen fenolik bileşiklerin ratlarda kolon kanserine karşı koruyucu etki gösterdiği görülmüştür (Nasrabadi et al., 2024). *S. miltiorrhiza* bitkisinden türetilen kimi bileşiklerin kolon kanseri hücre hattı olan HCT116 ve DLD-1 insan kolon kanseri hatlarında sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Jiang and Xun, 2024).

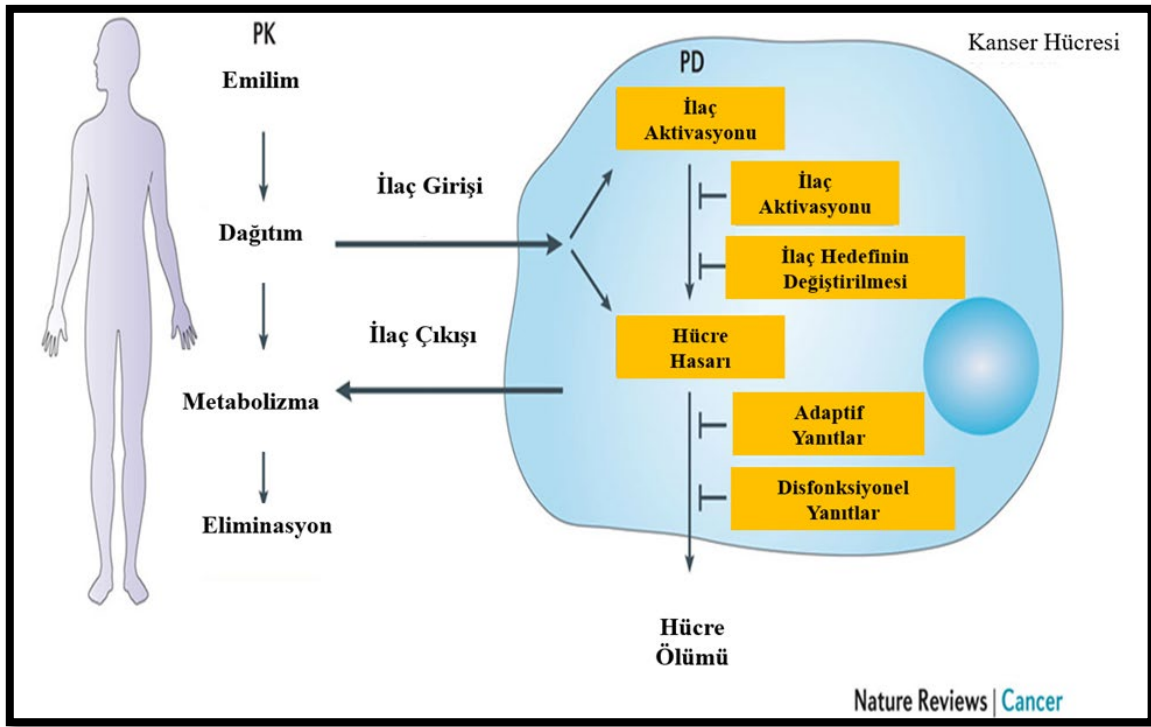
2.10. İlaç Direnci

Kanser tedavisinde önemli bir engel olan ilaç direnci; bireyde hali hazırda mevcut olabilir veya tedavi sürecinde ortaya çıkabilir. İlaç direncinin ortaya çıkmasında etkili olan faktörlerden birisi de tümör yapının homojen olmamasıdır. Farklı karakter gösterebilen heterojen tümör hücreleri, uygulanan ilaç tedavisine farklı duyarlılık gösterebilmektedir. Bundan dolayı, tek bir hücre profilini hedefleyen tedavi yöntemleri başarısız olabilmektedir (Maleki Dana et al., 2022).

Kanser vakalarında oluşan tümör homojen bir hücre yığını değildir. Tümör aslında içerisinde farklı hücre tiplerini barındıran hetero tipik özellikte çok sayıda hücrenin bulunduğu hücreler topluluğudur (Hanahan and Weinberg, 2011). Kanser hücrelerinin ayırt edici özelliklerinden birisi de farklı sinyal yollarını aynı anda etkileyebilme yeteneğine sahip olmasıdır. Bu sebeple sadece bir yolağı hedefleyen kemoterapik ajanların başarılı olması pek mümkün olmamaktadır. Kanser hücreleri kemoterapik ajana karşı alternatif sinyal yollarını kullanarak hayatta kalmayı başarabilmektedir. Kanser mikro çevresinin mutasyonlara açık olması, hücrelerin epigenetik olarak yeniden programlanma yeteneği göstermesi gibi sebepler hücrelerin uygulanan terapiye alışmasına ve klinik olarak hastalığın nüks etmesine sebep olmaktadır (Çağlar, 2018).

Kemoterapide önemli bir engel olan ilaç direnci içsel veya edinsel olabilmektedir. İçsel direnç tedaviye başlamadan önce kişide bulunan direnci ifade eder. Edinilmiş direnç ise tedavi sonrası ortaya çıkan dirençtir. Bu iki direnç türü tedavide etkinliğin azalmasına sebep olmaktadır (Kelderman et al., 2014). Kanser tedavisinde uygulanan ilaç tedavileri başlangıçta iyi etkinlik gösterirken zamanla etkinlik düzeyi azalabilmektedir. Bu durumun ortaya çıkmasında; başka bir proto-onkogenin aktif hale gelmesi, ilacın hedeflediği bölgenin mutasyona uğraması, tümör mikro çevresinde ortaya çıkan değişiklikler etkili olmaktadır (Quintás-Cardama et al., 2009). Tümör dokular adaptasyon yeteneğinin yüksek olması sebebiyle uygulanan ilaca karşı zamanla direnç kazanabilmektedir. Bu duruma adaptif ilaç direnci denilmektedir. Bazı durumlarda ise kanser hücreleri doğal olarak bir direnç göstermektedir. Bu duruma ise intrinsik direnç denilmektedir (Burrell and Swanton, 2014). Direncin ortaya çıkmasında birçok mekanizma etkili olmaktadır bunlardan bazıları:

- İlacın hücreden dışarı atılması (efflux)
- İlacın hücre içinde inaktive veya metabolize edilmesi
- İlaç hedefindeki yapıların mutasyon uğraması
- Alternatif sinyal yollarının aktive edilmesi
- Hücrelerin ölümden kaçması
- Hayatta kalma yollarının aktive edilmesi
- Oluşan hasarların onarılması (Luqmani, 2005).



Şekil 2.22. İlaç direnci mekanizması (Luqmani, 2005)

Solid halde olan kanserli yapılar, hastalığın ilk evrelerinde cerrahi yöntemle tedavi edilebilmektedir. Ancak sonraki evrelere ulaşmış kanserin tedavisinde kemoterapik ajanların da dahil olduğu farklı seçenekler değerlendirilmektedir. Ancak, bu ajanların olumsuz-yetersiz etkisi sebebiyle tedavinin başarısız olduğu görülebilmektedir. Bu başarısızlığın sebeplerinden birisi de kanser hücrelerinde ortaya çıkan içsel ve dışsal ilaç dirençleridir (Maleki Dana et al., 2022).

İlaç direncinin aşılması için kemoterapik ajanın tek başına kullanılması yerine farklı mekanizmalara sahip kemoterapik ajanların kombine olarak kullanılması gibi farklı yaklaşımlar tavsiye edilmektedir (Vasan et al., 2019).

2.11. Sinerjizm-Antagonizm

Kemoterapik ajanın başka bir ilaçla veya bitkisel kökenli etken bir madde ile birlikte kullanılması, çok sayıda mekanizma ve yolağı etkileyerek amaçlanan tedaviye ulaşmada kolaylık sağlayabilmektedir. Bu duruma genel olarak sinerjizm denilmektedir. Ancak sinerjizmin meydana gelebilmesi için bazı etkilerin gözlemlenmesi gerekir;

1. Terapötik etkinliğin artırılması
2. Dozun azalmasına bağlı olarak toksisiteye neden olmadan önceki etkinliğin devam ettirilmesi veya yükseltilmesi
3. Kemoterapik direncin gelişmesinin önlenmesi veya azalması
4. Hedefe karşı selektif sinerjizmin ortaya çıkması

Bu sinerjistik etkiler, ilaç kombinasyonlarının yoğun bir şekilde kullanılması ve kanser dahil olmak üzere canlı yaşamını tehdit eden birçok hastalığa karşı tedavi etkinliğinin artmasını sağlamaktadır (Chou, 2006). Bitkisel ürünlerin tek başına, başka bir bitkisel ürünle birlikte ya da kemoterapik bir ajana yardımcı olarak kullanılması son zamanlarda ilgi duyulan bir uygulama olmuştur. Bu tedavi opsiyonlarının ilaç sinerjisine katkı sunduğu ve sitotoksositeye karşı organizmaya yardımcı olduğu ortaya konulmuştur (Patra et al., 2021). Tıbbi bitkilerin birlikte kullanılmasıyla sinerjistik etki ortaya çıkabileceği belirtilmektedir. Ayrıca kullanılan ilaçların yan etkilerinin azaltılmasında da etkili olduğu vurgulanmaktadır (Van Wyk, 2017). Bitkisel ürünlerin birlikte kullanılmasının sinerjistik etki gösterebileceği bilinmektedir (Moghtaderi et al., 2018). *S. türlerinden elde edilen dihidrotanshinone bileşiğinin paklitaksele dirençli tiroit kanserinde etkili olduğu gösterilmiştir* (Kashyap et al., 2021). Tamoxifene direnç kazanmış meme kanseri hücre hattı MCF-7’de *S. türlerinden elde edilen tanshinone IIA bileşiğinin apoptotik bulguları artırdığı, hücre proliferasyonu ve koloni yapma kabiliyetini azalttığı* bulunmuştur (Yang et al., 2017).

Doğan ürünlerin uzun yıllardır çeşitli hastalıklardan korunma sürecinde ve hastalıkların tedavisinde kullanılmasına rağmen bazı durumlarda ilacın etkinliğini azaltıcı veya nötr etki gösterdiği bilinmektedir. İlacın moleküler etkinin azalması veya tersine çevrilmesi ihtimali klinik öncesi ve klinik araştırmalarda çoğu kez ihmal edilmektedir. Birçok bitkisel ürünün tıbbi tedavileri olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Hackman et al., 2020). Meyve, sebze, yeşil çay gibi tüketilebilir ürünlerin ilaçlarla doğrudan etkileşime girebildiği ve onları antagonize edebildiği bulunmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışmaları kapsamında hücre hattı olarak A549, MCF-7, RPE-1 ve HT-29 kullanılmıştır. Hücre kültürü çalışmalarının tamamı Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Kanser Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Kimyasal ve sarf maddeler ticari olarak satın alınmıştır. Analiz için kullanılan malzemelerin bilgisi: cPARP (Cell signaling, 9541S), VEGF (Cell signaling, 9698S), mTOR (Cell signaling, 297S), p38 (Cell signaling, 8690S), Akt1 (Santa cruz, sc-271149), Bcl-2 (401r-4229), Cas-3 (Santa cruz, sc-271759), p53 (Santa cruz, sc-126), Cas-9 (SRB, 201r-1334), cisplatin (koçak), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Sigma, D6429), 10% Fetal Bovine Serum (FBS) (GIBCO, 10270106), Penisilin (64µg/mL)/Streptomisin (100µg/mL) (GIBCO, 15140122), Dulbecco's phosphate-buffered saline (dPBS) (GIBCO, 14190094), APS (Sigma, A3678), Trypsin-EDTA (Biological Industries, 03050), DTT (BioShop Ca, DTT001.10), Benzamidine (Sigma, 12072), PMSF (Sigma, 78830), Leupeptin (Enzo, ALX-260-009-M025), Trypan Blue (Thermo Fisher, 15250061), Aquaguard 1 (Biological Industries, 018671B), X-Ray film (18x24 cm) (Carestream MXBE Film, 7710783), Tris (Fisher Chemical, BP153-1), NaCl (ROTH, 2618.1), Glycerol (Sigma Aldrich, 15524), EDTA (Sigma, E5134), EGTA (Glenthomls, GE7249), Bradford Solüsyonu (Bio-Rad, 5000006EDU), Spektrofotometre Küvetleri (Biosigma, 20P1006010), Sodyum dodesil sülfat (SDS) (MERCK KGaA, 8.17034.1000), β -mercaptoethanol (SIGMA LS, M3148), Bromophenolblue (MERCK, 536092), Akrilamid/Bisakrilamid (CARLO ERBA, 480141), Amonyum Persülfat (MERCK KGaA, 101201.0500), TEMED (Sigma, 110-18-9), İzopropanol (Riedel-de Haen, 24137), Yağsız Süt Tozu (SIGMA ALDLRICH, 70166), Metanol (MERCK KGaA, 1.06007.2500), Tween-20 (Sigma, P1379), H₂O₂ (KarloErba, 7722841), Luminol (SIGMA ALDLRICH, 123072-5G), p-coumaric acid (Sigma, C9008-10G); CO₂ incubator (ESCO, CCL170B8), Otoklav (Hirayama, HVE-50), Santrifüj (Weightlab Instruments, WN-CL6500), Hücre kültürü flask: 75 cm² (NEST, 708003), Hücre kültürü kapları 60x18mm (LABSOLUTE, 7696771), Biyogüvenlik kabini (ESCO Class II), Mikropipet (ISO Lab), Mini çalkalayıcı (ISO Lab, 61311001); Mikrosantrifüj

tüpleri (ISOLAB, S078.03.002.500), Spektrofotometre (Shanghai Metash, UV-5100), Western blot aparatları (BIO-RAD, 041BR307525), Serolojik pipet (Lab Marker, 10082019), Sıcak su banyosu (Thermomax, 201910103425), PVDF Transfer Membran 0.2 µm, 26.5 cm x 3.75 m (Merck Millipore, IPVH00010). Buzdolabı 2-8 °C (SEG), Derin Dondurucu -20 °C (Vestel), Derin Dondurucu -86 °C (Nuair Glacier NU-9668GC). Tüm reaktif ve örnekler uygun şekilde hazırlandı ve uygun koşullarda saklandı

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkilerin Toplanması, Teşhisi ve Herbaryum Kayıtlarının Oluşturulması

S. euphratica, *S. staminea*, *S. trichoclada* bitkileri Haziran-Temmuz aylarında Bingöl ilinde toplanmıştır. *S. staminea* (BIN 11637); Bingöl merkez, Şaban köyü güneyi, step yamaçlar, 1800-1950 m, 20.07.2022 tarihinde, *S. trichoclada* (BIN 11636); Bingöl Merkez, Alıncık-Aşağıköy arası 1. Km, yol kenarları, 1300-1350 m, 09.06.2022 tarihinde, *S. euphratica* (BIN 11635); Bingöl Merkez, Yelesen köyü doğusu, step yamaçlar, 1650-1700 m yükseklikte toplandı. Bitkilerin teşhisi yapıldıktan sonra güneş görmeyen nemsiz ortamda kurumaları sağlandı. Daha sonra çalışmada kullanılacak kısımlar öğütülüp ekstraksiyon için hazır hale getirildi.

3.2.2. Bitkilerin Ekstraksiyonu

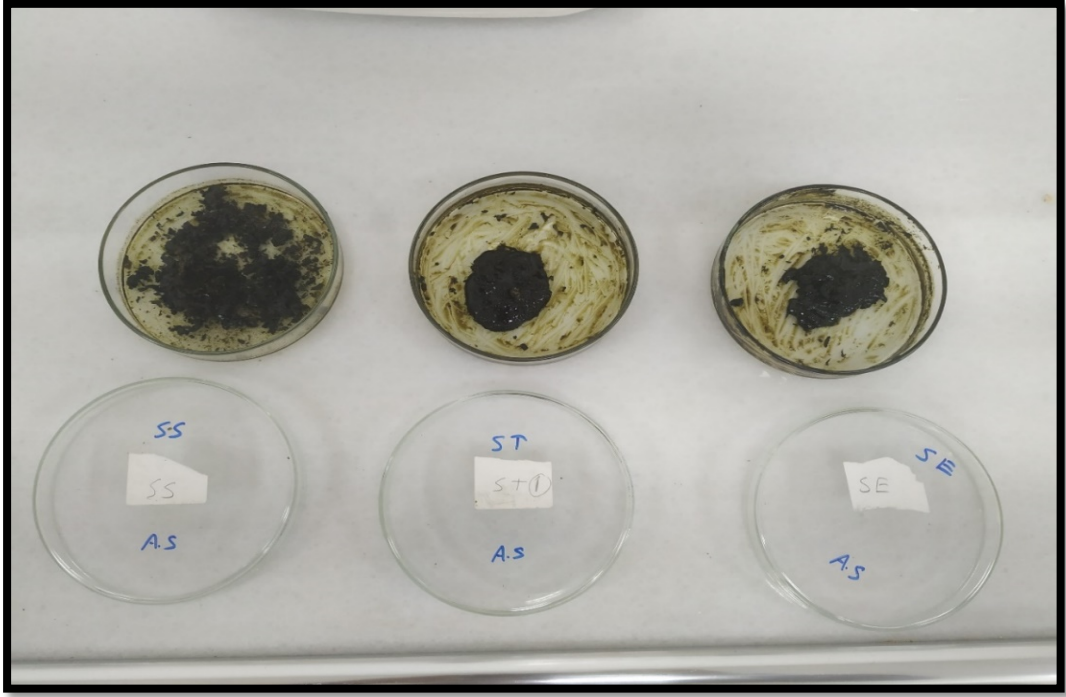
Bitkilerin ekstraksiyon işlemi Erdoğan ve ark.nın belirttiği yöntemle yapıldı (Erdoğan vd., 2022). Eşit ağırlıkta cam şişeye alınan bitkiler (Şekil 3.1) etanol çözücü kullanılarak organik maddenin solvent faza geçişine kadar ekstraksiyon işlemine devam edildi. Ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstrakt solüsyonu süzülerek bitki posasından ayrılması sağlandı (Şekil 3.2). Ekstrakttaki solvent bir döner buharlaştırıcı yardımıyla 35 °C'yi geçmemek şartıyla düşük basınç altında çıkartıldı. Buharlaştıran etanolün ardından kalan sıvı, daha önce ağırlığı ölçülmüş petri kaplarına aktararak kurumaları sağlandı (Şekil 3.3). Kurutma işleminin ardından petri kapından spatül yardımıyla alınarak steril falkon tüplere ve ependorflara konuldu (Şekil 3.4). Ana stok -20 C⁰ ve deneylerde kullanılmak üzere +4 C⁰ de muhafaza edildi.



Şekil 3.1. Bitkilerin etil alkolde bekletilmesi



Şekil 3.2. Süzülen etil alkol



Şekil 3.3. Evaporatör sonrası kurumaya bırakılan ekstraktlar



Şekil 3.4. Falkon ve ependorf tüplere alınan çözünmüş ekstraktlar

3.2.3. Hücre Kültürü

3.2.3.1. Hücre Kültürü Koşulları

Hücreler %10 fetal FBS, 64 µg/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin ile desteklenen DMEM besiyerinde %5-6 CO₂ içeren nemli 37°C'lik hücre kültür inkübatöründe çoğaltıldı. Tüm hücre kültürü çalışmaları GCCP (Good Cell Culture Practice) aseptik standartlarına uygun bir şekilde gerçekleştirildi. Hücreler düzenli olarak kontrol edilip %80 yoğunluğa ulaştığında pasajlandı. Pasajlama işlemi; flask içindeki besiyeri uzaklaştırılarak 3 ml tripsin eklendi. 4-5 dakika inkübatör içinde bekletildikten sonra mikroskop altında hücrelerin flask yüzeyinden ayrıldığından emin olundu. Laminar flow içine alınan flaska, 6 mL DMEM eklenerek hücre süspansiyonu 15 ml falkon içerisine alındı. 2500 rpm'de 4 dakika santrifüj edildikten sonra falkon içindeki süpernatant uzaklaştırıldı. Dipte kalan pelet üzerine 4 ml DMEM eklenerek homojen karışım elde edilene kadar pipetaj işlemi yapıldı. Elde edilen homojen karışımdan 100 µl alınarak 100µl tripan blue ile ependorf içinde karıştırıldı. Hemositometrenin her bölmesine 10 µl karışım eklenerek mikroskop altında sayım işlemi yapıldı. Hücre sayısı dikkate alınarak hücrelerin bir kısmı tekrar flaska ekildi. Stok olarak saklamak üzere hücreler dondurma medyumunu (%90 FBS, %10 DMSO) ile dondurma tüplerine alınarak -86 °C'de bir gece bekletildi ve ardından -196 C°'de muhafaza edilmek üzere sıvı azot tankına alındı (Erdoğan, 2016).

3.2.3.2. İlaç ve Bitki Stoklarının Hazırlanması

Çalışmalarda kullanılan cisplatin ticari olarak satın alındı ve ana stoklar kullanıma hazır hale getirildi. Cisplatin (MA: 301,1 g/mol) 1,5mM stok konsantrasyon olacak şekilde DMSO içinde çözüldü ve oda sıcaklığında muhafaza edildi. Bitkiler, ekstraksiyon işleminin ardından 5mg/ml olacak şekilde DMSO içinde çözülerek kullanıma hazır hale getirildi ve deneylerde kullanılmak üzere +4 C°'de muhafaza edildi.

3.2.3.3. Hücre Canlılığının Belirlenmesi

Hücre canlılığı testi için Parker ve ark.'nın açıkladığı protokol optimize edilerek uygulandı (Parker et al., 2022). Öncelikle kolon kanseri (HT-29), meme kanseri (MCF-7), akciğer

kanseri (A549) ve sağlıklı hücre (RPE-1) ekimi 24 kuyucuklu hücre çoğaltma kabında her bölmeye 50 bin hücre olacak şekilde yapıldı. Hücrelerin tutunduğundan emin olunduktan sonra ilgili hücre hatlarının *S. türleri* ve cisplatin ile tedavileri gerçekleştirildi. Tedavi süresi olan 72 saatin sonunda besiyerler aspire edilip yüzey 2 defa PBS ile yıkandı. Ardından metanol-asetik asit (3:1) solüsyonundan her kuyucuğa 1 ml eklenip oda sıcaklığında hücreler 5 dakika fiks edildi. Fiksasyon solüsyonu ortamdan uzaklaştırılıp kuyucuklar 1 ml %0,5 kristal viyole (Crystal Violet) boyası ile muamele edildi. 15 dakika oda sıcaklığında inkübasyonun ardından boyanan kuyucuklar musluk suyu altında dikkatlice yıkanıp kuyucuklara %10 asetik asit (%100 Asetik asit + 9 ml ddH₂O) solüsyonundan 1 ml eklenerek 5 dakika çalkalayıcıda bekletildi. Daha sonra kuyucuklardaki asetik asit mikropipet aracılığıyla çekilip spektrofotometrede ölçüm kuvvetleriyle 595 nm dalga boyunda hücre canlılığı yönüyle analiz edilip veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.2.3.4. Sinerjizmin Belirlenmesi

HT-29 kolon kanseri hücre hattında adaçayı türleri ve cisplatin tedavisi arasındaki sinerjizmin belirlenmesi amacıyla kombinasyon indeksi (KI) hesaplandı. İlaç ve adaçayı arasında yapılan hesaplama neticesinde $KI > 1$ ise antagonizm, $KI = 1$ ise güçlendirici $KI < 1$ ise sinerjizmin olduğu kabul edilir (Chou, 2006). Kombinasyon indeksi hesaplanırken aşağıda verilen formül kullanıldı (Li et al., 2017);

$$KI = (ACIS) 50 / (BSAL) 50 + (ASAL) 50 / (BCIS) 50$$

Bu denklemde: (ACİS): *S. türlerinin* IC₅₀ konsantrasyonunun yarısı uygulandığında (IC₅₀/2) hücre canlılığın %50 indiren cisplatin konsantrasyonunu; (BSAL) 50: cisplatinin IC₅₀ konsantrasyonunu; (ASAL) 50: *S. türlerinin* IC₅₀ konsantrasyonunun yarısı uygulandığında (IC₅₀/2) hücre canlılığını %50'ye indiren cisplatin konsantrasyonunu; (BCİS) 50: cisplatinin IC₅₀ konsantrasyonunu göstermektedir.

3.2.3.5. Koloni Sağkalım Deneyi

Koloni sağkalım deneyi, farklı tedavilerin hücrelerin koloni oluşumunu azaltma etkisini belirlemek için yapıldı. Bu deney için 6 kuyucuklu plakalara kuyucuk başına 5×10^2 hücre

olacak şekilde hücreler ekildi. Ertesi gün hücrelerin tutunduğundan emin olunduktan sonra, hücreler *S.* ve cisplatin ile 72 saat boyunca ile edildi ve tedaviden sonra besiyeri uzaklaştırılıp taze besiyerinde hücreler 15 gün boyunca inkübe edildi (%5 CO₂ ve %95 nem, 37 °C). Bu süreden sonra besiyeri uzaklaştırılarak ve hücreler PBS ile yıkayıp metanol: aseton (3:1) ile 5 dakika fiks edildi ve 15 dakika boyunca kristal viyole ile boyandı. Daha sonra kuyucuklar su ile dikkatli bir şekilde yıkandı ve koloniler mikroskop altında sayıldı. En az elli hücre oluşumu koloni olarak kabul edildi (Gomez et al., 2015).

3.2.3.6. 3D Soft Agar Deneyi

Kolon kanseri hücre hattına yapılan tedavilerin bu hücrelerin koloni oluşturabilme kapasitelerine olan etkisi soft agar analizi ile karşılaştırıldı (Bettoun et al., 2016). Öncelikle alt tabaka agaroz hazırlandı; ddH₂O içerisinde hazırlanarak otoklav edilen %1 agaroz solüsyonu ile hücre besiyeri (DMEM, %20 FBS) 1:1 oranında karıştırılarak (agaroza son konsantrasyon %0,5) 37°C su banyosunda 15 dakika süreyle bekletildi. Sonrasında 6 kuyulu plakaların her bir kuyusuna 1 mL agaroz-besiyeri karışımı eklendi ve plaka alt tabaka agarozun solidifiye olması için kültür kabininde 30 dakika bekletildi. Bu esnada hücrelerin üst tabaka agarozu hazırlandı; ddH₂O içerisinde hazırlanarak otoklav edilen %0,5 agaroz solüsyonu ile içerisinde 6x10³ hücre ve ilgili tedavi ajanları bulunan hücre besiyeri (DMEM, %20 FBS) 1:1 oranında karıştırılarak (agaroza son konsantrasyon %0,5) 36°C su banyosunda 15 dakika süreyle bekletildi. Daha sonra agaroz-hücre-besiyeri karışımından 1 mL alınarak (6x10³ hücre) %0,5 agaroz bulunan alt tabakanın üzerine dikkatli bir şekilde aktarıldı. Hücreler 7-21 gün boyunca %5 CO₂ içeren nemli 37°C'lik hücre kültür inkübatöründe bekletildi ve her 3-4 günde bir hücrelerin bulunduğu üst tabaka agarozun üzerine tedavi ajanlarının bulunduğu hücre besiyeri eklendi. Deney sonunda koloni oluşumları mikroskop altında incelendi ve oluşan koloniler metanol içerisinde hazırlanan %0.005 kristal violet ile 15 dakika boyunca boyandı. Plakalar taranarak kolonilerin miktarı tayini Image-j programı (National Institutes of Health, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol dâhil olmak üzere her bir grup için en az 2 tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi.

3.2.3.7. Wound Healing Analizi

İn vitro yara iyileşmesi Zomer ve Ark. (Zomer et al., 2019) yönteminin modifikasyonu ile gerçekleştirildi. 6 kuyucuklu plakalara hücreler ekildi ve ertesi gün 1ml'lik steril pipet ucuyla bir çizik oluşturuldu. Kazınan hücreler iki kez PBS ile yıkanarak çıkarıldı. Daha sonra yaraların fotoğrafları çekildi. Tedavi grubu ilgili bitki ve kemoterapik ajanlarla muamele edildi. 0-6-12-24 saatin sonunda yara alanları mikroskopik olarak fotoğraflandı ve Image J yazılımı kullanılarak ölçüldü. Yara kapanma yüzdesi her grup için 0.-6.-12. ve 24. saatlik görüntüler için normalize edilerek belirlendi.

3.2.3.8. Western Blot ile Protein Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Uygulanan tedavilerle hücrelerdeki proteinlerinin ekspresyon düzeylerinin gösterilebilmesi için total protein içerikleri özütlenerek, hedef proteinlerin ifade düzeylerinin tespiti için Western blot kullanıldı (Gomez et al., 2015). Protein örneklerinin analizi için dikey SDS-PAGE tank sistemi (Bio-Rad, Mini-PROTEAN Tetra Cell) kullanıldı. 6 cm'lik kuyucuklara ekilen hücreler 72 saat tedavinin ardından ekildiği kaplardan kaldırılmak amacıyla öncelikle soğuk PBS ($\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ içermeyen) tamponuyla iki kez yıkandı. Proteinlerin pürifikasyonu için standart lizis tamponu kullanıldı. Kazıyıcı yardımı ile toplanan hücreler, PBS tampon ile süspanse edildikten sonra oda sıcaklığında 1100 RPM'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi ve süpernatant kısmi aspiratör yardımıyla alındı. Elde edilen pelet yeterli miktarda (0.5×10^6 hücre için 100 μL) lizis tamponu ile yeniden süspanse edildi ve süspansiyon esnasında 1 mL'lik pipet kullanılarak etkin bir homojenizasyon ve protein eldesi sağlandı. Örnekler ortalama 1 saat buz üzerinde bekletildikten sonra 4°C'de 15000 RPM'de ve 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar daha önceden hazırlanmış ve etiketlenmiş yeni mikro-santrifüj tüplerine aktarıldı. Total protein konsantrasyonunun belirlenmesi için Bradford metodu kullanıldı. Protein örnekleri yapılan hesaplamalara göre her kuyucukta eşit protein olacak şekilde SDS-PAGE jele aktararak elektriksel ortamda koşmaları sağlandı. Daha sonra PVDF (poliviniliden florür) membranına transfer edilip ve transfer sonrası bloklama tamponunda (TBS-T içerisinde hazırlanan %5'lik süt tozu) 1 saat süre ile inkübe edildi. Bloklamanın ardından membranların gece boyunca ilgili primer antikoru (%5'lik süt tozu içerisinde dilue edilmiş) ile 4°C'de roller yardımıyla inkübasyonu sağlandı. Membranlar

TBS-T kullanılarak yıkandı (3x10 dakika) ve sonra HRP ile işaretli ilgili sekonder antikor (%5'lik süttozu içerisinde dilue edilmiş) ile 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Membranlar TBS-T kullanılarak tekrar yıkandı (3x10 dakika). Görüntüleme için kemilüminesans yöntemine dayanan ECL kiti kullanıldı. X-ray görüntüleme sistemi kullanılarak membrandaki görüntü filme aktarıldı. Son olarak, bant yoğunluklarının dansitometrik analizi Image-j programı (National Institutes of Health, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 1. Western blot primer ve sekonder antikorların isimleri ve dilüsyon oranları

Primer antikor	Dilüsyon oranı	Sekonder antikor	Dilüsyon oranı
AKT	1/500	Goat anti rabbit IG-g HRP	1/3000
Beclin-1	1/500	Goat anti mouse IG-g HRP	1/3000
Cas-9	1/1000	Goat anti Rabbit IG-g HRP	1/3000
cPARP	1/1000	Goat anti rabbit IG-g HRP	1/3000
mTOR	1/500	Goat anti rabbit IG-g HRP	1/3000
P38	1/500	Goat anti rabbit IG-g HRP	1/3000
P53	1/500	Goat anti mouse IG-g HRP	1/3000
Tubulin	1/100	Goat anti rat IG-g HRP	1/3000
VEGF	1/500	Goat anti rabbit IG-g HRP	1/3000

3.2.4. DNA Agaroze Jel Deneyi

DNA'da ortaya çıkan hasar ve kopmaların görüntülenmesine yarayan yöntemlerden birisi de DNA agaroz jel deneyidir. Agaroz deniz yosunu cinslerinden elde edilir. Elektriksel alanda jele yerleştirilen DNA parçaları büyüklüklerine göre ayrılmaktadır (Lee et al., 2012). Yeterli miktarda agaroz ve Tris Asetik Asit (TAE) karıştırılarak hafifçe çalkalandı. Mikrodalga fırında kaynamaya başlayınca kadar bekletildi. Belirli aralıklarla erlen mikrodalgadan çıkarılıp karıştırıldı. Tamamen erimesi sağlandıktan sonra Etidyum bromür (EtBr) eklendi ve çalkalanarak tüm çözeltiye dağılması sağlandı. Soğuyan çözelti yavaşça Traye döküldü. Polimerleşme sağlanana kadar beklendi. Jel tanka yerleştirilip üstünü kapatınca kadar TAE eklendi. 5'er µl örnek yükleme tamponu ile karıştırılıp jele yüklendi. Bir kuyucuğa da markır yüklendi. 80 V'de 20 dakika koşturma işlemi gerçekleştirildi.

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Tez kapsamında tüm deneyler aksi belirtilmedikçe üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Grafik ve istatistik analizleri GraphPad Prism (GraphPad Software, USA) programı kullanılarak yapıldı. Elde edilen veriler Tukey çoklu karşılaştırma ve One-Way Anova testi ile analiz edildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sitotoksosite ve Kombinasyon İndeksi Bulguları

Tüm dünyada her yıl milyonlarca ölüme sebep olan ve görülme sıklığı her geçen gün artan kanser, içsel ve dışsal faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan önemli bir hastalıktır (Chhikara and Parang, 2023). Kanser vakalarının 2040 yılında 30 milyona yükseleceği tahmin edilmektedir. Günümüzde kullanılan birçok kanser tedavi yöntemlerinin varlığına rağmen yeni yaklaşımlara gereksinim vardır (Shewach and Kuchta, 2009; Kanbur, 2022). Sanayileşme, sedanter yaşam, artan insan ömrü gibi faktörler kanserin görülme sıklığını artırmaktadır (Gencer et al., 2021). Milyonlarca ölüme sebep olan kanserin önlenememesinde etkili olan faktörlerden birisi de kanser dokunun homojen olmamasıdır. Bu durum mevcut tedavilerin yeterli olmaması sonucunu doğurmaktadır (Krzyszczek et al., 2018). Kanser tedavisinde günümüzde sıklıkla tercih edilen kemoterapide görülen bazı problemler vardır. Bunlardan bazıları; kullanılan ajanın kanser hücrelerine spesifik olmaması, önceden veya sonradan ortaya çıkan ilaç direnci ve yan etkilerinin hastaları olumsuz etkilemesidir (Zugazagoitia et al., 2016). Kemoterapide sıklıkla kullanılan kemoterapik ajanlardan birisi de alkilleyici ajanlar grubunda yer alan cisplatindir (Scagliotti and Vokes, 2018). Hücrede oksidatif stres oluşturarak inflamasyon ve apoptozis sürecini tetikleyen cisplatin DNA hasarı neticesinde hücre büyümesi ve çoğalmasını engellemektedir (X. Chen et al., 2013). Bu önemli kemoterapik ajanın kullanımıyla ilgili önemli kısıtlılıklar bulunmaktadır. Böbrek ve karaciğerde ortaya çıkan hasar ilerleyen yaşlarda hastalar açısından önemli sonuçlar ortaya çıkarmaktadır (Pabla and Dong, 2008; Tang et al., 2022).

Bitkiler birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır (Gali-Muhtasib et al., 2001). Yapılan bazı çalışmalarda diyetle alınan besinlerin barındırdığı fenollerin anti-neoplastik etki gösterdiği anlaşılmıştır (Zoberi et al., 2002; Kaparapu et al., 2020). Fenolik bileşikler kanserli hücrelerde; hücre döngüsünü durdurarak, hücre bölünmesini engelleyerek, yeni damar oluşumunu azaltarak ve apoptotik süreci tetikleyerek kanserli yapının büyümesine engel olmaktadır (Lambert et al., 2005). Fenolik

bileşiklerin bitkilerden izole edilmesinin zor olduğu bilinmektedir. Bu sebeple kanser tedavisinde bu bitkilerin ham ekstreleri veya fraksiyonları tercih edilmektedir (De Oliveira et al., 2013; Ghasemzadeh and Jaafar, 2013).

Hali hazırda kanserin tedavisinde uzun yıllardır kullanılan bitkisel kaynaklı ürünler bulunmaktadır. Bitkiler kanseri önlemenin yanında diğer kanser tedavi yöntemlerinin etkilerini de artırmaktadır (Ahmed et al., 2013). Keşfedilecek yeni bitkiler ile kanser tedavisinde bitkilerden faydalanılabileceği tahmin edilmektedir (David et al., 2015). Doğal ürünler bizzat kullanılabildiği gibi kimyasal sentez yoluyla özellikleri değiştirilerek de kullanılabilmektedir (Roche et al., 2019).

Adaçayı türleri sahip olduğu çeşitli özellikler sebebiyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda *S. türlerinin* meme kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri gibi birçok kanser hücre hattında etkili olduğu bulunmuştur (Guerrero et al., 2006; Choudhary et al., 2012; Orhan et al., 2013). *S. tribola* ekstraktının prostat kanseri hücre hattında doza bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür (Atmaca and Bozkurt, 2016). HUVEC, Wehi ve K562 hücre hatlarında yapılan bir başka çalışmada *S. officinalis* bitkisinin doza bağımlı olarak sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Keshavarz et al., 2011). *S. miltiorrhizave* bitkisinde bulunan çeşitli bileşenlerin antikanser özellik gösterdiği bilinmektedir. Bu bileşiklerin önde gelenlerinden birisi de Salvianolik asittir (Bai et al., 2022). *S. officinalis* bitkisinde bulunan Manool bileşiğinin kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Nicolella et al., 2021). *S. leriifolia* bitkisinin barındırdığı fenolik bileşiklerin HT-29 kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Nasrabadi et al., 2024).

Cisplatin birçok kanser türü tedavisinde kullanılan önemli bir kemoterapik ajandır. Hücrelerde DNA'nın pürin bazlarıyla çapraz bağlantı oluşturarak DNA hasarına neden olur. Ortaya çıkan DNA hasarı sonrası hücrelerin apoptozise yönelmesi sağlanır. Ancak, ortaya çıkan ilaç direnci, böbrek sorunları, alerjik reaksiyonlar ve bağışıklığın baskılanması gibi problemler hastaları olumsuz etkilemektedir. Bu sebeple bu ilacın etkinliğinin artırılması ve yan etkilerinin azaltılması önem taşımaktadır (Dasari and Bernard Tchounwou, 2014). Cisplatinin etki mekanizmalarının oksidatif stresle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Mitokondri yoluyla doğrudan ve dolaylı olarak ROS oluşturduğu

bilinmektedir. Cisplatin ile ortaya çıkan sitotoksitenin oluşan serbest radikaller, peroksidasyon yan ürünlerinin artması ve bunun sonucunda apoptotik sürecin tetiklendiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Lieberthal et al., 1996; Matsushima et al., 1998; Ueda et al., 2000). Cisplatin birçok ürünle kombine edilerek günümüzde kanser tedavisinde tercih edilmektedir (Dasari and Bernard Tchounwou, 2014). Cisplatinin hedef dışı etkilerinin azaltılması için birçok bitki ile birlikte kullanıldığı bilinmektedir (Dasari et al., 2022).

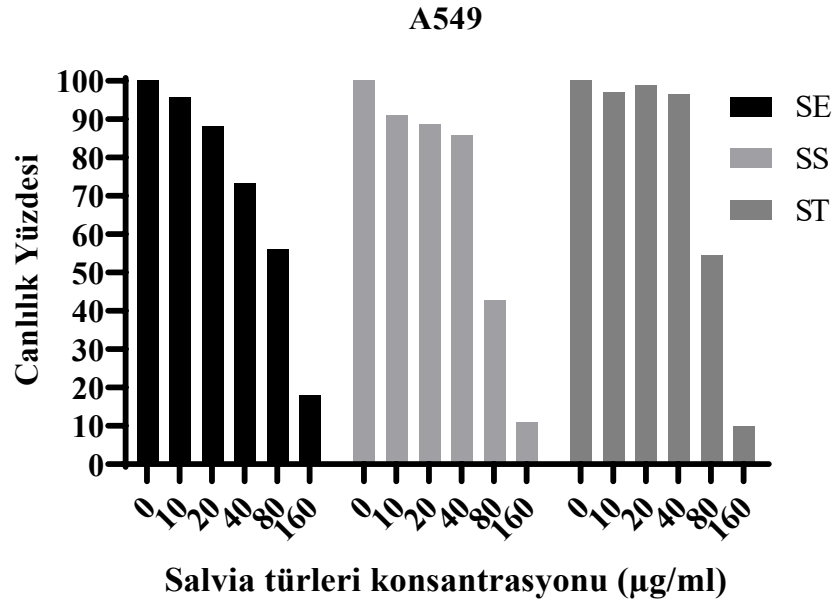
MCF-7 meme kanseri hücre hattında yapılan *in vitro* çalışmada *S. officinalis* ekstraktının sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur (Zare, 2019). Kolorektal kanserin önlenmesini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada farelerde *S. officinalis* su ekstraktının H₂O₂ kaynaklı DNA hasarını azalttığı tespit edilmiştir (Pedro et al., 2010). Bu türün köklerinden türetilen diterpenoid molekülünün in-vitro ortamda CaCo-2 hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu ve DNA hasarı oluşturduğu tespit edilmiştir. *S. chorassanica* ekstraktının farklı fraksiyonları ile yapılan canlılık deneyinde bu bitkinin HeLa hücre hattında doza bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği anlaşılmıştır (El Hadri et al., 2010). Aynı bitkinin ekstraktının MCF-7 ve DU145 hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Golshan et al., 2016). *S. choleuca* bitkisinin metanol ekstraktının MCF-7 hücre hattında hücre canlılığını azalttığı bulunmuştur (Tayarani-Najaran et al., 2013). *S. macrosiphon* bitkisinden elde edilen epimanoil bileşiğinin A549, MCF-7, MDA-MB-231 hücre hatlarında sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Balaei-Kahnamoei et al., 2021). *S. urmeiens* bitkisinden elde edilen 2 farklı bileşiğin A549 akciğer kanseri hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür (Hashemi et al., 2023). *S. türlerinden* elde edilen çeşitli bileşiklerin incelendiği bir çalışmada ilgili bileşiklerin MCF-7 ve HT-29 hücre hatlarında antiproliferatif etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Irtegun Kandemir et al., 2022). *S. occidentalis* bitki ekstraktının T47D kanser hücre hattında antiproliferatif etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Sinala et al., 2021). *S. syriaca* bitkisinden elde edilen bazı bileşiklerin CaCo-2 kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Arslan et al., 2021). *S. miltiorrhiza* bitkisinin kolon kanseri hücre hattı olan HCT116'nın çoğalmasını engellediği bulunmuştur (Jiang and Xun, 2024). Aynı bitkinin akciğer kanseri hücre hattında aerobik hücre çoğalmasını inhibe ettiği bulunmuştur (J. Bai et al., 2024). Bu bitkiden elde edilen Cryoptotanshinon bileşiğinin kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (W. Li et al., 2015). HT-29 kolon

kanseri hücre hattı ve RPE-1 sağlıklı hücre hattında sitotoksitesinin karşılaştırıldığı grafikten RPE-1 sağlıklı hücre hattında daha yüksek dozlarda etkili olduğu görülmüştür (Golshan et al., 2016).

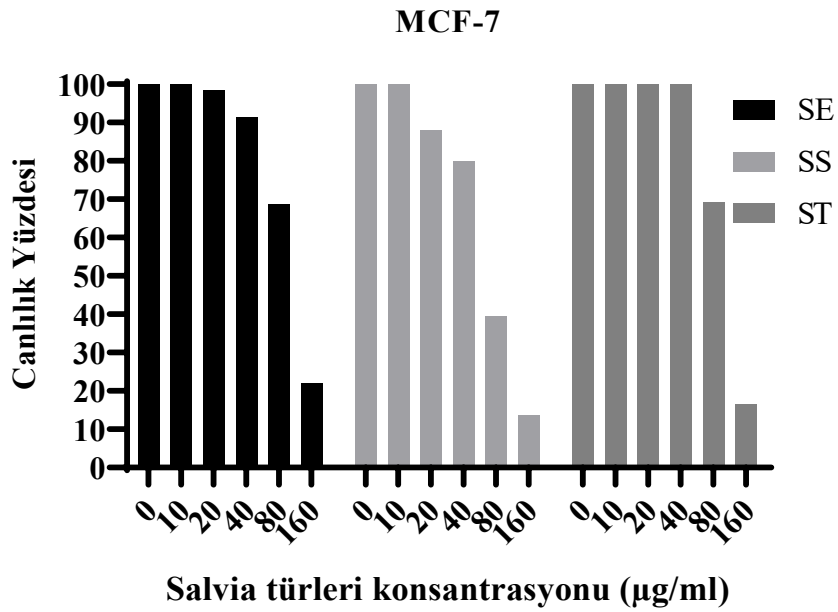
Bu çalışmada HT-29 insan kolon kanseri, MCF-7 insan meme kanseri, A549 insan akciğer kanseri ve RPE-1 hücre hatlarında üç farklı *S. türünün* sitotoksik etkisi incelendi. *S. türlerinin* tek başına ve cisplatin ile birlikte kullanılmasının sitotoksik etkisinin incelenmesi amacıyla kristal viyole canlılık deneyi yapıldı. Artan konsantrasyonlarda *S. türleri* ile tedavi edilen A549 (Şekil 4.1), MCF-7 (Şekil 4.2), ve RPE-1 (Şekil 4.3), HT-29 (Şekil 4.4) hücre hatlarında en etkili sitotoksitenin HT-29 hücre hattında olduğu görüldü. Bu sebeple HT-29 hücre hattında canlılık deneyi 3 tekrarlı olarak yeniden yapıldı (Şekil 4.5). Özellikle 40µg/ml sonrasında güçlü sitotoksik etkinin olduğu tespit edildi. Cisplatin tedavisinin ilgili hücre hatlarında canlılığa etkisini incelemek amacıyla canlılık deneyleri gerçekleştirildi (Şekil 4.6). Cisplatinin sağlıklı hücrelere kıyasla kanser hücre hattında çok daha düşük dozlarda etkili olduğu görüldü. HT-29 hücre hattında cisplatinin sitotoksik etkisine çok tekrarlı deneyler ile bakıldığında 2µg/ml sonrasında güçlü sitotoksik etkinin olduğu görüldü (Şekil 4.7). Kullanılan kemoterapik ajan ve *S. türlerinin* sağlıklı hücre hattı olan RPE-1’de etkisine bakıldığında çok daha yüksek dozlarda (*S. türleri* için 80 µg/ml ve üstü, cisplatin için tespit edilemedi) sitotoksik etki gösterdiği anlaşıldı. Bu durum, ilgili *S. türlerinin* ve cisplatinin kanser hücrelerinde düşük dozlarda etkili olduğunu, sağlıklı hücrelerde ise daha yüksek dozlarda sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Tablo 2’de ilgili hücre hatlarında *S. türleri* ve cisplatin ile yapılan canlılık deneylerinde elde edilen IC50 ve IC50/2 dozları görülmektedir.

Tablo 2. Canlılık deneylerinde tespit edilen IC50/2 ve IC50 değerleri(µg/ml) (ND: Belirlenemedi)

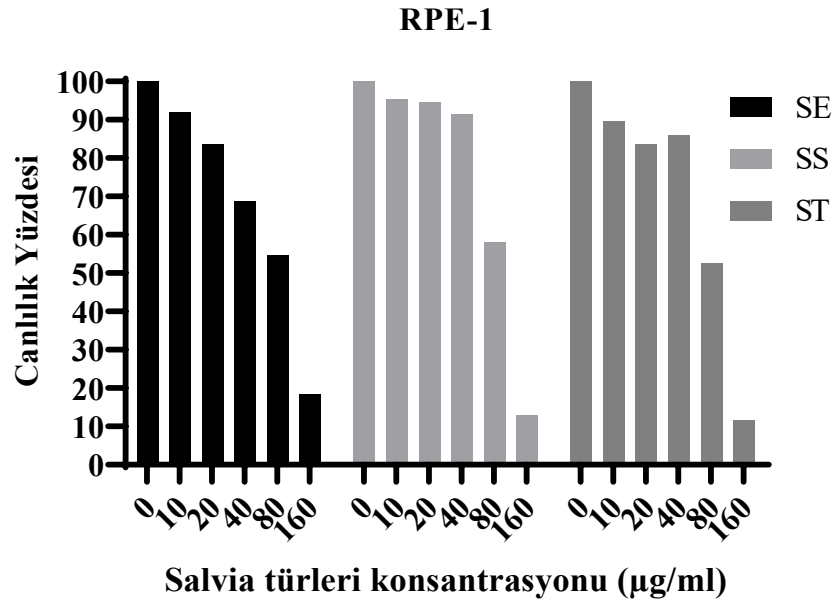
	A549		MCF-7		RPE-1		HT-29	
	IC50/2	IC50	IC50/2	IC50	IC50/2	IC50	IC50/2	IC50
CİS	4,33	8,66	5,475	10,95	ND	ND	1,43	2,92
SE	45,465	90,93	56,03	112,06	44,835	89,67	18,21	38,16
SS	36,695	73,39	33,79	67,58	47,575	95,15	19,89	40,85
ST	44,35	88,7	52,455	104,91	44,79	89,58	23,86	43,40



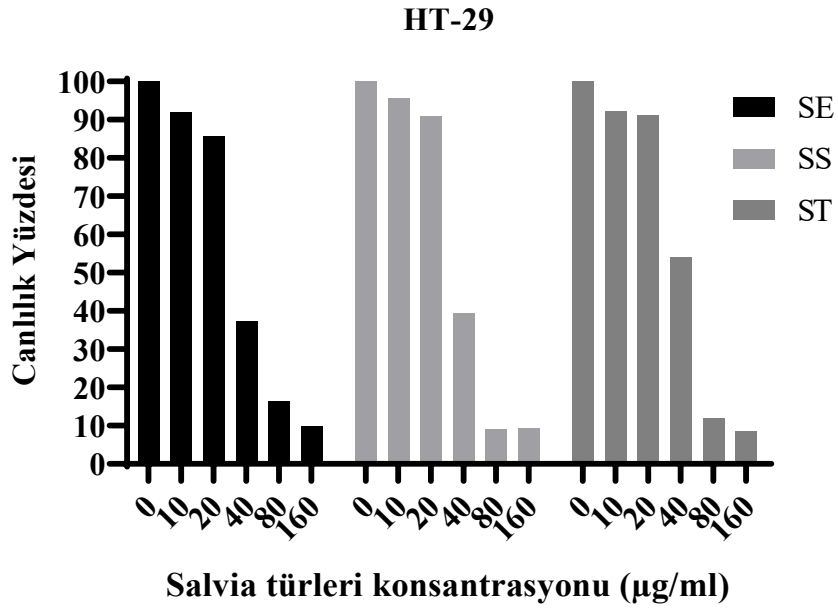
Şekil 4.1. *S. türleri* ile 72 saat tedavi edilen A549 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği



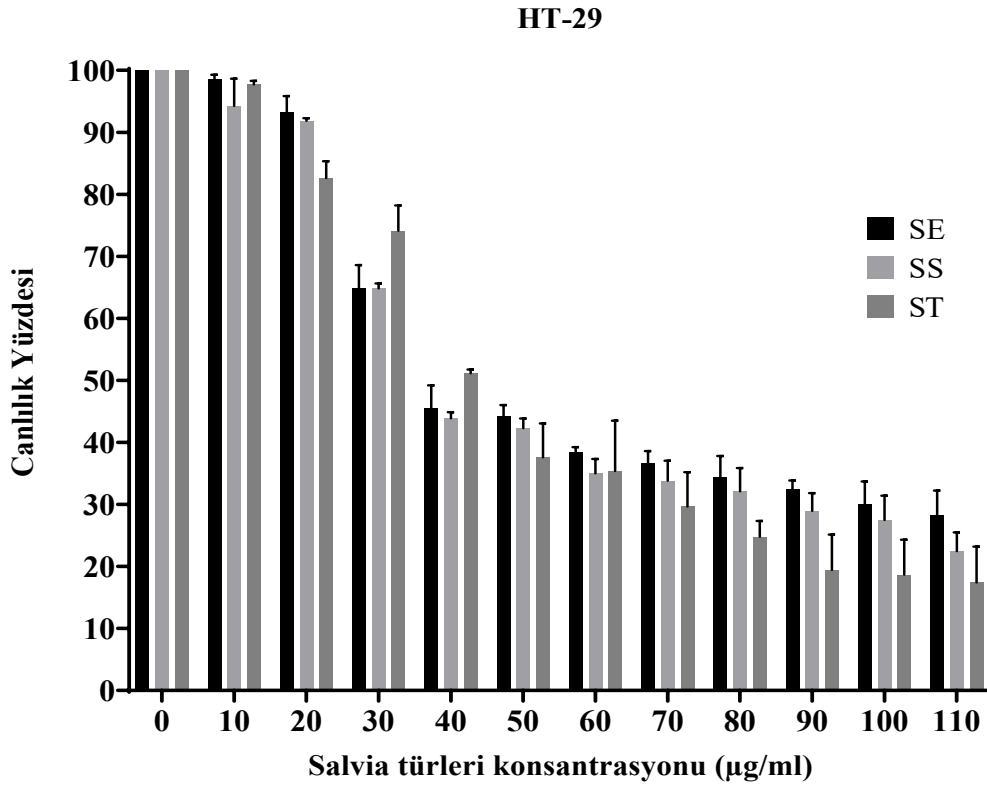
Şekil 4.2. *S. türleri* ile 72 saat tedavi edilen MCF-7 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği



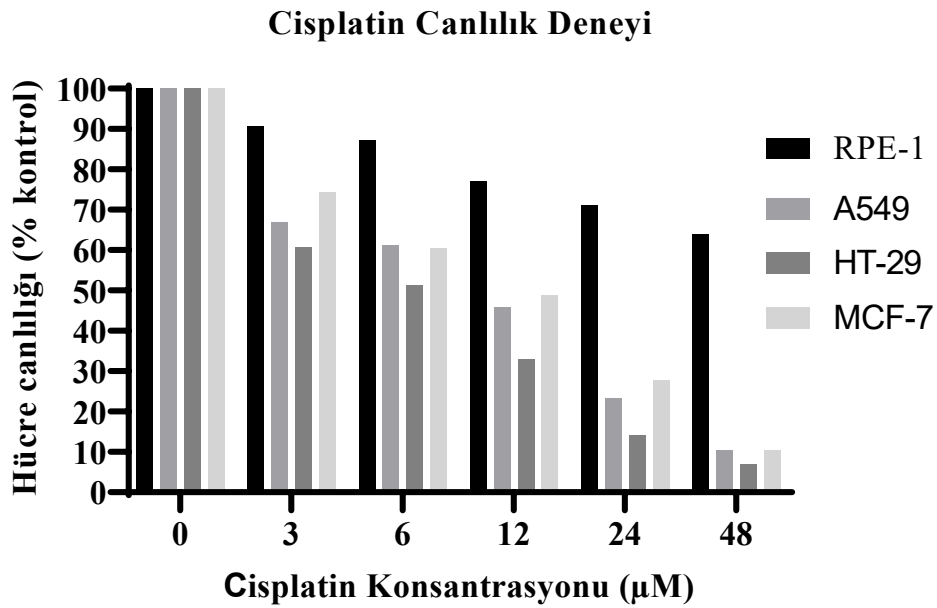
Şekil 4.3. *S. türleri* ile 72 saat tedavi edilen RPE-1 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği



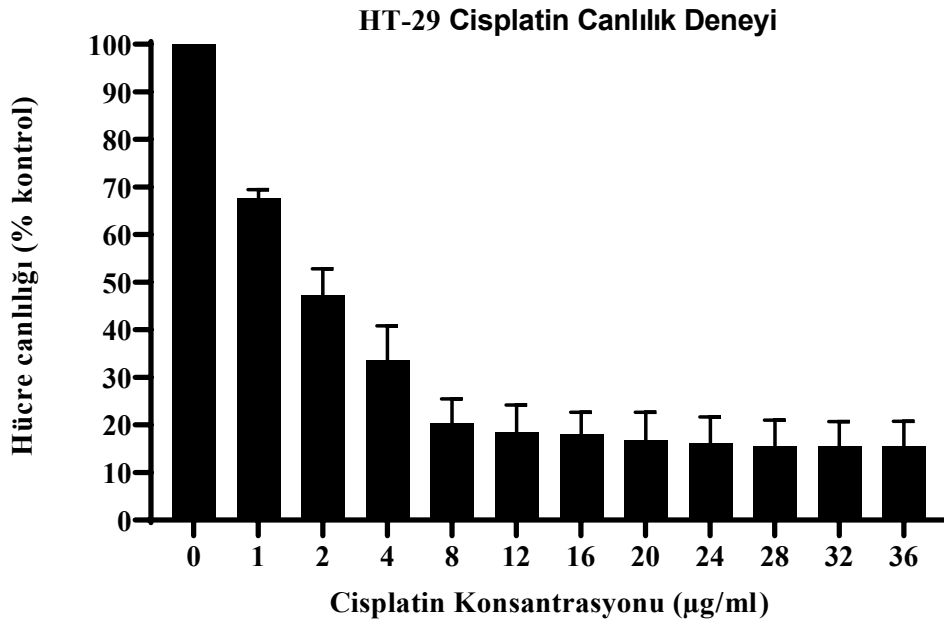
Şekil 4.4. *S. türleri* ile 72 saat tedavi edilen HT-29 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği



Şekil 4.5. HT-29 Canlılık grafiği. *S. türleri* ile 72 saat tedavi edilen HT-29 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği



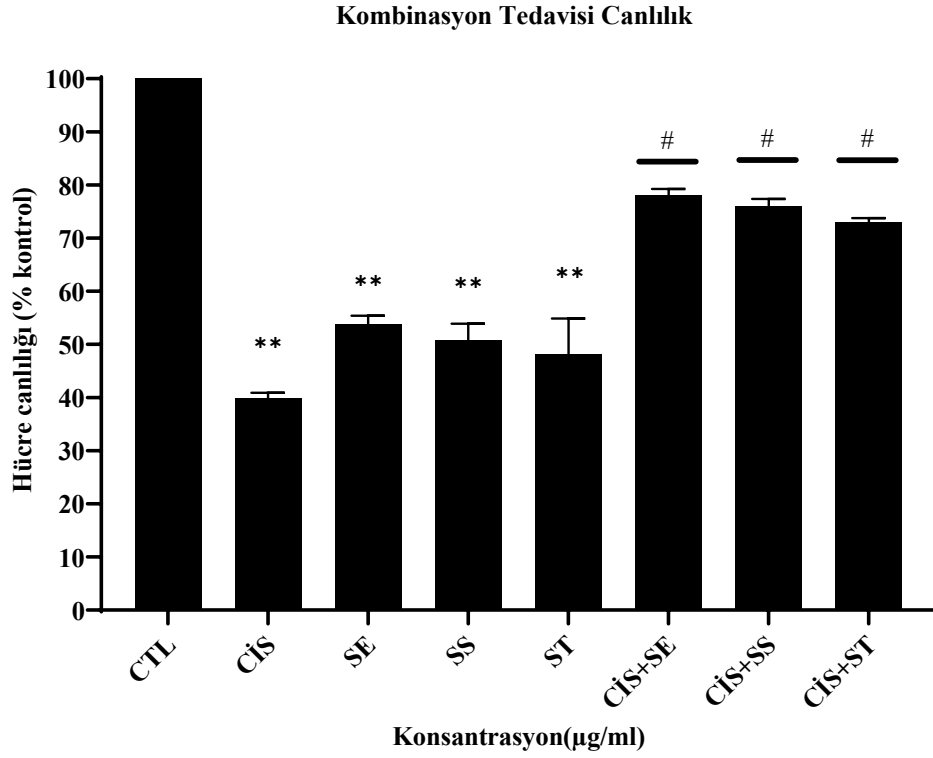
Şekil 4.6. Cisplatin ile 72 saat tedavi edilen hücrelerin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği



Şekil 4.7. Cisplatin ile 72 saat tedavi edilen HT-29 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği

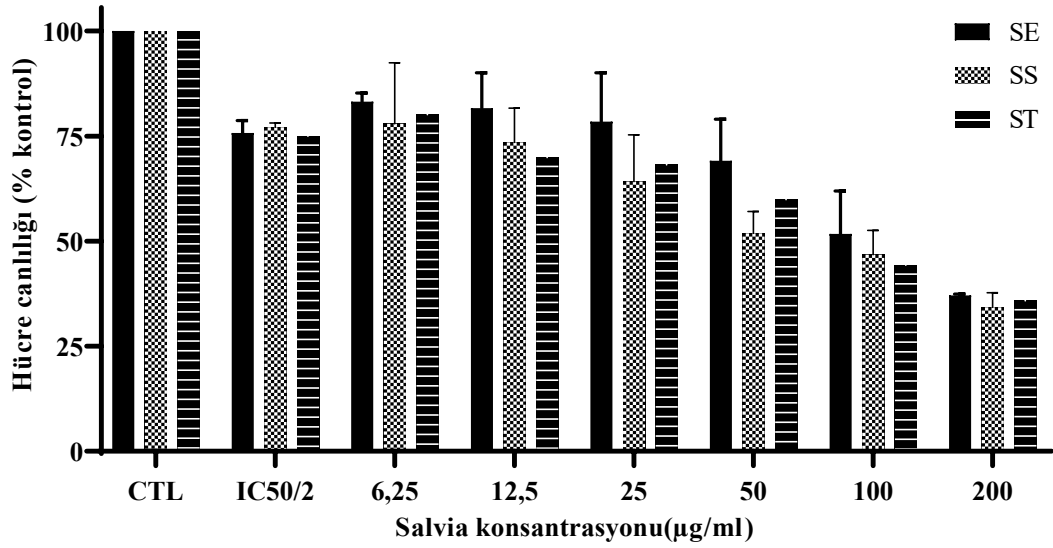
İki veya daha fazla terapötik ajanın birlikte kullanılması olarak ifade edilen kombinasyon tedavisi kanser tedavisinin temel taşı olarak görülmektedir. Bu tedavi yöntemi monoterapiye göre önemli üstünlüklere sahiptir. Çoğu kanser türünde 5 yıllık sağ kalım oranlarının çok düşüktür ve yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte yeni ilaç keşiflerinin ve onay süreçlerinin çok uzun zaman aldığı bilinmektedir. Bu sebeple en az birisi FDA tarafından onaylanmış ajanların birlikte kullanılması zaman ve maliyet açısından önemli avantaj sağlamaktadır (Mokhtari et al., 2017). Bitkiler ile kemoterapi ajanlarının kombine edilmesinin kemoterapide ortaya çıkan olumsuz etkilerin azaltılmasında umut vadettiği bilinmektedir. KRK tedavisinde mevcut tedavilerin yan etkilerinin azaltılmasında doğal maddelerin kullanılmasının birçok olumlu etkisinin olduğu bildirilmektedir (Rejhová et al., 2018). Ancak bazı durumlarda doğal ürünler kanser tedavisinde etkisiz kalabilmektedir: Bazı durumlarda ise kullanılan ilacın etkisini azaltabilmektedir (Ju et al., 2002, 2008; Heaney et al., 2008). MCF-7 meme kanseri hücre hattında yapılan bir çalışmada tamoksifen ve genistein kombinasyonunun antagonist etki gösterdiği bulunmuştur (Liu et al., 2005; Ju et al., 2008). Yeşil çayın antikanser özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada U266 hücre hattında bortezomib etkinliğinin kombinasyon ile azaldığı bulunmuştur. Aynı çalışmada benzer etkinin invivo deneyler ile desteklendiği görülmüştür (Golden et al., 2009). Başka bir çalışmada PC-3 hücrelerinde yeşil çayın

bortezomib etkinliğini azalttığı bulunmuştur (Modernelli et al., 2015). Bitkisel ürünlerin kemoterapik ajanlar ile birlikte kullanımının ROS oluşumun engelleyerek JNK yolağının ilerlemesini durdurduğu teorisinden yola çıkarak yapılan bir çalışmada diyet olarak alınan kurkuminin MCF-7, MDA-MB-231 ve BT-474 hücre hatlarında kamptotesin, mekloreタミン ve doksorubisin kaynaklı JNK aktivasyonun azaldığı ve apoptozisin azaldığı bulunmuştur (Somasundaram et al., 2002). Kurkumin-etopozid kombinasyonunun MCF-7, HepG2, U251, HCT116 ve HeLa hücre hatlarında benzer şekilde sitotoksiteyi azalttığı bulunmuştur (Saleh et al., 2012). Çalışmamızda kristal viyole canlılık deneylerinde elde edilen IC50 ve IC50/2 dozları kullanılarak en etkili sonucun bulunduğu HT-29 hücreleri *S. türleri* ve cisplatin 72 saat tedaviye maruz bırakıldı. Monoterapi için IC50 dozları, kombine tedavi için ise IC50/2+IC50/2 dozları kullanıldı (Şekil 4.8). Elde edilen sonuçlara göre; *S. türleri* ve cisplatin HT-29 hücre hattında tek başına kullanıldığında daha etkili olduğu, kombine tedavi uygulandığında ise tüm gruplarda sitotoksitenin anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi ($p<0,05$). Bitkilerin antioksidan karaktere sahip olduğu, cisplatinin ise hücrelerde oksidatif stres oluşturarak sitotoksiteye sebep olduğu bilinmektedir. Kombinasyon tedavisinde ortaya çıkan bu fark cisplatin kaynaklı oksidatif stresin bitkiler tarafından azaltılması ve bu durumun canlılığı olumlu etkilemesi şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 4.8. *S. türleri* ve cisplatin ile monoterapi (IC₅₀) ve kombine terapi (IC₅₀/2+ IC₅₀/2) olarak 72 saat tedavi edilen HT-29 hücrelerinin artan konsantrasyonlara bağlı canlılık grafiği (**p<0,01, # p<0,01)

Cisplatin ve *S. türleri* arasındaki muhtemel sinerjizmin belirlenmesi amacıyla kombinasyon indeksleri (KI) hesaplandı. Daha önce uygulanan 72 saatlik tedavilerin ardından tespit edilen IC₅₀ değerinin yaklaşık yarısı (IC₅₀/2) ile tedavi edilen hücreler artan dozlar ile tedavi edildi (Şekil 4.9) (CisIC₅₀/2 +6,25-12,5-25-50-100-200 µg/ml *S. türleri*), (*S.* IC₅₀/2 + 0,625-1,25-2,5-5-10-20 µg/ml Cis). 72 saatin sonunda IC₅₀/2 için okunan absorbans değeri %100 canlılık olarak normalize edilip gerekli hesaplamalar yapıldı (Şekil 4.10), (Şekil 4.11). Cisplatin ile SE, SS ve ST türleri ile kombinasyon indeksleri sırasıyla; 9,54, 9,37 ve 9,67 bulunmuştur. Bu değerler 1 değerinden büyük olduğu için cisplatinin ilgili *S. türleri* ile kuvvetli antagonistik ilişki barındırdığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.11. Sinerjizm canlılık deneyi 2. Canlılık deneylerinde elde edilen IC50 ve IC50/2 değerleri kullanılarak yapılan sinerjizm deneyinde; Kontrol dışında tüm gruplar IC50/2 cisplatin ve artan dozlarda *S. türleri* ile tedavi edildi. 72 saatlik tedavinin ardından materyal metot kısmında belirtildiği gibi spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirildi

Tablo 2. Mono ve kombine tedaviler sonucunda elde edilen IC50 dozları ve kombinasyon indeksleri

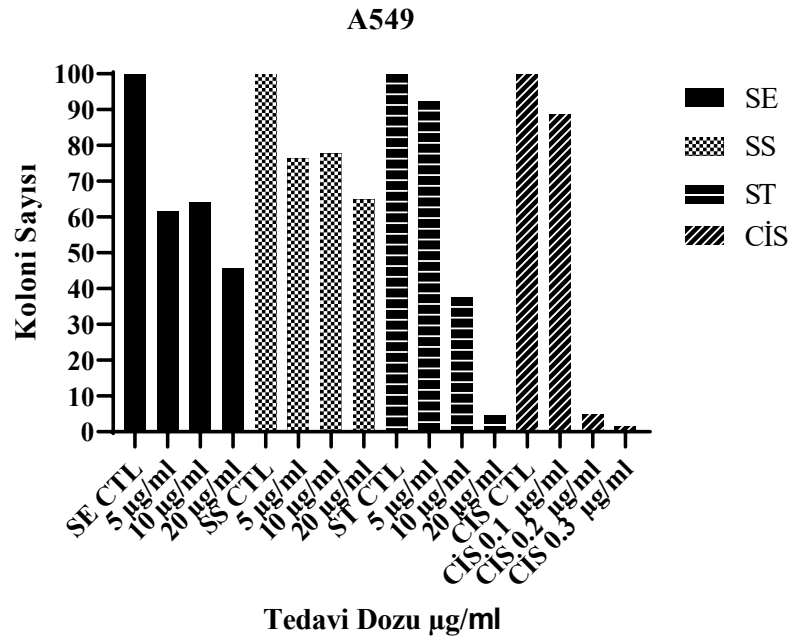
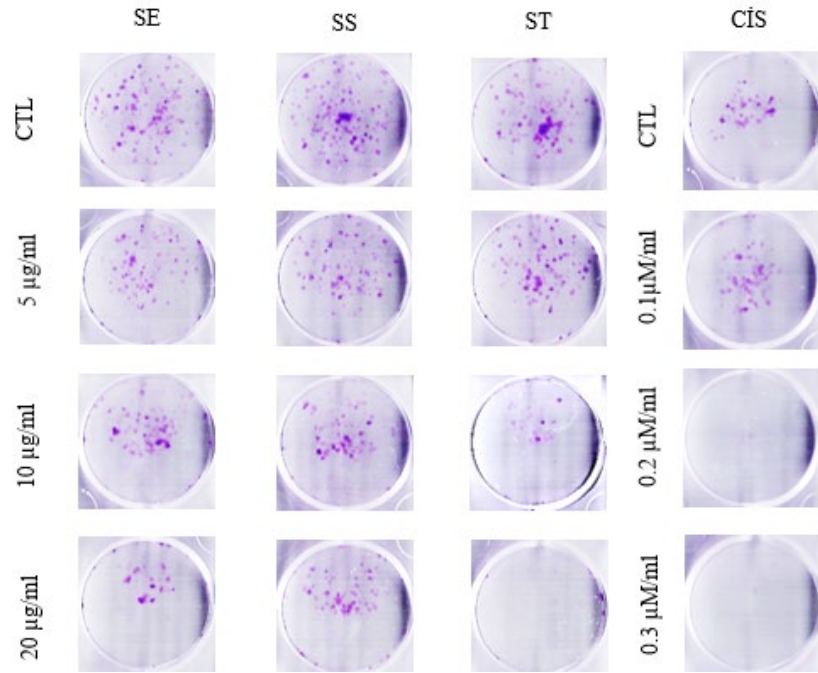
	IC50	Kombinasyon indeksi (KI)
CİS	2,92	
SE	38,16	
SS	40,85	
ST	43,40	
SE IC50/2+CİS	16,1	9,54
CİS IC50/2+SE	154	
SS IC50/2+CİS	17,1	9,37
CİS IC50/2+SS	144	
ST IC50/2+CİS	18	9,61
CİS IC50/2+ST	150	

4.2. Koloni Sağ Kalımı Bulguları

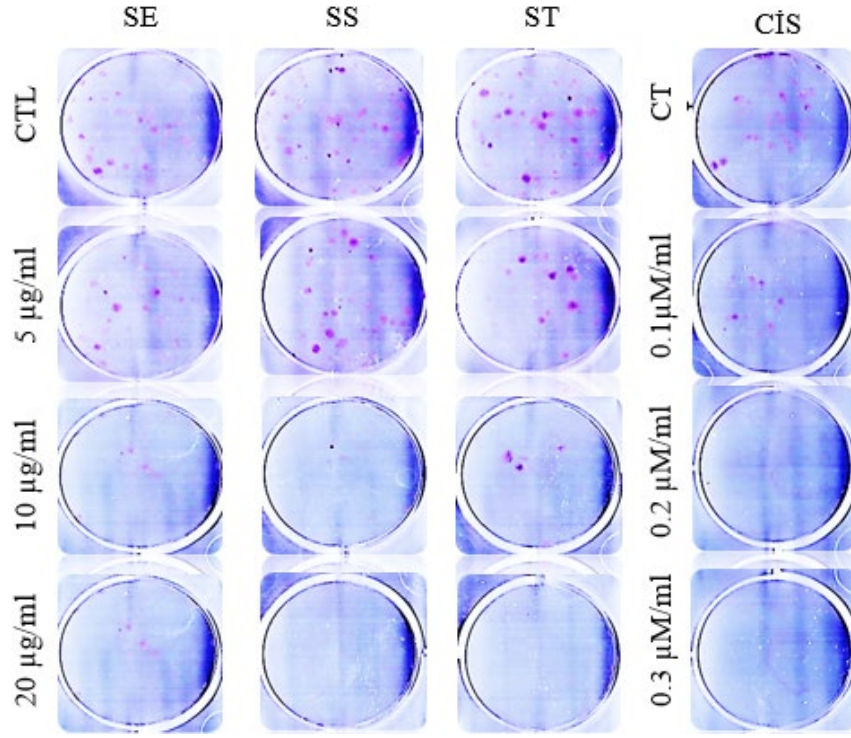
Koloni formasyon deneyi, kanser hücre hatlarında radyasyon, sitotoksik bir ajanın anti-proliferatif etkisinin ölçmeye yarayan ve sıklıkla tercih edilen bir deneydir (Guzmán et al., 2014). Bu deneyde tek hücrelerin koloni halinde büyüme yeteneği *in vitro* olarak ölçülmektedir (Franken et al., 2006). *S. plebeia* bitkisinden elde edilen bileşiğin CNE-2Z hücre hattında koloni yapma kabiliyetini olumsuz etkilediği bulunmuştur (Dai et al., 2021). *S. miltiorrhiza* bitkisinden elde edilen bileşiklerin A375 hücre hattında koloni oluşumuna engel olduğu bulunmuştur (Zanrè et al., 2022). Aynı bitkinin özofagus kanseri hücre hattında ve HCT116 kolon kanseri hücre hattında koloni yapma kabiliyetini azalttığı bulunmuştur (Jia et al., 2022; Jiang and Xun, 2024). Aynı bitkinin ratlarda akciğer kanserinde koloni oluşumuna engel olduğu anlaşılmıştır (Bai et al., 2024). *S. plebeia* bitkisinden elde edilen hispidulin bileşiğinin nazofaringeal kanser hücre hattı olan CNE-2Z hücre hattında koloni oluşumunu azalttığı bulunmuştur (Dai et al., 2021). *S. bowleyana* bitkisinden elde edilen salvionik asitin mide kanseri hücre hatlarında koloni oluşum yeteneğini azalttığı bulunmuştur. *S. bowleyana* bitkisinden elde edilen salvianolik asitin mide kanseri hücre hatlarından olan HGC-27 ve AGS’de koloni formasyon kabiliyetini azalttığı bulunmuştur (Chen et al., 2020).

Yeşil çayın antikanser özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada kemoterapik ajan ile birlikte kullanıldığında koloni oluşturma yeteneğinin monoterapiye göre daha iyi olduğu görülmüştür (Golden et al., 2009).

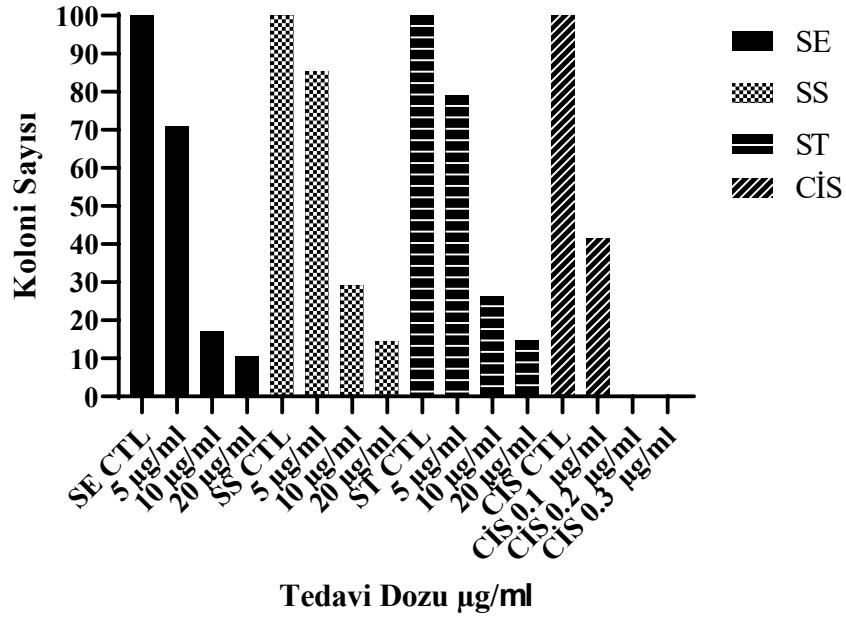
S. türleri ve cisplatinin A549 (Şekil 4.12), MCF-7 (Şekil4.13) ve HT-29 (Şekil4.14), hücre hattında koloni oluşturma kapasitesi koloni sağ kalım analizi ile değerlendirildi. İlgili hücre hatlarında tedavi edilmeyen gruplar ile kıyaslandığında koloni oluşturma yeteneğinin azaldığı bulundu.



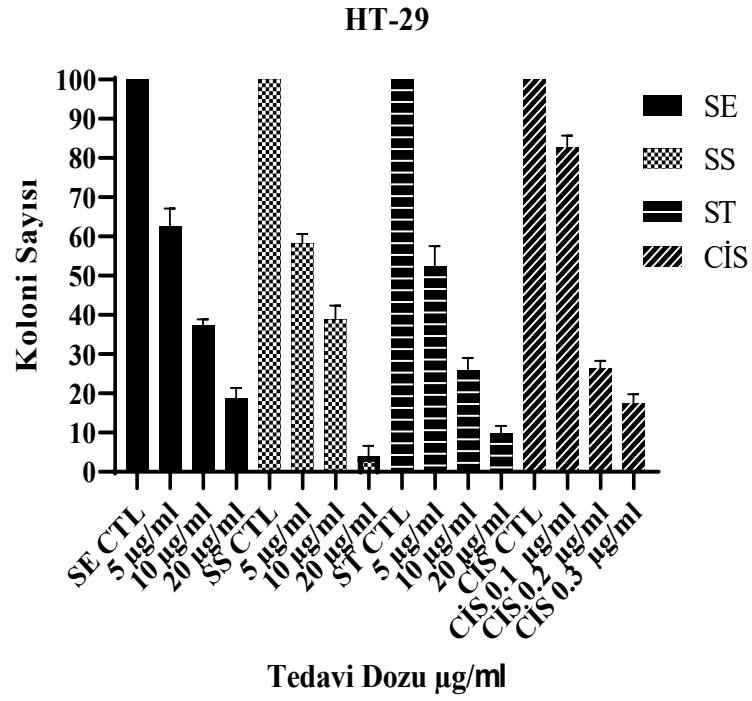
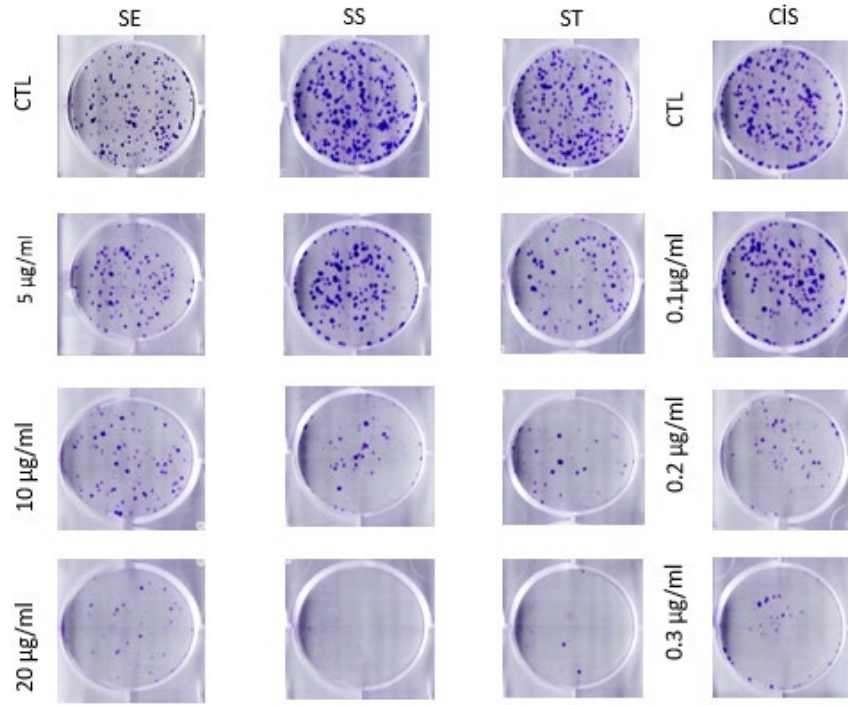
Şekil 4.12. *S. türleri* ve Cisplatin ile 72 saat artan dozlarda tedavi sonrasında A549 hücrelerinin koloni yapma kapasiteleri



MCF-7



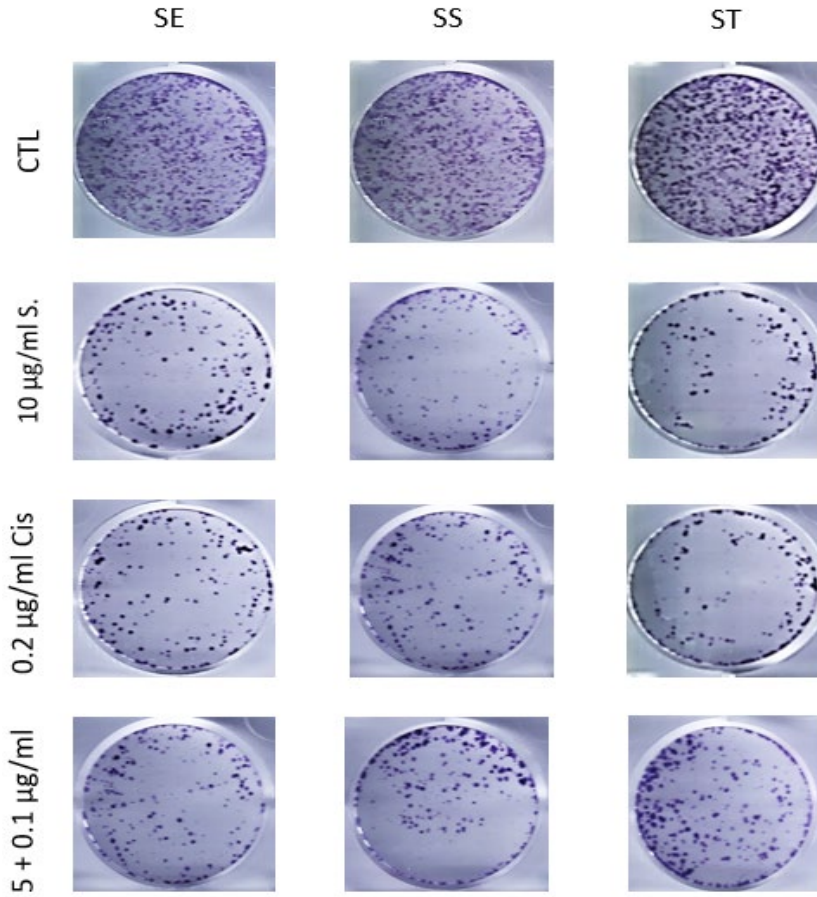
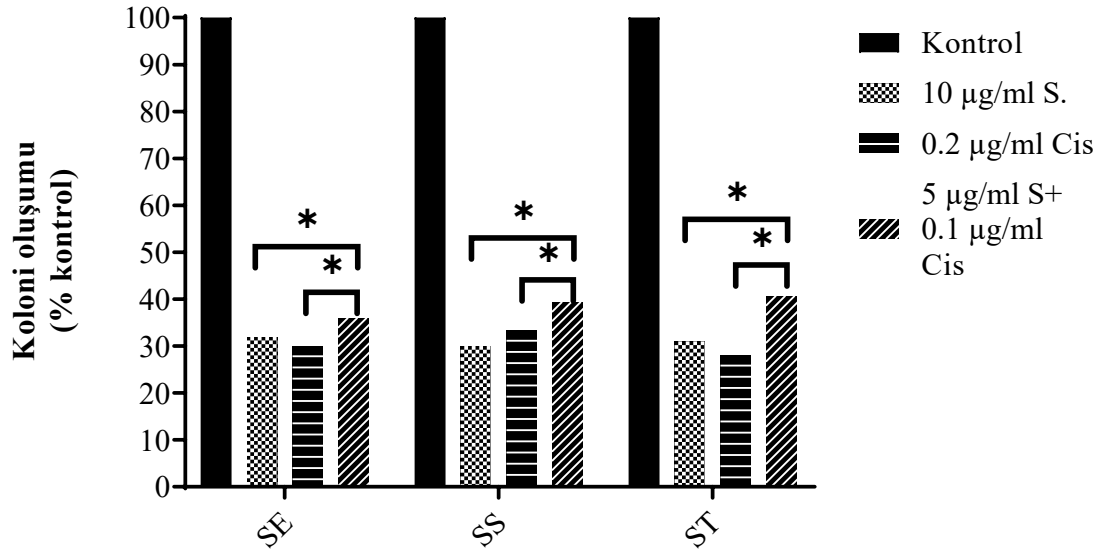
Şekil 4.13. S. türleri ve Cisplatin ile 72 saat artan dozlarda tedavi sonrasında MCF-7 hücrelerinin koloni yapma kapasiteleri



Şekil 4.14. S. türleri ve Cisplatin ile 72 saat artan dozlarda tedavi sonrasında HT-29 hücrelerinin koloni yapma kapasiteleri

HT-29 hücre hattında SE, SS ve ST türlerinin 10µg/ml dozu ile tedavi edildiğinde kontrol grubuna kıyasla koloni sayısında anlamlı düzeyde azalma olduğu bulundu ($p<0,01$). İlgili hücre hattında cisplatinin 0,2µg/ml dozu ile tedavi edilen grup, kontrol grubu ile kıyas edildiğinde koloni sayısının anlamlı düzeyde azaldığı bulundu ($p<0,01$).

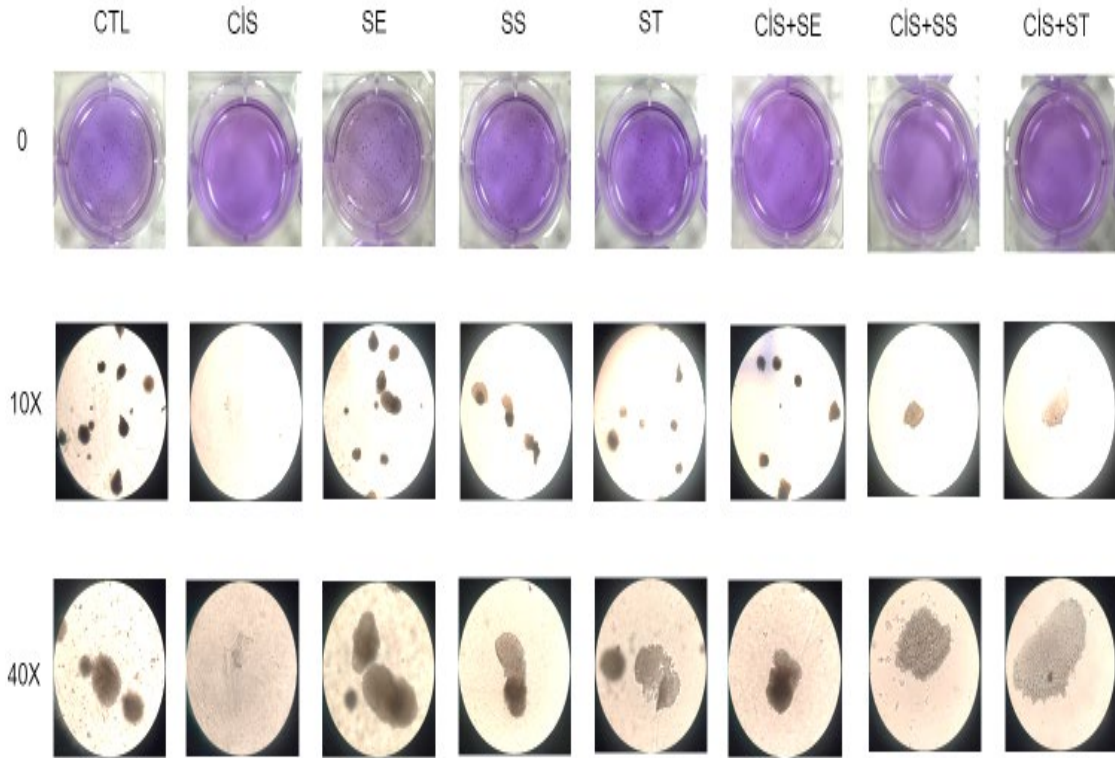
HT-29 hücre hattında belirlenen etkin dozların yarısı ile yapılan kombinasyon tedavisinin koloni oluşumuna etkisini incelemek amacıyla deneyler gerçekleştirildi. Bu amaçla *S.* türlerinin 10µg/ml dozu ve cisplatinin 0,2µg/ml dozu monoterapi dozu olarak belirlendi. Kombinasyon tedavilerinde *S.* türleri için 5µg/ml, cisplatin için ise 0,1µg/ml dozu kullanıldı (Şekil 4.15). Deney sonucunda; kombine tedavide koloni sayısının monoterapiye kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Elde edilen bu sonuç; *S.* türleri ile cisplatinin arasında antagonistik etki olduğu düşüncesini ortaya çıkarmaktadır.



Şekil 4.15. *S.* türleri ve Cisplatin tedavisinin birlikte uygulanması sonucunda HT-29 hücrelerinin koloni yapma kapasiteleri (60 mm kültür kaplarına ekilen HT-29 hücreleri 72 saat süreyle 0.2 µg/ml Cisplatin + 10 µg/ml *S.* ve 0.1 µg/ml Cisplatin + 5 µg/ml *S.* dozu ile tedavi edilmiştir. 72 saatin sonunda ilaçları mediumlar çekilip, taze medium eklenmiştir. 10-15 gün inkübatör içinde bekletildikten sonra materyal metot kısmında belirtildiği gibi hücreler boyanarak kolonilerin görünmesi sağlanmıştır, * $p < 0,05$)

4.3. Soft Agar Bulguları

Soft agar koloni formasyon deneyi, *in vitro* hücrel transformasyonun değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Borowicz et al., 2014). *İnvivo* ortamda tümör gelişiminin takip edilmesinin zor olduğu göz önüne alındığında, soft agar tekniği kanser hücrelerinin yarı solid ortamda proliferasyonunu ölçmek için önemli bir teknik olarak hala kullanılmaktadır (Horibata et al., 2015). *S. miltiorrhiza* bitkisinin göğüs kanseri hücre hattında 3D soft agar ortamında koloni oluşumuna engel olduğu tespit edilmiştir (Kashyap et al., 2021). Aynı bitkiden elde edilen salvione bileşiğinin A375 melanom hücre hattında Tanshinone bileşiğinin ise osteosarkom hücre hattında 3D soft agar ortamında koloni oluşumunu azalttığı bulunmuştur (Yen et al., 2018; Zanrè et al., 2022). Aynı bitkinin bileşiği olan Survin'in kolorektal kanser hücre hattında 3D soft agar koloni kabiliyetini azalttığı bulunmuştur (Y. Cao et al., 2023). Bu bitkiden elde edilen dihidrotanshinon bileşiğinin tiroit kanseri hücre hattında 3D soft agar ortamında koloni yapma kabiliyetini azalttığı bulunmuştur (Allegri et al., 2021). Bu bitkiden elde edilen cryptotanshinon bitkisinin kolorektal kanser hücre hattı olan HCT116'nın 3D ortamda koloni yapma kapasitesini düşürdüğü bulunmuştur (W. Li et al., 2015). *S. multicaulis* bitkisinin A549 hücre hattının 3D ortamda koloni yapma yeteneğini azalttığı bulunmuştur (Abi-Rizk et al., 2021). *S. calaleriei* bitkisinin kolon kanseri hücre hattında 3D ortamda koloni formasyon yeteneğini azalttığı tespit edilmiştir (Hu et al., 2015). Tamoxifen direnci kazanmış meme kanseri hücre hattı MCF-7'de *S. türlerinden* elde edilen tanshinone IIA bileşiğinin 3D Soft agar ortamında koloni yapma yeteneğini azalttığı bulunmuştur (Yang et al., 2017).



Şekil 4.16. HT-29 hücreleri ile gerçekleştirilen Soft Agar deneyi mikroskop görüntüleri (HT-29 hücreleri 6'lı plakalara ekildikten sonra Cisplatin ve *S.* türleri için belirlenmiş olan IC50 ve IC50/2 dozlarıyla tedavi edildi. Monoterapi için IC50 dozları, kombinasyon tedavileri için ise IC50/2+IC50/2 dozları kullanıldı. Deney süresi boyunca (21 gün) inkübatörde bekletilen plakalara 5 gün aralıklarla tedavi ajanını içeren %20 FBS'li DMEM ilave edildi. 21. Günü sonunda materyal-metot kısmında belirtildiği gibi kolonilerin görünmesini sağlayacak şekilde boyandı. Plakalar fotoğraf makinası ile dışardan, 10x ve 40x görüntüleri alındı)

Çalışmamızda; *S.* türleri ve Cisplatin için HT-29 hücre hattında belirlenen IC50 ve IC50/2 dozları kullanılarak hücrelerin solid ortamda koloni oluşturma yeteneği araştırıldı (Şekil 4.16). Cisplatin ve *S.* türlerinin IC50 dozları monoterapi olarak, IC50/2 dozları ise kombine tedavide kullanıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırma yapıldığında Cisplatin ve *S.* türleri ile tedavinin koloni oluşumunu azalttığı görüldü. Özellikle cisplatinin monoterapi olarak uygulandığı grupta koloni oluşumu gözlenmedi. Ancak, Cisplatin-*S.* kombinasyonunun ise cisplatin grubu ile kıyaslandığında koloni oluşumunu desteklediği görüldü. Bu sonuçlar, cisplatin ve *S.* gruplarının tek başına kullanıldığında daha etkili olduğu sonucunu göstermektedir. Koloni oluşumu göz önünde bulundurulduğunda cisplatin ile *S.* arasında sinerjistik bir etki olmadığı düşüncesi ortaya çıkmaktadır.

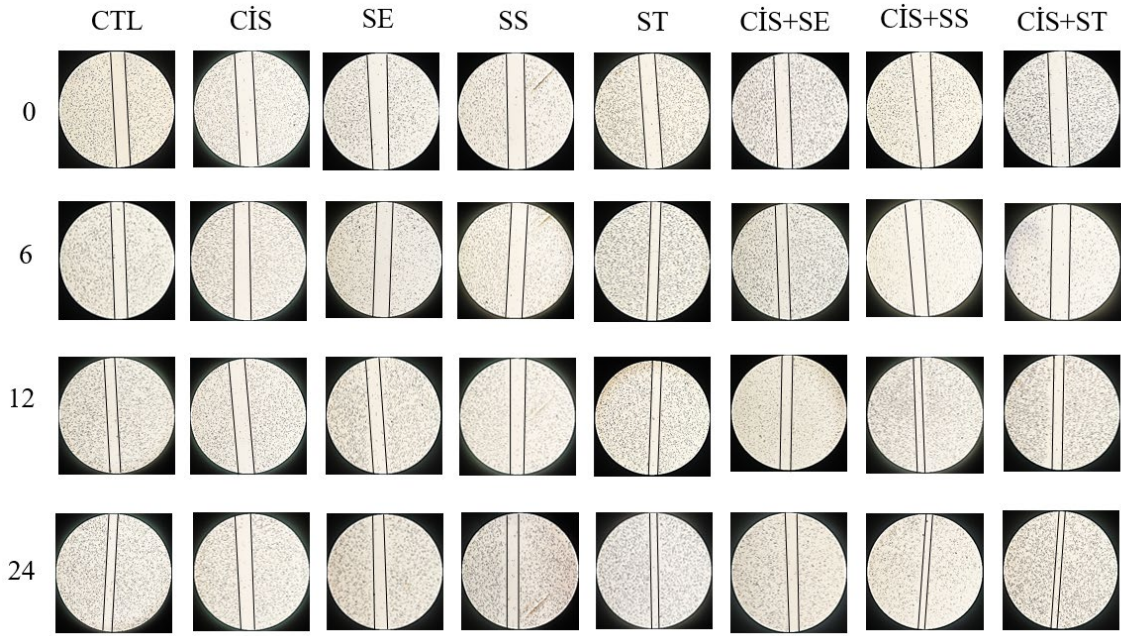
4.4. Wound Healing Bulguları

İn vitro olarak hücrelerin göç etme kabiliyetini ölçmeye yarayan bir yöntemdir. Kültür kaplarında oluşturulan yaraların mikroskop altında kapanma sürecinin başlangıçta ve düzenli aralıklarla incelenmesi esasına dayanır. Bu şekilde hücrelerin göç oranı tespit edilmiş olur (Rodriguez et al., 2005). Yara iyileşmesi deneyi 2D hücre göçünü analiz etmek için kullanılan standart *in vitro* bir tekniktir. Mekanik, termal veya kimyasal yolla oluşturulan boşluğa hücrelerin göç etmesi sağlanır. Mikroskop aracılığıyla açılan boşluğun kapanma yüzdesi incelenir (Jonkman et al., 2014).

S. officinalis ekstraksiyonunun HUVECs, K562 ve Wehi hücre hatlarında yara kapanma kapasitesini azalttığı bulunmuştur (Keshavarz et al., 2011). *S. tribola* ekstraktının prostat kanseri hücre hattında yara iyileşmesini azalttığı tespit edilmiştir (Atmaca and Bozkurt, 2016). MCF-7 meme kanseri hücre hattında *S. officinalis* ekstarktının anti-anjiyogenik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Zare, 2019).

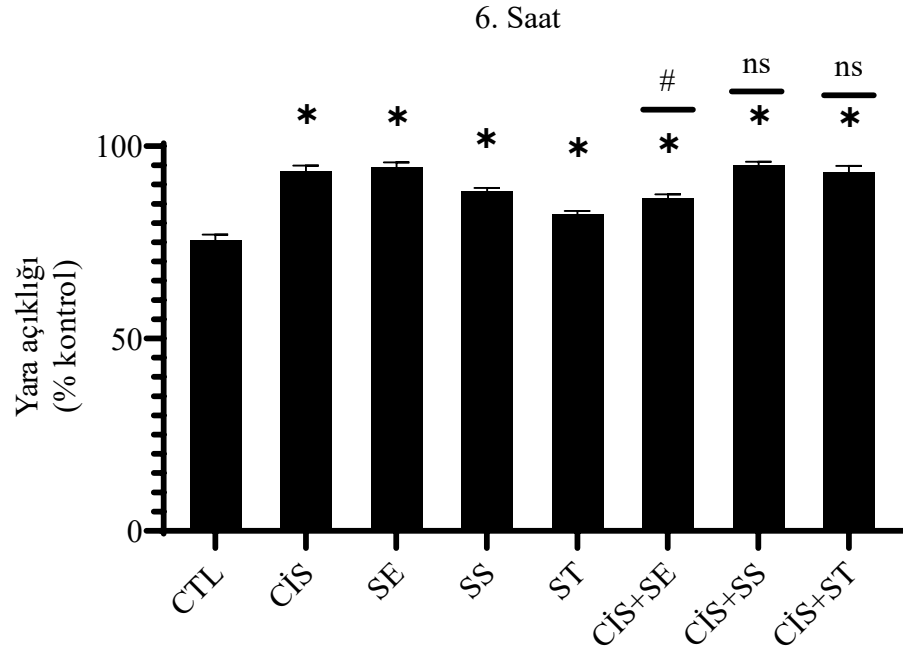
S. clandestina ekstraktının kullanıldığı bir çalışmada osteosarkom hücre hattında hücre migrasyonunun ve epitelyal mezenkimal geçişin azaldığı tespit edilmiştir. (Muscella et al., 2021). *S. plebeia* bitkisinden elde edilen bileşiğin CNE-2Z hücre hattında hücre migrasyonunu azalttığı bulunmuştur (Dai et al., 2021). *S. miltiorrhiza* bitkisinin HCT116 kolon kanseri hücre hattında hücre istilası ve migrasyonunu azalttığı bulunmuştur (Jiang and Xun, 2024).

6'lı plakalara ekilen hücrelerin tutunduğundan ve yeterli yoğunluğa ulaştığından emin olunduktan sonra 24 saat süre ile Cisplatin ve *S. türlerinin* IC50 dozları ile monoterapi, Cisplatin IC50/2+S. IC50/2 dozları ile kombine olacak şekilde tedavi edildi. Tedaviden hemen önce steril pipet ucu ile yara alanları oluşturulup 0-6-12-24. saatlerde mikroskop altında fotoğraf çekimleri yapıldı (Şekil 4.17). Her grup kendi içerisinde kontrol grubu dikkate alınarak normalize edildi.



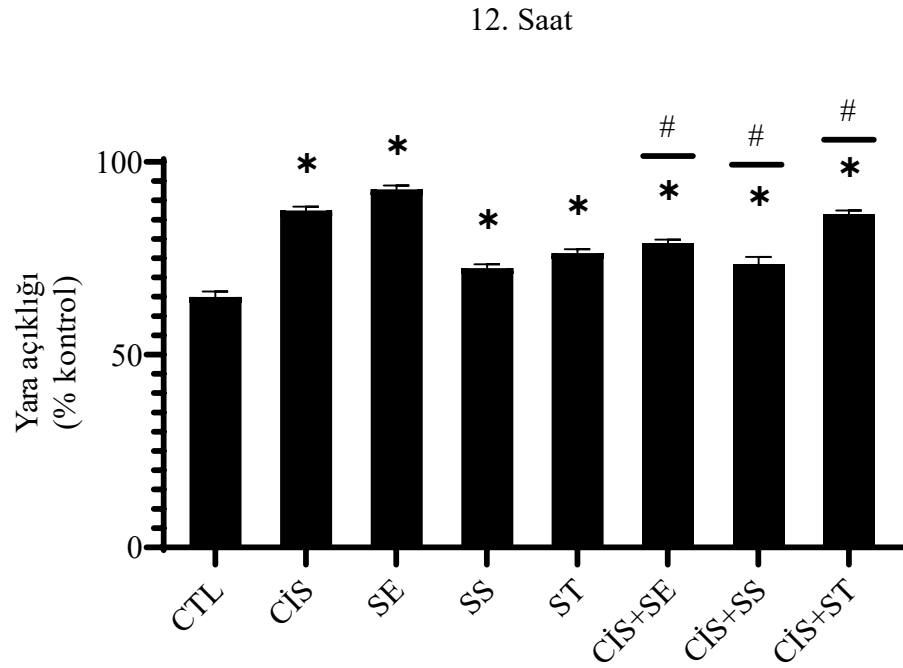
Şekil 4.17. Yara alanlarının mikroskop ile çekilmiş görüntüleri. HT-29 hücreleri 6 kuyucuklu plakalara ekildi. Hücrelerin tutunduğundan ve yeterli yoğunluğa ulaştığından emin olunduktan sonra steril pipet ucu ile çizikler oluşturuldu. Canlılık deneylerinde elde edilen IC50 ve IC50/2 dozları kullanılarak tedaviler gerçekleştirildi. 0., 6., 12. ve 24. Saatlerde mikroskop altında incelenerek fotoğraflar çekildi

6. Saat sonunda çekilen mikroskop görüntülerine göre (Şekil 4.18) monoterapi ve kombine tedavi uygulanan tüm gruplarda yara kapanma yüzdesinin kontrol grubuna kıyasla daha az olduğu ($p < 0,05$), ancak cisplatin tedavisi ile kıyaslandığında SS ve ST gruplarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$, ns). Bu durum 6. saat itibariyle tüm gruplarda migrasyon yeteneğinin anlamlı seviyede azaldığını göstermektedir. Kombine tedavinin migrasyon yeteneğinin azaltılması konusunda sinerjistik etki ortaya çıkarmadığı anlaşılmaktadır. CİS+SE grubunda ise antagonistik bir etki geliştiği görülmektedir.



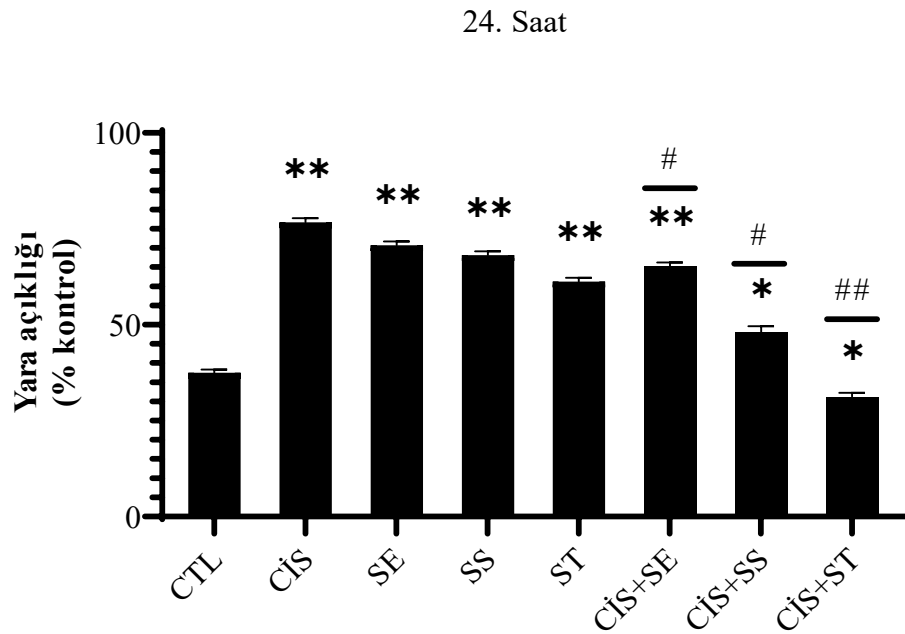
Şekil 4.18. 6. Saatte çekimleri yapılan yara açıklığı alanlarının normalize edilmiş yüzde grafiği (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, # $p<0,05$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında, ns: anlamlı fark yok)

12. saatte yapılan ölçümlerde (Şekil 4.19) kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm gruplarda yara açıklığının kapanma yüzdesinin anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0,05$) bulundu. Kombinasyon tedavisi uygulanan grupları cisplatin monoterapi grubu ile kıyasladığımızda tüm kombinasyon gruplarında yara açıklığı kapanma yüzdesinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$). Bu durum; 12. saat itibarıyla tüm gruplarda hücrelerin migrasyon yeteneğinin azaldığını göstermektedir. Bununla birlikte monoterapinin, kombinasyon tedavisine göre migrasyon yeteneğini daha iyi azalttığı sonucu çıkmaktadır.



Şekil 4.19. 12. Saatte çekimleri yapılan yara açıklığı alanlarının normalize edilmiş yüzde grafiği grafiği (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, # $p<0,05$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

24. Saatte çekilen görüntülerde (Şekil 4.20) ise kontrol grubuna kıyasla monoterapi gruplarında ve CİS+SE anlamlı bir fark olduğu ($p<0,01$), CİS+SS ve CİS+ST gruplarında benzer şekilde anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p<0,05$). Cisplatin monoterapi grubu ile kombine tedaviler karşılaştırıldığında CİS+SE, CİS+SS ve CİS+ST gruplarında yara kapanma yüzdesinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$) ve ($p<0,01$). Bu sonuçlar 24. Saat itibariyle tüm gruplarda migrasyon yeteneğinin kontrol grubuna göre azaldığı anlaşılmaktadır. Bununla birlikte monoterapi uygulanan gruplar ile kombine terapinin uygulandığı gruplar arasındaki migrasyon yeteneği farkı korunmaktadır. Kombinasyon tedavisi ile antagonistik etki ortaya çıkmaktadır.



Şekil 4.20. 24. saatte çekimleri yapılan yara açıklığı alanlarının normalize edilmiş yüzde grafiği (* $p < 0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, ** $p < 0,01$, sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında, # $p < 0,05$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında, ## $p < 0,01$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

Apoptoz, nekroptoz, ferroptoz, otofaji, piroptoz kanser hücreleri tarafından kullanılan programlanmış hücre ölüm süreçleridir. Normal hücre fonksiyonları için apoptoz kritik öneme sahiptir, bu sebeple apoptotik süreçte meydana gelen kusurlar kanserleşme sürecinde rol oynamaktadır (Singh and Lim, 2022).

Canlı vücudunda, doku ve organların oluşumu, homeostaz gibi süreçlerde aktif rol alan apoptozis, anormal hücre bölünmesinin önüne geçmektedir. Kanser hücrelerinde hücrelerin ölümünün sağlanmasında önemli görevleri olan apoptozis, kanser tedavisinde önemli bir hedef olarak kabul edilmektedir (Shivapurkar et al., 2003; Mohammad et al., 2015; Obeng, 2020). Antikanser ilaçların apoptozu indüklediği ve apoptotik programlarda ortaya çıkan problemlerin tedaviye olan duyarlılığı azalttığı bilinmektedir (Schmitt and Lowe, 1999). Bitkisel ürünleri kemoterapi ajanlarla birlikte kullanılmasıyla apoptozisin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Erdoğan et al., 2019; Erdogan et al., 2020). *S. chorassanica* bitkisi ile yapılan deneyde, HeLa hücre hattında apoptotik bulguların arttığı bulunmuştur (El Hadri et al., 2010). Aynı bitkinin MCF-7 ve DU 145 hücre hatlarında apoptotik bulguları artırdığı tespit edilmiştir (Golshan et al., 2016). *S. chloraleuca*

bitkisinin MCF-7 hücre hattında DNA hasarına neden olduğu ve hücreleri apoptozise yönlendirdiği bulunmuştur (Tayarani-Najaran et al., 2013).

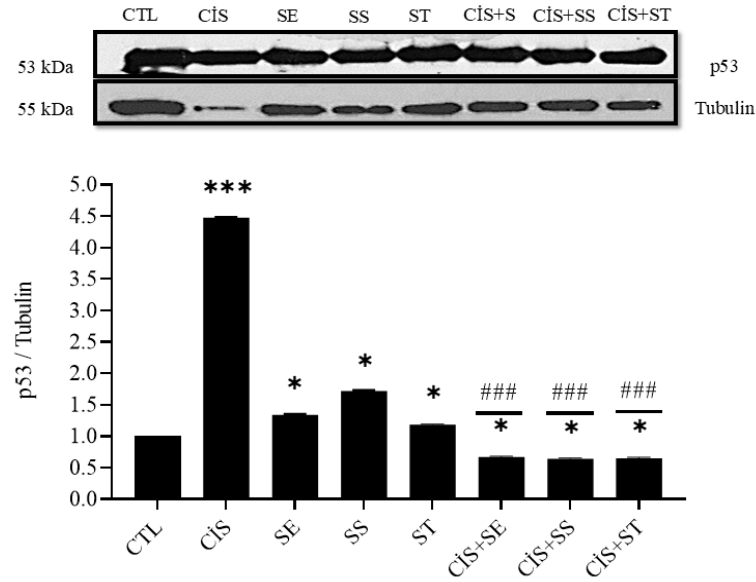
S. mitoriza bitkisinden elde edilen çeşitli bileşiklerin prostat kanseri hücre hattında apoptotik bulguları artırdığı tespit edilmiştir (Gong et al., 2011). Başka bir çalışmada aynı bitkinin kolon kanseri HCT116 kanser hücrelerinin apoptotik bulguların arttığı bulunmuştur (Jiang and Xun, 2024). Tiroit kanseri hücre hattında bu bitkiden elde edilen Dihitrotanshinon molekülünün apoptotik bulguları artırdığı tespit edilmiştir (Allegri et al., 2021). *S. urmiensis* bitkisinden elde edilen iki farklı bileşiğin A549 akciğer kanseri hücre hattında apoptotik etki gösterdiği bulunmuştur (Hashemi et al., 2023). *S. syriaca* bitkisinden elde edilen bazı bileşiklerin CaCo-2 kolon kanseri hücre hattında apoptotik etkiye sahip olduğu görülmüştür (Arslan et al., 2021). *S. bowleyana* bitkisinden elde edilen Salvianolik asitin mide kanseri hücre hattında apoptotik etki gösterdiği görülmüştür (B. Chen et al., 2020). *S. macilenta* bitkisi ile yapılan bir deneyde ratlarda bu bitki ekstraktının tüketilmesiyle apoptotik markerlerin arttığı tespit edilmiştir (Taheri et al., 2021).

4.5. Western Blot Bulguları

Genomun koruyucusu olarak ifade edilen p53 apoptozisin ve farklı temel biyolojik fonksiyonların önemli bir düzenleyicisidir (Lane, 1992). Apoptozla bağlantılı ilk tümör baskılayıcı gen olarak bilinen p53 mutasyonları insan tümörlerinin çoğunda görülür ve genellikle kötü prognozla ilişkilidir. p53'ün bu önemli fonksiyonlarının DNA hasarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (Wallace-Brodeur and Lowe, 1999). DNA hasarı veya diğer stres faktörleri hücre döngüsünün durmasını sağlar. Bu süreçte etkin olan en önemli yapılardan birisi p53 proteindir. (Georgakilas et al., 2017). Normal sağlıklı hücrelerde p53 genom stabilitesi için koruyucu görev üstlenmektedir. Ancak hücreler stres durumuna geçtiğinde bu proteinin seviyesi yükselmektedir. Stresin ortadan kaldırılması için çeşitli fonksiyonların aktifleşmesi sağlar. Onarımın mümkün olmadığı durumlarda ise hücreleri programlı ölüme sevk eder (Shamloo and Usluer, 2019). Kanser tedavisinde kullanılan birçok yöntemin p53 seviyesini yükselttiği bilinmektedir. Kolon kanseri hücre hattında kullanılan 5-FU ve çeşitli bitkisel ekstraktların p53 seviyesini yükselttiği bulunmuştur (Erdoğan et al., 2019). *S. occidentalis* bitki ekstraktının T47D kanser hücre hattında p53 seviyesini yükselterek antikanser etki gösterdiği tespit edilmiştir (Sinala et al., 2021). *S.*

clandestina ekstraktının MG-63 osteosarkom hücre hattında p53 seviyesini yükselttiği bulunmuştur (Muscella et al., 2021).

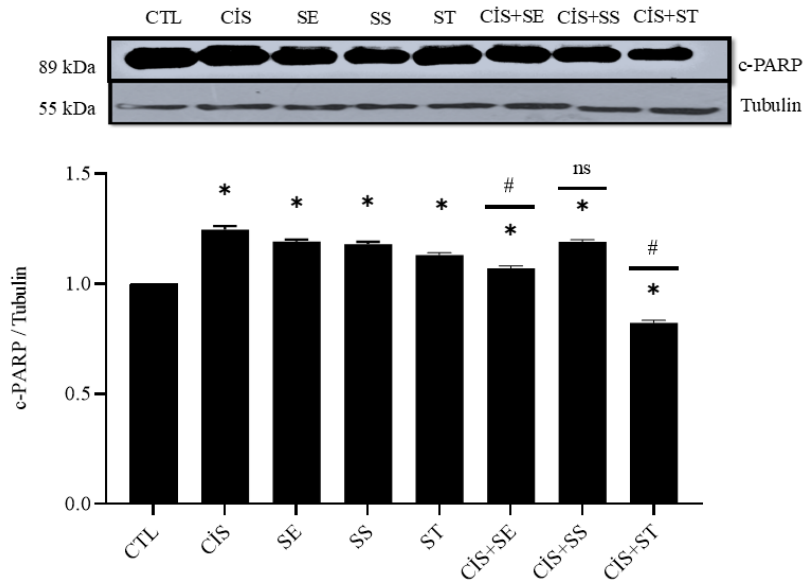
Çalışmamızda; *S. türleri* ve cisplatin ile 72 saat tedavi edilen tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla p53 seviyesi anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Şekil 4.21). p değerleri Cisplatin grubunda ($p<0,001$), *S.* gruplarına göre ($p<0,05$) olarak bulundu. Kombinasyon tedavi grupları p53 protein seviyesi, cisplatin grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Apoptotik süreç ve hücresel stres durumunda artan p53 rolü düşünüldüğünde; bu sonuçlar literatür ile uyumlu olarak kolon kanseri hücre hattında *S. türleri* ve cisplatinin tek başlarına kullanıldıklarında stres ve apoptozise yol açtığını görmekteyiz. Bununla birlikte monoterapinin kombine tedaviye ile kıyaslandığında hücrelerde daha fazla stres ve apoptozis oluşturduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.21. Cis, SE, SS, ST, Cis+SE, Cis+SS, Cis+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde p53 protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, *** $p<0,001$; kontrol ile kıyaslandığında, ### $p<0,001$; Cis tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

c-PARP, Parp-1 in bir formu olup, apoptotik ölüm sürecinin son aşamasıyla ilişkilidir (Sittihan et al., 2022). Kaspaz ailesinin bir substratı olan Parp-1'in bölünmüş hali olan c-Parp apoptozisin bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Casao et al., 2015). Apoptotik süreçte bir biyobelirteç olarak kabul edilen cPARP seviyesinin apoptotik süreçle paralel olarak yükseldiği bulunmuştur (Yosef et al., 2017). Prostat kanseri tedavisinde kullanılan

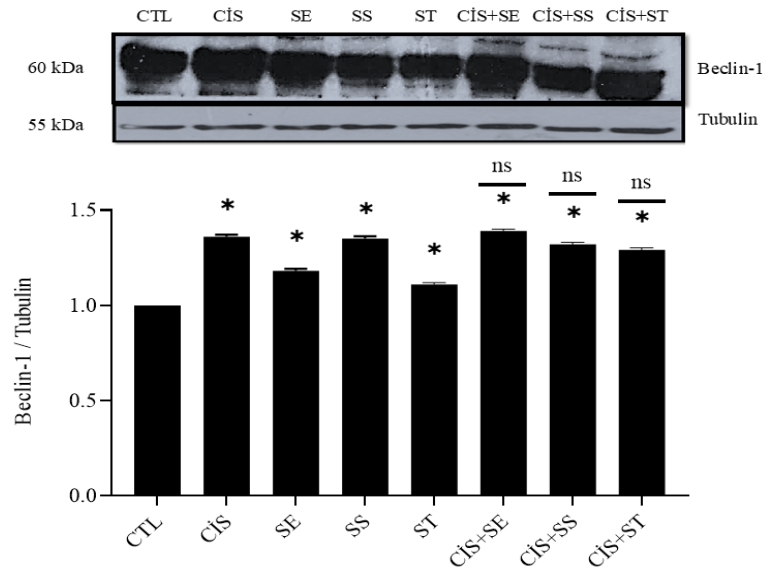
quercetin ile c-PARP seviyesinin yükseldiği görülmüştür (Ghafouri-Fard et al., 2021). Akciğer kanserinde kullanılan hesperedin tedavisinde c-PARP seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir (Xia et al., 2018). *S. clandestina* ekstraktının kullanıldığı bir çalışmada Parp seviyesinin arttığı bulunmuştur (Muscella et al., 2021). Yeşil çay ile kemoterapik ajanın birlikte kullanıldığı bir çalışmada, kombinasyon tedavisinde c-PARP seviyesinin monoterapiye göre daha düşük olduğu bulunmuştur (Golden et al., 2009). Çalışmamızda; *S.* ve cisplatin ile mono ve kombine olarak tedavi edilen tüm gruplarda c-PARP seviyesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu (Şekil 4.22). ($p<0,05$). Kombine tedaviler cisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı CİS+SE ve CİS+ST gruplarında anlamlı düzeyde ($p<0,05$), bir düşüş tespit edildi. Bu durum oluşan hasarının, kombinasyon tedavisi ile azaldığını düşündürmektedir. *S.* ve cisplatin monoterapisinin kombinasyon tedavisine göre daha etkili olduğu ve aralarında sinerjizmin olmadığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.22. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde cPARP protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, # $p<0,05$; CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında, ns: anlamlı fark yok)

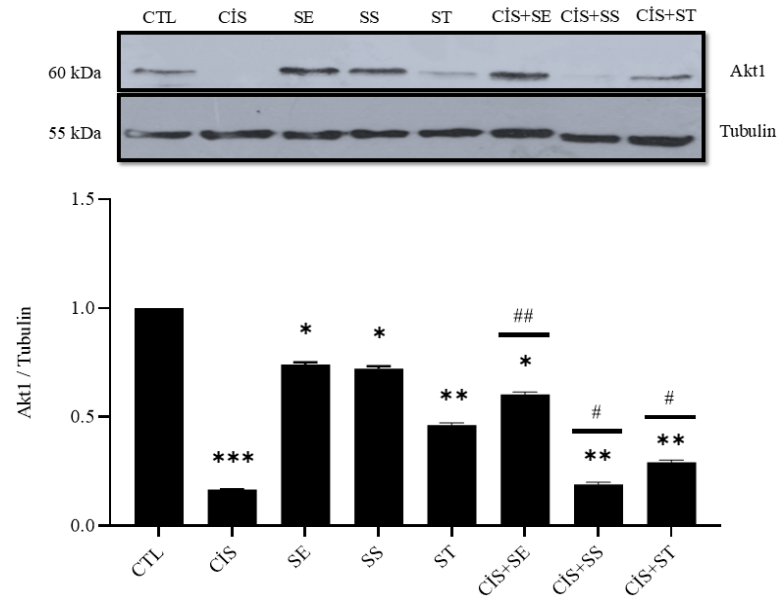
Beclin-1 tümör baskılayıcı bir proteindir. Apoptozis ve otofaji sürecinde görev aldığı bilinmektedir (Wang, 2008). Normal şartlar altında, Beclin-1 proteini anti-apoptotik protein olan Bcl-2'ye bağlıdır ve bu haldeyken otofaji engellenmiş olur. Bcl-2 aynı zamanda Bax gibi proteinlere bağlanarak apoptozisin önüne geçmektedir. Hücrede stres

durumu ortaya çıktığında Beclin-1 aktif hale gelir. Bunun sonunda otofajik süreç başlamış olur (Mukhopadhyay et al., 2014). Cisplatinin Beclin-1 seviyesini yükselttiği bilinmektedir (J. Chen et al., 2018). *S. miltiorrhiza* bitkisinden elde edilen bileşiğin A549 ve PC-9 hücre hatlarında Beclin-1 seviyesini artırdığı bulunmuştur (S. Bai et al., 2022). Çalışmamızda; *S.* ve cisplatin ile tedavi edilen tüm gruplarda kontrol grubu ile kıyaslandığında Beclin-1 seviyesinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu (Şekil 4.23) ($p<0,05$). Kombinasyon tedavilerini cisplatin monoterapi grubu ile kıyasladığımızda ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Bu sonuçlar; *S.* ve cisplatin türlerinin tek başına uygulanması ile ilgili hücre hattında otofajik süreç etkinliğinin arttığı ancak kombinasyon tedavisi ile otofajik sürecin sinerjistik etki göstermediği anlaşılmaktadır.



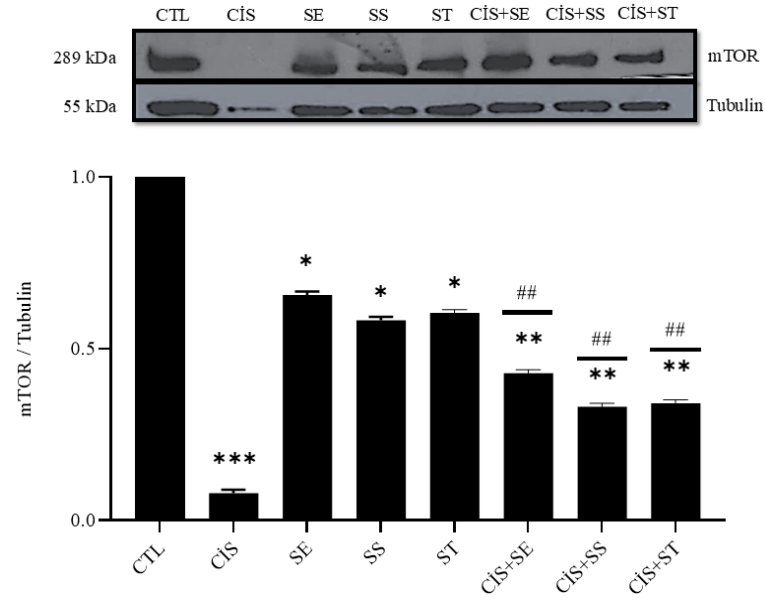
Şekil 4.23. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde Beclin-1 protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, ns: anlamlı fark yok)

S. officinalis bitkisinden elde edilen esansiyel yağ ve bileşenlerin HT-29 kolon kanseri hücre hattında hücre proliferasyonunun durdurduğu gösterilmiştir (Luca et al., 2020). *S. miltiorrhiza* bitkisini sulu ekstraktı ile yapılan bir çalışmada oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkan apoptozisin engellendiği bulunmuştur (Hung et al., 2020).



Şekil 4.24. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde Akt protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, ** $p<0,01$; kontrol ile kıyaslandığında, *** $p<0,001$; kontrol ile kıyaslandığında, # $p<0,05$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

Akt, PI3K-Akt sinyal yolağının merkez molekülü olup, anormal aktivasyonu ile birçok kanser türü ilişkilendirilmiştir. Kanser hücrelerinin migrasyon yeteneğinin Akt ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Akt, büyüme faktörleri ve onkogenlerden gelen sinyalleri kontrol eden alt hedeflere iletir (Crowell et al., 2007; İslam et al., 2023). Kolon kanseri hücre hattında kemoterapik ajan ve bitkisel ürünlerin Akt protein seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir (Erdoğan et al., 2019). *S. miltoriza* bitkisinin akciğer kanseri hücre hattında PI3K/Akt yolağını inhibe ederek apoptozise yol açtığı bulunmuştur (Ye et al., 2017). Aynı bitkinin ratlarda AKT fosforilasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (Jin et al., 2008). Çalışmamızda *S.* türleri ile tedavi edilen monoterapi gruplarında Akt1 protein seviyesinin anlamlı düzeyde düşük olduğu bulundu (Şekil 4.24). ($p<0,05$). Cisplatin monoterapi grubunda ise anlamlılık düzeyi çok daha yüksekti ($p<0,001$). Kombinasyon tedavi gruplarında ise cisplatin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde protein seviyesinin yükseldiği görüldü ($p<0,05$). Bu durum; cisplatin ve *S.* türlerinin tek başına kullanılmasının Akt1 inhibisyonunda daha etkili olduğunu göstermektedir. Kombinasyon tedavisi ile cisplatin etkinliğinin Akt1 bağlamında azaldığını göstermektedir.

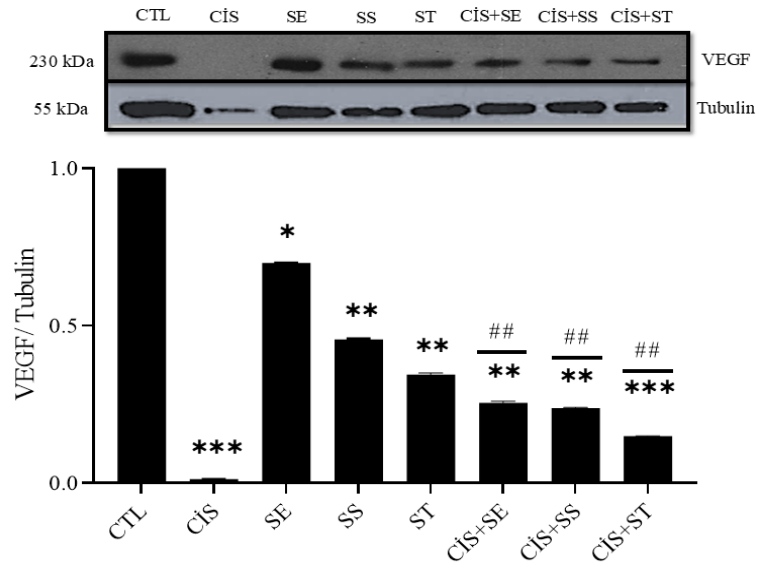


Şekil 4.25. Cis, SE, SS, ST, Cis+SE, Cis+SS, Cis+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde mTOR protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, ** $p<0,01$; kontrol ile kıyaslandığında, *** $p<0,001$; kontrol ile kıyaslandığında, ## $p<0,01$; sadece Cis tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

mTOR, hücre büyümesi, mRNA translasyonu, ribozom biyogenezi, otofaji ve metabolizması etkileyen, kanser türlerinin çoğunda artmış aktiviteye sahip bir proteindir (Guertin and Sabatini, 2007). mTOR seviyesinde artış, tümör büyümesi, anjiyogenez ve metastaza katkı sunmaktadır (Pópulo et al., 2012). Kemoterapik ajanların ve bazı bitkilerin kolon kanseri hücre hattında kemoterapik ajan ve bitkisel ürünlerin mTOR seviyesinin azalmasına sebep olduğu bulunmuştur (Erdoğan et al., 2019) *S. miltiorrhiza* bitkisinin ratlarda mTOR seviyesini düşürdüğü bulunmuştur (J. Yu et al., 2024). Yaptığımız çalışmada *S.* türleri ile tedavi edilen gruplarda mTOR seviyesinin anlamlı düzeyde düştüğü (Şekil 4.25). ($p<0,05$), cisplatin grubunda ise bu düşüşün çok daha fazla olduğu görüldü ($p<0,001$). Kombinasyon gruplarını cisplatin grubu ile kıyasladığımızda ise anlamlı düzeyde bir artış olduğu bulundu ($p<0,001$). Bu sonuçlar, literatür ile uyumlu olarak *S.* ve cisplatin monoterapisi ile hücre bölünmesi ve büyümesinin yavaşladığı ancak kombinasyon tedavisi ile bu durumun iyileştiği anlaşılmaktadır.

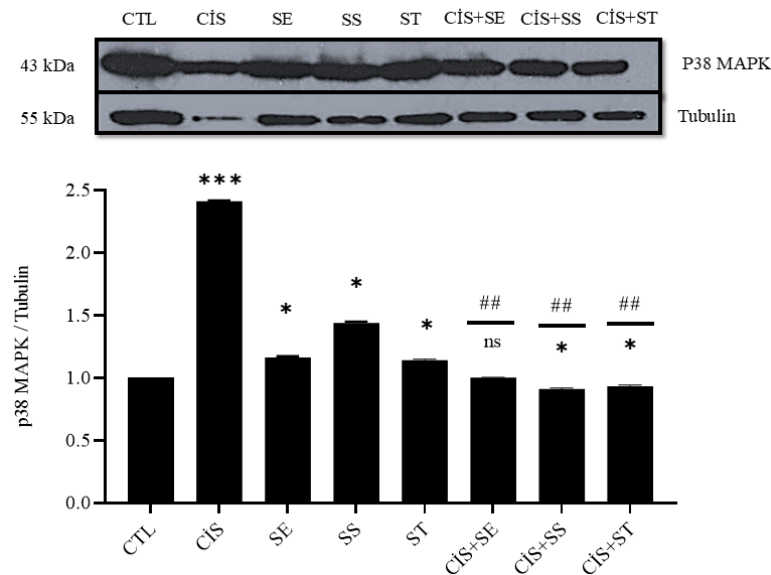
Tümör dokunun büyüebilmesi için yeni kan damarlarının oluşumuna ihtiyaç olduğu göz önünde bulundurulduğunda anjiyogenezin inhibe edilmesiyle tümörlerin küçülmesi, büyümesinin durması, metastaz sürecin yavaşlamasının sağlanabileceği ifade edilmiştir (Auerbach et al., 1991; Potente et al., 2011). KRK'nin de dahil olduğu çeşitli kanser

türlerinde VEGF seviyesinin yüksekliği hastalığın prognozunun kötü olması ile ilişkilendirilmiştir (D'Haene et al., 2018; Mashima et al., 2021). Cisplatin tedavisi ile kanser hücresinde VEGF seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir (Tsuchida et al., 2008). *S. yunnanensis* bitkisinin ekstraktı ile yapılan *in vivo* bir çalışmada bu bitkinin anti-anjiyojenik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada VEGF protein düzeyinin doza bağımlı olarak düştüğü tespit edilmiştir (Xu et al., 2024). *S. officinalis* bitkisinden elde edilen bileşiklerin kullanıldığı *in vivo* bir çalışmada yeni damar oluşumunun azaldığı bulunmuştur (Ahmed, 2020). Aynı bitkinin ekstraktının *in vivo* olarak anjiyogenezi azalttığı bulunmuştur (Rouygar et al., 2024). Çalışmamızda cisplatin VEGF seviyesinin anlamlı düzeyde düştüğü (Şekil 4.26) ($p<0,001$) görüldü. *S.* türlerinden SS ve ST monoterapisi ile ilgili protein seviyesinin anlamlı düzeyde düştüğü ($p<0,01$) görüldü. Benzer şekilde SE monoterapisi ile tedavi edilen grupta anlamlı bir düşüş tespit edildi, ($p<0,05$), Kombinasyon tedavi gruplarını cisplatin grubu ile kıyasladığımızda VEGF protein seviyesinde anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p<0,01$). Bu sonuçlar; literatür ile uyumlu olarak cisplatin ve *S.* monoterapisinin ilgili kanser hücrelerinde anjiyogenezi baskıladığı ancak kombinasyon tedavisi ile bu baskılanmanın bozulduğunu göstermektedir.



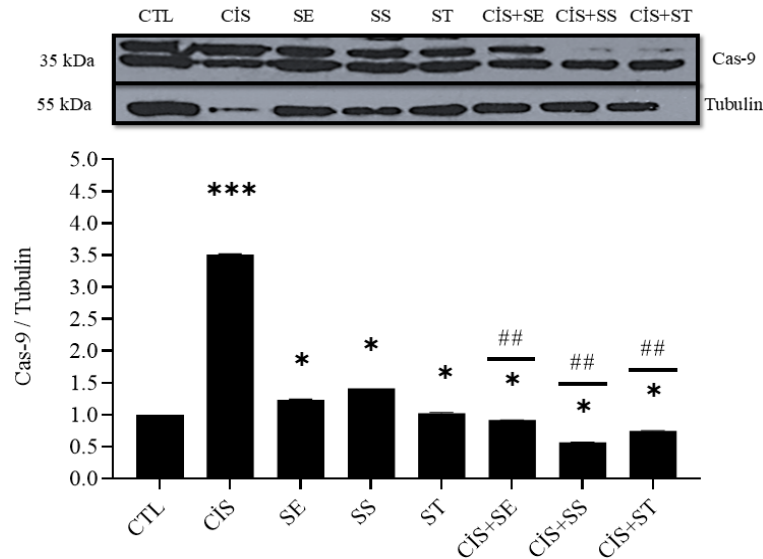
Şekil 4.26. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde VEGF protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, ** $p<0,01$; kontrol ile kıyaslandığında, *** $p<0,001$; kontrol ile kıyaslandığında, ## $p<0,01$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

Hücre çoğalması, farklılaşması, strese yanıt, hücre göçü, apoptoz ve invazyon gibi birçok önemli olayda rol alan p38 MAPK kanser tedavisinde önemli bir terapötik hedef olarak görülmektedir (Yong et al., 2009). Hücre çoğalması ve bölünmesinin uygun olmadığı durumlarda hücre döngüsünü durdurması sebebiyle tümör baskılayıcı bir protein olarak kabul edilmektedir (Martínez-Limón et al., 2020). Antikanser özellik gösteren ajanların ve bitkilerin p38 MAPK seviyesinde yükselmeye sebep olduğu bilinmektedir. Kolon kanseri hücre hattında kemoterapik ajan olan 5-FU ve çeşitli bitkisel ekstraktların p38 MAPK seviyesinde artışı sebep olmuştur (Erdoğan et al., 2019). *S. miltiorrhiza* bitkisinin HepG2 ve EA. hy926 hücre hattında p38 MAPK seviyesini yükselttiği tespit edilmiştir (Boye et al., 2015; Zheng et al., 2021). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak cisplatin ile tedavi edilen grupta p38 MAPK protein seviyesinin anlamlı düzeyde yükseldiği görüldü ($p<0,001$), *S.* türleri ile monoterapi uygulanan gruplarda anlamlı düzeyde protein seviyesinin yükseldiği tespit edildi (Şekil 4.27) ($p<0,05$). Kombinasyon tedavi gruplarını cisplatin monoterapi grubu ile kıyasladığımızda anlamlı düzeyde düşüş olduğu görüldü ($p<0,01$). Bu sonuçlar; kombinasyon tedavisi ile hücre göçü, apoptoz ve invazyon süreçlerinin monoterapi gruplarındaki kadar etkilenmediğini göstermektedir.



Şekil 4.27. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde p38 MAPK protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, *** $p<0,001$; kontrol ile kıyaslandığında, ## $p<0,01$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında, ns: anlamlı fark yok)

Caspase-9 apoptotik sürecin intrinsik kısmında rol alan kaspaz üyelerinden birisidir. Caspase-3 ile etkileşime girerek nükleer kondensasyon ve DNA degradasyonunda görev almaktadır (Nenclares and Harrington, 2020). Apoptozis, kanser, nörolojik hastalıklar, yaşlanma ve kalp hastalıkları gibi birçok durumda etkin rol aldığı için caspase-9 önemli bir terapötik hedef olarak görülmektedir (Kim et al., 2015). Cisplatin ile kanser hücresinde caspase-9 seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir (Kuwahara et al., 2000). *S. türlerinin* caspase-9 seviyesini yükselterek apoptotik süreci indüklediği bilinmektedir (Akaberi et al., 2015). Çalışmamızda cisplatin, ile tedavi edilen grupta cas-9 protein seviyesinin anlamlı düzeyde yükseldiği (Şekil 4.28). ($p<0,001$), benzer şekilde *S. türleri* ile tedavi edilen gruplarda cas-9 protein seviyesinde artış görüldü ($p<0,05$). Cisplatin grubu ile kombinasyon tedavisi kıyaslandığında cas-9 seviyesinin anlamlı düzeyde düştüğü bulundu ($p<0,05$), ($p<0,01$), ($p<0,05$). Bu sonuçlar monoterapinin hücreleri apoptozise daha fazla yönlendirdiği sonucunu göstermektedir.



Şekil 4.28. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde p38 MAPK protein düzeyi (* $p<0,05$; kontrol ile kıyaslandığında, *** $p<0,001$; kontrol ile kıyaslandığında, # $p<0,05$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında, ## $p<0,01$; sadece CİS tedavisi uygulanan grup ile kıyaslandığında)

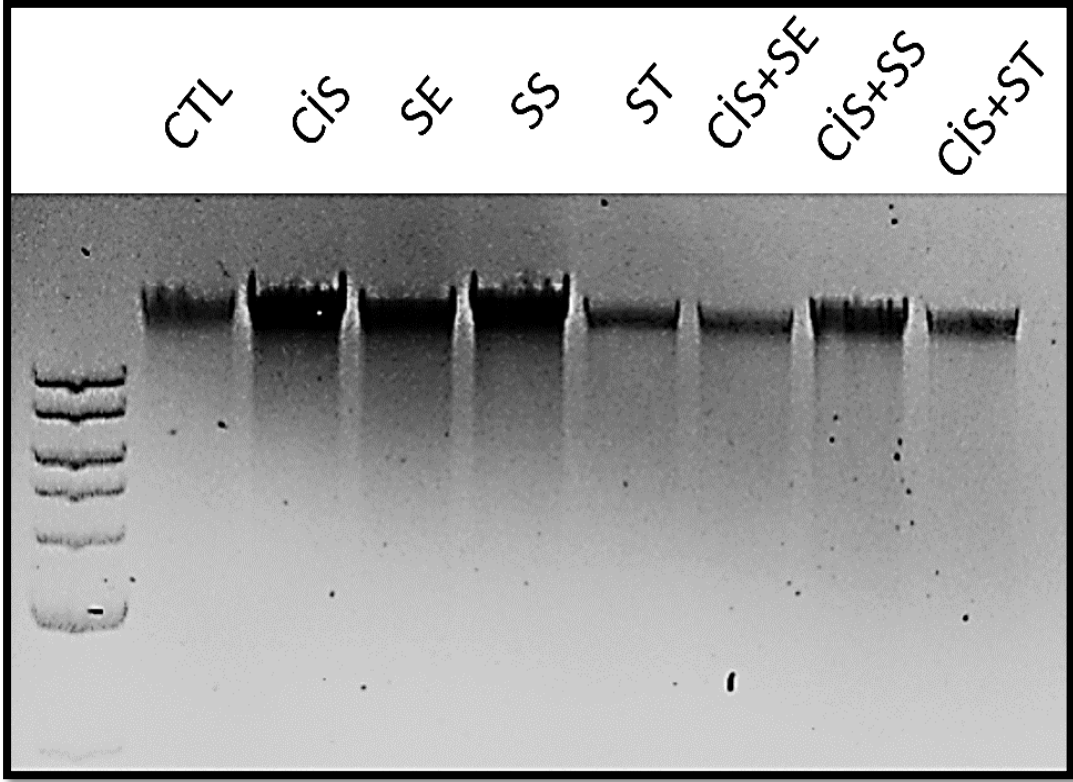
4.6. DNA Agaroz Bulguları

DNA hasarı kanser dahil birçok hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Kemoterapik ajanlar ve antikanser özellik gösteren maddeler doğrudan veya dolaylı yollar ile hızlı bölünen

hücrelerde DNA hasarı indükleyerek kanser hücrelerini hedeflerler (Woods and Turchi, 2013). Oluşan DNA hasarına hücrelerin vermiş olduğu tepki hem kanser gelişimini hem de kemoterapi sonrası ortaya çıkan tabloyu yakından ilgilendirmektedir. Kanser tedavisinde etkinliğin artırılması için DNA hasar yanıt sisteminin modüle edilmesi önemli bir hedef kabul edilmektedir (Goldstein and Kastan, 2015). Kolorektal kanser grubunda MSH2 ve MLH1 proteinlerdeki hasarlara bağlı olarak yanlış eşleşme tamir sisteminin işlevsiz olduğu bilinmektedir (Lord and Ashworth, 2012). Kansere neden olan eksojen faktörlerin büyük bölümü DNA hasarı oluşturarak kanserleşme sürecini yürütmektedir. Birleşik devletlerde kolorektal kanserlerin %20'ye yakınının sigara kaynaklı DNA hasarı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Chen, 2013). Bitkisel ürünlerin koruyucu etkilerinin incelendiği çalışmalarda, hücreyi malignite yönüne sürükleyen DNA hasarının engellenmesi bu bitkilerin en önemli mekanizması olduğunu ortaya koymuştur (Ranjan et al., 2019).

S. tribola ekstraktının prostat kanseri hücre hatlarında DNA fragmentasyonunu artırdığı tespit edilmiştir (Mauri et al., 2020). *S. officinalisten* elde edilen bazı bileşiklerin V79 hücrelerinde DNA hasarını azalttığı tespit edilmiştir (Nicoletta et al., 2021). Aynı bitkiden elde edilen manool bileşiğinin V79 kanser hücre hattında genotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Nicoletta et al., 2014). *S. chloroleuca*'dan elde edilen metanol ekstraktının MCF-7 ve PC-3 hücre hatlarında canlılığı azalttığı tespit edilmiştir (Shakeri et al., 2019). *S. rosmarinus* yapraklarının DMSO ekstraktı ile yapılan bir çalışmada hücre döngüsünün G1 ve G2/M fazlarında durduğu, apoptozusun indüklendiği bulunmuştur (Telang, 2018). Kurkumin-etoposid birlikte kullanımının MCF-7, HepG2, HCT116, HeLa ve U215 hücre hattında DNA tamir mekanizmasını desteklediği görülmüştür (Saleh et al., 2012).

Çalışmamızda; cisplatin ve *S. türleri* ile monoterapi olarak yapılan tedavilerde DNA fragmentasyonunun kontrol grubuna göre çok daha belirgin olduğu görülmektedir (Şekil 4.29). Bununla birlikte kombinasyon tedavisinde cisplatin grubuna göre daha az fragmentasyon görüldü. Bu durum, monoterapinin tek başına daha fazla DNA hasarı oluşturduğu sonucunu vurgulamaktadır. Kombinasyon tedavilerinde daha az DNA hasarının görülmesi, bitkilerin cisplatin etkinliğini azalttığını düşündürmektedir.



Şekil 4.29. CİS, SE, SS, ST, CİS+SE, CİS+SS, CİS+ST ile tedavi edilen HT-29 hücrelerinde DNA AgaroZ Jel Görüntüsü. IC50 ve IC50/2 dozları ile 72 saat tedavi edilen HT-29 hücreleri elektriksel ortamda dikey sistemde koşturuldu

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kanser tedavisinde mevcut tedavilerin yetersizliği, tedavi maliyetlerinin çok yüksek olması, tedaviye erişimde dünyanın birçok bölgesinde problemler olması sebebiyle insanlar alternatif tedavi yaklaşımlarına yönelmektedir. Bitkisel ürünlerin kanserden korunmak ve kanser tedavisinde kullanılmasına yönelik yoğun talep bulunmaktadır. Ancak bu bitkilerin kemoterapik ajanlar ile nasıl etkileşim gösterdiği araştırılması gereken önemli bir noktadır. Bu çalışmada daha önce antikanser yönüyle araştırılmamış olan 3 farklı *S.* türünün monoterapi ve önemli bir kemoterapik ajan olan cisplatin ile kombine terapi olarak uygulanmasının antikanser etkilerinin tespiti amaçlanmıştır. Yapılan deneyler ile ortaya çıkacak muhtemel sinerjizm/antagonizmin moleküler mekanizmasının anlaşılmasına katkı sunulması hedeflenmiştir.

Sonuç olarak ilgili *S.* türlerinin A549, MCF-7, HT-29 hücre hatlarında sitotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *S.* türleri ile yapılan tedavi sonrasında hücrelerin koloni yapma ve migrasyon yeteneğinin azaldığı, apoptoz, otofaji, DNA hasarı ile ilişkili protein (p53, p38 MAPK, c-PARP, Cas-9) seviyelerinin yükseldiği, hücre proliferasyonu ile ilişkili mTOR protein seviyesinin ve anjiyogenez ile ilişkili VEGF protein seviyesinin düştüğü anlaşılmıştır. Kombinasyon tedavilerinde monoterapi kadar etkili bir sonucun ortaya çıkmadığı, kombinasyonun cisplatin etkinliğini azalttığı tespit edilmiştir. Bu bulgulardan yola çıkarak çalışılan 3 *S.* türleri ve cisplatin arasında antagonistik etki olduğu anlaşılmıştır. Bu bulguların ileride yapılacak *in vivo* çalışmalar ile desteklenerek kanser tedavisinde ilgili bitkilerin kullanımına yönelik daha net fikirler elde edilebilir.

KAYNAKLAR

Abbas, Z. and Rehman, S. (2018). An Overview of Cancer Treatment Modalities. *Neoplasia*, 1, 139–157.

Abd Rashid, N., Abd Halim, S. A. S., Teoh, S. L., Budin, S. B., Hussan, F., Adib Ridzuan, N. R. and Abdul Jalil, N. A. (2021). The role of natural antioxidants in cisplatin-induced hepatotoxicity. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 144, 112328.

Abi-Rizk, A., Rayess, Y. E., Iriti, M., Tabet, E., Mezher, R. and Beyrouthy, M. E. (2021). Chemical composition, antitumor and antioxidant effects of four lebanese plants extracts on human pulmonary adenocarcinoma. *Natural Product Research*, 35(22), 4861–4864.

Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A. and Büsselberg, D. (2019). Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1), 28.

Acıbuca, V., Eren, A. ve Bostan Budak, D. (2018). Organik tarımda üreticilerin karşılaştıkları sorunlar (Mardin ili örneği). *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 7(2), 39–46.

Aggarwal, B. B. and Shishodia, S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology*, 71(10), 1397–1421.

Ahmad, R., Ahmad, N., Naqvi, A. A., Shehzad, A. and Al-Ghamdi, M. S. (2017). Role of traditional Islamic and Arabic plants in cancer therapy. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(2), 195–204.

Ahmed, M., Khan, M. I., Khan, M. R., Muhammad, N., Khan, A. U. and Khan, R. A. (2013). Role of Medicinal Plants in Oxidative Stress and Cancer. *Open Access Scientific Reports*, 2(2), 2–4.

Ahmed, O. H. (2020). Antiangiogenic Effect of *Salvia officinalis*. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, 24(10), 2535-2543.

Akaberi, M., Mehri, S. and Iranshahi, M. (2015). Multiple pro-apoptotic targets of abietane diterpenoids from *Salvia* species. *Fitoterapia*, 100, 118–132.

Al-Jaber, H. I. (2017). Essential Oil Composition, Total Phenolic and Total Flavonoid content and in-vitro Antioxidant Properties of Hydro-alcoholic and Water Extracts of *Salvia deserti* Growing Wild in Jordan. *Jordan Journal of Chemistry*, 12(1), 11–19.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. (2017). *Molecular Biology of the Cell*. (pp. 30-35) New York, USA: Garland Science.

Allegri, L., Domenis, R., Navarra, M., Celano, M., Russo, D., Capriglione, F., Damante, G. and Baldan, F. (2021). Dihydrotanshinone exerts antitumor effects and improves the effects of cisplatin in anaplastic thyroid cancer cells. *Oncology Reports*, 46(3), 1–16.

Alsheridah, N. and Akhtar, S. (2018). Diet, obesity and colorectal carcinoma risk: Results from a national cancer registry-based middle-eastern study. *BMC Cancer*, 18(1), 1–10.

American Cancer Society. (2020). About Colorectal Cancer; What Is Colorectal Cancer ? American Cancer Society. <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/about/what-is-colorectal-cancer.html>

Amin, A., Gali-Muhtasib, H., Ocker, M. and Schneider-Stock, R. (2009). Overview of major classes of plant-derived anticancer drugs. *International Journal of Biomedical Science*, 5(1), 1–11.

Araghi, M., Soerjomataram, I., Jenkins, M., Brierley, J., Morris, E., Bray, F. and Arnold, M. (2019). Global trends in colorectal cancer mortality: projections to the year 2035. *International Journal of Cancer*, 144(12), 2992–3000.

Arıncı, K. ve Elhan, A. (2014). Anatomi (5. Baskı), 1. cilt. *Güneş Tıp Kitabevi, Ankara*, 216–221.

Arslan, Ş., Kocabıyık, K., Mutlu, D. and Semiz, G. (2021). Assessment of Cytotoxic and Apoptotic Effects of *Salvia syriaca* L. in Colorectal Adenocarcinoma Cell Line (Caco-2). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 20(3), 235–242.

Asadi-Samani, M., Kooti, W., Aslani, E. and Shirzad, H. (2016). A Systematic Review of Iran's Medicinal Plants With Anticancer Effects. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 21(2), 143–153.

Atmaca, H. and Bozkurt, E. (2016). Apoptotic and anti-angiogenic effects of *Salvia triloba* extract in prostate cancer cell lines. *Tumor Biology*, 37(3), 3639–3646.

Auerbach, R., Auerbach, W. and Polakowski, I. (1991). Assays for angiogenesis: A review. *Pharmacology and Therapeutics*, 51(1), 1–11.

Aydoğan, A. (2022). *Morchella Esculenta*'dan Elde Edilen Ekstraktın DLD1 ve COLO205 Kolon Kanseri Hücre Hatlarında Anti-Kanser Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi.

Bacanlı, M., Taner G., Başaran A. A. ve Başaran, N. (2015). Bitkisel Kaynaklı Fenolik Yapıdaki Bileşikler ve Sağlığa Yararlı Etkileri. *Türkiye Klinikleri Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 4(1), 9–16.

Bai, J., Qin, Q., Li, S., Cui, X., Zhong, Y., Yang, L., ... and Bai, S. (2024). *Salvia miltiorrhiza* inhibited lung cancer through aerobic glycolysis suppression. *Journal of Ethnopharmacology*, 331.

Bai, S., Cui, S., Wen, W., Leung, E. L.-H., Bai, J., Lin, H., ... and Zheng, Y. (2022). Tanshinone IIA Suppresses Non-Small Cell Lung Cancer Through Beclin-1-Mediated Autophagic Apoptosis. *Engineering*, 19, 128–138.

Bakis, Y., Babac, M. T. and Uslu, E. (2011). Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TüBİVES). Proceedings of the 6th International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics, HIBIT 2011, Izmir, Turkey.

Balaei-Kahnamoei, M., Eftekhari, M., Ardekani, M. R. S., Akbarzadeh, T., Saeedi, M., Jamalifar, H., ... and Khanavi, M. (2021). Phytochemical constituents and biological activities of *S. macrosiphon* Boiss. *BMC Chemistry*, 15(1), 1–7.

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.

Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R. and Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193–199.

Bayet-Robert, M., Kwiatkowski, F., Leheurteur, M., Gachon, F., Planchat, E., Abrial, C., ... and Chollet, P. (2010). Phase I dose escalation trial of docetaxel plus curcumin in patients with advanced and metastatic breast cancer. *Cancer Biology and Therapy*, 9(1), 8–14.

Bayraktar, Ö. V., Öztürk, G. ve Arslan, D. (2017). Türkiye’de bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi ve pazarlamasındaki gelişmelerin değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 216–229.

Baytop T. (1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul, Türkiye: Nobel Tıp Kitabevleri.

Bell, C., Lynam, E., Landfair, D. J., Janjic, N. and Wiles, M. E. (1999). Oligonucleotide NX1838 inhibits VEGF165-mediated cellular responses in vitro. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal*, 35(9), 533–542.

Bernards, M. A. (2010). Plant natural products: A primer. *Canadian Journal of Zoology*, 88(7), 601–614.

Bettoun, A., Joffre, C., Zago, G., Surdez, D., Valler, D., Gundogdu, R., ... and Hergovich, A. (2016). Mitochondrial clearance by the STK38 kinase supports oncogenic Ras-induced cell transformation. *Oncotarget*, 7(28), 44142–44160.

Birinci, H., Şen Halıcıoğlu, B., Öztatlıcı, M. ve Yüncü, M. (2021). Sisplatinin Neden Olduğu Nefrotoksisite ve Ultrastrüktürel Hasar Üzerine Kurkuminin Koruyucu Etkisi. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(4), 598–605.

Blackadar, C. B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 7(1), 54–86.

Boffetta, P. and Hainaut, P. (2018). *Encyclopedia of cancer*. London, UK: Springer Science & Business Media.

Borowicz, S., Van Scoyk, M., Avasarala, S., Rathinam, M. K.K., Tauler, J., Bikkavilli, R. K. and Winn, R. A. (2014). The soft agar colony formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, 92, 51998.

Boya, P., Reggiori, F. and Codogno, P. (2013). Emerging regulation and functions of autophagy. *Nature Cell Biology*, 15(7), 713–720.

Boye, A., Wu, C., Jiang, Y., Wang, J., Wu, J., Yang, X. and Yang, Y. (2015). Compound Astragalus and Salvia miltiorrhiza extracts modulate MAPK-regulated TGF- β /Smad signaling in hepatocellular carcinoma by multi-target mechanism. *Journal of Ethnopharmacology*, 169, 219–228.

Bozgeyik, E. (2020). Kanserin Moleküler Biyolojisi ve İmmünolojisi. In *Kanserin Moleküler Biyolojisi ve İmmünolojisi* (pp. 29–43). Ankara, Türkiye: Akademisyen Kitabevi A.Ş.

Burrell, R. A. and Swanton, C. (2014). Tumour heterogeneity and the evolution of polyclonal drug resistance. *Molecular Oncology*, 8(6), 1095–1111.

Burt, R. W., DiSario, J. A. and Cannon-Albright, L. (1995). Genetics of colon cancer: Impact of inheritance on colon cancer risk. *Annual Review of Medicine*, 46(1), 371–379.

Can, Ö. (2019). Kolorektal Kanser İlişkili miRNA'ların Ekspresyonu Üzerine Adaçayı (*Salvia officinalis*), Tere (*Lepidium Sativum*), Çörek Otu (*Nigella sativa*) ve Isırgan Otu (*Urtica dioica*) Bitkilerinin Etkisi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi.

Cao, W., Li, J., Yang, K. and Cao, D. (2021). An overview of autophagy: Mechanism, regulation and research progress. *Bulletin Du Cancer*, 108(3), 304–322.

Cao, Y., Tang, H., Wang, G., Li, P., Song, Z., Li, W., ... and Zhu, L. (2023). Targeting survivin with Tanshinone IIA inhibits tumor growth and overcomes chemoresistance in colorectal cancer. *Cell Death Discovery*, 9(1), 351.

Caon, I., Bartolini, B., Parnigoni, A., Caravà, E., Moretto, P., Viola, M., ... and Passi, A. (2020). Revisiting the hallmarks of cancer: The role of hyaluronan. *Seminars in Cancer Biology*, 62, 9–19.

Casao, A., Mata-Campuzano, M., Ordás, L., Cebrián-Pérez, J. A., Muiño-Blanco, T. and Martínez-Pastor, F. (2015). Cleaved PARP-1, an Apoptotic Marker, can be Detected in Ram Spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(4), 688–691.

Celep, F., Doğan, M. and Duran, A. (2009). A new record for the flora of Turkey: *Salvia viscosa* Jacq. (Labiatae). *Turkish Journal of Botany*, 33(1), 57–60.

Çelik, T. A. and Aslantürk, Ö. S. (2010). Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of inula viscosa leaf extracts with Allium test. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010.

Chaabane, W., User, S. D., El-Gazzah, M., Jaksik, R., Sajjadi, E., Rzeszowska-Wolny, J. and Łos, M. J. (2013). Autophagy, apoptosis, mitoptosis and necrosis: Interdependence between those pathways and effects on cancer. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 61(1), 43–58.

Chambliss, A. B. and Chan, D. W. (2016). Precision medicine: From pharmacogenomics to pharmacoproteomics. *Clinical Proteomics*, 13(1), 1–9.

Chen, B., Huang, C., Zhang, Y., Tang, X., Li, S., Wang, Q. and Lin, Y. (2020). *Salvia bowleyana* Dunn root is a novel source of Salvianolic acid B and displays antitumor effects against gastric cancer cells. *Oncology Letters*, 20(1), 817–827.

Chen, C. (2013). *New Research Directions in DNA Repair*. Rijeka, Croatia: IntechOpen.

Chen, J., Zhang, L., Zhou, H., Wang, W., Luo, Y., Yang, H. and Yi, H. (2018). Inhibition of autophagy promotes cisplatin-induced apoptotic cell death through Atg5 and Beclin 1 in A549 human lung cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 17(5), 6859–6865.

Chen, X., Wu, Y., Dong, H., Zhang, C. and Zhang, Y. (2013). Platinum-Based Agents for Individualized Cancer Treatment. *Current Molecular Medicine*, 13(10), 1603–1612.

Chen, Y., Zhu, Z., Chen, J., Zheng, Y., Limsila, B., Lu, M., ... and Liao, W. (2021). Terpenoids from *Curcumae Rhizoma*: Their anticancer effects and clinical uses on combination and versus drug therapies. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 138, 111350.

Chhikara, B. S. and Parang, K. (2023). Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis. *Chemical Biology Letters*, 10(1), 451.

Chmielecki, J. and Meyerson, M. (2014). DNA sequencing of cancer: What have we learned? *Annual Review of Medicine*, 65, 63–79.

Choi, W. and Lee, E. S. (2022). Therapeutic targeting of DNA damage response in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1701.

Chou, T. C. (2006). Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacological Reviews*, 58(3), 621–681.

Choudhary, M. I., Hussain, A., Ali, Z., Adhikari, A., Sattar, S. A., Ayatollahi, S. A., ... and Atta-Ur-Rahman. (2012). Diterpenoids including a novel dimeric conjugate from *Salvia leriæfolia*. *Planta Medica*, 78(3), 269–275.

Connolly, D. T., Heuvelman, D. M., Nelson, R., Olander, J. V., Eppley, B. L., Delfino, J. J., ... and Feder, J. (1989). Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, 84(5), 1470–1478.

Corman, L. M., Allison, S. I. and Kuehne, J. P. (2004). Kolon ve rektal cerrahinin el kitabı. *Adana: Nobel Tıp Kitabevleri*, 687–690.

Crabtree, J. S. (2019). Pharmacogenomics. In *Clinical Precision Medicine: A Primer* (pp. 63–71). London, UK: Academic Press

Crews, K. R., Hicks, J. K., Pui, C. H., Relling, M. V. and Evans, W. E. (2012). Pharmacogenomics and individualized medicine: Translating science into practice. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 92(4), 467–475.

Croner, R. S., Brueckl, W. M., Reingruber, B., Hohenberger, W. and Guenther, K. (2005). Age and manifestation related symptoms in familial adenomatous polyposis. *BMC Cancer*, 5(1), 1–7.

Cross, A. J., Wooldrage, K., Robbins, E. C., Pack, K., Brown, J. P., Hamilton, W., ... and Atkin, W. (2019). Whole-colon investigation vs. flexible sigmoidoscopy for suspected colorectal cancer based on presenting symptoms and signs: a multicentre cohort study. *British Journal of Cancer*, 120(2), 154–164.

Crowell, J. A., Steele, V. E. and Fay, J. R. (2007). Targeting the AKT protein kinase for cancer chemoprevention. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(8), 2139–2148.

D'Alessandro, A. and Zolla, L. (2010). Pharmacoproteomics: A chess game on a protein field. In *Drug Discovery Today* (Vol. 15, Issues 23–24, pp. 1015–1023).

D'Haene, N., Koopmansch, C., Van Eycke, Y. R., Hulet, F., Allard, J., Bouri, S., ... and Salmon, I. (2018). The prognostic value of the combination of low VEGFR-1 and high VEGFR-2 expression in endothelial cells of colorectal cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3536.

Dai, Y., Sun, X., Li, B., Ma, H., Wu, P., Zhang, Y., ... and Wu, C. Z. (2021). The effect of hispidulin, a flavonoid from *Salvia plebeia*, on human nasopharyngeal carcinoma cne-2z cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis. *Molecules*, 26(6), 1604.

Danial, N. N. and Korsmeyer, S. J. (2004). Cell Death: Critical Control Points. *Cell*, 116(2), 205–219.

Dasari, S. and Bernard Tchounwou, P. (2014). Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 740, 364–378.

Dasari, S., Njiki, S., Mbemi, A., Yedjou, C. G. and Tchounwou, P. B. (2022). Pharmacological effects of cisplatin combination with natural products in cancer chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1532.

Date, T., Kuche, K., Ghadi, R., Kumar, P. and Jain, S. (2022). Understanding the Role of Axial Ligands in Modulating the Biopharmaceutical Outcomes of Cisplatin(IV) Derivatives. *Molecular Pharmaceutics*, 19(5), 1325–1337.

David, B., Wolfender, J. L. and Dias, D. A. (2015). The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*, 14(2), 299–315.

De Oliveira, C. B., Comunello, L. N., Maciel, É. S., Giubel, S. R., Bruno, A. N., Chiela, E. C. F., Lenz, G., ... and Gosmann, G. (2013). The inhibitory effects of phenolic and terpenoid compounds from *Baccharis trimera* in SiHa cells: Differences in their activity and mechanism of action. *Molecules*, 18(9), 11022–11032.

Demirezer, L. Ö., Gürbüz, P., Kelicen Uğur, E. P., Bodur, M., Özenver, N., Uz, A. and Güvenalp, Z. (2015). Molecular docking and ex vivo and in vitro anticholinesterase activity studies of *Salvia* sp. and highlighted rosmarinic acid. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(5), 1141–1148.

Denijn, M. and Ruiter, D. J. (1993). The possible role of angiogenesis in the metastatic potential of human melanoma. Clinopathological aspects. *Melanoma Research*, 3(1), 5–14.

Derry, M. M., Raina, K., Agarwal, C. and Agarwal, R. (2013). Identifying molecular targets of lifestyle modifications in colon cancer prevention. *Frontiers in Oncology*, 3 MAY, 51352.

Dias, D. A., Urban, S. and Roessner, U. (2012). A Historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*, 2(2), 303–336.

Doğan, M., Akılcı, N., Diken, M. E., Doğan, S., Yılmaz Kardas, B. and Dirmenci, T. (2022). Biological activities of some Salvia species. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 77(3–4), 133–143.

El Hadri, A., Del Río, M. Á. G., Sanz, J., Coloma, A. G., Idaomar, M., Ozonas, B. R., ... and Reus, M. I. S. (2010). Cytotoxic activity of α -humulene and transcaryophyllene from Salvia officinalis in animal and human tumor cells. *Anales de La Real Academia Nacional de Farmacia*, 76(3), 343–356.

Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516.

Kursat, M.E. (2022). Biochemical parameters and antioxidant property of three Salvia l. Taxa endemic in turkey. *Brazilian Journal of Biology*, 82.

Erdogan, M., Ağca, C. and Aşkin, H. (2020). Achillea biebersteinii extracts suppress angiogenesis and enhance sensitivity to 5-fluorouracil of human colon cancer cells via the PTEN/AKT/mTOR pathway in vitro. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(11), 505–515.

Erdogan, M., Gecibesler, H.I., Yapar, Y., Gundogdu, R., Kirici, M., Behcet, L. and Taslimi, P. (2021). Fatty acid composition, enzyme inhibitory effect, antioxidant and anticancer activity of extract from Saponaria prostrata WILLD. subsp. anatolica HEDGE. *Bioorganic Chemistry*, 113(January), 105032.

Erdoğan, M. K. (2016). HT-29 kolon kanseri hücre hattında bazı bitki ekstraktları ve bitkisel etken maddelerin 5-fluorouracil (5-fu) ile kombinasyonunun apoptotik yollara ve hücre çoğalmasına etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi.

Erdoğan, M. K. (2021). The Chemosensitizing Effect of Portulaca oleracea Methanol Extract on Human Colorectal and Lung Cancer Cells Against Irinotecan. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(6), 1187–1195.

Erdoğan, M. K., Agca, C. A. and Askin, H. (2019). Enhanced antiproliferative and apoptotic effects of 5-fluorouracil by combined with Pistacia eurycarpa Extracts on human colorectal cancer cells. *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 27–38.

Erdogan, M. K., Gundogdu, R., Yapar, Y., Gecibesler, I. H., Kirici, M., Behcet, L., ... and Taslimi, P. (2022). The evaluation of anticancer, antioxidant, antidiabetic and anticholinergic potentials of endemic Rhabdosciadium microcalycinum supported by molecular docking study. *ChemistrySelect*, 7(17), e202200400.

Fakih, M. G. (2015). Metastatic colorectal cancer: Current state and future directions. *Journal of Clinical Oncology*, 33(16), 1809–1824.

Fang, J. Y., Li, Z. H., Li, Q., Huang, W. S., Kang, L. and Wang, J. P. (2012). Resveratrol affects protein kinase C activity and promotes apoptosis in human colon carcinoma cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(12), 6017–6022.

Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Journal of Forestry*, 11(1), 52–67.

Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C. and Parkin, D. M. (2013). GLOBOCAN 2008 v2. 0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2010.

Ferreira, M. J. U. (2021). Natural products in drug discovery and human health. *Phytochemistry Reviews*, 20(1), 52–60.

Fitzmaurice, C., Allen, C., Barber, R. M., Barregard, L., Bhutta, Z. A., Brenner, H., ... and Naghavi, M. (2017). Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study Global Burden . *JAMA Oncology*, 3(4), 524–548.

Fışkın, K. (2002). *Genetik Kavramlar*. (pp. 635–651). Ankara, Türkiye: Palme Yayıncılık.

Folkerts, H., Hilgendorf, S., Vellenga, E., Bremer, E., Wiersma, V. R. (2019). The multifaceted role of autophagy in cancer and the microenvironment. *Medicinal Research Reviews*, 39(2), 517–560.

Folkman, J. (1971). Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New England Journal of Medicine*, 285(21), 1182–1186.

Folkman, J. (1984). Angiogenesis. *Biology of Endothelial Cells*, 412–428.

Formigli, L., Papucci, L., Tani, A., Schiavone, N., Tempestini, A., Orlandini, G. E., ... and Orlandini, S. Z. (2000). Aponecrosis: Morphological and biochemical exploration of a syncratic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. *Journal of Cellular Physiology*, 182(1), 41–49.

Franken, N. A. P., Rodermond, H. M., Stap, J., Haveman, J. and van Bree, C. (2006). Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature Protocols*, 1(5), 2315–2319.

Fulda, S. (2009). Tumor resistance to apoptosis. *International Journal of Cancer*, 124(3), 511–515.

Gali-Muhtasib, H. U., Younes, I. H., Karehesy, J. J. and El-Sabban, M. E. (2001). Plant tannins inhibit the induction of aberrant crypt foci and colonic tumors by 1,2-dimethylhydrazine in mice. *Nutrition and Cancer*, 39(1), 108–116.

Gencer, H., Serçekus, P. ve Özkan, S. (2021). Kanser Hastalarının Bilgi Kaynakları. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10(3), 568–573.

Georgakilas, A. G., Martin, O. A. and Bonner, W. M. (2017). p21: A Two-Faced Genome Guardian. *Trends in Molecular Medicine*, 23(4), 310–319.

Ghafouri-Fard, S., Shabestari, F. A., Vaezi, S., Abak, A., Shoorei, H., Karimi, A., ... and Basiri, A. (2021). Emerging impact of quercetin in the treatment of prostate cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 138.

Ghasemzadeh, A. and Jaafar, H. Z. E. (2013). Profiling of phenolic compounds and their antioxidant and anticancer activities in pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) extracts from different locations of Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 1–9.

Ghosh, S. (2019). Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*, 88, 102925.

Glick, D., Barth, S. and Macleod, K. F. (2010). Autophagy: Cellular and molecular mechanisms. *Journal of Pathology*, 221(1), 3–12.

Gold, J. M., and Raja, A. (2023). Cisplatin. *StatPearls Publishing*, Treasure Island (FL).

Golden, E. B., Lam, P. Y., Kardosh, A., Gaffney, K. J., Cadenas, E., Louie, S. G., ... and Schönthal, A. H. (2009). Green tea polyphenols block the anticancer effects of bortezomib and other boronic acid-based proteasome inhibitors. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 113(23), 5927–5937.

Goldstein, M. and Kastan, M. B. (2015). The DNA damage response: Implications for tumor responses to radiation and chemotherapy. *Annual Review of Medicine*, 66(1), 129–143.

Golshan, A., Amini, E., Emami, S. A., Asili, J., Jalali, Z., Sabouri-Rad, S., ... and Tayarani-Najaran, Z. (2016). Cytotoxic evaluation of different fractions of *Salvia chorassanica* Bunge on MCF-7 and du 145 cell lines. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 73–80.

Gomez, V., Gundogdu, R., Gomez, M., Hoa, L., Panchal, N., O'Driscoll, M. and Hergovich, A. (2015). Regulation of DNA damage responses and cell cycle progression by hMOB2. *Cellular Signalling*, 27(2), 326–339.

Gong, Y., Li, Y., Lu, Y., Li, L., Abdolmaleky, H., Blackburn, G. L. and Zhou, J. R. (2011). Bioactive tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* inhibit the growth of prostate cancer cells in vitro and in mice. *International Journal of Cancer*, 129(5), 1042–1052.

Goodarzi, E., Beiranvand, R., Naemi, H., Momenabadi, V. and Khazaei, Z. (2019). Worldwide Incidence and Mortality of Colorectal Cancer and Human Development Index (Hdi): an Ecological Study. *World Cancer Research Journal*, 6, 8.

Green, D. R. (2022). A Matter of Life and Death. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 14(1), 19–30.

Guerrero, I. C., Andrés, L. S., León, L. G., Machín, R. P., Padrón, J. M., Luis, J. G. and Delgadillo, J. (2006). Abietane diterpenoids from *Salvia pachyphylla* and *Salvia clevelandii* with cytotoxic activity against human cancer cell lines. *Journal of Natural Products*, 69(12), 1803–1805.

Guertin, D. A. and Sabatini, D. M. (2007). Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell*, 12(1), 9–22.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. and Babaç, M. T. (2012). Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul*, 262, 47–83.

Gür, C. and Özkanlar, S. (2021). Melatonin Enhances the Chemosensitivity of Pancreatic Carcinoma Cells (PANC-1) to Cisplatin and Cetuximab through modulation of p21, p27, p53, p57, MDM2 and KRAS Genes. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10(2), 275–282.

Guzmán, C., Bagga, M., Kaur, A., Westermarck, J. and Abankwa, D. (2014). ColonyArea: An ImageJ plugin to automatically quantify colony formation in clonogenic assays. *PLoS ONE*, 9(3), e92444.

- Hackman, G. L., Collins, M., Lu, X., Lodi, A., DiGiovanni, J. and Tiziani, S. (2020). Predicting and quantifying antagonistic effects of natural compounds given with chemotherapeutic agents: Applications for high-throughput screening. *Cancers*, 12(12), 3714.
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46.
- Hanahan, D. and Folkman, J. (1996). Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86(3), 353–364.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674.
- Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R., ... and Morales, R. (2004). Labiatae. *Flowering Plants: Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae Including Avicenniaceae)*, 167–275.
- Hashemi, S., Seradj, H., Kiani, R., Jassbi, A. R. and Erfani, N. (2023). Salvurmin A and Salvurmin B, Two Ursane Triterpenoids of *Salvia urmiensis* Induce Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Human Lung Carcinoma Cells. *Pharmaceutical Sciences*, 29(2), 190–199.
- Heaney, M. L., Gardner, J. R., Karasavvas, N., Golde, D. W., Scheinberg, D. A., Smith, E. A. and O'Connor, O. A. (2008). Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. *Cancer Research*, 68(19), 8031–8038.
- Helleday, T., Petermann, E., Lundin, C., Hodgson, B. and Sharma, R. A. (2008). DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 8(3), 193–204.
- Henkin, J. M., Ren, Y., Soejarto, D. D. and Kinghorn, A. D. (2018). The Search for Anticancer Agents from Tropical Plants. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, 107, 1–94.
- Hess, S. (2013). The emerging field of chemo- and pharmacoproteomics. In *Proteomics - Clinical Applications*, 7(1-2), 171–180.
- Hoffe, S. E., Shridhar, R. and Biagioli, M. C. (2010). Radiation therapy for rectal cancer: Current status and future directions. *Cancer Control*, 17(1), 25–34.

- Holaday, J. W. and Berkowitz, B. A. (2009). Antiangiogenic drugs: Insights into drug development from endostatin, avastin and thalidomide. *Molecular Interventions*, 9(4), 157–166.
- Holmgren, L., O'reilly, M. S. and Folkman, J. (1995). Dormancy of micrometastases: Balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Medicine*, 1(2), 149–153.
- Horibata, S., Vo, T. V., Subramanian, V., Thompson, P. R. and Coonrod, S. A. (2015). Utilization of the soft agar colony formation assay to identify inhibitors of tumorigenicity in breast cancer cells. *Journal of Visualized Experiments*, 2015(99), e52727.
- Hossain, M. S., Karuniawati, H., Jairoun, A. A., Urbi, Z., Ooi, D. J., John, A., ... and Hadi, M. A. (2022). Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers*, 14(7), 1732.
- Howren, A., Sayre, E. C., Loree, J. M., Gill, S., Brown, C. J., Farooq, A. and De Vera, M. A. (2021). Trends in the Incidence of Young-Onset Colorectal Cancer With a Focus on Years Approaching Screening Age: A Population-Based Longitudinal Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 113(7), 863–868.
- Hu, T., Wang, L., Zhang, L., Lu, L., Shen, J., Chan, R. L. Y., ... and Cho, C. H. (2015). Sensitivity of apoptosis-resistant colon cancer cells to tanshinones is mediated by autophagic cell death and p53-independent cytotoxicity. *Phytomedicine*, 22(5), 536–544.
- Hung, Y. C., Wang, P. W., Lin, T. Y., Yang, P. M., You, J. S. and Pan, T. L. (2020). Functional Redox Proteomics Reveal That Salvia miltiorrhiza Aqueous Extract Alleviates Adriamycin-Induced Cardiomyopathy via Inhibiting ROS-Dependent Apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1-15.
- Irtegun Kandemir, S., Fidan, H. S., Yener, I., Mete, N., Ertas, A., Topcu, G. and Kolak, U. (2022). Investigation of cytotoxic and apoptotic effects of 63 compounds obtained from Salvia species: Promising anticancer agents. *Journal of Food Biochemistry*, 46(9), e14226.
- Islam, M., Jones, S. and Ellis, I. (2023). Role of akt/protein kinase B in cancer metastasis. *Biomedicines*, 11(11), 3001.
- Jaganathan, S. K. and Mandal, M. (2009). Honey constituents and their apoptotic effect in colon cancer cells. *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science*, 1(2), 29–36.
- Jeong, S. H., Kim, H. H., Ha, S. E., Park, M. Y., Bhosale, P. B., Abusaliya, A., ... and Kim, G. S. (2022). Flavones: Six Selected Flavones and Their Related Signaling Pathways That Induce Apoptosis in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10965.

Jia, L., Lin, X.-R., Guo, W.-Y., Huang, M., Zhao, Y., Zhang, Y.-S. and Li, J. (2022). Salvia chinensis Benth induces autophagy in esophageal cancer cells via AMPK/ULK1 signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 995344.

Jiang, Y.-L. and Xun, Y. (2024). Molecular Mechanism of *S. miltiorrhiza* in the Treatment of Colorectal Cancer Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology. *Drug Design, Development and Therapy*, 425–441.

Jin, U., Suh, S., Chang, H. W., Son, J., Lee, S. H., Son, K., ... and Kim, C. (2008). Tanshinone IIA from *Salvia miltiorrhiza* BUNGE inhibits human aortic smooth muscle cell migration and MMP-9 activity through AKT signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 104(1), 15–26.

Johnson, I. T. (2007). Phytochemicals and cancer. *Proceedings of the Nutrition Society*, 66(2), 207–215.

Jonkman, J. E. N., Cathcart, J. A., Xu, F., Bartolini, M. E., Amon, J. E., Stevens, K. M. and Colarusso, P. (2014). An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhesion & Migration*, 8(5), 440–451.

Ju, Y. H., Doerge, D. R., Allred, K. F., Allred, C. D. and Helferich, W. G. (2002). Dietary genistein negates the inhibitory effect of tamoxifen on growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) cells implanted in athymic mice. *Cancer Research*, 62(9), 2474–2477.

Ju, Y. H., Doerge, D. R., Woodling, K. A., Hartman, J. A., Kwak, J. and Helferich, W. G. (2008). Dietary genistein negates the inhibitory effect of letrozole on the growth of aromatase-expressing estrogen-dependent human breast cancer cells (MCF-7Ca) in vivo. *Carcinogenesis*, 29(11), 2162–2168.

Kamatou, G. P. P., Makunga, N. P., Ramogola, W. P. N. and Viljoen, A. M. (2008). South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3), 664–672.

Kanbur, E. (2022). İnsan Prostat Kanseri Pc3 Hücre Hattında Proteozom İnhibitörlerine Karşı Geliştirilen Direnç Mekanizmalarının Araştırılması, Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi.

Kaparapu, J., Pragada, P. M. and Geddada, M. N. R. (2020). Fruits and vegetables and its nutritional benefits. *Functional Foods and Nutraceuticals: Bioactive Components, Formulations and Innovations*, 241–260.

Kashyap, A., Umar, S. M., JR, A. D. and Prasad, C. P. (2021). Dihydrotanshinone-I modulates epithelial mesenchymal transition (EMT) thereby impairing migration and

clonogenicity of triple negative breast cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 22(7), 2177.

Keçelioğlu, Y. (2022). Evre 2 ve Evre 3 Kolon Kanseri Nedeniyle Küratif Cerrahi Uygulanmış Hastalarda Histopatolojik Olarak CCL 18 Düzeylerinin Hasta Sağkalımında Prognostik Belirteç Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimler Üniversitesi.

Kelderman, S., Schumacher, T. N. M. and Haanen, J. B. A. G. (2014). Acquired and intrinsic resistance in cancer immunotherapy. *Molecular Oncology*, 8(6), 1132–1139.

Kerem, K. U. (2015). *Salvia Officinalis* Ekstresinin Deneysel İnflamasyon ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.

Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H. and Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26(4), 239–257.

Keshavarz, M., Bidmeshkipour, A., Mostafaei, A. L. I., Mansouri, K. and Mohammadi, M. H. R. (2011). Anti tumor activity of *Salvia officinalis* is due to its anti-angiogenic, anti-migratory and anti-proliferative effects. *Cell Journal*, 12, 477-482.

Khatoon, E., Banik, K., Harsha, C., Sailo, B. L., Thakur, K. K., Khwairakpam, A. D., ... and Kunnumakkara, A. B. (2022). Phytochemicals in cancer cell chemosensitization: Current knowledge and future perspectives. *Seminars in Cancer Biology*, 80, 306–339.

Kier, L. B. (1998). *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. Fifth Edition. Volume 5: Therapeutic Agents Edited by Manfred E. Wolff. John Wiley and Sons, New York. 1997. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(5), 772–773.

Kim, B., Srivastava, S. K. and Kim, S.-H. (2015). Caspase-9 as a therapeutic target for treating cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 19(1), 113–127.

Kim, S., Huh, J. W., Lee, W. Y., Yun, S. H., Kim, H. C., Cho, Y. B., ... and Shin, J. K. (2022). Oncologic outcomes of pathologic T4 and T3 colon cancer patients diagnosed with clinical T4 stage disease using preoperative computed tomography scan. *Surgical Oncology*, 41, 101749.

Kim, Y.-I. and Mason, J. B. (1996). Nutrition chemoprevention of gastrointestinal cancers: a critical review. *Nutrition Reviews*, 54(9), 259–279.

Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., ... and Fasoulakis, Z. (2020). Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: A review. *Anticancer Research*, 40(11), 6009–6015.

Kooti, W. and Daraei, N. (2017). A review of the antioxidant activity of celery (*Apium graveolens* L). *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(4), 1029–1034.

Krzyszczuk, P., Acevedo, A., Davidoff, E. J., Timmins, L. M., Marrero-Berrios, I., Patel, M., ... and Yarmush, M. L. (2018). The growing role of precision and personalized medicine for cancer treatment. *Technology*, 6(3–4), 79–100.

Kumar, V., Abbas, A and Aster, J. C. (2017). *Robbins basic pathology e-book*. Philadelphia, USA: Elsevier Health Sciences.

Kuwahara, D., Tsutsumi, K., Kobayashi, T., Hasunuma, T. and Nishioka, K. (2000). Caspase-9 regulates cisplatin-induced apoptosis in human head and neck squamous cell carcinoma cells. *Cancer Letters*, 148(1), 65–71.

Lambert, J. D., Hong, J., Yang, G., Liao, J. and Yang, C. S. (2005). Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 284–291.

Lane, D. P. (1992). p53, guardian of the genome. *Nature*, 358(6381), 15–16.

Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y. and Kim, Y. H. (2012). Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 62, e3923.

Lewandowska, A., Rudzki, G., Lewandowski, T., Strykowska-Góra, A. and Rudzki, S. (2022). Risk factors for the diagnosis of colorectal cancer. *Cancer Control*, 29, 10732748211056692.

Li, J., Wang, R., Kong, Y., Broman, M. M., Carlock, C., Chen, L., ... and Liu, X. (2017). Targeting Plk1 to Enhance Efficacy of Olaparib in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 16(3), 469–479.

Li, W., Saud, S. M., Young, M. R., Colburn, N. H. and Hua, B. (2015). Cryptotanshinone, a Stat3 inhibitor, suppresses colorectal cancer proliferation and growth in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 406, 63–73.

Li, X., He, S. and Ma, B. (2020). Autophagy and autophagy-related proteins in cancer. *Molecular Cancer*, 19(1), 1–16.

Lieberthal, W., Triaca, V. and Levine, J. (1996). Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis vs. necrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 270(4), F700–F708.

- Lind, M. J. (2008). Principles of cytotoxic chemotherapy. *Medicine*, 36(1), 19-23.
- Liu, B., Edgerton, S., Yang, X., Kim, A., Ordonez-Ercan, D., Mason, T., ... and Thor, A. (2005). Low-dose dietary phytoestrogen abrogates tamoxifen-associated mammary tumor prevention. *Cancer Research*, 65(3), 879–886.
- Lord, C. J. and Ashworth, A. (2012). The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*, 481(7381), 287–294.
- Lowe, S. W. and Lin, A. W. (2000). Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 485–495.
- Luca, T., Napoli, E., Privitera, G., Musso, N., Ruberto, G. and Castorina, S. (2020). Antiproliferative effect and cell cycle alterations induced by *Salvia officinalis* essential oil and its three main components in human colon cancer cell lines. *Chemistry & Biodiversity*, 17(8), e2000309.
- Lugano, R., Ramachandran, M. and Dimberg, A. (2020). Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77, 1745–1770.
- Luqmani, Y. A. (2005). Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Medical Principles and Practice*, 14(Suppl. 1), 35–48.
- Macrae, F. A. (2016). Colorectal cancer: Epidemiology, risk factors, and protective factors. *Uptodate Com [Ažurirano 9 Lipnja 2017]*.
- Mahady, G. B. (2001). Global harmonization of herbal health claims. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1120-1123.
- Makovec, T. (2019). Cisplatin and Beyond: Molecular Mechanisms of Action and Drug Resistance Development in Cancer Chemotherapy. *Radiology and Oncology*, 53(2), 148.
- Maleki Dana, P., Sadoughi, F., Asemi, Z. and Yousefi, B. (2022). The role of polyphenols in overcoming cancer drug resistance: A comprehensive review. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 27(1), 1–26.
- Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S. and Baradaran, B. (2017). The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(3), 339.
- Marisa, L., Blum, Y., Taieb, J., Ayadi, M., Pilati, C., Le Malicot, K., ... and Duval, A. (2021). Intratumor CMS heterogeneity impacts patient prognosis in localized colon cancer. *Clinical Cancer Research*, 27(17), 4768–4780.

Martínez-Limón, A., Joaquin, M., Caballero, M., Posas, F. and De Nadal, E. (2020). The p38 MAPK pathway: from biology to cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 1913.

Mashima, T., Wakatsuki, T., Kawata, N., Jang, M.-K., Nagamori, A., Yoshida, H., ... and Yamaguchi, K. (2021). Neutralization of the induced VEGF-A potentiates the therapeutic effect of an anti-VEGFR2 antibody on gastric cancer in vivo. *Scientific Reports*, 11(1), 15125.

Massagué, J. (2004). G1 cell-cycle control and cancer. *Nature*, 432(7015), 298–306.

Matsushima, H., Yonemura, K., Ohishi, K. and Hishida, A. (1998). The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 131(6), 518–526.

Mauri, G., Arena, S., Siena, S., Bardelli, A. and Sartore-Bianchi, A. (2020). The DNA damage response pathway as a land of therapeutic opportunities for colorectal cancer. *Annals of Oncology*, 31(9), 1135–1147.

McDonald, N. Q. and Hendrickson, W. A. (1993). A structural superfamily of growth factors containing a cystine knot motif. *Cell*, 73(3), 421–424.

McGee, S. F., Lanigan, F., Gilligan, E. and Groner, B. (2006). Mammary gland biology and breast cancer: Conference on Common Molecular Mechanisms of Mammary Gland Development and Breast Cancer Progression. John Wiley & Sons, Ltd Chichester, UK.

McLeod, H. L. and Murray, G. I. (1999). Tumour markers of prognosis in colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, 79(2), 191–203.

Meester, R. G. S., Mannalithara, A., Lansdorp-Vogelaar, I. and Ladabaum, U. (2019). Trends in incidence and stage at diagnosis of colorectal cancer in adults aged 40 through 49 years, 1975-2015. *Jama*, 321(19), 1933–1934.

Miller, K. D., Nogueira, L., Mariotto, A. B., Rowland, J. H., Yabroff, K. R., ... and Siegel, R. L. (2019). Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(5), 363–385.

Mizushima, N. and Komatsu, M. (2011). Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*, 147(4), 728–741.

Mizushima, N., Yoshimori, T. and Ohsumi, Y. (2011). The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 107–132.

Modernelli, A., Naponelli, V., Giovanna Troglio, M., Bonacini, M., Ramazzina, I., Bettuzzi, S. and Rizzi, F. (2015). EGCG antagonizes Bortezomib cytotoxicity in prostate cancer cells by an autophagic mechanism. *Scientific Reports*, 5(1), 15270.

Moghtaderi, H., Sepehri, H., Delphi, L. and Attari, F. (2018). Gallic acid and curcumin induce cytotoxicity and apoptosis in human breast cancer cell MDA-MB-231. *BioImpacts: BI*, 8(3), 185.

Mohammad, R. M., Muqbil, I., Lowe, L., Yedjou, C., Hsu, H.-Y., Lin, L.-T.,... and Dou, Q. P. (2015). Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 35, 78–103.

Mokhtari, R. B., Homayouni, T. S., Baluch, N., Morgatskaya, E., Kumar, S., Das, B. and Yeger, H. (2017). Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget*, 8(23), 38022–38043.

Moridi Farimani, M. and Miran, M. (2014). Labdane diterpenoids from *Salvia reuterana*. *Phytochemistry*, 108, 264–269.

Mousa, S. A., Lin, H.-Y., Tang, H. Y., Hercbergs, A., Luidens, M. K. and Davis, P. J. (2014). Modulation of angiogenesis by thyroid hormone and hormone analogues: implications for cancer management. *Angiogenesis*, 17, 463–469.

Mukhopadhyay, S., Panda, P. K., Sinha, N., Das, D. N. and Bhutia, S. K. (2014). Autophagy and apoptosis: where do they meet? *Apoptosis*, 19, 555–566.

Murphy, N., Campbell, P. T. and Gunter, M. J. (2021). Unraveling the etiology of early-onset colorectal cancer. In *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* (Vol. 113, Issue 5, pp. 505–506). Oxford University Press.

Murray, A. W. (2004). Recycling the cell cycle: cyclins revisited. *Cell*, 116(2), 221–234.

Muscella, A., Stefàno, E., De Bellis, L., Nutricati, E., Negro, C. and Marsigliante, S. (2021). Antitumor and antimigration effects of *Salvia clandestina* L. extract on osteosarcoma cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1500(1), 34–47.

Nakayama, K.-I., Hatakeyama, S. and Nakayama, K. (2001). Regulation of the cell cycle at the G1–S transition by proteolysis of cyclin E and p27Kip1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282(4), 853–860.

Nandal, S. and Burt, T. (2017). Integrating pharmacoproteomics into early-phase clinical development: State-of-the-art, challenges, and recommendations. In *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 448.

- Nasrabadi, N. S., Vedad, A., Asadi, K., Poorbagher, M. R. M., Tabrizi, N. A., Dorooki, K., ... and Karimi, E. (2024). Nanoliposome-loaded phenolics from *Salvia leriifolia* Benth and its anticancer effects against induced colorectal cancer in mice. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 71, 641-650.
- Nenclares, P. and Harrington, K. J. (2020). The biology of cancer. *Medicine*, 48(2), 67–72.
- Network, C. G. A. (2012). Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*, 487(7407), 330.
- Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S. and Poltorak, Z. (1999). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *The FASEB Journal*, 13(1), 9–22.
- Newman, D. J. and Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311–335.
- Nicholson, D. W. and Thornberry, N. A. (1997). Caspases: killer proteases. *Trends in Biochemical Sciences*, 22(8), 299–306.
- Nicolella, H. D., de Oliveira, P. F., Munari, C. C., Costa, G. F. D., Moreira, M. R., Veneziani, R. C. S. and Tavares, D. C. (2014). Differential effect of manool—a diterpene from *Salvia officinalis*, on genotoxicity induced by methyl methanesulfonate in V79 and HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 72, 8–12.
- Nicolella, H. D., Fernandes, G., Ozelin, S. D., Rinaldi-Neto, F., Ribeiro, A. B., Furtado, R. A., S... and Tavares, D. C. (2021). Manool, a diterpene from *Salvia officinalis*, exerts preventive effects on chromosomal damage and preneoplastic lesions. *Mutagenesis*, 36(2), 177–185.
- Nie, J., Zhao, C., Deng, L. I., Chen, J., Yu, B., Wu, X., ... and Chen, X. (2016). Efficacy of traditional Chinese medicine in treating cancer. *Biomedical Reports*, 4(1), 3–14.
- Nikoletopoulou, V., Markaki, M., Palikaras, K. and Tavernarakis, N. (2013). Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1833(12), 3448–3459.
- Nishida, N., Yano, H., Nishida, T., Kamura, T. and Kojiro, M. (2006). Angiogenesis in cancer. *Vascular Health and Risk Management*, 2(3), 213–219.
- Norbury, C. J. and Hickson, I. D. (2001). Cellular responses to DNA damage. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41(1), 367–401.

Obeng, E. (2020). Apoptosis (programmed cell death) and its signals-A review. *Brazilian Journal of Biology*, 81, 1133–1143.

Orhan, I. E., Senol, F. S., Ercetin, T., Kahraman, A., Celep, F., Akaydin, G., ... and Dogan, M. (2013). Assessment of anticholinesterase and antioxidant properties of selected sage (*Salvia*) species with their total phenol and flavonoid contents. *Industrial Crops and Products*, 41, 21–30.

Pabla, N. and Dong, Z. (2008). Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney International*, 73(9), 994–1007.

Parker, C., Chambers, A. C., Flanagan, D. J., Ho, J. W. Y., Collard, T. J., Ngo, G., ... and Williams, A. C. (2022). BCL-3 loss sensitises colorectal cancer cells to DNA damage by targeting homologous recombination. *DNA Repair*, 115, 103331.

Parveen, A., Subedi, L., Kim, H. W., Khan, Z., Zahra, Z., Farooqi, M. Q. and Kim, S. Y. (2019). Phytochemicals targeting VEGF and VEGF-related multifactors as anticancer therapy. *Journal of Clinical Medicine*, 8(3), 350.

Patra, S., Pradhan, B., Nayak, R., Behera, C., Rout, L., Jena, M., ... and Bhutia, S. K. (2021). Chemotherapeutic efficacy of curcumin and resveratrol against cancer: Chemoprevention, chemoprotection, drug synergism and clinical pharmacokinetics. *Seminars in Cancer Biology*, 73, 310–320.

Pavlova, N. N. and Thompson, C. B. (2016). The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism*, 23(1), 27–47.

Pecorino, L. (2021). *Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics*, (pp. 2-20). Oxford, UK: Oxford University Press.

Pedro, D. F. N., Ramos, A. A., Lima, C. F., Baltazar, F. and Pereira-Wilson, C. (2010). Modulation of DNA damage prevention and signaling pathways in diet induced colon cancer prevention. *BMC Proceedings*, 4, 1.

Pierini, R., Gee, J. M., Belshaw, N. J. and Johnson, I. T. (2008). Flavonoids and intestinal cancers. *British Journal of Nutrition*, 99(1), 53–59.

Pópulo, H., Lopes, J. M. and Soares, P. (2012). The mTOR signalling pathway in human cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(2), 1886–1918.

Potente, M., Gerhardt, H. and Carmeliet, P. (2011). Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*, 146(6), 873–887.

Pötgens, A. J., Lubsen, N. H., Van Altena, M. C., Vermeulen, R., Bakker, A., Schoenmakers, J. G., ... and De Waal, R. M. (1994). Covalent dimerization of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor is essential for its biological activity. Evidence from Cys to Ser mutations. *Journal of Biological Chemistry*, 269(52), 32879–32885.

Qu, X., Yu, J., Bhagat, G., Furuya, N., Hibshoosh, H., Troxel, A., ... and Ohsumi, Y. (2003). Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1809–1820.

Quinn, R. J., Carroll, A. R., Pham, N. B., Baron, P., Palframan, M. E., Suraweera, L., ... and Muresan, S. (2008). Developing a drug-like natural product library. *Journal of Natural Products*, 71(3), 464–468.

Quintás-Cardama, A., Kantarjian, H. M. and Cortes, J. E. (2009). Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control*, 16(2), 122–131.

Rajasekar, N., Sivanantham, A., Ravikumar, V. and Rajasekaran, S. (2021). An overview on the role of plant-derived tannins for the treatment of lung cancer. *Phytochemistry*, 188(1), 1–16.

Ranjan, A., Ramachandran, S., Gupta, N., Kaushik, I., Wright, S., Srivastava, S., ... and Srivastava, S. K. (2019). Role of Phytochemicals in Cancer Prevention. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 4981, 20(20), 4981.

Rasouli, H., Farzaei, M. H., Mansouri, K., Mohammadzadeh, S. and Khodarahmi, R. (2016). Plant cell cancer: may natural phenolic compounds prevent onset and development of plant cell malignancy? A literature review. *Molecules*, 21(9), 1104.

Rasouli, S., Montazeri, M., Mashayekhi, S., Sadeghi-Soureh, S., Dadashpour, M., Mousazadeh, H., ... and Pilehvar-Soltanahmadi, Y. (2020). Synergistic anticancer effects of electrospun nanofiber-mediated codelivery of Curcumin and Chrysin: Possible application in prevention of breast cancer local recurrence. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101402.

Ravikumar, B., Sarkar, S., Davies, J. E., Futter, M., Garcia-Arencibia, M., Green-Thompson, Z. W., ... and Luo, S. (2010). Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 90(4), 1383–1435.

Rawla, P., Sunkara, T. and Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*, 14(2), 89–103.

Rejhová, A., Opattová, A., Čumová, A., Slíva, D. and Vodička, P. (2018). Natural compounds and combination therapy in colorectal cancer treatment. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 144, 582–594.

Robert A. Weiberg. (2013). The Biology of Cancer - Garland Science. In *Chapter 11: Multi-Step Tumorigenesis* (pp. 439–511). Newyork, USA: Taylor & Francis Group, LLC.

Roche, V. F., Zito, S. W., Lemke, T. L. and Williams, D. A. (2019). Foye's principles of medicinal chemistry. *Med. Chem*, 1–1601.

Rock, C. L., Lampe, J. W. and Patterson, R. E. (2000). Nutrition, genetics, and risks of cancer. *Annual Review of Public Health*, 21, 47–64.

Roden, D. M., McLeod, H. L., Relling, M. V., Williams, M. S., Mensah, G. A., Peterson, J. F., Van Driest, S. L. (2019). Pharmacogenomics. *The Lancet*, 521-532.

Rodriguez, L. G., Wu, X. and Guan, J.-L. L. (2005). Wound-healing assay. *Cell Migration: Developmental Methods and Protocols*, 23–29.

Rouygar, F., Golab, N. G., Ghollasimood, S. and Tanideh, N. (2024). The effect hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* on the angiogenesis rate in the chorioallantoic membrane (CAM) of chicken embryo. 1-16. <https://www.researchsquare.com/article/rs-3931690/v1>.

Sabuncuoglu, S. ve Özgüneş, H. (2011). Sisplatin toksisitesi. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 74(1), 18–25.

Safarzadeh, E., Shotorbani, S. S. and Baradaran, B. (2014). Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(Suppl 1), 421.

Şahin, B. (2020). *Salvia ballsiana* ve *Salvia huberi* türlerinin köklerinin biyoaktivitelerinin belirlenmesi ve kimyasal içeriklerinin araştırılması, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Kocaman Üniversitesi.

Saleh, E. M., El-awady, R. A., Eissa, N. A. and Abdel-Rahman, W. M. (2012). Antagonism between curcumin and the topoisomerase II inhibitor etoposide: a study of DNA damage, cell cycle regulation and death pathways. *Cancer Biology & Therapy*, 13(11), 1058–1071.

Scagliotti, G. V. and Vokes, E. E. (2018). Adjuvant and Neoadjuvant Chemotherapy for Early-Stage Nonsmall Cell Lung Cancer. *IASLC Thoracic Oncology*, 512-524.e4.

Schmitt, C. A. and Lowe, S. W. (1999). Apoptosis and therapy. *The Journal of Pathology*, 187(1), 127–137.

Şentürk, Ş. (2020). Sisplatin uygulanan sıçanların testislerinde meydana gelen değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine kurkuminin etkisi, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi.

Shakeri, A., Delavari, S., Ebrahimi, S. N., Asili, J., Emami, S. A. and Tayarani-Najaran, Z. (2019). A new tricyclic abietane diterpenoid from *Salvia chloroleuca* and evaluation of cytotoxic and apoptotic activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 30–35.

Shamloo, B. and Usluer, S. (2019). p21 in Cancer Research. *Cancers*, 11(8), 1178.

Shewach, D. S. and Kuchta, R. D. (2009). Introduction to Cancer Chemotherapeutics. *Chemical Reviews*, 109(7), 2859–2861.

Shivapurkar, N., Reddy, J., Chaudhary, P. M. and Gazdar, A. F. (2003). Apoptosis and lung cancer: a review. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88(5), 885–898.

Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S. and Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA a Cancer J Clin*, 73(1), 17–48.

Siegel, R. L., Wagle, N. S., Cercek, A., Smith, R. A. and Jemal, A. (2023). Colorectal cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(3), 233–254.

Silvestre, J. S. (2013). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis: The Xbp1 games. *Circulation*, 127(16), 1644–1646.

Sinala, S., Dewi, S. T. R., Pakadang, S. R., Sabir, M. and Kamal, S. E. (2021). Anti-cancer potential of Nggorang leaves extract (*Salvia occidentalis* Sw.) as a protein P53 supressor in T47D cells. *Pharmacognosy Journal*, 13, 1036-1045.

Singh, P. and Lim, B. (2022). Targeting Apoptosis in Cancer. *Current Oncology Reports*, 24(3), 273–284.

Sittihan, S., Sopha, P. and Ruchirawat, S. (2022). Synthesis and Anticancer Activity of Pentafluorobenzenesulfonamide Derivatives as Caspase-Dependent Apoptosis-Inducing Agents. *ChemMedChem*, 17(3), e202100637.

Skandalakis, J. E., Skandalakis, P. N., Skandalakis, L. J., Seven, R., Erbil, Y., Değerli, Ü. (2010). Cerrahi anatomi ve teknik. İstanbul, Türkiye: İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri.

Skowron, M. A., Melnikova, M., Van Roermund, J. G. H., Romano, A., Albers, P., Thomale, J., ... and Hoffmann, M. J. (2018). Multifaceted Mechanisms of Cisplatin Resistance in Long-Term Treated Urothelial Carcinoma Cell Lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 590.

Somasundaram, S., Edmund, N. A., Moore, D. T., Small, G. W., Shi, Y. Y. and Orłowski, R. Z. (2002). Dietary curcumin inhibits chemotherapy-induced apoptosis in models of human breast cancer. *Cancer Research*, 62(13), 3868–3875.

Srinivas, U. S., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A. and Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*, 25, 101084.

Steele, S. R., Hull, T. L., Hyman, N., Maykel, J. A., Read, T. E. and Whitlow, C. B. (2021). The ASCRS textbook of colon and rectal surgery. Cham, Switzerland: Springer Nature.

Stintzing, S. (2014). Management of colorectal cancer. *F1000prime Reports*, 6.

Surh, Y.-J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Reviews Cancer*, 3(10), 768–780.

Taheri, S., Khalifeh, S., Shajiee, H. and Ashabi, G. (2021). Dietary uptake of *Salvia macilenta* extract improves Nrf2 antioxidant signaling pathway and diminishes inflammation and apoptosis in amyloid beta-induced rats. *Molecular Biology Reports*, 48, 7667–7676.

Talib, W. H., Abu Zarga, M. H. and Mahasneh, A. M. (2012, March). Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from *Inula viscosa*. *Molecules*, 17(3), 3291–3303.

Tang, C., Livingston, M. J., Safirstein, R. and Dong, Z. (2022). Cisplatin nephrotoxicity: new insights and therapeutic implications. *Nature Reviews Nephrology* 2022 19:1, 19(1), 53–72.

Tayarani-Najaran, Z., Asili, J., Aioubi, E. and Emami, S. A. (2013). Growth inhibition and apoptosis induction of *Salvia chloroleuca* on MCF-7 breast cancer cell line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 12(4), 789.

Telang, N. (2018). Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of rosemary and constituent terpenoids in a model for the HER-2-enriched molecular subtype of clinical breast cancer. *Oncology Letters*, 16(4), 5489–5497.

Teleanu, R. I., Chircov, C., Grumezescu, A. M. and Teleanu, D. M. (2019). Tumor angiogenesis and anti-angiogenic strategies for cancer treatment. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 84.

Thanikachalam, K. and Khan, G. (2019). Colorectal cancer and nutrition. *Nutrients*, 11(1), 164.

Tomao, F., Papa, A., Rossi, L., Zaccarelli, E., Caruso, D., Zoratto, F., ... and Tomao, S. (2014). Angiogenesis and antiangiogenic agents in cervical cancer. *OncoTargets and Therapy*, 2237–2248.

Topçu, G. (2006). Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *Journal of Natural Products*, 69(3), 482–487.

Topcu, G., Altiner, E. N., Gozcu, S., Halfon, B., Aydogmus, Z., Pezzuto, J. M., Zhou, B. N., Kingston, D. G. I. (2003). Studies on di- and triterpenoids from *Salvia staminea* with cytotoxic activity. *Planta Medica*, 69(5), 464–467.

Topçu, G., Türkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J. K. and Kingston, D. G. I. (2004). Highly hydroxylated triterpenes from *Salvia kronenburgii*. *Journal of Natural Products*, 67(1), 118–121.

Torgovnick, A. and Schumacher, B. (2015). DNA repair mechanisms in cancer development and therapy. *Frontiers in Genetics*, 6, 157.

Townsend, C. C., Davis, P. H. (1973). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. In *Kew Bulletin* (Vol. 28, Issue 2). Edinburg, University of Edinburg Press.

Tsuchida, R., Das, B., Yeager, H., Koren, G., Shibuya, M., Thorner, ... and Malkin, D. (2008). Cisplatin treatment increases survival and expansion of a highly tumorigenic side-population fraction by upregulating VEGF/Flt1 autocrine signaling. *Oncogene*, 27(28), 3923–3934.

Ueda, N., Kaushal, G. P. and Shah, S. V. (2000). Apoptotic mechanisms in acute renal failure. *The American Journal of Medicine*, 108(5), 403–415.

Ünay, S. (2022). Sisplatin ile indüklenmiş in vitro periferik nöropati modelinde kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisinin etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi.

Van Opdenbosch, N. and Lamkanfi, M. (2019). Caspases in cell death, inflammation, and disease. *Immunity*, 50(6), 1352–1364.

Van Wyk, B.-E. (2017). A review of African medicinal and aromatic plants. *Medicinal and Aromatic Plants of the World-Africa* 3, 19–60.

Vasan, N., Baselga, J. and Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782), 299–309.

Vazquez, A., Bond, E. E., Levine, A. J. and Bond, G. L. (2008). The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(12), 979–987.

Verma, M. (2004). Biomarkers for risk assessment in molecular epidemiology of cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 3(5), 505–514.

Vickers, A. (2000). Recent advances: complementary medicine. *BMJ: British Medical Journal*, 321(7262), 683.

Çağlar, İ. (2018). Rheum ribes L. Bitki Ekstrelerinin Kolorektal Kansere Hücre Hatlarında Antikarsinogenik Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi.

Vogel, J. D., Felder, S. I., Bhama, A. R., Hawkins, A. T., Langenfeld, S. J., Shaffer, V. O., ... and Lightner, A. L. (2022). The American Society of Colon and Rectal Surgeons clinical practice guidelines for the management of colon cancer. *Diseases of the Colon & Rectum*, 65(2), 148–177.

Vogelstein, B. and Kinzler, K. W. (2002). The genetic basis of human cancer. McGraw-Hill Professional.

Wahab, S., Alshahrani, M. Y., Ahmad, M. F. and Abbas, H. (2021). Current trends and future perspectives of nanomedicine for the management of colon cancer. *European Journal of Pharmacology*, 910, 174464.

Wallace-Brodeur, R. R. and Lowe, S. W. (1999). Clinical implications of p53 mutations. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 55, 64–75.

Waller, A., Findeis, S. and Lee, M. J. (2016). Familial adenomatous polyposis. *Journal of Pediatric Genetics*, 78–83.

Wang, J. (2008). Beclin 1 bridges autophagy, apoptosis and differentiation. *Autophagy*, 4(7), 947–948.

Wani, Z. A., Guru, S. K., Rao, A. V. S., Sharma, S., Mahajan, G., Behl, A., ... and Mondhe, D. M. (2016). A novel quinazolinone chalcone derivative induces mitochondrial dependent apoptosis and inhibits PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in human colon cancer HCT-116 cells. *Food and Chemical Toxicology* 87, 1–11.

Waschke, J. and Paulsen, F. (2022). *Sobotta, Atlas der Anatomie des Menschen Band 1: Allgemeine Anatomie und Bewegungsapparat*. München, Germany: Elsevier Health Sciences.

Weinberg, R. A. (2006). *The biology of cancer*, New York, USA: WW Norton & Company.

Weiser, M. R. (2018). AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 25(6), 1454–1455.

Werneke, U., Earl, J., Seydel, C., Horn, O., Crichton, P. and Fannon, D. (2004). Potential health risks of complementary alternative medicines in cancer patients. *British Journal of Cancer*, 90(2), 408–413.

Wheeler, H. E., Maitland, M. L., Dolan, M. E., Cox, N. J. and Ratain, M. J. (2013). Cancer pharmacogenomics: Strategies and challenges. *Nature Reviews Genetics*, 14(1), 23–34.

Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J. M., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., ... and Klein, T. E. (2012). Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 92(4), 414–417.

Win, A. K., Jenkins, M. A., Dowty, J. G., Antoniou, A. C., Lee, A., Giles, G. G., ... and Ahnen, D. J. (2017). Prevalence and Penetrance of Major Genes and Polygenes for Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 26(3), 404–412.

Woods, D. and Turchi, J. J. (2013). Chemotherapy induced DNA damage response: convergence of drugs and pathways. *Cancer Biology & Therapy*, 14(5), 379–389.

Xavier, C. P. R. and Pereira-Wilson, C. (2016). Medicinal plants of the genres *Salvia* and *Hypericum* are sources of anticolon cancer compounds: Effects on PI3K/Akt and MAP kinases pathways. *PharmaNutrition*, 4(2), 112–122.

Xi, Y. and Xu, P. (2021). Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Translational Oncology*, 14(10), 101174.

Xia, R., Sheng, X., Xu, X., Yu, C. and Lu, H. (2018). Hesperidin induces apoptosis and G0/G1 arrest in human non-small cell lung cancer A549 cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 41(1), 464–472.

Xu, Y., He, F., Jin, C., Su, J. and Ding, K. (2024). Stachyose with effect on anti-angiogenic activity from *Salvia yunnanensis*. *Journal of Functional Foods*, 112, 105971.

Yabroff, K. R., Mariotto, A., Tangka, F., Zhao, J., Islami, F., Sung, H., ... and Ward, E. M. (2021). Annual report to the nation on the status of cancer, part 2: patient economic burden associated with cancer care. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 113(12), 1670–1682.

Yaman, İ. (2021). Alzheimer ve periodontitis rat modelinde *Salvia officinalis*'in etkisi, Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi.

Yanagimichi, M., Nishino, K., Sakamoto, A., Kurodai, R., Kojima, K., Eto, N., ... and Nagao, M. (2021). Analyses of putative anti-cancer potential of three STAT3 signaling inhibitory compounds derived from *Salvia officinalis*. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 25, 100882.

Yang, C., Zhang, X., Han, B. and Tian, X. (2017). Sensitization to tamoxifen by tanshinone IIA in tamoxifen-resistant breast cancer cells in vitro. *Inter. J. Clin. Exper. Med*, 10, 2660–2671.

Ye, Y.-T., Zhong, W., Sun, P., Wang, D., Wang, C., Hu, L.-M. and Qian, J.-Q. (2017). Apoptosis induced by the methanol extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge in non-small cell lung cancer through PTEN-mediated inhibition of PI3K/Akt pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, 200, 107–116.

Yen, J.-H., Huang, S.-T., Huang, H.-S., Fong, Y.-C., Wu, Y.-Y., Chiang, J.-H. and Su, Y.-C. (2018). HGK-sestrin 2 signaling-mediated autophagy contributes to antitumor efficacy of Tanshinone IIA in human osteosarcoma cells. *Cell Death & Disease*, 9(10), 1003.

Yew, H. C., Nordin, F. J., Thiam, T. T., Azimahtol, H. L. P., Abdullah, N. R. and Ismail, Z. (2008). Antiproliferative property and apoptotic effect of xanthorrhizol on MDA-MB-231 breast cancer cells. *Anticancer Research*, 28(6 A), 3677–3689.

Yiğit, G. (2021). Chia (*Salvia Hispanica* L.) Özütünün MCF-7 Meme Kanseri Hücre Hattında TXNIP ve BTG1 Genlerinin İfadesi Üzerine Etkisi ve Özütün Yağ Asiti Kompozisyonunun Belirlenmesi, Antioksidan Kapasitesi ile Hücre Üzerindeki Lipit Peroksidasyon Analizlerinin İlişkilendirilmesi, Doktora Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi.

Yong, H.-Y., Koh, M.-S. and Moon, A. (2009). The p38 MAPK MAPK inhibitors for the treatment of inflammatory diseases and cancer. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 18(12), 1893–1905.

Yosef, R., Pilpel, N., Papismadov, N., Gal, H., Ovadya, Y., Vadai, E., ... and Krizhanovsky, V. (2017). p21 maintains senescent cell viability under persistent DNA damage response by restraining JNK and caspase signaling. *The EMBO Journal*, 36(15), 2280.

Yu, J., Liu, Y., Gao, Y., Qian, L., Qiu, J., Wang, P. and Zhang, G. (2024). Diterpenoid tanshinones inhibit gastric cancer angiogenesis through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, 324, 117791.

Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1619–1624.

Zahreddine, H. and Borden, K. L. B. (2013). Mechanisms and insights into drug resistance in cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 28.

Zanrè, V., Campagnari, R., Cerulli, A., Masullo, M., Cardile, A., Piacente, S. and Menegazzi, M. (2022). Salviolone from *Salvia miltiorrhiza* roots impairs cell cycle progression, colony formation, and metalloproteinase-2 activity in A375 melanoma cells: involvement of P21 (Cip1/Waf1) expression and STAT3 phosphorylation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1121.

Zare, H. (2019). Effects of *Salvia officinalis* extract on the breast cancer cell line. *SciMedicine Journal*, 1(1), 25–29.

Zhao, B. and Hu, M. (2013). Gallic acid reduces cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human cervical cancer cells. *Oncology Letters*, 6(6), 1749–1755.

Zheng, X., Liu, H., Ma, M., Ji, J., Zhu, F. and Sun, L. (2021). Anti-thrombotic activity of phenolic acids obtained from *Salvia miltiorrhiza* f. *alba* in TNF- α -stimulated endothelial cells via the NF- κ B/JNK/p38 MAPK MAPK signaling pathway. *Archives of Pharmacal Research*, 44, 427–438.

Zoberi, I., Bradbury, C. M., Curry, H. A., Bisht, K. S., Goswami, P. C., Roti Roti, J. L. and Gius, D. (2002). Radiosensitizing and anti-proliferative effects of resveratrol in two human cervical tumor cell lines. *Cancer Letters*, 175(2), 165–173.

Zomer, H. D., Varela, G. K. dos S., Delben, P. B., Heck, D., Jeremias, T. da S. and Trentin, A. G. (2019). In vitro comparative study of human mesenchymal stromal cells from dermis and adipose tissue for application in skin wound healing. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 13(5), 729–741.

Zor Sönmez, D. (2023). Kolorektal Kanser Etiyopatogenezinde Tnf Süper Ailesi 4 ile İlişkili MikroRNAların Araştırması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi.

Zugazagoitia, J., Guedes, C., Ponce, S., Ferrer, I., Molina-Pinelo, S. and Paz-Ares, L. (2016). Current Challenges in Cancer Treatment, *Clinical Therapeutics*, 38(7), 1551-1566.