

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI



***ERYNGIUM CAMPESTRE* EKSTRESİNİN DERİ KANSERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Görkem Bekir ALTUN

Danışman

Prof. Dr. Harun ALP

HATAY – 2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

***ERYNGIUM CAMPESTRE* EKSTRESİNİN DERİ KANSERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Görkem Bekir ALTUN

Danışman

Prof. Dr. Harun ALP

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
19.YL.002 no' lu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

***ERYNGIUM CAMPESTRE* EKSTRESİNİN DERİ KANSERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Görkem Bekir ALTUN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından/....../ 2020 günü sözlü olarak yapılan
tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı..... ()
Üye:..... ()
Üye:..... ()

Bu tez, EnstitümüzAnabilim Dalında hazırlanmıştır.

Akademik Unvanı, Adı Soyadı
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasında hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Harun ALP' e, çalışmanın gerçekleştirilmesindeki yardımları için Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK ve Doç Dr. Mahir Kaplan' a, manevi katkıları için eşim Dr. Nefise Umar Altun'a ve her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Eryngium Türlerinin Yapısı ve İçeriği	4
2.2. <i>Eryngium campestre</i> ‘nin Farmakolojik Özellikleri ve Halk Tıbbında Kullanımları.7	
2.4. Apoptoz Mekanizmaları.....	10
2.5. Hücre Döngüsü ve Apoptozis	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1. Çalışmada Kullanılan Eryngium Cinsi ve Toplanması.....	18
3.2. Hücre Kültürü	18
3.3. Doku homojenizasyonu	18
3.4. Protein miktar tayini	19
3.5. ELISA deneyleri	19
3.5.1. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi.....	19
3.5.1.1. Bax Miktar Tayini	19
3.5.1.2. Bcl-2 Miktar Tayini.....	20
3.5.1.3. Kaspaz-3 Aktivite Tayini	20
3.5.1.4. Wee1 Miktar Tayini.....	21
3.5.1.5. GADD153 (CHOP) Miktar Tayini.....	21
3.5.1.6. AIF miktar tayini.....	21
3.5.1.7. Grp78 Miktar Tayini	22
3.6. Sonuçların Değerlendirilmesi	22
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇ	28

7.KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ	36



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. ER stresi kaynaklı apoptoz mekanizmaları.....	14
Şekil 4.1. Kontrol ve ekstrakt gruplarına ait sonuçlar.....	25



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiyede yetişen Eryngium türleri.....	3
Çizelge 2.2. Eryngium türlerinden elde edilen uçucu yağların bileşenleri.....	5
Çizelge 2.3. <i>Eryngium campestre</i> L. bitkisinin halk tıbbında kullanımları.....	9
Çizelge 4.1. Çalışmanın sonuçlarını gösteren veriler.....	25



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- BHK : Bazal hücreli karsinom
- SHK : Skuamöz hücreli karsinom
- MM : Malign melanom
- CAD : Kaspaz ile aktifleşen deoksiribonükleaz
- ICAD : Kaspaz ile aktifleşen deoksiribonükleaz inhibitörü
- ER : Endoplazmik retikulum
- TRAF2: TNF reseptörü ilişkili faktör-2
- AIF : Apoptoz indükleyici faktör
- MAPK: Mitojen ile aktifleşen protein kinaz
- ERK : Hücre dışı sinyaller ile düzenlenen kinazlar
- JNK : c-Jun N-terminal kinazları
- UPR : Katlanmamış protein cevabı
- ATF6 : Aktive edici transkripsiyon faktörü-6
- SBK : Siklin bağımlı kinazlar
- MİF : Mitozu ilerletici faktör

ÖZET

***Eryngium campestre* Ekstresinin Deri Kanseri Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Apoptozisin kanserin gelişimi ve tedavisindeki önemi büyüktür. Çalışmamızın materyali olarak seçilen *Eryngium campestre* bitkisinden elde edilen bileşikler ile yapılmış az sayıda çalışma mevcut olmakla beraber, bu çalışmalar bitkinin bazı kanser türleri üzerinde aktif olabileceğini göstermiştir. Bu bilgilerden hareketle *Eryngium campestre* ekstresiyle muamele edilen cilt kanseri hücrelerinde kaspaz-3, Bax, Bcl-2, weel, grp78, GADD153, ve AIF protein düzeyleri ve aktivitelerini incelemeyi amaçladık. Hücre kültürünün kullanıldığı çalışmada ELISA yöntemi ile kaspaz-3, Bax, Bcl-2, weel, GADD153, AIF ve grp78 protein düzeyleri ve aktiviteleri incelendi. Çalışmamızda veriler %95 güvenle SPSS 21 versiyon kullanılarak analiz edildi. Grup kıyaslamaları için Mann Whitney U testi kullanıldı. Çalışma sonunda weel, Bax, kaspaz-3, GADD153 ve AIF, grp78 protein düzeyleri ve aktiviteleri değerlendirildiğinde kontrole kıyasla anlamlı şekilde arttığı ve Bcl-2 değerlerinin azaldığı tespit edildi ($p<0,01$). Sonuç olarak; *Eryngium campestre* bitkisinden elde edilen bileşikler ile kanser tedavisinde kullanılma potansiyeli olabilecek yeni ilaçların geliştirilebileceği, bu amaçla in-vivo ve faz çalışmalarının yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Eryngium campestre*, melanom, Kaspaz-3, Bax, Bcl-2, Weel, grp78, GADD153 (CHOP), AIF.

ABSTRACT

Investigation of *Eryngium campestre* Extract's Effects on Skin Cancer

Apoptosis is of great importance in the development and treatment of cancer. Few studies have been made with compounds from the *Eryngium campestre* plant which selected as the material of our study, these studies have shown that the plant may be active on some types of cancer. Based on this information, we aimed to examine caspase-3, Bax, Bcl-2, weel1, grp78, GADD153, and AIF protein levels and activities in skin cancer cells treated with *Eryngium campestre* extract. In the study, cell culture was used and caspase-3, Bax, Bcl-2, wee 1, GADD153, AIF and grp78 protein levels and activities were examined by ELISA method. In our study, data were analyzed using SPSS 21 version with 95% confidence. Mann Whitney U test was used for group comparisons. At the end of the study, wee 1, Bax, caspase-3, GADD153, AIF and grp78 protein levels and activities were evaluated and found to be significantly increased compared to control. Bcl-2 values were found to decrease ($p < 0,01$). As a result; It was concluded that the compounds obtained from *Eryngium campestre* plant and new drugs that could potentially be used in cancer treatment could be developed and in-vivo and phase studies should be conducted for this purpose.

Keywords: *Eryngium campestre*, melanoma, caspase-3, Bax, Bcl-2, weel1, grp78, GADD153 (CHOP), and AIF.

1.GİRİŞ

Deri, vücutta malign neoplazmların en sık görüldüğü yerdir (D’Orazio ve ark., 2013; Rogers ve ark. 2010). Aynı zamanda, dünyada cilt kanseri görülme sıklığı gün geçtikçe artmaktadır (Erdmann ve ark., 2013; Rogers ve ark., 2015). Cilt kanseri türleri ve görülme sıklıkları ele alındığında; sırasıyla en yaygın görülen türleri bazal hücreli karsinom (BHK) ve skuamöz hücreli karsinomdur (SHK). Sık görülmeleri nedeniyle vücutta en fazla şekil bozukluğu, işlev kaybı ve maliyet oluşturan türler bunlardır. Malign melanom (MM) ise diğer cilt kanseri türlerine göre daha az sıklıkta görülmesine rağmen en ölümcül cilt kanseri tipidir (Stang ve ark., 2007; Rubio-Casadevall ve ark., 2016). Amerikan Kanser Birliği (American Cancer Society)’nin beklenti raporuna göre 2019 yılında Amerika Birleşik Devletleri sınırları içerisinde yaklaşık 96480 yeni invaziv melanom tanısı konulması ve 7230 kişinin hayatını kaybetmesi beklenmektedir. Avrupa ve ABD'den gelen son epidemiyolojik veriler, son birkaç on yılda melanom insidansında endişe verici bir artışa işaret etmektedir. 2011'den önce, ilerlemiş melanom tedavisi, küçük bir hasta alt grubunda sınırlı fayda sağlamaktaydı ve dakarbazin ve interlökin-2 ile sınırlıydı. Daha sonraları apoptozis mekanizmalarının ve yolaklarının keşfedilmesiyle beraber bazı kanserler dahil birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilecek yeni stratejiler ortaya atılmaya başlandı. Bu bağlamda *Eryngium campestre* bitkisi ile yapılan bazı çalışmalarda bitki ekstraktlarının kolon kanseri hücreleri üzerinde zayıf da olsa sitotoksik etkisi olduğu ortaya konmuştur (Kartal, M., 2006). Başka bir çalışmada *Eryngium planum* bitkisinin etanollü ekstraktlarının çeşitli lösemi hücre hatları üzerine apoptotik etkisi incelenmiş ve C-8166 ve J-45 lösemi hücre hatlarında apoptotik etkiyi önemli ölçüde teşvik ettiği görülmüştür (Bogucka-Kocka ve ark., 2008). Tüm bu bilgilerden hareketle ülkemizin çeşitli bölgelerinde kendiliğinden yetişen ve sıkça görülen *Eryngium campestre* türünün yaprak ekstresinin cilt kanseri hücrelerinde apoptotik yolaklar üzerine etkisi merak uyandırmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda *Eryngium campestre* bitki ekstresinin deri kanseri üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Eryngium türleri Apiaceae familyasında yer alan bitkilerdir. Tek yıllık veya çok yıllık bitkilerden oluşan Apiaceae familyası bitkileri nadiren çalimsı yapıda da karşımıza çıkmaktadır. Yaprakları art arda dizilmiş, zaman zaman karşılıklı veya sarmal şeklinde görülür; genellikle stipulası olmayan, basitten çok parçalıya doğru değişik birçok şekilde olabilir. Çiçek durumu çoğunlukla bileşik şemsiye tipindedir; nadiren de olsa basit şemsiye, başçık veya kimoş şeklinde karşımıza çıkar. Her zaman olmamakla beraber brahte ve brahteoller görülebilir. Çiçekler alt durumludur; çift cinsiyetli (hermafrodit) veya monoik olmakla beraber nadiren dioik şekilde de görülür. Çanak yaprakları genellikle düzensizdir, yoktur veya küçüktür. Taç yapraklar 5 tanedir, genellikle uçları içeriye doğru kıvrılmış şekilde ikiye çatallanmıştır; hepsi eşit ölçüdedir veya dış petaller içtekilere nazaran büyüktür. Taç yapraklar beyaz, sarı, pembe, sarıya çalan yeşil, mora çalan mavi renklerde olabilir. Beş tane stamenleri bulunur. Karpel (1-)2; tohum taslağı her lokulusta 1 adet olmak üzere sarkık şekilde, 2 adet boyuncuk bulunur ve genellikle tabanları genişlemiş şekildedirler. Meyveleri kurudur ve olgunlaşınca açılmayan şekilde silindirik veya birbirinden ayrık durumda şizokarp formda tüylü veya tüysüz, dikenli ve pullu görülür. Merikarplar genellikle karpofor ile birbirine bağlanmış şekildedir ve her bir merikarpın sırt bölgesinde beş adet kosta (çıkıntı) bulunur; bu çıkıntılar zaman zaman kanatlı veya ibiğimsi şekildedir ve valekulumlar (girinti) ile birbirinden ayrılmıştır. Merikarplarda çoğunlukla vittae (reçine kanalları) isimli bir yapı görülür (Herrnstadt ve Heyn, 1972).

Apiaceae familyasına ait bitkilerin yiyecek, baharat olarak ve eczacılık, kozmetik ve tarım alanlarında kullanıldığı görülmektedir. *Eryngium* ismi eski Yunancadan Latinceye geçen ve kusturmak anlamını taşıyan “eruggarein” sözcüğünden gelmekle beraber *Eryngium* cinsi dünyada geniş yayılım göstermektedir ve 250 kadar türü bulunmaktadır (Wörz, 2004, Erdem Aslan, S., 2009). *Eryngium* cinsinin Türkiyede 10 tanesi endemik olmak üzere 23 adet türü bulunur (Çizelge 2.1). *Eryngium* cinsine ait türler Türk halk tıbbında genel olarak “Boğa diken” adıyla bilinir fakat Anadolu’nun farklı yerlerinde eşek diken, hölemez, şeker diken (Balıkesir), deve elması, tüşü (Van), yılan diken (Mersin bölgesi) gibi birçok çeşitli isimleri olduğu görülür. *Eryngium campestre*, beyazımsı yeşil, çok dikenli ve kalın saplı, 30 ila 60 cm uzunluğunda çok yıllık bir bitkidir. 5 ila 20 cm uzunluğunda değişen büyüklükte

deriye benzer yaprakları vardır ve genellikle yaz kış yeşil renktedir. Haziran ile eylül ayları arasında çiçek açan bitkinin çiçekleri küre şeklinde veya ovalimsi olarak karşımıza çıkar ve genellikle beyazdır (Medbouhi ve ark., 2019).

Çizelge 2.1. Türkiyede yetişen *Eryngium* türleri (Erdem Aslan, S., 2009)

Türkiyede yetişen <i>eryngium</i> türleri	<u>Endemik olmayanlar</u>	<u>Endemik olanlar</u>
	<i>Eryngium maritimum</i> L.	<i>Eryngium ilex</i> Davis.
	<i>Eryngium giganteum</i> Bieb.	<i>Eryngium thorifolium</i> Boiss.
	<i>Eryngium falcatum</i> Delar.	<i>Eryngium bornmuelleri</i> Nab.
	<i>Eryngium planum</i> L.	<i>Eryngium bithynicum</i> Boiss.
	<i>Eryngium caeruleum</i> Bieb.	<i>Eryngium kotschy</i> Boiss.
	<i>Eryngium creticum</i> Lam.	<i>Eryngium pseudothoriifolium</i> Contandr.
	<i>Eryngium pyramidale</i> Boiss & Hausskn.	<i>Eryngium isauricum</i> Contandr.
	<i>Eryngium palmito</i> Boiss & Heldr.	<i>Eryngium davisii</i> Kit Tan & Yıldız.
	<i>Eryngium wanaturi</i> Woron.	<i>Eryngium polycephalum</i> Hausskn.
	<i>Eryngium bourgatii</i> Gouan.	<i>Eryngium trisectum</i> A.Wörz & H. Duman.
	<i>Eryngium thyrsoideum</i> Boiss.	
	<i>E. glomeratum</i> Lam.	
	<i>Eryngium billardieri</i> Delar.	
	<i>Eryngium campestre</i> L.	

2.1.Eryngium Türlerinin Yapısı ve İçeriği

Eryngium türleri yüksek oranda saponin, kamferol, kumarin ve kuersetin glikozit içermektedir ve uçucu yağları seskiterpen bakımından zengindir. Biyolojik etkinlikleri içeriğindeki bu bileşenlerden ileri gelir (Usluer ve ark., 2005; Küpeli ve ark., 2006). *Eryngium campestre* bitkisinin içeriğini aydınlatmak amacıyla yapılan çalışmalarda; bitkinin çeşitli kısımlarının yağ, organik asitler, flavonoidler, monotermen glikozidler, kumarin türevi bileşikler, küçük miktarda saponin, acı maddeler, eser miktarda alkaloid, sodyum ve potasyum içerdiği ortaya konmuştur (Kartal ve ark., 2005). *Eryngium campestre* bitkisinin kökü kullanılarak iki boyutlu NMR tekniği ve kütle spektrofotometresi kullanılarak bir çalışma gerçekleştirilmiş ve sonucunda bitkinin 5 tane saponin triterpen içerdiği görülmüştür (Kartal ve ark., 2006). Yine başka bir çalışmada *Eryngium campestre* türünün toprak üstünde kalan kısımlarında kemferol, rutin, tilirozit, kersetin, kafeik asit, klorojenik asit, izoramnetin ve mannitol yanısıra; kemferol 3-O- β -D-(2'-Z-p-kumaroil-glikozit) ve trans-cis izomerleri (Hohmann ve ark., 1997), grandivittin, aegelinol, agasyllin, ve aegelinol benzoat gibi kumarin türevi maddeleri (Erdelmeier ve Sticher, 1985), sikloheksanon tipinde monotermenik glikozitler olan 3-(β -D-glukopiranoziloksimetil)-2,4,4-trimetil-2,5-sikloheksadien-1-on ve 3-(β -D-glukopiranoziloksimetil)-2,4,4-trimetil-2-sikloheksen-1-on (Erdelmeier ve Sticher, 1986), *Eryngium bourgatti* bitkisinin çeşitli kısımları kullanılarak yapılan çalışmada; 6-pentenil-2-[2-oksobütün-(3)-yliden]-tetrahidropiran adlı bileşik ile Apiaceae (Umbellifereae) familyasında yaygın olarak karşımıza çıkan falkarinon adlı madde gösterilmiştir (Drake ve Lam, 1972). Tüm bunların yanısıra, Eryngium türlerinin bazı uçucu yağları da içerdiği gösterilmiştir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. *Eryngium* türlerinden elde edilen uçucu yağların bileşenleri (Erdem Aslan, S., 2009)

Bitki adı	Uçucu yağın elde edildiği kısım	Ana bileşikler
<i>Eryngium amethystinum</i> L.	Yapraklı dallar	α -pinen (%11,8), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%24,7), germakren D (%31,3)
	Çiçek durumu	α -pinen (%25,6), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%22,0), germakren D (%14,5)
	Meyve	α -pinen (%17,0), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%16,9), germakren D (%7,6)
<i>Eryngium billardieri</i> F. Delaroche	Toprak üstü Kısımlar	α -muurolen (%42,0), β -gurjunen (%17,0), δ -kadinen (%6,2), valensen (%5,7)
<i>Eryngium bourgatii</i> Gouan	Çiçek durumu	Fillokladen (% 37,6), bisiklogermakren (% 15,1)
	Yaprak + dallar	Fillokladen (%20,4), γ -muurolen (%11,8), (<i>E</i>)-karyofillen (%10,1)
	Kök	γ -muurolen (%15,4), fillokladen (%15,0)
<i>Eryngium bungei</i> Boiss	Toprak üstü Kısımlar	Kumin alkol (%55,3), terpinolen (%14,6), karvakrol (%8,9), limonen (%7,5)
<i>Eryngium corniculatum</i> Lam.	Çiçek durumu	2,4,6-trimetilbenzaldehit (%50,8), α - pinen (%4,0), kristanetilasetat (% 4,0), 2,4,5-trimetilbenzaldehit(%3,3)
	Yaprak + dallar	2,4,6-trimetilbenzaldehit (%50), 2,4,5-trimetilbenzaldehit (%3,8) ve α -pinen (%3,4)
	Kökler	2,4,6-trimetilbenzaldehit (%29,8), fillokladen izomer (%13,0), (<i>E</i>)-nerolidol (9,4) ve β -ödesmol (%4,1)
<i>Eryngium expansum</i> F. Muell.	Toprak üstü Kısımlar	7-epi-selinen (%38,3), <i>cis</i> - β -gayen (%10,8), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%8,0), (<i>E,E</i>)- α -farnesen (%7,3)

Çizelge 2.2. (devam)

<i>Eryngium foetidum</i> L.	Toprak üstü kısımlar	2,3,6-trimetilbenzaldehit (%5,5 ve 23,7), (E)-2-dodekenal (%15,9 ve 37,5), (E)-2-tetradekenal (%18,7 ve 25,3)
	Toprak üstü kısımlar	2,4,5-trimetilbenzaldehit (%27,7), (E)-2-dodekenal (%27,5), karotol (%8,8), 3-dodekenal (%5,2)
	Yaprak + dallar	Fillokladen izomer (%41,3)
<i>Eryngium glaciale</i> Boiss.	Çiçek durumu	Fillokladen izomer (%43,5), (E)- karyofillen (%15,2), valensen (%11,5)
	Yaprak + dallar	Fillokladen izomer (%41,3)
	Kökler	Fillokladen izomer (%49,4), linalol (%19,1)
<i>Eryngium maritimum</i> L	Toprak üstü kısımlar	Germakren D (%43,1-42,4), 9- muurolen-15-aldehit (%22,4-16,4)
	Kökler	γ -gayen (%40,2), 2,3,4- trimetilbenzaldehit (%24,5), germakren D (%10,6)
	Toprak üstü kısımlar	spatulenol (%18,99), karyofillen oksit (%8,18), α -amorfen (%5,89), 1,5-epoksisalvial-4-(14)-en (%5,15) ve salvial-4-(14)-en1-on (%5,00)
<i>Eryngium pandanifolium</i> Cham. et Schlecht	Yaprak	Bornil asetat (%20,8), β -selinen (%13,8), α -selinen (%11,3), γ - muurolen (%8,0)
	Meyve	Oktanal (%11,5), β -selinen (%9,2), β -elemen (%4,4)
<i>Eryngium rostratum</i> Cav.	Gövde	Spatulenol (%20,0), β -bizabolol (%8,6), karyofilen oksit (%8,0)
	Meyve	γ -terpinen (%4,5), α -muurolen (%3,9)
<i>Eryngium campestre</i>	Saplar	Germakren D (%38,4), δ -amorfen (%12,2), bisiklogermakren (%10,1)
	Kökler	Terpinolen (%25,8), <i>trans</i> -(E) bergamoten (%18,6), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%13,9)
	Toprak üstü kısımlar	α -Pinen, β -Mycren, β -Thujen β - Terpinen (%36,2); α -Kubinen, Eliksen, β - Elemen, Germakren B, karyofillen (%43,55); linalol, α -terpineol ve 4-terpineol (%6,3)

2.2. *Eryngium campestre* 'nin Farmakolojik Özellikleri ve Halk Tıbbında Kullanımları

Yayımlanmış bir dizi çalışmanın sonuçları, *E. campestre* bitkisinin bazı kısımları, ekstraktları ve içeriğinde bulunan uçucu ve uçucu olmayan bileşenlerinin geniş bir farmakolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bunlar, antibakteriyel ve antifungal aktiviteler dahil olmak üzere, antimalaryal, antienflamatuar, antitümör, antioksidan ve anti-alzheimer aktiviteleri de kapsamaktadır. Aynı zamanda bitkinin sitotoksik etkisi olduğu da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu farmakolojik ve biyolojik özelliklerin muhtemelen *E. campestre*'nin farklı kısımlarında (özellikle kökler ve toprak üstü kısımlarında) yer alan triterpenik saponinler, steroller ve kumarinler ve özellikle polifenollerden (flavonoidler ve fenolik asitler) ileri geldiği düşünülmektedir. Çoğu bitkiyle yapılan çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmaların önündeki en büyük sınırlayıcı da testlerin in-vitro ve hayvan düzeyinde yapılması bu nedenle de insan kullanımı için uygunluk ve etkinliklerini belirleyecek klinik verilere sahip olunamamasıdır.

Eryngium (Apiaceae) cinsi geleneksel tedavide dünyanın farklı bölgelerinde farklı terapötik amaçlarla kullanım alanı bulmuştur. *Eryngium foetidum* L., *Eryngium maritimum* L., *Eryngium campestre* L. ve *Eryngium creticum* L. gibi bazı türler, çeşitli inflammatuar bozuklukların tedavisi için bir halk ilacı olarak geleneksel tıpta kullanılmıştır. *Eryngium campestre* ve *Eryngium maritimum* geçmişte şifalı ot olarak halk tıbbında antiskorbüt, terletici, idrar söktürücü, balgam söktürücü ve afrodizyak amaçla kullanılmıştır. Günümüzde de Avrupa'da bitkisel tedavide sistit, üretrit, kronik prostatit, böbrek taşı oluşumunu önlemek gibi böbrek ve idrar yollarındaki birtakım bozuklukların tedavisi amacıyla diüretik olarak önerilmektedir. *Eryngium* türleri Türk halk tıbbında da çok geniş kullanım alanına sahiptir. Özellikle kökleri antienflamatuar, antiödematöz olarak; sinüzit ve guatr hastalıklarının tedavisinde ve yılan, akrep sokmalarının tedavisinde ve hatta kısırlıkta kullanılmıştır. Yaprakları da yine kısırlık tedavisinde ve yara iyileştirme amacıyla kullanılmıştır. Kuzey Amerika'da ise bu cins antitoksin ve antienflamatuar ajan olarak kullanılmıştır ve aynı zamanda akrep sokması için topikal bir panzehir olduğu kabul edilmiştir.

Çizelge 2.3. *Eryngium campestre* L. bitkisinin halk tıbbında kullanımları (Watson ve ark., 2018)

Ülke	Kullanılan kısım	Kullanımı
Avrupa halk tıbbı	Toprak üstü kısımları ve kökleri	<i>Eryngium</i> türlerinin hava ve kök kısımlarının infüzyonları antitussif, diüretik, meze, uyarıcı ve afrodisyak olarak kullanılmıştır. <i>E. campestre</i> 'nin infüzyonları, Avrupa bitkisel tıbbında boğmaca, böbrek ve idrar yolu inflamasyonunu tedavi etmek için kullanılmıştır.
Türkiye	Toprak üstü kısımları ve kökleri	Halk tıbbında öksürük, boğmaca, üriner enfeksiyonlar, böbrek fonksiyonlarının bozulması, idrar sekresyonunun artması, böbrek ve mesaneden taş ve kumun giderilmesi, su tutulması, prostat düzenleyici ve idrar yolundaki diğer durumlara karşı bir infüzyon olarak kullanılmıştır. Kökleri, diüretik ve meze olarak antispazmodik, aromatik, terletici, idrar söktürücü, balgam söktürücü, galaktogog ve uyarıcı olarak; ileri evre tüberkülozun tedavisinde balgam söktürücü olarak kullanılmıştır. <i>Eryngium campestre</i> köklerinin sulu ekstraktı oral olarak Balıkesir-Türkiye'de akrep sokmalarının tedavisi için bir lapa olarak uygulanır. Orta çağdan kalan belgelerde ise yaralarda ve yanıklarda, ağrılarda, hemoroidlerde ve cinsel bozukluklarda kullanımlarına rastlanmıştır.
Romanya	-	<i>Eryngium campestre</i> geçmişte halk tıbbında antiskorbütik, terletici, diüretik, balgam söktürücü, antienflamatuvar ve afrodisyak özellikleri için kullanılan popüler bir şifalı bitkidir. Günümüzde ise Avrupa'da böbrek bozukluklarının (sistit, üretrit, kronik prostatit, ağrılı idrara çıkma) tedavisi ve böbrek taşı oluşumunun önlenmesi için diüretik olarak önerilmektedir. <i>E. campestre</i> ayrıca antiepileptik ve balgam söktürücü özellikleriyle de bilinir.
Bulgaristan	Kökleri	Köklerin infüzyonu prostatit tedavisinde, diüretik ve spazmolitik olarak kullanılır.
İtalya	Yaprakları, kökleri ve	Yapraklar, genç tomurcuklar iştah açıcı, aperatif, müshil ve salatalarda yiyecek olarak kullanılır.. Kök tentürleri ve

	genç sürgünleri	dekoksiyonları; antiödem, diüretik, kolagog, koleretik ve terletici, süt üretimini arttırıcı ve idrar enfeksiyonunu tedavi edici olarak kullanılır. Yaprakları ise kaynatılarak göz iltihaplarını tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır ve günümüzde yapraklar gıda olarak kullanılmaktadır.
İran	Toprak üstü kısımları ve kökleri	<i>Eryngium campestre</i> tanınmış bir terapötik bitkidir ve toprak üstü kısımları ve kökleri diüretik, antitüsif, cinsel performans arttırıcı ve meze olarak kullanılır. Taze kökleri ise böbrek taşı düşürücü ve gaz giderici olarak kullanılır.
Filistin	Kökleri	Kökleri halk tıbbında, mesane taşları için, düretik olarak; idrar yolu enfeksiyonları, sarılık, deliryum, boğmaca ve abdominal kolik tedavisinde kullanılır. Ayrıca kaynatılmış kökler adet düzenleyici ve afrodisyak olarak kullanılır.
Ortaçağ Osmanlısı	-	Hemoroid tedavisinde, cinsel bozukluklarda, ağrı, yara ve yanıklarda kullanılmıştır.
Cezayir	Kökleri	<i>Eryngium campestre</i> 'nin taze kökleri, Hilton-Simpson tarafından tıbbi olarak diş ağrısına karşı kullanıldığı bildirilen bitki türlerinden biriydi. Bu bitkinin kökleri (taze, kaynatma) idrar yolu enfeksiyonları, öksürük, bademcik iltihabı ve boğmacaya karşı kullanılır.
İspanya	Toprak üstü kısımları, dalları ve çiçek durumu	Dalları ve kökleri cilt rahatsızlıkları, solunum ve sindirim sistemi rahatsızlıkları, romatizma ve iltihaplarda, ülser ve yaralanmalarda; diş ağrısı, pankreas problemleri ve hemoroid tedavisinde kullanılır. Dalları lapa olarak böcek sokmalarında yatıştırıcı olarak kullanılır. Toprak üstü kısımları antiödematöz olarak, çiçek durumları ise dekoksiyonları şeklinde dolaşım ve sindirim bozukluklarında, hemoroid ve egzama tedavisinde kullanılır; taze çiçek durumları ise oral olarak hipertansiyon tedavisinde kullanılmıştır.

2.4. Apoptoz Mekanizmaları

Apoptozis veya apoptoz; kelime anlamı olarak Yunancada “yaprak dökümü” anlamını taşıyan; vücudun işlevini yitirmiş, yaşlanmış ve zararlı hücrelerden kurtulmak amacıyla yine vücudun kendisi tarafından gerçekleştirilen fizyolojik bir mekanizmayı (programlı hücre ölümü) tanımlamaktadır (Güleş ve Eren 2008). Bu mekanizma vücudun işleyişi sırasında otomatik olarak gerçekleşen fizyolojik hücrel bir süreçtir (Alles ve ark., 1991).

Çok hücreli canlılarda hücre bölünmesiyle beraber hücre sayısı arttığından bu sayının dengelenmesi için hücre ölümlerine ihtiyaç vardır. Eğer bir organizmada herhangi bir nedenden ötürü bir hücreye artık gereksinim duyulmuyorsa, hücre içi ölüm programları başlatılır ve o hücrenin ölümü programlı bir şekilde gerçekleştirilir (Pınarbaşı ve ark., 2010).

Apoptoz; moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılmış olmamakla birlikte hücrelerin genetik yapısında var olan intihar programının çeşitli sinyallerle veya patofizyolojik etkenlere maruz kalınması sonucu (hastalıklar, çeşitli kimyasal zararlı ajanlar) veyahut oksidatif stres gibi olaylarla aktive olmasıyla başlayan, savunma işlevi gören bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır (Elmore 2007, Thompson 1995). Apoptoz mekanizmasındaki sürece değinecek olursak, apoptoza uğrayacak hücrelerde kaspaz ile aktifleşen deoksiribonükleaz (CAD) enzimi tarafından DNA'nın ayrılması sonucu parçalanması şeklinde gerçekleşmektedir. CAD enzimi polinükleotit zincirindeki fosfodiester bağını kesen (endonükleaz) enzim grubundandır ve sağlıklı hücrelerde bu enzim kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz inhibitörü'ne (ICAD) bağlı olarak inaktif şekildedir. CAD'ın kaspaz-3 enzimi ile aktive edilerek ICAD'dan ayrılmasıyla beraber apoptoz gerçekleşir. Hücrede apoptoz DNA düzeyinde çok hızlı bir şekilde ilerlemekle beraber sonuç olarak DNA, 180 ila 200 baz çifti aralığında değişen düzeyde parçacıklara bölünür ve apoptoz tamamlanır (Pınarbaşı 2010, Cohen 1993, Sakahira ve ark. 1998). Kaspazlar, yapı olarak sistein yapısında olan enzimlerdir ve güçlü proteazlar arasında yer alırlar. Fonksiyonlarını aspartik asitten hemen sonra gelen peptid bağlarını parçalayarak gerçekleştirirler. Hücre içerisinde inaktif durumda bulunurlar ve apoptoz sinyali ile beraber etkileşim yoluyla aktif enzime dönüşürler ve bunun sonucu olarak parçalayıcı özelliklerine bürünürler (Mak 2003, Güleş ve Eren 2008). Apoptozis sürecinde birbirinden farklı 100

proteini kesmek sonucu en önemli rolü üstlenirler.

Kaspaz ailesini; başlatıcı kaspazlar, efektör kaspazlar ve inflamatuvar kaspazlar olmak üzere 3 grupta toplayabiliriz:

- 1- Başlatıcı kaspazlar (Kaspaz 2,8,9,10)
- 2- Efektör kaspazlar (Kaspaz 3,6,7)
- 3- İnflamatuvar kaspazlar (Kaspaz1,4,5,11,12,13,14)

Kaspazlar genel olarak etkilerini DNA'nın onarımı ve replikasyonunu sağlamakla görevli enzimlerin inhibisyonu yoluyla gösterirler. Ayrıca hücre iskeletini oluşturan proteinleri kesmek suretiyle hücre zarının tomurcuklanması ve çekirdeğin büzülüp parçalanmasına sebep olurlar (Adams ve Cory 2001, Adrain ve Martin 2001, Spierings ve ark. 2004). Apoptozisin aktiflenmesiyle beraber çok hızlı bir şekilde DNA'nın bir ipliği geri dönüşü olmayacak şekilde parçalanmaya maruz kalır (Coşkun ve Özgür 2011). Apoptozun başlaması için kaspazların aktive olması gerekmektedir. Kaspaz-12, Endoplazmik Retikulum (ER) stresi sonucu çeşitli yollar aracılığı ile aktifleşir ve apoptozisin önemli düzenleyicisi olarak rol oynar (Szegezdi ve ark. 2003). Bu yollardan ilki, kalsiyum tarafından aktiveleştirilen kalpain aracılığı ile gerçekleşir ve kalpain bir sitoplazmik parçalayıcıdır (Rasheva ve Domingos 2009). ER'de kaspaz-12 aktiveleştikten sonra prokaspas-9'u keser ve aktif kaspaz-9'u ortaya çıkarır, kaspaz-9 ise kaspaz-3'ün aktiveleşmesine sebep olarak birtakım zincir reaksiyonlar birbiri arkasına gerçekleşerek apoptozis gerçekleşir. İkinci yolda ise, Irel ve TRAF2 (TNF reseptörü ilişkili faktör-2) ile doğrudan başlatılan oto-aktivasyon durumu gerçekleşir. Üçüncü yol ise; kaspaz-7 tarafından başlatılan yoldur. Uyarılara cevap olarak ER üzerinde kaspaz-7, doğrudan kaspaz-12'yi aktiaktifleştirerek apoptozisin gerçekleşmesine sebep olabilir (Seydel ve Aksoy 2012). ER zarında yerleşik olarak bulunan BAP31 ve BAR adlı proteinler, apoptoz sürecinde prokaspaz-8 enzimiyle birleşmek suretiyle kompleks bir hal alır. ER stresinde prokaspaz-8'in aktiveleştirilmesinde Bcl-2 ve Bcl-xl düzenleyici olarak görev yapar. (Hussain ve Ramaiah 2007).

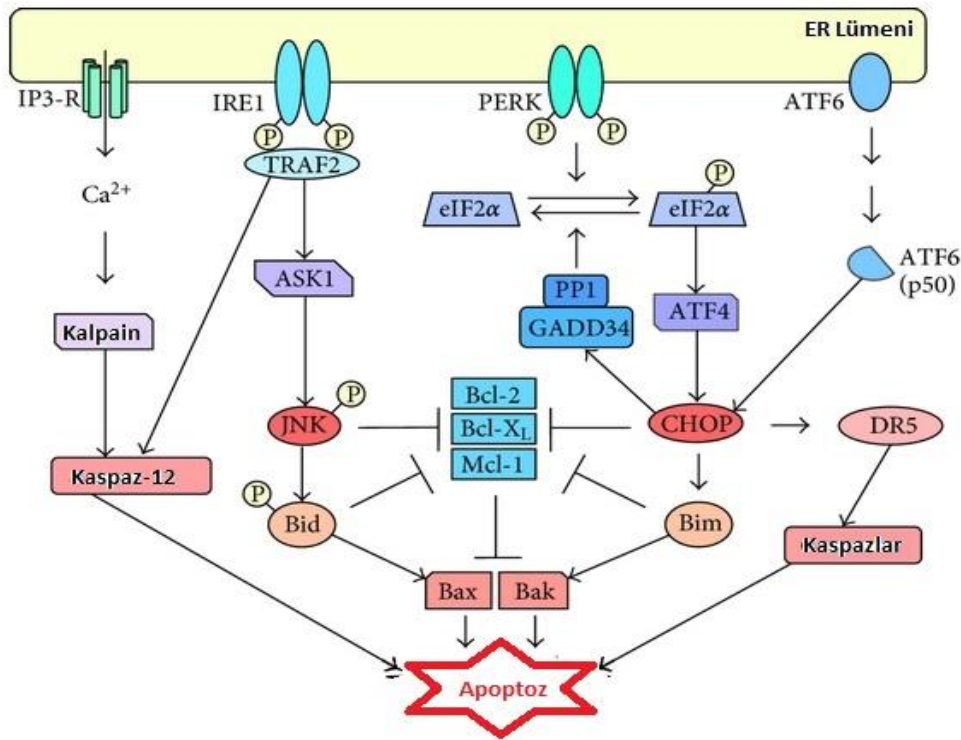
Kaspazlar hücrede ölümden sorumlu enzim ailesidir ve apoptozisi indüklerler; Bcl-2 ise tam tersi şekilde görev yaparak hücrenin apoptoza uğramasını engeller ve hücreyi ölümden koruyucu olarak çalışır (Hengartner ve ark. 1992, Andrew ve ark 2001). Bcl-2 ailesine yakından bakacak olursak; ailenin birbirine zıt özellikleri olan, pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyeler olarak adlandırılan iki gruptan oluştuğunu görürüz. Bu üyelerin hücredeki yoğunluğuna göre hücre apoptoza meyilli olup olmadığına dair yorum yapmak mümkündür (Adams ve Cory 2001). Pro-apoptotik üyeler; “Bax, Bad, Bid, Bcl-Xs, Bak, Bim, Hrk1, Bik, Puma ve Noxa” dan oluşmaktadır. Bunlar hücrede sitozol içerisinde yer alırlar ve etkilerini Sitokrom-C ve Apoptoz İndükleyici Faktör (AIF) salınımını arttırmak suretiyle gösterirler. Anti-apoptotik üyeler ise; “A1, Bcl-2, Bcl-xl, Bfl-1, BHRL-1, Brag-1, Mcl-1” den oluşmaktadır. Bu proteinler ER içerisinde, mitokondri zarı üzerinde ve çekirdek zarı üzerinde bulunmakta ve bu organellerin zarlarında por oluşturarak içeriye iyonların giriş çıkış miktarını değiştirmektedirler. Bu etkileri, hücre içerisindeki kalsiyum miktarını ayarlayarak geçirgenliğin değiştirilmesi ve kaspazların öncü formlarıyla etkileşme suretiyle, AIF ve sitokrom-C salınmasını engelleme mekanizmasına dayanır (Adams ve Cory 2001, Adrain ve Martin 2001, Spierings ve ark. 2004). ER stresi aracılıklı apoptoziste Bcl-2 proteinlerinin ne şekilde etki gösterdiği ortaya konulmuş durumdadır fakat ER stresi’in bu mekanizmaya nasıl aracılık ettiği tam olarak bilinmemektedir (Szegezdi ve ark. 2006). ER stresiyle aktifleşen ve mitokondri üzerinden pro-apoptotik faktörleri ve kalsiyum iyonlarının salınımını düzenleyen Bcl-2 ailesi üyeleri Bax ve Bak isimli proteinlerdir (Rasheva ve Domingos 2009, Zong ve ark. 2003). Stres sonucu ER membranında birtakım değişiklikler meydana gelmesiyle beraber sitoplazmaya kalsiyum iyonlarının salınması olmaktadır. Sitozolda kalsiyum miktarının artması ile beraber kalpain indüklenmekte, bunun sonucu olarak da prokaspaz-12 uyarılmaktadır. Buna müteakip, kaspaz-12 ve daha sonra kaspaz-9 indüklenmekte ve kaskad gerçekleşmektedir. Bir diğer mekanizmada ise Bax ve Bak proteinleri direkt olarak kaspaz-9’u aktifleştirerek apoptozisi başlatabilmektedir. Bu etki, mitokondrinin iç membranında oluşan depolarizasyon sonucu sitokrom-C salınımı gerçekleşmek suretiyle kaspaz-9’un aktifleşmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. bu depolarizasyondan sorumlu olan ve mekanizmanın gerçekleşmesini sağlayan durum mitokondri tarafından sitozoldeki kalsiyumun içeriye alınmasıdır (Lai ve ark. 2007).

Apoptozisin gerçekleşmesi için hücredeki Bax miktarının Bcl-2 ye kıyasla daha çok olması gerekir (Zong ve ark. 2006, Bellamy 1996, Foster 2008, King 1996). Mitojen ile aktifleşen protein kinaz (MAPK) sinyal yolları, hücre döngüsü ilerlemesi, proliferasyon, inflamasyon, apoptoz ve başkalaşma dahil birçok biyolojik olayda önemli roller üstlenmektedir. MAPK'ler; hücre dışı sinyaller ile düzenlenen kinazlar (ERK) ve c-Jun N-terminal kinazları (JNK) içeren enzim grubudur (Chang ve Karin 2001). Protein kinaz yapısında olan ve nükleus üzerinde gömülü şekilde bulunan serin ve treonin moleküllerine MAPK adı verilmektedir. Bu moleküller, çeşitli sinyaller aracılığı ile uyarılmaktadır (Kim ve Choi 2010). Bu uyarılmayla beraber MAPK'lar hücre zarından çekirdeğe geçerek replikatör unsurların DNA'ya bağlanmasını sağlayarak etki gösterirler.

MAPK ailesi;

- a) ERK'ler (ERK1, ERK2, ERK4)
- b) P38 (P38 α , P38 β , P38 γ , P38 δ)
- c) JNK'ler (JNK1 JNK2, JNK3, c-Jun N-terminal kinaz)' dan oluşmaktadır.

Şekil 2.1. ER stresi kaynaklı apoptoz mekanizmaları (Schönthal, A.H.; 2012)



Protein kinazlar aracılığıyla ERK indüksiyonu gerçekleşir ve bu aktivasyondan sorumlu protein kinazlar Raf ve MEK'dir. Mitojen aktivasyonunu takiben büyüme faktörü reseptörleri aktifleşir ve GTP bağlayan proteini aktifleştirir. Bunun sonucu olarak Ras aktifleşir ve MEK indüksiyonu meydana gelir. Ardından fosforilasyon gerçekleşir ve ERK aktifleşmiş olur. Sonuç olarak ERK hedef proteinleri uyarır ve etki meydana gelir. GTP bağlayan proteinlerden bağımsız olarak başka birtakım etkenler üzerinden de JNK ve p38 MAPK aktivasyon meydana gelebilir. Bu etkenler; sitokinler, mutajenler, hipoksi, oksidatif stres ve UV ışınlarıdır. Bu mekanizmaların sonucu olarak da hücre büyümesine alternatif olarak hücre ölümü tetiklenebilmektedir (Kierszenbaum 2007, Pertuit ve ark. 2009, Kim ve Choi 2010).

Apoptoz yollarını aktifleşmesine neden olan bir diğer faktör ise proteinlerin hatalı katlanması sonucu artan katlanmamış protein cevabı (UPR)'dir. Hatalı katlanmış proteinlerin artması sonucu ER stresi meydana gelir ve bu stres bir süre sonra başa çıkılamayacak bir düzeye ulaşır. Bu durumun sonucu olarak UPR yolağı aktifleşmekte ve apoptoz meydana gelmektedir (Seydel ve Aksoy 2012, Rasheva ve Domingos 2009). ER stresi aynı zamanda birtakım pro-apoptotik sinyalleri tetiklese de bunlar direkt olarak apoptozise neden olmazlar, bu sinyaller CHOP veya JNK yolağı sonucu oluşmuş birtakım faktörlerin aktivasyonunu başlatmak suretiyle etki gösterirler (Szegezdi ve ark. 2006). UPR'nin diğer bir mekanizması ise, aktive edici transkripsiyon faktörü-6 (ATF6) aracılıklı yolaktır. ATF6, şaperon proteinleri indükleme anlamında büyük bir öneme sahiptir ve CHOP'da transkripsiyonel indükleme meydana getirebilir. Şaperon proteinler, transkripsiyon sırasında proteinlerin zamanından önce veya sonra katlanmasını önlemede, yanlış katlanan proteinlerin düzeltilmesinde ve düzeltilemeyecek durumda olanları proteolize tabi tutma görevini üstlenen proteinlerdir (Lin ve ark. 2007, Yan ve ark. 2002, Yoshida ve ark. 2006, Seo ve ark. 2010, Durose ve ark. 2006).

ER stresi sonucu ortaya çıkan apoptozis; CHOP, kaspazlar, Bcl-2 ailesi ve JNK'lerin görev aldığı mekanizmalardan oluşur (Seydel ve Aksoy 2012). ER stresi sonucu; CHOP, JNK ve Bcl-2 ailesine mensup üyelerin pro-apoptotik uyarılar salıvermesi sonucu kaspazların harekete geçmesi ile apoptozis gerçekleşmiş olur (Szegezdi ve ark. 2006, Seydel ve Aksoy 2012). Kopyalama görevini ifa eden protein yapılı CHOP; C/ERB isimli protein

grubunun içerisinde yer alır (Düzgün 2010). Bu gene, ayrıca GADD153 ya da DDIT-3 olarak farklı isimler de verilmiştir (Hussain ve Ramaiah 2007, Oyadomari ve Mori 2004). Bu genin hücre içindeki miktarı DNA onarımı sırasında veya hücre içi stres meydana geldiğinde artış göstermektedir (Szegezdi ve ark. 2006). CHOP'un miktarındaki artışın fazla olması apoptozisin ortaya çıkması ile sonuçlanır ve ER stresi sırasında CHOP miktarında artış olduğu gösterilmiştir (Qu ve ark. 2009). ER stresi sırasında hücre membranında transloke durumda yer alan PERK, IRE1, ATF6 proteinleri aracılığıyla uyarılan GADD153 geninde transkripsiyon meydana gelir.

2.5. Hücre Döngüsü ve Apoptozis

Vücut hücrelerinin mitozla bölündüğü düşünülürse, çoğalma süreçlerinin bir döngü içerisinde arka arkaya olacak şekilde devam ettiği görülür. İşte bu bölünme dizisinde birbirini izleyen iki mitoz bölünmenin başlangıcı arasındaki kısma hücre döngüsü (hücre siklusu) adı verilir. Hücre döngüsünün iki aşaması bulunur. Bunlar; interfaz ve mitoz aşamalarıdır. İnterfaz hücrenin bölünmeye hazırlandığı, mitoz ise bölünmenin gerçekleştiği aşamadır. İnterfaz aşamasının kendi içinde dört evresi bulunmaktadır. Bunlar; G0, G1, S ve G2 evreleridir. G0 evresinde hücre dinlenme halindedir ve çoğalma meydana gelmez. G1 evresi; RNA ve proteinlerin sentezlendiği fakat DNA sentezinin henüz olmadığı evredir. Bu evre memelilerde yaklaşık 11 saat sürmekle beraber zaman bakımından en değişken süreye sahip olan evredir. G1 evresinden heme sonra gelen S evresinde ise DNA sentezinin yapıldığı evredir ve protein sentezi bu evrede en yüksek seviyesine çıkar. G2 evresi ise artık kromozom kondensasyonu ve mitoz için hazırlık aşamasıdır. G2 evresinden sonra hücre mitoz evresine geçer. Bu aşamada sırasıyla profaz, metafaz, anafaz, ve telofaz evreleri gerçekleşir ve sitokinez ile birbirinin kopyası olan iki ayrı hücre ortaya çıkar. Tüm bu evreler gerçekleşmeden önce hücrede mitozun gerçekleşip gerçekleşmeyeceğine çeşitli genetik sinyaller aracılığıyla bazı kontrol noktalarında karar verilir. Bunlardan biri de G1 fazında bulunan “restriksiyon noktası” adı verilen noktadır. Bu noktaya gelindiğinde döngü duraklamaktadır ve bu noktanın aşılması için büyüme faktörleri veya bazı iç ve dış uyarılar gerekmektedir. Hücre döngüsü bu noktadayken eğer ortamda yeterince büyüme faktörleri veya bölünmeyi uyarıcı iç veya dış faktörler yok ise hücre G0 evresine geri döner. Ortamda

bu uyaranlar yeterli seviyedeysse hücre döngüsü devam eder ve S fazına geçilir (Vermeulen ve ark. 2003, Cabadak 1987). Hücre döngüsünü kontrol eden bir diğer kontrol noktası da S fazında bulunur. Bu noktada replike olacak DNA'nın eksik veya hatalı olup olmadığı kontrol edilir ve hatalar var ise onarımı yapılır. Aynı zamanda replikasyon sırasında bazların eşleşmelerinde hata olup olmadığı ve eksiklik olmadığının kontrolü yapılır. Döngünün sağlıklı yürüyüp yürümediği bu aşamada siklin bağımlı kinazlar (SBK) tarafından kontrol edilir. Kinazların aktifleşmesi hücrede protein yapısında olan siklinlere bağlanmak suretiyle gerçekleşir Hücre döngüsünde inaktif olan kinazlar, protein yapıdaki siklin' lere bağlanarak indüklenirler (Sherr 2000, Senderowicz 2000, Golias ve ark. 2004, Joyce ve ark. 2001, Tyagi ve ark. 2002, Adal 2019).

Hücre döngüsü sırasında eğer genetik materyalde bir hata bulunuyorsa ve bu hata herhangi bir nedenden ötürü düzeltilemezse kontrol noktalarındaki mekanizmaların öncülüğünde hücre apoptoza gider. Eğer hücre apoptoza gitmez de hasarlı genetik materyale rağmen bölünmeye devam ederse bu durum karasız bir yapıyla sonuçlanır (Jin ve El-Deiry 2005, Yehielly ve Deiss 2000). Bu durum zaman zaman kontrol mekanizmalarını düzenleyen proteinlerin veya biyomoleküllerin vücutta olmaması veya yetersiz şekilde bulunmasından ötürü gerçekleşebilmektedir. Bunun sonucu olarak hasarlı haldeyken mitozu uğramış hücreler kontrolsüz bir şekilde çoğalacağından kanserleşme görülebilir. Bu yüzden hücre bölünmesinin kontrol mekanizmaları kanser gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır (Igney ve Krammer 2002, Jaattela 1999).

Hücre sağlıklı bir şekilde S evresini tamamladıktan sonra G2 evresine geçer. G2 evresinden mitozu geçiş ise Siklin-B ile SBK1'in birbirine bağlanmasıyla oluşan aktivite ile mümkün olur. Bu siklin-enzim kompleksi mitozu ilerletici faktör (MİF) olarak da bilinir (Foster 2008, Molinari 2000, Pines ve Hunter 1991). Hücre döngüsünün S evresinin sonlarına doğru Siklin-B sentezi hızlı bir şekilde artar ve mitoz bölünme süresince hücredeki miktarı yüksek seyreder. Mitoz evresinin tamamlanmasıyla beraber hücrede hızlıca Siklin-B seviyeleri düşer ve tekrar bölünmenin önüne geçilmiş olur. Bu noktada MİF kompleksinin inhibe edilmesinden sorumlu faktör; Wee1 protein kinaz'dır. Wee1 protein kinaz hücrede MİF kompleksini inhibe etmek suretiyle etki göstermektedir. Bu mekanizma sonucu G2/M geçişi düzenlenmiş olur (Kearns ve Liu 2001, Cheng ve ark. 1998, Heald ve ark. 1993).

Günümüzde kanserlerin ortaya çıkış nedeninin, hücrelerde apoptoz mekanizmalarının bozulması ve buna bağlı olarak doğal ölümün gerçekleşememesi sonucu genetiği bozuk hücrelerin hızlı bir biçimde çoğalması olduğu fikri hakim olmuştur. Ayrıca hücrede, pro-apoptotik faktörlerin miktarının ve sentezinin azalması veya anti-apoptotik faktörlerin fazla sentezi ve miktarının artması sonucu hücrelerin apoptoza direnç kazandığı düşünülmektedir (Igney ve Krammer 2002, Okada ve Mak 2004). Bu anlamda kanserin yenilikçi tedavisinde kemoterapi ve radyoterapinin yanı sıra yeni fikirler ortaya çıkmıştır. Tedavide kullanılacak ilaçların apoptozu artıran veya başlatan ilaçlar olması gerektiği görüşü bilim dünyasında önem kazanmış ve bu konu üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Çalışmamızda kaspaz-3, Bax, Bcl-2, wee1, GADD153, AIF ve grp78 miktarları çalışıldı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan *Eryngium* Cinsi ve Toplanması

Çalışmamızda Hatay'ın Belen ilçesi Kıcı Mahallesi'nden Eylül ayı döneminde toplanan *Eryngium campestre* bitkisinin topraküstü ve kök kısımları kullanılmıştır. Toplanan bitki güneşte kurutuldu, daha sonra kurumuş bitki öğütülerek iyice toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitki içerisindeki nemin alınması için etüvde 24 saat bekletildi. Daha sonra yaklaşık 30 gram örnek tartıldı ve %80 lik etil alkol çözeltisi ile ekstre edildi. Ekstre filtre edildi ve alkolü uçuruldu, böylelikle kuru ekstre ortaya çıkarıldı.

3.2. Hücre Kültürü

Cilt kanseri (*B16-F10, melanom*) hücreleri, %10 Fetal Bovine Serum (FBS) (Hyclone), %1 L-Glutamine (Hyclone), %1 Penisillinstreptomisin (Hyclone), Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM) (GIBCO) besiyerinde yetiştirildi. Hücreler 24'lük standart hücre kültürü platelerinde 1×10^5 sayısında tek tabaka halinde yetiştirildi. 37 °C sıcaklıkta ve %5' lik CO₂' li etüvde inkübe edildi. Bu hücreler 48 saat *Eryngium campestre* ekstresi (%99,2 kültür medyumunu ve %0.8 *Eryngium campestre* ekstraktı) ile muamele edilip ELISA yöntemiyle protein analizleri için homojenize edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.3. Doku homojenizasyonu

Eppendorf içinde -20°C dondurulmuş hücrelerin üzerine gram başına 3ml RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) buffer, 30µl PMSF (fenylmetanesulfonilfluoride), 30µl sodyum vanadat, 30µl proteaz inhibitörü eklendi ve ultrasonik parçalama cihazıyla buz üzerinde dokular parçalanarak homojenatlar elde edildi. Homojenatlar 10.000 RPM'de 10

1 dakika santrifüj edildi. Altındaki çökeltiler (pelletler) atıldı. Üstte ayrılan kısımlar (süpernatantlar) ELISA testlerinde kullanılmak üzere alındı (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.4. Protein miktar tayini

Homojenizasyon yapılarak elde edilen homjenatların total protein miktarının tayini için Bradford yöntemi kullanıldı. Sığır serum albumini (1 µg/ml) kullanılarak 1, 2, 3, 5, 7, 8, 10 (µg/ml) konsantrasyonlarda standart hazırlandı. Her bir örnekten 10 µl alınarak distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. Standart ve örneklerin üzerine 1ml bradford solüsyonu eklendi ve vorteksle karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 595 nanometre dalga boyunda absorbans miktarları manuel olarak ölçüldü. Prism programında çizilen standart eğriye göre homojenatların protein miktar tayini µg/µl cinsinden yapıldı (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5. ELISA deneyleri

ELISA testleri Rayto firmasından temin edilen ELISA mikropate okuyucu ve yıkayıcı ile yapılmıştır.

3.5.1. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi

3.5.1.1. Bax Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez

yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek Bax protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.2. Bcl-2 Miktar Tayini

Homojenatlardan 100’er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek Bcl-2 protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.3. Kaspaz-3 Aktivite Tayini

Homojenatlardan 100’er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek kaspaz-3 enziminin aktivitesi tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.4. Wee1 Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl ELISA kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek wee1 protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.5. GADD153 (CHOP) Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl ELISA kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek GADD153 protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.6. AIF miktar tayini

Homojenatlardan 100'er µl ELISA kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı

boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek AIF protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

3.5.1.7. Grp78 Miktar Tayini

Homojenatlardan 100’er µl ELISA kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek grp78 protein miktarları tayin edildi (Lowe ve ark. 2000, Krajewski ve ark. 1997, Lu ve ark. 2010, Devarajan ve ark. 2002, Yang ve ark. 2007).

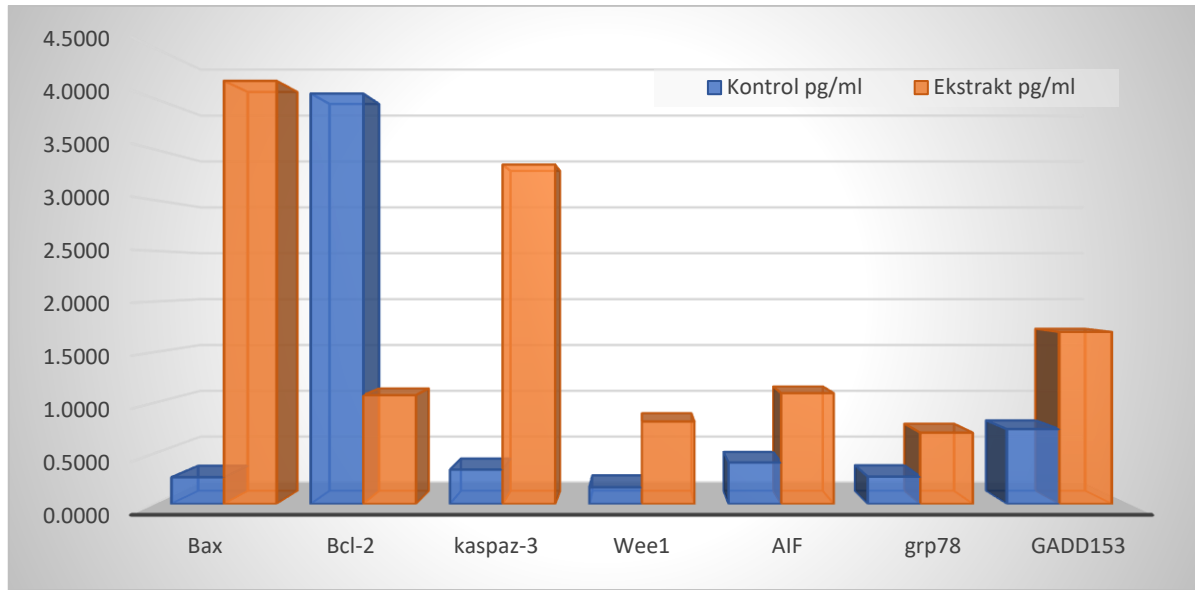
3.6. Sonuçların Değerlendirilmesi

Grafiklerin çizimi ve istatistiksel analiz için bilgisayar ortamında Graph-Pad Prism (CA, USA) programı kullanıldı. Veri setleri 6 ölçüm üzerinden oluşturuldu. Veriler için ön değerlendirme yapılarak aykırı değerler olup olmadığı incelendi. Verilerin istatistiksel analizleri, SPSS for Windows (version 21, IBM Corp, Armonk, New York, USA) programında yapıldı. İstatistiksel karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı ve $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda veriler %95 güvenle SPSS 21 versiyon kullanılarak analiz edildi. Değişkenler aritmetik ortalama, standart sapma, median, min ve max ölçüleri kullanılarak ifade edildi. Grup kıyaslamaları için Mann Whitney U testi kullanıldı. Bulgular aşağıdaki şekil ve çizelgede gösterildiği gibidir.

Şekil 4.1. Kontrol ve Ekstrakt Gruplarına Ait Sonuçlar



Çizelge 4.1. Çalışmanın sonuçlarını gösteren veriler

	Kontrol pg/ml	Ekstrakt pg/ml	p
Bax	0,33 ± 0,26	4,17±0,57	0.004*
Bcl-2	4,23±0,79	1,09±0,17	0.004*
Kaspaz-3	0,35±0,60	3,41±0,47	0.004*
Wee1	0.16±0,04	0,82±0.15	0.004*
AIF	0.43±0.07	1,09±0,16	0.004*
grp78	0.27±0,06	0,70±0,08	0,004*
GADD153	0,75±0.13	1,68±0.14	0.004*

Sonuçlar Ortalama ± SS olarak sunulmuştur. Mann-Whitney U test yapıldı.

* : p< 0,01 İstatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı

B16F10 melanom hücrelerinin, *Eryngium campestre* ekstraktıyla muamele edilmesi sonucu, kontrol grubunda 0,33 pg/ml olan Bax değeri 4,17 pg/ml olarak ölçüldü ($p<0,01$). Apoptozu inhibe edici özellikte olan Bcl-2 değeri kontrol grubunda 4,23 pg/ml olarak ölçülürken, ekstraktımızla muamele edilen melanom hücresinde Bcl-2 değeri 1,09 pg/ml olarak ölçülmüştür ($p<0,01$). Bax>Bcl-2 olduğundan hareketle hücrenin apoptoza gitme eğiliminde olduğunu düşünmekteyiz. Bir diğer ölçüm sonucu olarak apoptoz sürecinde miktarında artış gözlenen kaspaz-3 düzeyinin 0,35 pg/ml'den 3,41 pg/ml'ye yükseldiği görülmüştür ($p<0,01$). Çalışmamızda kullanılan belirteçlerden biri olan GADD153 proteini miktarı kontrol grubunda 0,75 pg/ml iken, ekstrakt ile muamele edilen melanom hücresinde GADD153 proteini değerinin 1,68 pg/ml'ye yükseldiği görülmüştür ($p<0,01$). Apoptozun gerçekleşmesi sürecinde miktarında artış olması beklenen AIF protein düzeyi, kontrol grubunda 0,43 pg/ml olarak ölçülürken, ekstraktımızın melanom hücresinde AIF değerini 1,09 pg/ml'ye yükselttiği görülmüştür ($p<0,01$). Yine bir diğer apoptoz belirteci olan grp78 değeri kontrol grubunda 0,27 pg/ml iken, bitkimizle hazırlanan ekstraktla muamele sonucu melanom hücresindeki değeri 0,70 pg/ml olarak bulunmuştur ($p<0,01$).

5. TARTIŞMA

Eryngium türlerinin yapısını aydınlatmak üzere yapılmış çalışmalarda; bitkinin toprak üstü kısımlarında triterpenik yapıda saponinler (aglikon kısmında barringtonenol C, A1-barrigenol, R1-barrigenol, kameliagenin A, eringenol A, eringenol B, betulinik asit, oleinik asit yapısında; glikon kısmı glikoz, glukuronik asit, ramnoz, ksiloz, galaktoz, arabinoz yapısında) flavonoidler ve uçucu yağlar; toprakaltı kısımlarında ise yine birtakım triterpen yapıdaki saponinler, monoterpen yapıli glikozitler, flavonoidler, kumarin türevi bileşikler, terpen aldehit esterleri, asetilenler, uçucu yağ ve okigosakkaritlerin bulunduğu görölmüştür (Aslan S. 2009, Hiller ve ark. 1974, Hiller ve ark. 1978, Kartal ve ark. 2005, Kartal ve ark. 2006, Zhang ve ark. 2008).

Bitkinin yapısının ortaya çıkarılmasını takiben zaman içerisinde bu tür ile ilgili çeşitli biyolojik etkinlik çalışmaları da yapılmıştır. 2006 yılında yaptıkları çalışmada *E. campestre*'den 5 yeni triterpen saponin izole eden Kartal ve ark. izole ettikleri saponinlerin HCT116 ve HT29 insan kolon kanseri hücrelerinde sitotoksik etkilerini çalışmışlardır. Çalışmanın sonucu olarak izole edilen bileşiklerin sitotoksitesi, pozitif kontrol paklitaksel ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur (Kartal ve ark. 2006).

Filistin'de *Eryngium creticum*'un antimitojenik etkinliğinin N-metil-N'-nitro-N-nitroguanidi (MNNG) ile rat primer hepatositlerinde araştırıldığı çalışmada, sitogenetik özelliklerin belirlenmesi amacıyla hücre nükleusunu boyayan DAPI yapılmış; aneksin-V/propidiyum iyodid ile apoptotik hücreler nekrotiklerden ayrılmıştır. Bitkinin nekroz ve apoptoz üzerine etkisi olmadığı gibi, hücre proliferasyonunu arttırmadığı da bildirilmiştir (IC₅₀ < 120 µg/mL). Genotoksite üzerine etkisinin araştırıldığı aynı çalışmada, MNNG ile yapılan mutasyon sonucu oluşan kromozomal aberasyonunu da belirgin şekilde azalttığı görölmüştür. Belirtilen etkilerinin içerdiği saponin türü bileşiklerin özelliklerinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Khader ve ark. 2010).

Polonya'da, *E. planum*'un da aralarında bulunduğu Apiacea familyasından yedi bitkinin birtakım farklı lösemi hücrelerinde (ML-1- insan akut myeloblastik lösemi, J-45.01- insan akut T hücresi lösemisi, EOL-insan eozinofilik lösemi, HL-60-Beyaz ırk promyelotik

lösemi, 1301-insan T hücresi lösemi lenfoblast, C8166 insan T hücresi lösemi, U-266B1-insan myeloma, WICL- insan beyaz ırk normal B hücreleri ve H-9- insan normal T hücreleri) tripan mavisi ve anneksin V boyamaları ile apoptotik ve sitotoksik etkisi üzerine çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucu olarak *Eryngium planum*'un apoptotik etkisi J45 hücreleri üzerinde %96, C8166 hücrelerinde %89 ve U266 hücrelerinde ise %85 bulunmuştur (Bogucka-Kocka ve ark. 2008). Bizim çalışmamızın sonucunda da bu çalışmaya paralel olarak *Eryngium campestre* ekstresinin melanom hücrelerini apoptoza sürüklediği gösterilmiştir.

İran'da *Fritillaria imperialis* bitkisinin çiçek soğanları ve *Eryngium caucasicum* bitkisinin köklerinin metanollü ekstrelerinin insan hepatoma (HepG2) ve kolon kanseri (HCT116) hücre hatları üzerine sitotoksik etkileri MTT testi kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucu *Fritillaria imperialis* bitkisinin çiçek soğanlarının HepG2 ve HCT116 hücre hatlarında antiproliferatif ve sitotoksik etkileri olduğunu ortaya çıkarmıştır. Fakat yine aynı çalışmanın sonucu olarak *Eryngium caucasicum* bitkisinin köklerinin metanollü ekstresinin hücre hatları üzerine önemli bir sitotoksik etkisi olmadığını ortaya çıkarmıştır (Kardan ve ark. 2019).

İran'da *Eryngium billardieri* bitkisi ile yapılmış bir çalışmada bitkinin diklorometan ve n-hekzan ekstrelerinin, Bax miktarını ve siklin D1 mRNA salınımını artırarak pankreas kanseri hücreleri üzerinde apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (Roshanravan ve ark. 2018). Bizim çalışmamızda ise *Eryngium campestre* ekstresi uygulanan melanom hücrelerinde Bax miktarında anlamlı artış ortaya çıkmıştır. Yine aynı çalışmanın sonucunda Bcl-2 miktarının anlamlı azalış göstermesi ve miktar olarak Bax'ın Bcl-2'ye kıyasla daha fazla olmasına dayanarak melanom hücrelerinde bitkimizin ekstresinin apoptozu indüklediğini düşünmekteyiz.

Lübnan'da *Eryngium creticum* bitkisi ile yapılan bir çalışmada; bitkinin yaprakları, sapı, kökleri ve bitkinin tamamını içeren etanollü ekstreler hazırlanarak bu ekstrelerin her birinin ayrı ayrı serviks kanseri hücre hattı (HeLa) üzerine sitotoksik ve antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, bitkinin bu dört kısmının etanollü ekstrelerinin

de HeLa hücre hattı üzerinde doz ve zamana bağlı sitotoksik etkisi olduğunu ($IC_{50} \leq 47.24$ µg/ml) ortaya koymuştur (Nasreddine ve ark. 2014).

Literatür taraması yapıldığında *Eryngium campestre* bitkisi ile yapılmış hücre kültüründe apoptozis üzerine çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan yaptığımız bu çalışmanın özgün nitelikte bir çalışma niteliğinde olduğu görülmektedir. Bu nedenle daha önce diğer bitkiler ile yapılmış hücre kültüründe apoptozis çalışmalarının sonuçlarıyla bizim çalışmamızda da bakılan apoptozis belirteçlerine ait sonuçları karşılaştırdık. 2019 yılında meyan bitkisinin etanollü ekstrelerinin kullanıldığı bir çalışmada, melanom hücre hattında ekstreyle muamele sonucu Bax miktarının anlamlı şekilde arttığı ve Bcl-2 miktarının ise anlamlı şekilde azaldığı sonucu ortaya çıkmıştır (Adal U. 2019). Bizim çalışmamızda da benzeri şekilde Bax seviyelerinde anlamlı şekilde artış ve Bcl-2 miktarında anlamlı şekilde azalış gözlemlendi ($p < 0.01$). Ayrıca meyan bitkisi yine aynı çalışmanın sonucu olarak weel, GADD153 ve kaspaz-3 miktarlarında anlamlı artış meydana getirmiştir. Bizim çalışmamızda, yapılan çalışmalara uyumlu olarak weel, GADD153 ve kaspaz-3 miktarlarında anlamlı bir artış meydana geldiği gösterilmiştir ($p < 0.01$). Bu sonuçlar *Eryngium campestre* bitkisinin melanom hücrelerini apoptoza sürüklediğini ve potansiyel bir kanser ilacı olabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ

Gerçekleştirdiğimiz deneysel çalışmada *Eryngium campestre* bitkisinin potansiyel anti-tümör etkilerini ortaya çıkarmayı amaçladık. Bu amaçla bitkiden elde ettiğimiz ekstre ile muamele ettiğimiz melanom hücrelerinde AIF, GADD153, grp78 ve kaspaz-3 miktarında kontrol grubuna göre anlamlı artış gözlemlendi. Bu belirteçlerin miktarındaki artış *Eryngium campestre* ekstrelerinin melanom hücrelerinde apoptoza gidişi arttırdığını göstermiştir. Aynı zamanda birbiriyle ilişkili olan Bax miktarının önemli ölçüde artışı ve Bcl-2 miktarının azalışına sebep olması ve ekstaktla muamele edilen melanom hücrelerinde Bax miktarının Bcl-2 miktarından büyük olması da hücrenin apoptoza gitme eğiliminde olduğunu bize göstermiştir. Yine başka bir belirteç olan weel miktarındaki artış da, *Eryngium campestre* bitkisinin melanom hücrelerinde hücre döngüsünü durdurabileceğini ve kanserleşmenin önüne geçebileceğini göstermektedir. Sonuç olarak; *Eryngium campestre* bitkisinin ekstrelerinin kanser tedavisinde kullanılabilecek potansiyel etkilerinin olabileceğini ortaya koyan çalışmamız in vitro ortamda yapıldığından dolayı, bu fikrin kesinlik kazanması açısından in vivo çalışmaların ve daha sonrasında faz çalışmalarının yapılması gerektiği kanaatine ulaşılmıştır.

7.KAYNAKLAR

1. **Adal U.** Meyan (*Glycyrrhiza Glabra L.*) Bitkisinin Cilt Kanseri Hücrelerinde Apoptotik Yolaklar Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Hatay: Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, **2019**
2. **Adams, J.M.; Cory, S.;** Life or death decions by the Bcl-2 family. Trends. Biochem Sci **(2001)**; 26:61-6
3. **Adrain C, Martin SJ.** The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. Trends Biochem Sci **(2001)**; 26:390-7.
4. **Alles A, Alley K, Barrett JC et al.** Apoptosis: a general comment. FASEB J **(1991)**; 5: 2127-8.
5. **Andrew GR, Catherine B, Christopher SP.** Education and debate, What is apoptosis, and why is it important, BMJ **2001**;322:1536-1538.
6. **Bellamy COC.** p53 and apoptosis. Br Med Bull **1996**; 53(3): 522-38.
7. **Bogucka-Kocka, A., Smolarz, H.D., Kocki, J.** Apoptotic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukemia cell lines. *Fitoterapia*.**79**: 487-497 (**2008**).
8. **Bresgen, N., Eckl, P.M. (2010).** Antimutagenic effects of ethanolic extracts from selected Palestinian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 127:319-24
9. **Cabadak H.Ö.** İnsan periferel kan ve fibroblast hücre kültürlerinin sinkronizasyonu ve sinkronize hücre kültürlerinden kromozom analizi ve karyotip hazırlanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, **1987**.
10. **Chang L, Karin M.** Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature. **2001**; 410:37–40. [PubMed: 11242034]
11. **Cheng M, Sexl V, Sherr C, Raussel M.** Assembly of cyclin D-dependent kinase and titration of p27Kip1 Regulated by mitogen-activated protein kinase kinase (MEK1) Proc Natl Acad Sci **1998**; 95: 1091-4.
12. **Cohen, J.J.,** Programmed cell death and apoptosis in lymphocyte development and function. American College of Physicians, CHEST, 103: 99-101, (**1993**).
13. **Coşkun, G., Özgür, H.** Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması; Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ADANA, **2011**; 20: 145
14. **D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A. & Scott, T.** UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci.* **14**(6), 12222–12248 (**2013**).
15. **Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, Krishnamurthy RR, Aggarwal N, Brun AM, Sapino A, Zhang F, Sharma D, Yang XH, Tora AD, Mehta K,** Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: a possible mechanism for chemoresistance. *Oncogene*. 2002 Dec 12;21(57):8843-51.

16. **D'Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. (2013).** UV radiation and the skin. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 12222–12248. <https://doi.org/10.3390/ijms140612222>
17. **Drake, D., Lam, J.,** Seseli acetylene from *Eryngium bourgatti*. *Phytochemistry*. **11**: 2651-2652. (1972).
18. **DuRose JB, Tam AB, Niwa M.** Intrinsic capacities of molecular sensors of the unfolded protein response to sense alternate forms of endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell*. **2006**; 17:3095–3107.[PubMed: 16672378]].
19. **Düzgün A.** Hep2 hücre modelinde deksametazonun unfolded protein response genleri üzerine moleküler etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi ,Samsun, **2010**.
20. **Elmore S.,** Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 35(4): 495–516 (**2007**).
21. **Erdelmeier, C.A.J.; Sticher, O.,** A cyclohexenone and a cyclohexadienone glycoside from *Eryngium campestre*. *Phytochemistry*, 25, 741–743.(1986)
22. **Erdem Aslan, S.,** Türkiyede yetişen bazı *Eryngium* L. türleri üzerinde farmakognozik araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara, (**2009**)
23. **Erdmann, F. et al.** International trends in the incidence of malignant melanoma 1953–2008—are recent generations at higher or lower risk? *Int J Cancer*. 132(2), 385–400 (**2013**).
24. **Erdmann, F., Lortet-Tieulent, J., Schüz, J., Zeeb, H., Greinert, R., Breitbart, E. W., & Bray, F. (2013).** International trends in the incidence of malignant melanoma 1953-2008--are recent generations at higher or lower risk?. *International journal of cancer*, 132(2), 385–400. <https://doi.org/10.1002/ijc.27616>
25. **Foster I.** Cancer: A cell cycle defect. *Radiography* **2008**; 14: 144-
26. **Golias CH, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K.** Cell proliferation and cell cycle control: A mini review. *Clin Pract* **2004**;58(12):1134-41.
27. **Güleş, Ö.; Eren, Ü., Y.Y.Ü.** Veteriner Fakültesi Dergisi, (2) 73-78 ISSN 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651 DERLEME 73 Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler (**2008**).
28. **Heald R, McLoughlin M, McKeon F.** Human weel maintains mitotic timing by protecting the nucleus from cytoplasmically activated cdc2 kinase. *Cell* **1993**;74; 463-74.
29. **Hengartner, M.O.; Ellis, R.E.; Horvitz, H.R.** *Caenorhabditis elegans* gene ced-9 protects cells from programmed cell death. , **1992**, *Nature* 356: 494-499.
30. **Herrnstadt, I and Heyn, C. C.** Prangos Lindl. – In: Davis, P. H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islans* 4: 382-388. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, (**1972**).
31. **Hiller, K., Keipert, M., Pfeifer, S., Kraft, R. (1974).** Das blattsapogeninspektrum in *Eryngium planum* L. *Pharmazie*. 29: 54–57.
32. **Hiller, K., Nguyen, K.Q.C., Franke, P. (1978).** Isolierung von 3-O-Dglucopyranosyloleanolsaure-28-O-D-xylopyranosid aus *Eryngium bromeliifolium* Delar.*Pharmazie* 33(1) : 78-80.

33. **Hohmann J, Pall Z, Gunther G, Mathe I.** Flavonolacetyl glycosides of the aerial parts of *Eryngium campestre*. *Planta Med*;63(1):96. (1997)
34. **Hussain, S.G.; Ramaiah, K.V.A.** Endoplasmic reticulum: stress, signalling and apoptosis. *Current Sci* **2007**;93:1684-96.
35. **Ignéy FH, Krammer PH.** Death and anti-death: Tumor resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* **2002**; 2: 277-88.
36. **Jaattela M.** Escaping cell death, survival proteins in cancer. *Exp Cell Research* **1999**; 248(1): 30-43.
37. **Jin Z, El-Deiry WS.** Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* **2005**; 4(2): 139-63.
38. **Joyce D, Albanese C, Steer J, Fu M, Bouzahzah B, Pestell RG.** NF-Kappa and cell cycle regulation: The cyclin connection. *Cytokine Growth Factor Rev* **2001**;12(1): 73-90.
39. **Kardan M, Yazdani Z, Morsaljahani Z, Ebrahimzadeh MA, Rafiei A.** Cytotoxic effect of methanolic extracts of *Fritillaria imperialis* bulbs and *Eryngium caucasicum* leaves on hepatoma and colon cancer cells. *Asian Pac J Trop Biomed* **2019**; 9(8): 353-358
40. **Kartal, M., Mitaine-Offer, A.C., Abu-Asaker, M., Miyamoto, T., Calis, I., Wagner, H., Lacaille-Dubois, M.A.** Two new triterpene saponins from *Eryngium campestre*. *Chem Pharm Bull.* **53**:1318-1320, (2005).
41. **Kartal, M., Mitaine-Offer, A., Paululat, T., Abu-Asaker, M., Wagner, H., Mirjolet, J., Guilbaud, N., Aleth, M. Lacailledubois.** Triterpene saponins from *eryngium campestre*. *J Nat Prod.* **69**:1105-1108 (2006).
42. **Kearns WG, Liu JM.** Cell cycle checkpoint genes and aneuploidy: A short review. *Current Genomics* **2001**; 2:171-80.51
43. **Kierszenbaum AL.** Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology. Second edition. Canada: Elsevier **2007**; 85-104.
44. **Kim EK, Choi EJ.** Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**, 1802: 396-405
45. **King RJB.** Cancer biology, Longman, **1996**
46. **Krajewski S, Thor AD, Edgerton SM, Moore DH 2nd, Krajewska M, Reed JC.** Analysis of Bax and Bcl-2 expression in p53-immunopositive breast cancers. *Clin Cancer Res.* 1997 Feb;3(2):199-208.
47. **Küpel, E., Kartal, M., Aslan, S., Yeşilada, E.** Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Ethnopharmacol.* **28**: 16529889. (2006).
48. **Lai E, Teodoro T, Volchuk A.** Endoplasmic reticulum stress: Signaling the unfolded protein response. *Physiology* **2007**;22:193–201.
49. **Lin JH, et al.** IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science.* **2007**;318:944–949. [PubMed: 17991856],

50. **Lomas, A., Leonardi-Bee, J. & Bath-Hextall, F.** A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol.* 166(5), 1069–1080 (2012).
51. **Lowe SW, Lin AW.** Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* (2000) 21 (3):485-495.
52. **Lu HF, Chie YJ, Yang MS, Lee CS, Fu JJ, Yang JS, Tan TW, Wu SH, Ma YS, Ip SW, Chung JG.** Apigenin induces caspase-dependent apoptosis in human lung cancer A549 cells through Bax- and Bcl-2-triggered mitochondrial pathway. *Int J Oncol.* 2010 Jun;36(6):1477-84.
53. **Mak, T.;** The E. Donnall Thomas Lecture-apoptosis: "tis death that makes life live". *Biol. Blood Marrow Transplant*, 9: 483-8, (2003).
54. **Medbouhi, A.; Benbelaïd, F.; Djabou, N.; Beaufay, C.; Bendahou, M.; Quetin-Leclercq, J.; Tintaru, A.; Costa, J.; Muselli, A.** Essential Oil of Algerian *Eryngium campestre*: Chemical Variability and Evaluation of Biological Activities. *Molecules* 24, 2575. (2019).
55. **Molinari M.** Cell cycle check points and their activation in human cancer. *Cell Prolif* 2000; 33: 261-74.
56. **Nasreddine, S. (2014).** The antioxidant and anti-tumor activities of the lebanese eryngium creticum l.. *Ijbpas.* 3. 2199-2222.
57. **Okada H, Mak TW.** Pathway of apoptotik and non-apoptotik death in tumour cells. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 592-603.
58. **Oyadomari S, Mori M.** Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ* 2004;11:381-9.
59. **Pertuit M, Barlier A, Enjalbert A ve ark.** Signalling pathway alterations in pituitary adenomas: involvement of Gsalpha, cAMP and mitogen-activated protein kinases. *Journal of Neuroendocrinology* 2009 November, 21(11): 869-877.
60. **Pınarbaşı E.** *Apoptozis (Programlı Hücre Ölümü).* Yıldırım A, Bardakçı F, Karataş M, Tanyolaç B (Editörler). *Moleküler Biyoloji.* 2. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım., 425-470, (2010).
61. **Pines J, Hunter T.** Human cell division: the involvement of cyclins A and B1 and multiple cdc2s. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1991; 56: 449-63.
62. **Qu L, Liu Z, Zhang HM, Su Y, Ye X.** Endoplasmic reticulum stress-induced cell survival and apoptosis. *Journal of Chinese Clinical Medicine* 2009;8:1-4.
63. **Rasheva V.I.; Domingos P.M.** Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis* 2009;14:996-1007
64. **Rogers HW, Weinstock MA, Feldman SR, Coldiron BM.** Incidence Estimate of Nonmelanoma Skin Cancer (Keratinocyte Carcinomas) in the US Population, 2012. *JAMA Dermatol.* 2015;151(10):1081–1086. doi:10.1001/jamadermatol.2015.1187
65. **Rogers, H. W. et al.** Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006. *Arch Dermatol.* 146(3), 283–287 (2010).

66. **Rogers, H. W., Weinstock, M. A., Feldman, S. R. & Coldiron, B. M.** Incidence Estimate of Nonmelanoma Skin Cancer (Keratinocyte Carcinomas) in the U.S. Population, 2012. *JAMA Dermatol.* 151(10), 1081–1086 (2015).
67. **Rogers, H. W., Weinstock, M. A., Harris, A. R., Hinckley, M. R., Feldman, S. R., Fleischer, A. B., & Coldiron, B. M. (2010).** Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006. *Archives of dermatology*, 146(3), 283–287. <https://doi.org/10.1001/archdermatol.2010.19>
68. **Roshanravan N., Asgharian P., Dariushnejad H., Mesri alamdari, N., Iansoori B., Mohammadi A., Alipour S., Barati M., Ghavami Abed, Ghorbanzadeh V., Aamazadeh, Fatemeh & Ostadrahimi, Alireza. (2018).** Eryngium Billardieri Induces Apoptosis via Bax Gene Expression in Pancreatic Cancer Cells. *Advanced Pharmaceutical Bulletin.* 8. 667-674. 10.15171/apb.2018.075.
69. **Rubio-Casadevall, J. et al.** Trends in incidence and survival analysis in non-melanoma skin cancer from 1994 to 2012 in Girona, Spain: A population-based study. *Cancer Epidemiol.* 45, 6–10 (2016).
70. **Rubió-Casadevall, J., Hernandez-Pujol, A. M., Ferreira-Santos, M. C., Morey-Esteve, G., Vilardell, L., Osca-Gelis, G., Vilar-Coromina, N., & Marcos-Gragera, R. (2016).** Trends in incidence and survival analysis in non-melanoma skin cancer from 1994 to 2012 in Girona, Spain: A population-based study. *Cancer epidemiology*, 45, 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2016.09.001>
71. **Sakahira H, Enari M, Nagata S (1998):** Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature.*, 391: 96–9.
72. **Schönthal, A.H.;** Endoplasmic Reticulum Stress: Its Role in Disease and Novel Prospects for Therapy, Volume 2012 |Article ID 857516 | 26 pages | <https://doi.org/10.6064/2012/857516>
73. **Senderowicz AM, Sausville EA.** Preclinical and clinical development of cyclin-dependent kinase modulators. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(5):376-87.
74. **Seo HY, et al.** Endoplasmic reticulum stress-induced activation of activating transcription factor 6 decreases cAMP-stimulated hepatic gluconeogenesis via inhibition of CREB. *Endocrinology.* 2010;151:561–568. [PubMed: 20022930].
75. **Seo HY, et al.** Endoplasmic reticulum stress-induced activation of activating transcription factor 6 decreases cAMP-stimulated hepatic gluconeogenesis via inhibition of CREB. *Endocrinology.* 2010;151:561–568. [PubMed: 20022930].
76. **Seydel, G.Ş. , Aksoy, K.** Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis Mechanisms. *Archives Medical Review Journal.* Yıl 2012, Cilt 21, Sayı 4, Sayfalar 221 - 235
77. **Sherr CJ.** The Pezcoller lecture: Cancer cell cycles revisited. *Cancer Res* 2000;60(14):3698-95.
78. **Spierings, D.C.; de Vries, E.G.; Vellenga E. et al:** Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 52(6): 821-831; 2004.
79. **Stalnska, K., Guzdek, A., Rokicki, M., Koj, A. (2005).** Transcription factors as the targets of the anti-

- inflammatory treatment: a cell culture study with extracts from some Mediterranean plants. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **56**: 157-169.
80. **Stang, A. et al.** Malignant melanoma and nonmelanoma skin cancers in Northrhine-Westphalia, Germany: a patient- vs. diagnosisbased incidence approach. *Int J Dermatol*. **46**(6), 564–570 (2007).
 81. **Stang, A., Ziegler, S., Büchner, U., Ziegler, B., Jöckel, K. H., & Ziegler, V. (2007).** Malignant melanoma and nonmelanoma skin cancers in Northrhine-Westphalia, Germany: a patient- vs. diagnosis-based incidence approach. *International journal of dermatology*, 46(6), 564–570. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2006.03056.x>
 82. **Szegezdi E.; Fitzgerald U.; Samali A.** Caspase-12 and ER stres mediated apoptosis:the story so far. *Ann NY Acad Sci* **2003**;1010:186-94.
 83. **Thompson, C.B.;** Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 267: 1456–1462, (1995).
 84. **Usluer, Ö., M. Duru, E., Harmandar, M., Varol, Ö.,** Muğla'ya Endemik İki Eryngium Türünün Kimyasal Bileşimleri. XIX. Ulusal Kimya Kongresi 2004, Kuşadası, (2005).
 85. **Vermeulen K, Berneman ZN, vanBockstaele DR.** Cell cycle and apoptosis. *Cell Prolif* **2003**; 36:165-75.
 86. **Watson R. R.; Preedy, V.R.; Zibadi, S.** *Polyphenols: Mechanisms Of Action In Human Health And Disease, Second Edition, Volume 1, Chapter 7, Eryngium campestre L.: Polyphenolic and Flavonoid Compounds; Applications to Health and Disease* 69-80, Elsevier Inc. ©, (2018).
 87. **Worz, A.,** On the distribution and relationships of the South-West Asian speciesof *Eryngium* L. (Apiaceae_Saniculoidae). *Turkish Journal of Botany*. **28**: 85-92. (2004).
 88. **Yan W, et al.** Control of PERK eIF2 α kinase activity by the endoplasmic reticulum stress-induced molecular chaperone P58IPK. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2002**;99:15920–15925. [PubMed:12446838].
 89. **Yang S, Liu J, Thor AD, Yang X.** Caspase expression profile and functional activity in a panel of breast cancer cell lines. *Oncol Rep*. 2007 May;17(5):1229-35.
 90. **Yehielly F, Deiss LP.** Apoptosis and cancer, *Basic Science of Cancer* In: Kruh GD, Tew KD, editors. Chapter 11. Philadelphia: Current Medicine inc; **2000**.
 91. **Yoshida H, Oku M, Suzuki M, Mori K.** pXBP1(U) encoded in XBP1 pre-mRNA negatively regulatesunfolded protein response activator pXBP1(S) in mammalian ER stress response. *J Cell Biol*. **2006**;172:565–575. [PubMed: 16461360].
 92. **Zhang, Z., Li, S., Ownby, S., Wang, P., Yuan, W., Zhang, W., Beasley, R.S. (2008).** Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. *Phytochemistry*. 69: 2070–2080
 93. **Zong WX, Li C, Hatzivassiliou G Lindsten T, Yu QC, Yuan J, Thompson CB.** Bax and Bak can localize

to the endoplasmic reticulum to initiate apoptosis. *J Cell Biol* **2003**;162:59–69.

94. **ZongWX, Thompson CB.** Necrotic death as a cell fate? *Genes Dev* **2006**; 20 : 1-15. 5.



ÖZGEÇMİŞ

1992 yılı Altınözü-HATAY doğumludur. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Adana ilinde tamamlamıştır. 2010 yılında yerleştiği Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2015 yılında mezun olmuş ve yine aynı yıl Hatay ili Altınözü ilçesinde Altun isimli eczaneyi açarak serbest eczacılık faaliyetine başlamış ve halen sürdürmektedir.

