



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RESVERATROLÜN KOLON KANSER HÜCRELERİNDE
HÜCRE SIKLUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

Uzman Diyetisyen SERVET MADENCİOĞLU
DOKTORA TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK

DANIŞMAN
Prof. Dr. SEVİNÇ YÜCECAN

EŞ DANIŞMAN
Prof. Dr. SEDA VATANSEVER

2020-LEFKOŞA

TEZ ONAYI

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Uzm. Dyt. Servet Madencioğlu

TEŞEKKÜR

Akademik yaşıntımın ilk gününden itibaren beni hep destekleyen, gelişmemi benden çok isteyen ve hayatıma dokunan duayen hocam sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Sevinç Yücecan'a tüm sevgisi ve desteği için,

Çalışma konumun belirlenmesinden tamamlanmasına kadar her aşamada beni sürekli destekleyen, geliştiren ve bıkmadan öğretmeye çalışan sevgili eş danışmanım Prof. Dr. Hafize Seda Vatansever'e

Çalışmanın tüm aşamalarında beni destekleyip, yüreklendiren, her zaman anlayış ile yaklaşan sevgili hocam Doç. Dr. Eda Becer'e

Çalışmanın laboratuvar aşamasının yürütülmesinde desteklerini esirgemeyen DESAM hücre kültürü laboratuvar sorumlusu ve çalışanlarına,

Hücrelerin fotoğraflanmasındaki yardımlarından ötürü Sayın Uzm. Hilal Kabadayı'ya,

Bu süreçte gösterdikleri destek ve anlayış için hocalarım ve ofis arkadaşlarıma,

Bu zorlu süreci birlikte yürüdüğüm sevgili arkadaşım Serpil Özsoy'a

Bu süreçte bana anlayışla yaklaşan ve bu yola devam etmemi sağlayan dostlarım ve canım aileme,

Akademik hayata olan merakımı küçük yaşlardan itibaren uyandıran ve beni biryerlerden görüp gururlandığına inandığım sevgili Doç. Dr. Serdar Susever'e

Tanıştığımız günden itibaren desteği ve espirilerini esirgemeyen kardeşim Mert Avcanok'a

Yaşamımın ilk anından itibaren beni seven, ben olmamı sağlayan, maddi manevi her türlü desteğini esirgemeyen, bu çalışmanın en önemli gizli kahramanları, hayattaki en büyük şansım olan canım annem (Fisun Madencioğlu), babam (Erdoğan Madencioğlu) ve kardeşlerime (İpek Madencioğlu),

Yolumuz kesiştiği günden beri hayatı daha keyifli hale getiren, tüm zor zamanlarımda beni destekleyen, sevgisini hissettiren, özellikle bu süreçte bana anlayışla yaklaşan, hayatıma mucizeler katan güzel adam; yol arkadaşım, iyikim, canım eşim Kamil Karakuş'a ve diğer ailem olan çok kıymetli ailesine,

Sonsuz teşekkürlerimle,
Servet Madencioğlu

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	i
BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
KISALTMA VE SİMGELER	viii
ÖZET.....	1
ABTRACT.....	2
1.0. GİRİŞ ve AMAÇ	3
1.1. Giriş ve Amaç	3
1.2. Hipotezler	5
2.0. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Kolorektal Kanser	6
2.1.1. Epidemiyolojisi	6
2.1.2. Risk faktörleri.....	6
2.1.3. Kolorektal kanserde kullanılan tedavi yöntemleri	12
2.2. Apoptoz	12
2.2.1. Ekstrintik yolak (ölüm reseptör yolağı)	13
2.2.2 Perforin/Granzim yolağı.....	13
2.2.3. İntirinsik yolak (mitokondriyal yolak).....	14
2.2.3.1. İntirinsik yolak ve ısı şok proteinleri	16
2.3. Hücre Yaşlanması (Senesens)	18
2.4. Eksozomlar.....	20
2.5. Resveratrol	21
2.5.1. Tanımı	21
2.5.3. Metabolizması ve biyoyararlılık	23
2.5.4. Resveratrol ve sağlık	25
2.5.5. Resveratrol ve potansiyel antikanser aktivitesi	28
2.5.6. Resveratrol ve güvenilir alım dozu	32
3.0. GEREÇ ve YÖNTEM.....	33
3.1. Hücre Hatları ve Hücre Kültürü	33
3.2. Hücre Canlılığı ve Büyüme Analizi	33

3.3. İmmünohistokimyasal Analizler	34
3.4. TUNEL Analizi	35
3.5. X-gal Analizi	35
3.6. Total MikroRNA Analizi	36
3.7. İstatistiksel Analiz	36
4.0. BULGULAR	37
4.1. Hücre Canlılığı ve Büyüme Analizi	37
4.2. İmmünohistokimyasal Analiz	38
4.3. TUNEL Analizi	45
4.4. x-Gal Analizi	47
5.0. TARTIŞMA	49
6.0. SONUÇ ve ÖNERİLER	57
8.0. KAYNAKLAR	59

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kolorektal kanser riskini etkileyen besin ögeleri ve besinler	10
Tablo 2. Çeşitli Besinlerin Resveratrol İçerikleri.....	22
Tablo 3. Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin kontrol ve resveratrol grupları için Bax, Bcl-2, Caspase-3, Hsp27, Lamin Bl, p16 ve Siklin Bl'in H-SKOR analizi.	45
Tablo 4. 48 saatlik inkübasyon sonrası sırasıyla 25 ug / ml ve 10 ug / ml konsantrasyonda resveratrol uygulaması yapılmış TUNEL pozitif Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin yüzdesi.	46
Tablo 5. Resveratrol ile tedavi edilen X-Gal pozitif Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin yüzdesinin sırasıyla 48 saat boyunca 25 ug / ml ve 10 ug / ml konsantrasyonda kantitatif analizi.....	48
Tablo 6. Colo320 ve Colo741 hücrelerinde eksozom analizi sonrasında elde edilen miRNA konsantrasyonları.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kolorektal kanserin çeşitli besin ve besin ögeleri ile ilişkili biyolojik mekanizmaları	9
Şekil 2. Apoptotik yollar	16
Şekil 3. Hücre içi HSP'lerin tümörjenik etkileri	18
Şekil 4. Resveratrol metabolizması	24
Şekil 5. Resveratrol ve sağlık üzerindeki potansiyel etkileri.....	26
Şekil 6. Resveratrol ve immün sistem üzerine potansiyel etki mekanizmaları.....	27
Şekil 7. Resveratrolün potansiyel antikanser aktiviteleri	29
Şekil 8. Resveratrolün kanserle ilişkili terapötik mekanizmalarının şematik diyagramı	31
Şekil 9. Resveratrol ve hücre siklusu üzerine etkileri.....	31
Şekil 10. Sırasıyla 24 ve 48 saat boyunca farklı resveratrol konsantrasyonları uygulanan Colo-320 (A) ve Colo-741 (B) hücrelerinin doz tepki eğrileri ve IC ₅₀ değerleri.....	37
Şekil 11. Mikroskop altında Colo-320 ve Colo-741 hücreleri,48 H'lik inkübasyon sonucu A) Colo-320 kontrol grubu, (B) Colo-320 resveratrol grubu, (C) Colo-741 kontrol grubu, (D) Colo-741 resveratrol grubu. Ölçek= 100 µm.....	38
Şekil 12. Kontrol ve 25µg/ml resveratrol uygulanmış (B,D,F,H,J,L,N) Colo-320 hücrelerinde Bax (A,B), Bcl-2 (C,D), Kaspaz-3 (E,F), Hsp27 (G,H), Lamin B1 (I,J), p16 (K,L), Siklin B1 (M,N) immünoreaktiviteleri. Ölçek= 20 µm.....	41
Şekil 13. Kontrol ve 10µg/ml resveratrol uygulanmış (B,D,F,H,J,L,N) Colo-741 hücrelerinde Bax (A,B), Bcl-2 (C,D), Kaspaz-3 (E,F), Hsp27 (G,H), Lamin B1 (I,J), p16 (K,L), Siklin B1 (M,N) immünoreaktiviteleri. Ölçek= 20 µm.....	43
Şekil 14. TUNEL boyamasının değerlendirilmesi: (A) Colo-320 kontrol hücreleri, (B) Colo-320 resveratrol uygulaması yapılmış hücreler, (C) Colo-741 kontrol hücreleri, (D) Colo-741 resveratrol uygulaması yapılmış hücreler. Ölçek= 20 µm.....	46
Şekil 15. X-gal boyamasının değerlendirilmesi: (A) Colo-320 kontrol hücreleri, (B) resveratrol ile muamele edilmiş Colo-320 hücreleri, (C) Colo-741 kontrol hücreleri, (D) resveratrol ile muamele edilmiş Colo-741 hücreleri. Ölçek= 20 µm	47

KISALTMA ve SİMGELER

%: Yüzde

± : Standart Hata

°C: Santigrat derece

μL: Mikrolitre

μm: Mikrometre

Akt: Protein kinaz B

AMPK: 5'-monofosfat aktive edici protein kinaz

AP-1: Aktive edici protein 1

Apaf1: Apoptotik proteaz aktive edici faktör -1

APC: Adenomatöz polipozis coli

BAD: Bcl ilişkili ölüm düzenleyici

Bak: Bcl-2 homolog antagonist öldürücü

BAX: Bcl ilişkili X proteini

Bax: Bcl-2 ilişkili protein X

Bcl- 2: B-hücre lenfoma 2

Bcl- XL: B- hücre lenfoma ekstra büyük

Bcl-2A1: Bcl-2 ilişkili protein A1

Bcl-B: Aminoasit sekansı Boo proteinine benzeyen Bcl-2 proteini

Bcl-W: Bcl-2 benzeri protein 2

Bcl-xL: B-hücre lenfoma ekstra büyük

Bid: BH3 ilişkili ölüm bölgesi

Bim: Bcl ilişkili mediyatör

Bok: Bcl-2 ile ilişkili yumurtalık öldürücü

Breg: Düzenleyici B hücreleri

CDK: Siklin bağımlı kinaz

CO₂: Karbondioksit

COX-2: siklooksijenaz-2

DAB: diaminobenzidin

DHR: Dihidroresveratrol

DHR-GLU: Dihidroresveratrol glukuronid

DHR-SUL: Dihidroresveratrol sülfat

DISC: Ölüme neden olan sinyalleşme kompleksi
dk: Dakika
DMSO: Dimetilsülfoksit
DNA: Deoksiribonükleik asit
EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EMT: Epitelyal-mezenkimal transisyon
ERK: Ekstra selüler regüle edici kinaz
FADD: Fas ile ilişkili ölüm bölgesi proteini
FAP: Ailesel adenomatöz polipozis
FasL: Fas Ligand
FOXP3: Forkhead box P-3;
g: gram
GM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör
GST: Glutasyon S-transferaz
h: saat
H₂O₂: Hidrojen peroksit
HDI: İnsan gelişim indeksi (Human Development Index)
HH: Hedgehod
HIF-1 α : Hipoksi indükleyici faktör-1 α
HNPCC: Kalıtsal polipozis dışı kolon kanseri
HSP: Isı şok proteinleri
IAPs: Apoptoz inhibitör proteinleri
ICAD: Kaspazla aktifleştirilen DNAaz inhibitörü I
IL: İnterlökin
IRAK: İnterlökin-1 reseptör-ilişkili kinaz
LPS: lipopolisakkarit
MAPK: Mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK)
MAPK-Akt: Mitojen aktive edici- protein kinaz B
Mcl-1: İndüklenmiş miyeloid lökemi hücresi farklılaştırıcı protein 1
MCP1: Monosit kemoatraktant protein-1
MEK: Mitojen aktive edici protein kinaz
MF: makrofaj
mg: miligram

MiRNA: Mikrozomal ribonükleik asit
mL: Mililitre
mM: Milimolar
MMP- 2 Matrik Metalloproteinaz- 2
MMP- 9Matriks Metalloproteinaz- 9
mRNA: Mesajcı ribonükleik asit
MTT: (3- (4,5-di-metiltiyazol-2-il) -2,5 DifeniltetrazoliumBromid
NF-κB: Nüklear faktör kapa beta
NK: Doğal öldürücü hücreler (natural killer cells)
NLRP3: Nod benzeri reseptör ailesi
nm: Nanometre
NO: Nitrik oksit
NOXA: Phorbol-12-miristat-13-asetat ile indüklenen protein 1
Nrf2: Nüklear faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2
PBS: Phosphate buffered saline
PC: Plazma hücreleri
PG: Prostaglandin
PGE2, prostaglandin E2
PI3K: Fosfo inasitid 3 kinaz
pRb: protein retinoblastoma
PUMA: p53 regüle edici apoptoz modülatörü/p53 upregulated modulator of apoptosis
RES-GLU: Resveratrol glukuronid
RES-SUL Resveratrol sülfat
RIP: Reseptör ilişkili protein
RNA: Ribonükleik asit
ROS: Reaktif oksijen türevleri
RR: Relatif risk
RSV: Resveratrol
SD: Standart sapma
SET: Nüklear protoonkogen
Sirt1: sessiz çiftleşme türü bilgileri düzenleme 2 homolog-sirtuin1
Smad: Small mothers against decapentaplegic
STAT 3: Sinyal transdüktör ve transkripsiyon aktivatörü 3

SULT: Sulfotransferaz
TAM: Tümör ilişkili makrofaj
TBK1: TANK bağlayıcı kinaz 1;
TGF- β : Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TLR: Toll-like reseptör
TNF- α : Tümör nekroz faktör α
TNFR: Tümör nekrozis faktör reseptör
TNM: Tümör-nod-metastaz
TRADD: TNFR1 ile ilişkili ölüm bölgesi proteini
TRAIL: Tümör nekroz faktörü ile ilgili apoptozu indükleyen ligand
Treg: Düzenleyici T hücreleri
TRIF: Toll-interlökin-1 reseptör domaini içeren adaptör
UDP: Üridin difosfat glukuronosil-trasferaz
UGT: Üridin 5'-difosfo-glukuronosiltransferaz enzimi
UV: Ultraviyole
VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü
Mg: miligram
 μ L: mikrolitre

Resveratrolün Kolon Kanseri Hücrelerinde Hücre Siklusu Üzerine Etkisi

Öğrenci adı: Servet Madencioğlu

Danışman: Proff. Dr. Sevinç Yücecan

Eş-danışman: Prof. Dr. Hafize Seda Vatansever

Anabilim Dalı: Beslenme ve Diyetetik

ÖZET

Amaç: Resveratrol stilbenoid sınıfında yer alan fitokimyasal bir bileşiktir. Bu çalışmada resveratrolün primer (Colo-320) ve metastatik (Colo-741) kolon kanseri hücrelerinde apoptotik ve senesens üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinde hücre büyümesi ve sitotoksitesinin belirlenmesinde MTT testi kullanılmıştır. Resveratrolün apoptotik ve senesens indükleyici aktivitesi immunositokimya, TUNEL ve x-Gal boyama yöntemleri ile test edilmiştir. İmmünohistokimyasal analizlerde; Bax, Bcl-2, kaspaz-3, Hsp27, Lamin B1, p16, siklin B1 dağılımları değerlendirilmiştir. Resveratrol uygulamasının eksozomal total miRNA konsantrasyonlarına etkisi miCURY eksozom izolasyon kiti kullanılarak analiz edilmiştir. Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde GraphPad Prism 8 Statistical Software programı kullanılmıştır.

Bulgular: MTT sonuçlarına göre Colo-320 hücresi için 25 µg/mL, Colo-741 hücresi için 10 µg/mL resveratrol hücre canlılığını azaltmada daha etkili bulunmuştur. İmmünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre Colo-320 hücrelerinde Bax immünoreaktivitesi resveratrol uygulamasından sonra artarken, Bcl-2 immünoreaktivitesi azalmıştır. Resveratrol uygulamasından sonra Hsp27 immünoreaktivitesi Colo-320 hücrelerinde Colo-741 hücrelerine kıyasla daha fazla bulunmuştur. TUNEL pozitif hücre sayısı Colo-320 hücrelerinde, x-Gal pozitif hücre sayısı ise Colo-741 hücrelerinde daha fazla bulunmuştur. Ayrıca resveratrol Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinde total miRNA konsantrasyonlarında anlamlı olmayan bir azalmaya sebep olmuştur.

Sonuç: Resveratrolün hem primer hem de metastatik kolon kanseri hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı, ancak resveratrol primer kanser hücrelerinde senesense göre intrinsik apoptozu indüklemeye daha etkili olduğu bulunmuştur. Resveratrol hücrelerdeki MiRNA ekspresyonlarını etkileyebilmektedir. Resveratrolün apoptotik ve hücre siklusu üzerindeki etkileri hücre tipine göre farklılık göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Resveratrol, hücre ölümü, hücre siklusu, Colo-320, Colo-741

Effect of Resveratrol on Cell Cycle in Colon Cancer Cells

Student's Name: Servet Madencioğlu

Advisor: Prof. Dr. Sevinç Yücecan

Co-Advisor: Prof. Dr. Hafize Seda Vatansever

Department: Nutrition and Dietetics

ABSTRACT

Objective: Resveratrol is a phytochemical compound which classified in stilbenoid. In this study, it was aimed to investigate the apoptotic and senescence inducing effects on primary (Colo-320) and metastatic (Colo-741) colon cancer cell.

Materials and Methods: Cell growth and cytotoxicity were detected by MTT method in both Colo-320 and Colo-741 cell lines. Apoptotic and senescence inducing activities were tested with TUNEL staining, X-gal staining and immunocytochemistry using antibodies directed against to Bax, Bcl-2, caspase-3, Hsp27, Lamin B1, p16, cyclin B1. The effect of resveratrol treatment on exosomal total miRNA concentrations was detected by the miCURY exosome isolation kit.

Results: According to MTT results, 25 µg/mL and 10 µg/mL concentrations of resveratrol were found more effective for Colo-320 and Colo-741 cell lines, respectively. As a result of immunocytochemical staining, Bax immunoreactivity was significantly increased while Bcl-2 immunoreactivity significantly decreased in Colo-320 cell line. Hsp27 immunoreactivity in Colo-320 cell line was significantly higher than Colo-741 cell line. In addition, after resveratrol administration, while the TUNEL positive cells significantly increased in Colo-320 cells, X-gal positive cells was detected in Colo-741 than Colo-320 cells. In addition, total miRNA concentration was decreased in Colo-320 and Colo-741 cells after the resveratrol treatment.

Conclusion: Resveratrol can inhibit cell viability both in primer and metastatic colon cancer cells. However, resveratrol might be more effective triggering mitochondrial-mediated apoptosis in primary colon cancer cells. Also, resveratrol can affect MiRNA expressions in cells. Apoptotic and cell cycle inhibiting effects of resveratrol may differ by cell type.

Keywords: Resveratrol, cell death, cell cycle, Colo-320, Colo-741.

1.0. GİRİŞ ve AMAÇ

1.1.Giriş ve Amaç

Kolorektal kanser, dünya çapında her yıl teşhis edilen kanserlerin ve kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Bray ve ark., 2018). Gelişmiş ülkelerde daha fazla insidansa sahip bir kanser türüdür. Özellikle batı tarzı yaşam stillerinin benimsenmesi ile bu insidansın artacağı ve küresel kolorektal kanser yükünün 2030'a kadar %60 artarak 2.2 milyon yeni vakaya ve 1.1 milyon ölüme ulaşacağı beklenmektedir (Arnold ve ark., 2017).

Kolon kanseri, bağırsakta lokalize olduğunda yüksek oranda tedavi olabilen bir hastalıktır. Cerrahi operasyon birincil tedavi şeklidir ve hastaların yaklaşık %50' sinde iyileşme ile sonuçlanır. Ameliyat sonrası tekrar tümör oluşumu önemli bir sorundur ve genellikle kolon kanserinden ölümlerin esas nedenidir (Board, 2019).

Kolorektal kanser için birçok değiştirilebilir ve değiştirilemeyen risk faktörleri bulunmaktadır. Kalıtsal yapı, etnik köken, yaş ve cinsiyet değiştirilemeyen risk faktörleri arasında kabul edilmekle birlikte, beslenme, vücut ve abdominal yağ oranı, fiziksel aktivite, tütün kullanımı, kullanılan ilaçlar değiştirilebilir risk faktörleri arasında değerlendirilmektedir (IARC., 2019). Değiştirilebilen risk faktörlerinin önemini gösteren çalışmalar artmakla birlikte henüz bir netlik kazanmamıştır.

Kolorektal kanser tedavisi, görüntüleme, cerrahi teknikler ve kemoterapideki gelişmeler de dahil olmak üzere son yıllarda hızla ilerlemiştir. Bununla birlikte, tedavi sonuçlarının tümör spesifik özelliklere göre büyük ölçüde değiştiği giderek daha net ortaya konmaktadır (Siegel ve ark., 2017).

Önleme ve tedavi politikalarının planlanması için kanser ile ilgili çalışmaların yapılması ve mekanizmaların aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. WHO ve IARC insanlarda kanserin sebepleri ve karsinogenez mekanizmalarının belirlendiği çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu ve konu ile ilgili çalışmalar yapılmasının gerekliliğini vurgulamaktadır (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Erişim tarihi: 1.03.2019.).

Geleneksel tedavi yöntemlerinin yanında çeşitli biyolojik aktiviteleri sayesinde fonksiyonel besin bileşenleri de tedavi yöntemlerinin etkinliğini artırmak ve yan etkilerinin azaltılması amacıyla yeni bir tedavi yaklaşımı olarak günümüzde yerini almaktadır (Mármol ve ark., 2017).

Fitokimyasallardan resveratrol; çikolata, fıstık, dut, yaban mersini, üzüm ve kırmızı şarap gibi besinlerde bulunur. Son yıllarda insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle üzerinde çokça araştırma yapılmaktadır (Dybkowska ve ark., 2018; Valentovic ve ark., 2018)

Resveratrol çok güçlü antioksidan özelliği sayesinde çeşitli kronik hastalıklardan koruyucu potansiyel etki gösterebilmektedir (Pandey ve Rizvi., 2011). Antioksidan özelliğinin yüksek olması, amfifilik karaktere sahip olmasıyla ilişkilendirilmektedir. Hem hidrofobik hem de hidrofilik kısımlarının olması; hücre ve hücre membranındaki yapıları oksidatif hasardan koruyabileceğini düşündürmektedir (Dybkowska ve ark., 2018; Valentovic ve ark., 2018)

Araştırma sonuçları; resveratrolün güçlü antioksidan özelliklerinin yanında kardiyoprotektif, antiplatelet, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antiaging, nöroprotektif, hepatoprotektif, antiastım, antiartirit ve antikanser aktivite gösterdiğini de belirtmektedir (Pandey ve Rizvi., 2011; Kuršvietienė ve ark., 2016).

Resveratrolün kanser üzerine olan potansiyel etkisinin belirlenmesi, 1997 yılında deri kanseri hücrelerinde yapılan çalışma ile gösterilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre resveratrol antioksidan ve antimutajenik etki göstererek faz II enzimlerini uyarmakta, antiinflamatuvar etki göstererek siklooksijenaz ve hidroksiperoksidaz enzimlerini inhibe etmektedir. Resveratrolün bu etkileri ile kanserin başlaması ve ilerlemesinde durdurucu potansiyel etkisinin olabileceği savunulmaktadır (Jang ve ark., 1997). Araştırma sonuçları resveratrolün çeşitli metabolik yolları etkileyerek akciğer, meme, kolon ve prostat kanseri gibi çeşitli kanser türlerinin başlaması ve ilerlemesini durdurucu potansiyel etkilerinin olduğunu göstermektedir (Park ve Pezzuto., 2015).

Bu çalışmada resveratrolün Colo-320 (primer) ve Colo-741(metastatik) kolon adenokarsinoma hücrelerinde apoptoz ve hücre siklusu üzerindeki etkilerinin araştırılması ve bu etkileri hangi mekanizmalar ile gösterdiğinin ortaya konması amaçlanmaktadır. Bu çalışmanın diğer bir amacı resveratrolün iki farklı kolon kanser

hücrelerinden salınan eksozomlar ve eksozomal miRNA konsantrasyonları üzerine olan etkilerinin incelenmesidir.

Mevcut hücre hatlarında resveratrolün hücre siklusu ve apoptotik etkileri ve etki mekanizmalarını ortaya koyan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırmanın sonuçları kullanılan hücre hatlarında apoptoz ve senesens ile ilgili proteinler olan Hsp27, lamin B1 ve siklin B1 proteinlerini inceleyen ilk çalışma olacaktır ve bu yönüyle bilime katkı koyacağı düşünülmektedir. Bu çalışmanın ayrıca; resveratrolün antikanser aktivitelerini araştırarak diğer araştırmalar için temel oluşturması ve çeşitli yollar üzerindeki etki mekanizmalarının ortaya konmasında temel oluşturması hedeflenmektedir.

1.2. Hipotezler

- **H₀ hipotezi:** Resveratrolün Colo-320 ve Colo741 kolon kanseri hücre hatlarında apoptoz ve hücre siklusu üzerinde bir etkisi yoktur.
- **H₁ hipotezi:** Resveratrol Colo-320 ve Colo-741 kolon kanseri hücre hatlarında doz ve inkübasyon süresine bağlı olarak hücre canlılığını azaltmaktadır.
- **H₂ hipotezi:** Resveratrol Colo-320 ve Colo-741 kolon kanseri hücre hatlarında apoptozu indüklemektedir.
- **H₃ hipotezi:** Resveratrol Colo-320 ve Colo-741 kolon kanseri hücre hatlarında hücre siklusunu durdurucu etki göstermektedir.

2.0. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolorektal Kanser

2.1.1. Epidemiyolojisi

Kanser vücuttaki hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize bir hastalıktır. Dünyada ikinci ölüm sebebi olup 2018 yılında ortalama 9.6 milyon insan kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Dünyadaki her altı ölümden biri kanser sebebiyle olmaktadır (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Erişim tarihi: 1.03.2019.).

Dünyadaki kanser insidansının %10'undan fazlasını kolorektal kanserin oluşturduğu bildirilmektedir (IARC., 2019). Kolorektal kanser erkeklerde üçüncü, kadınlarda ise ikinci en yaygın kanser türüdür (IARC., 2019). 2018 yılında Dünya genelinde 1.8 milyon kolorektal kanser vakasının olduğu bildirilmiş, 2020 yılında 104.619 kişinin kolon, 43.340 kişinin rektal kanseri, 2035 yılında ise 2.5 milyon kişinin yeni kolorektal kanser tanısı alacağı öngörülmüştür (Board., 2019.; Dekker ve ark., 2019; <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Erişim tarihi: 1.03.2019.)

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre kanserin 2010 yılındaki ekonomik maliyeti yaklaşık 1.16 trilyon \$'dır. Düşük ve orta gelirli ülkelerdeki ölümlerin %70'i kanser yüzünden olmaktadır ve bu ülkelerde kanser ile ilgili çeşitli politikaların oluşturulması öngörülmektedir (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Erişim tarihi: 1.03.2019).

2.1.2. Risk faktörleri

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi kolorektal kanser için de değiştirilebilen ve değiştirilemeyen risk faktörleri bulunmaktadır (Dekker ve ark., 2019). Değiştirilemeyen risk faktörlerinin başında cinsiyet, etnik köken, yaş ve kalıtım gelmektedir (Dekker ve ark., 2019; Thanikachalam ve Khan., 2019; Mármol ve ark., 2017). İnsidans ve mortalitesi erkeklerde kadınlara göre %25 daha fazla olmakla birlikte Afro-Amerikalılarda da kolorektal kanser riski daha yüksektir (Dekker ve ark., 2019). Hastalık insidans ve mortalitesi 50 yaş üzerindeki kişilerde daha fazla

gözlemlenmektedir (IARC., 2019). 2018 yılında Dünyadaki 1.8 milyon kolorektal kanser vakasının 0.18 milyonunun (%10) 50 yaşından küçük, 1.07 milyonunun (%59) 50-74 yaş arası ve 0.55 milyonu (%31) 75 yaşından büyük bireylerde gözlemlenmiştir (IARC., 2019).

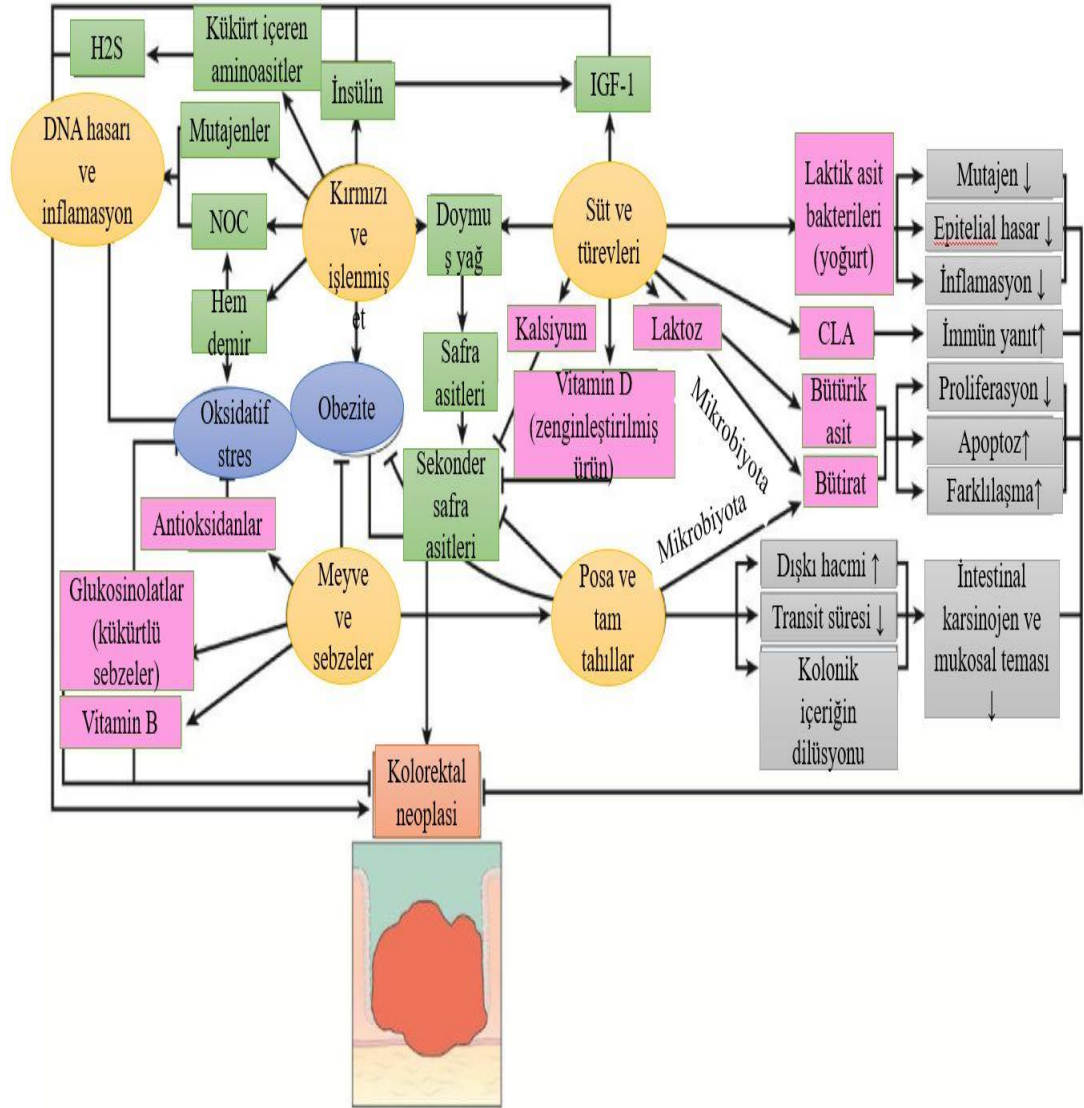
Kolorektal kanser tanısı alan kişilerin %10-20'sinin ailesinde kolorektal kanser öyküsü bulunmaktadır (IARC., 2019; Dekker ve ark., 2019). Kalıtsal kanserler tüm kolorektal kanserlerin %5'ini oluşturmakta ve allelde oluşan nokta mutasyonları mutant gen ve tümör hücresi oluşumunu etkileyebilmektedir (Mármol ve ark., 2017). Kalıtsal kolorektal kanseri; ailesel adenomatöz polipozis (FAP) ve kalıtımsal polipozis dışı kolon kanseri (hereditary nonpolyposis colorectal cancer [HNPCC]) olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Ailesel adenomatöz polipozis (FAP)'ta kolonda malign polip oluşumu söz konusudur. Kalıtımsal polipozis dışı kolon kanseri ise deoksiribonükleik asit (DNA) tamir mekanizmalarındaki bozukluklarla ilintilidir (Mármol ve ark., 2017). Genel olarak kalıtsallık sonucu gözlemlenen kolorektal kanser türleri ya tümör baskılayıcı adenomatozis polipozis koli (adenomatous polyposis coli [APC]) geninde mutasyon sonucu 40 yaştan önce gözlemlenmekte ya da 40'lı yaşların ortasında DNA tamir genlerindeki mutasyon sonucu gözlemlenebilmektedir (WCRF ve AIRC, 2017). Kalıtımın dışında tek gen mutasyonu gibi genomla ilintili değişiklikler de kolorektal kanser gelişimi ile ilişkilendirilmektedir (Dekker ve ark., 2019).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (ülseratif kolit ve chron's hastalığı), aşırı kilolu ve obez olma, diyabet ve insülin direnci, akromegali, immunosupresif ilaç kullanımı, androjen yoksunluğu tedavisi, kolesistektomi, koroner arter hastalığı, uterokolik anastomosis gibi hastalıklar ve kolonda *Fusobacterium nucleatum* ve *Bacteriodes fragilis* gibi bakteri türleri sonucu enfeksiyon oluşumu da kolorektal kanser risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Thanikachalam ve Khan., 2017; Dekker ve ark., 2019).

Genel olarak kolorektal kanser insidansı ülkelerdeki ekonomik gelişmelerle ve insan gelişim indeksi (Human Development Index-HDI) ile doğru orantılı olup, sanayileşmiş ve batı tarzı yaşam stili olan toplumlarda daha fazla görülmektedir (IARC., 2019; WCRF ve AIRC, 2017).

Tütün ve alkol kullanımı, sağlıksız beslenme ve sedanter yaşam kanser için önemli önlenebilir risk faktörleridir (Dekker ve ark., 2019; (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Erişim tarihi: 1.03.2019). Özellikle sağlıksız beslenme kolorektal kanser gelişiminde %70-90'lık bir etkiye sahip olup beslenmenin düzenlenmesi ile kolorektal kanser gelişimi önlenabilmektedir (Afrin ve ark., 2020). Sağlıklı beslenme immün yanıt, inflamasyon gibi çeşitli fizyolojik yolları etkileyerek karsinogenezi çeşitli basamaklarda durdurucu etki gösterebilmektedir. Kalsiyum, posa, süt ve tam tahıllar düşük kolorektal kanser riski ile ilişkilendirilirken, kırmızı ve işlenmiş et tüketimi yüksek kolorektal kanser riski ile ilişkilendirilmektedir (Song ve ark., 2015). Bunun dışında çeşitli besin ögeleri ve besinlerin kolorektal kanser ile ilişkili mekanizmaları Şekil 1. ve Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Literatür incelendiğinde bazı besin bileşenlerinin özellikle fitokimyasalların kanserden koruyucu potansiyel etki gösterebileceğini rapor edilmektedir (Zamora-Ros ve ark., 2018). Bununla birlikte kanser ilaçlarına göre düşük yan etkilere sebep olup kanser ilaçları ile kombine edildiğinde tedavinin etkinliğini artırabilmektedir (Chung ve ark., 2018). Fitokimyasallar karsinogenez süreci ile ilgili çeşitli sinyalizasyon yollarını kontrol ederek kolorektal kanserin başlaması, ilerlemesi ve metastazı gibi çeşitli basamaklarda durdurucu potansiyel aktivite gösterebilmektedir ve bu özellikleri sayesinde kanser araştırmalarında sıkça kullanılmaktadırlar (Afrin ve ark., 2020).



Şekil 1. Kolorektal kanserin çeşitli besin ve besin ögeleri ile ilişkili biyolojik mekanizmaları (Song ve arkadaşları., 2015).

Tablo 1. Kolorektal kanser riskini etkileyen besin ögeleri ve besinler (Song ve ark., 2015)

Besin ögesi/Besin	Kanıt düzeyi	Risk tahmini (RR)	Olası Mekanizması
Kalsiyum	Mümkün	RR = 0.92 (0.89-0.95) toplam kalsiyum alımında her 300 mg /gün artış	- Yağ asitlerine ve serbest safra asitlerine bağlanma - Hücre proliferasyonunu baskılama - Hücre farklılaşması ve apoptoz - Oksidatif DNA hasarını inhibe etme - Kolorektal kanserle ilişkili hücre sinyal yollarını modüle etme
Vitamin D	Sınırlı-destekleyici	RR = 0.95 (0.93-0.98) diyetteki D vitamini alımında her 100 IU/gün'lük artış; RR=0.96 (0.94-0.97) dolaşımdaki 25 (OH) D düzeyinde her 2.5 ng /mL (6.25 nmol / L) artış	- Antiproliferasyon etki - Hücre farklılaşması ve apoptoz - Antiinflamatuvar etki - İnvazyon ve metastazı inhibe edici etki - Anjiyogenezi baskılama
Posa	İnandırıcı	RR = 0.90 (0.86–0.94) diyet posası alımında her 10 g/gün artış	- Dirençli nişastanın bakteriyel fermantasyonu ile üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin antikanser aktivitesi - Dışkı hacmini artırma - Kolon transit süresini azaltma - Artmış kolonik karsinojen içeriğini azaltma - Adipositeyi azaltma
Folat	Sınırlı-destekleyici	RR = 0.99 (0.93-1.05); Diyet folat alımında 100 µg / gün artış RR= 0.98 (0.94-1.03) toplam folat alımında 100µg / gün artış	- DNA metilasyonu ve DNA sentezi için temel besin ögesi - Karsinogenezde kritik rol
Vitamin B ₆	N/A	RR = 0.90 (0.75-1.07), B6 vitamini alımının en yüksek ile en düşük kategorilerini karşılaştırma; RR= 0.51 (0.38-0.69) Piridoksal 5'-fosfatın kandaki her 100 pmol / mL artış	- Tek karbon metabolizması - DNA sentezi ve DNA metilasyonu
Metionin	N/A	RR = 0.89 (0.79–1.00) en yüksek ile en düşük kategorilerini karşılaştırma	- Tek karbon metabolizması - DNA sentezi ve DNA metilasyonu - Hücre büyümesinin inhibe etme - Antiinflamatuvar etki
Vitamin A, C, E	Sınırlı-sonuçlandırılmış	RR = 0.93 (0.79–1.10) toplam A vitamini için, 0.86 (0.74-1.00) toplam C vitamini için ve 0.83 (0.70-0.99) toplam E vitamini için en yüksek ile en düşük kategorilerini karşılaştırma	- Antioksidan etki - Antiproliferatif etki - Proapoptotik etki - Antiinflamatuvar etki

Tablo 1. (devam). Kolorektal kanser riskini etkileyen besin ögeleri ve besinler (Song ve ark., 2015)

Selenyum	Sınırlı-sonuçlandırılmamış	RR = 0,81 (0,71-0,92), serum, plazma veya ayak tırnaklarında selenyum konsantrasyonlarının en düşük ve en düşük kategorilerini karşılaştırma	• Antioksidan etki • Antiproliferatif etki • Proapoptotik etki • Antiinflamatuvar etki
Toplam yağ	Sınırlı-sonuçlandırılmamış	RR = 0,99 (0,89–1,09) en yüksek ve en düşük kategorilerini karşılaştırma	• İntestinal safra asidi seviyesini artırma (Safra asitlerinin bakteriler tarafından deoksikolik aside metabolize edilmesi kolorektal kanser gelişimini indükleyebilmektedir)
Omega-3	Sınırlı-sonuçlandırılmamış	RR = 0,97 (0,86–1,10) en yüksek ile en düşük kategorilerini karşılaştırma	• Araşidonik asit türevi eikasonoid üretimini baskılaması sonucu inflamasyonda azaltma • Transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini düzenleme • Gen ekspresyonu ve sinyal transdüksiyonu • İnsülin duyarlılığını artırma • Hücre zarı akışkanlığının değiştirme
Kırmızı et ve işlenmiş et ürünleri	Kesin	RR =1,16 (1,04–1,30) kırmızı ve işlenmiş et alımında 100 g / gün artış	• Hem demirin karsinojenik etkisi • N-nitrozo bileşikler • Pişirme sırasında oluşan heterosiklik aminler • Adiposite ve insülin seviyelerini artırma
Süt	Olası	RR = 0,91 (0,85–0,94) toplam süt alımında 200 g / gün artış	• Kalsiyum ve vitamin D'nin (zenginleştirme yapılmış sütler için) antineoplastik etkisi • Konjuge linoleik asit • Bütirik asit • Laktoz
Meyveler	Sınırlı-destekleyici	RR = 0,97 (0,94–0,99) meyve alımında 100 g / gün artış	• Antikarsinojenik bileşikler (folat, vitaminler, posa, mineraller, flavonoidler) • Adipositeyi azaltma
Niştalı olmayan sebzeler	Sınırlı-destekleyici	RR = 0,98 (0,96–0,99) sebze alımında 100 g / gün alım artış	• Antikarsinojenik bileşikler (folat, vitaminler, posa, mineraller, flavonoidler, glukosinolatlar) • Adipositeyi azaltma
Tam tahıllar	Kesin	RR = 0,83 (0,78–0,89) tam tahıl tüketiminde 3 porsiyon / gün artış	• İçerisindeki posa, antioksidan ve fitokimyasallar antikanser etki • Adipositeyi azaltma • İnsülin duyarlılığını artırma • İnsülin seviyelerini azaltma

2.1.3. Kolorektal kanserde kullanılan tedavi yöntemleri

Kolorektal kanserde kullanılacak tedavi yöntemleri hastalığın derecesi ile ilişkilidir ve tümör-nod-metastaz (TNM) sınıflaması baz alınarak multidisipliner bir ekiple tedaviye karar verilmektedir (Board, 2019; IARC, 2019). Kolorektal kanserde moleküler bozukluklar ve hastalığın klinikopatolojik özelliklerinin bilinmesi tedavi yönetiminin daha iyi yapılabilmesine yardımcı olmaktadır (Sakanashi ve ark., 2019). Endoskopik rezeksiyon, cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi, hedefe yönelik tedavi, radyofrekans ablasyonu, kriyocerrahi kolorektal kanser tedavisinde kullanılan tedavi yöntemlerindendir (Dekker ve ark., 2019; Board, 2019). Bu tedavi yöntemlerinin yanında çeşitli alternatif tedavi yöntemleri (antiinflamatuvar ilaçlar, probiyotikler, metal bazlı ilaçlar (platinyum ve altın) ve fonksiyonel besinler kolorektal kanser tedavisinde kullanılan yeni tedavi yaklaşımlarındandır (Mármol ve ark., 2017).

Tüm tedavi yöntemlerindeki öncelikli amaç tümör hücresinin apoptozunu sağlamaktır (Sakanashi ve ark., 2019). Ancak tedavi sonucunda kanser hücresi apoptoza gitmek yerine kendi proliferatif yeteneklerini durdurarak hücrel senesens'e geçebilmektedir (Gonzalez ve ark., 2016).

2.2. Apoptoz

Apoptoz, tüm canlıların oluşumundan ölümüne dek, sağlığında ve hastalığında, sürekli olarak, gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerinin çevreye zarar vermeden moleküler temelleri ve süreci olan hücre içi bir programla ölümünü gerçekleştiren, programlanmış hücre ölümü mekanizmasıdır (Johnson ve ark., 2015). Çok hücreli organizmaların büyümesi, gelişimi ve devamlılığının sağlanmasında hücre üretimi kadar bu hücrelerin yok edilme mekanizmaları da önemli bir yer tutmaktadır (Johnson ve ark., 2015; Elmore., 2007). Apoptoz mekanizmaları oldukça kompleks ve enerji bağımlı moleküler kaskadlarla ilişkilidir (Elmore., 2007). Apoptoz, ekstrinsik, perforin/granzim ve intrinsik olmak üzere üç farklı yolakla gerçekleşmekle birlikte yolaklar birbiriyle ilişkilidir ve bir yolaktaki molekül diğer yolağı da etkileyebilmektedir (Şekil 2.) (Elmore., 2007).

Kaspazlar apoptozu ve inflamasyonu kontrol eden sistein proteaz enzimlerdir. Apoptozu hem başlatıp hem de durdurabilirler (Rahmanian ve ark., 2016). Kaspaz-2,

8, 9 ve 10 başlatıcı kaspazlarken, kaspaz-3 ,6 ve 7 sonlandırıcı kaspazlardır (Pistritto ve ark., 2016). Kaspazlar normalde inaktif olarak bulunurlar ve apoptoz ya da inflamasyon durumlarında dimerize olarak aktif forma geçerler ve apoptozu başlatırlar (Rahmanian ve ark., 2016; Shalini ve ark.,2015). Prokaspaz-8 ve -10 ekstrinsik yolağı, prokaspaz-9 ise intrinsik yolağı başlatıcı kaspazlardır. Bununla birlikte kaspaz 8 hem ekstrinsik hem de intrinsik yolağı aktive edebilmektedir (Pistritto ve ark., 2016).

2.2.1. Ekstrinsik yolak (ölüm reseptör yolağı)

Ekstrinsik yolak, ölüm reseptörü bağımlı yolak olarak da bilinmekte ve hücre yüzeyindeki ölüm reseptörleri aracılığı ile başlamaktadır (Pistritto ve ark., 2016). Bu ölüm reseptörleri Tümör nekrozis faktör reseptör (TNFR) süper ailesine ait homotrimer yapıda transmembran proteinleridir (Johnson ve ak., 2015). TNFR1-TNF- α , FAS (CD95, APO-1), FasL, TRAILR1 (DR-4)-TRAIL, TRAILR2 (DR5)-TRAIL ölüm reseptörleridir ve bu reseptörler kendisine uygun ligandı stimüle ederler. (Pistritto ve ark., 2016). Ekstrinsik yolak ile ilgili en fazla bilinen ligandlar arasında FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4 ve Apo2L/DR5 ligandları gösterilebilmektedir (Elmore., 2007). Ligandın stimüle olmasıyla reseptör oligomerizasyon ve konformasyonel değişikliğe uğrayarak sitoplazmik ölüm domaini oluşturur. Bu ölüm domaini daha sonrasında ölüm domaini içeren proteinlerle etkileşime geçmektedir (Pistritto ve ark., 2016). Ölüm proteini ile bağılı ligandlar prokaspaz-8'e bağlanarak ölüm indükleyici sinyalizasyon kompleksini (Death inducing singnaling complex) oluştururlar (Pistritto ve ark., 2016).Kaspaz-8'in aktive olması apoptozun son basamağını aktive etmektedir (Elmore., 2007).

2.2.2 Perforin/Granzim yolağı

T-hücre aracılı sitotoksiste ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünün gerçekleştiğı apoptotik yolaktır (Elmore., 2007). Bu yolakta hücrede sitotoksiste; T-hücreleri ve doğal öldürücü hücreler aracılığı ile sağlanmaktadır (Trapani ve Smyth., 2002). T-hücre aracılı hücre ölümünde sitotoksik T hücreleri ekstrinsik yolak aracılığı ile ve FasL/FasR etkileşimi ile hedef hücrede apoptozu tetikleyebilmektedir (Elmore., 2007). Bunun yanında tümör ya da virüs hücrelerinde transmembran por oluşumunu

sağlayan molekül perforinin sekresyonunu da sağlamakta ve daha sonra bu porlardan hedef hücreye serin proteaz enzimleri olan granzim A ve granzim B salınımı ile apoptoz indüklenmektedir (Elmore., 2007; Martinvalet ve ark., 2005).

Granzim A; apoptozu kaspaz bağımlı olmayan yolak üzerinden indüklerken granzim B; kaspaz bağımlı yolakla hücrede apoptozu indüklemektedir. (Elmore., 2007). Granzim A, DNAaz NM23-H1'i aktive etmektedir. Bunun aktive olması SET'in inhibisyonunu sağlamaktadır. SET nükleusta lokalize olmuştur ve hücrenin oksidatif strese yanıtı, kromatin yapısı ve DNA tamiri ile ilişkilidir (Elmore., 2007; Martinvalet ve ark., 2005). Granzim A; SET inhibisyonunu sağlayarak hücrede oksidatif stresi ve mitokondrial membran potansiyelinin kaybını da sağlamaktadır (Martinvalet ve ark., 2005). Mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması, DNA ve kromatin yapının korunamaması ise hücrede apoptozu tetiklemektedir (Abate ve ark., 2020; Elmore., 2007).

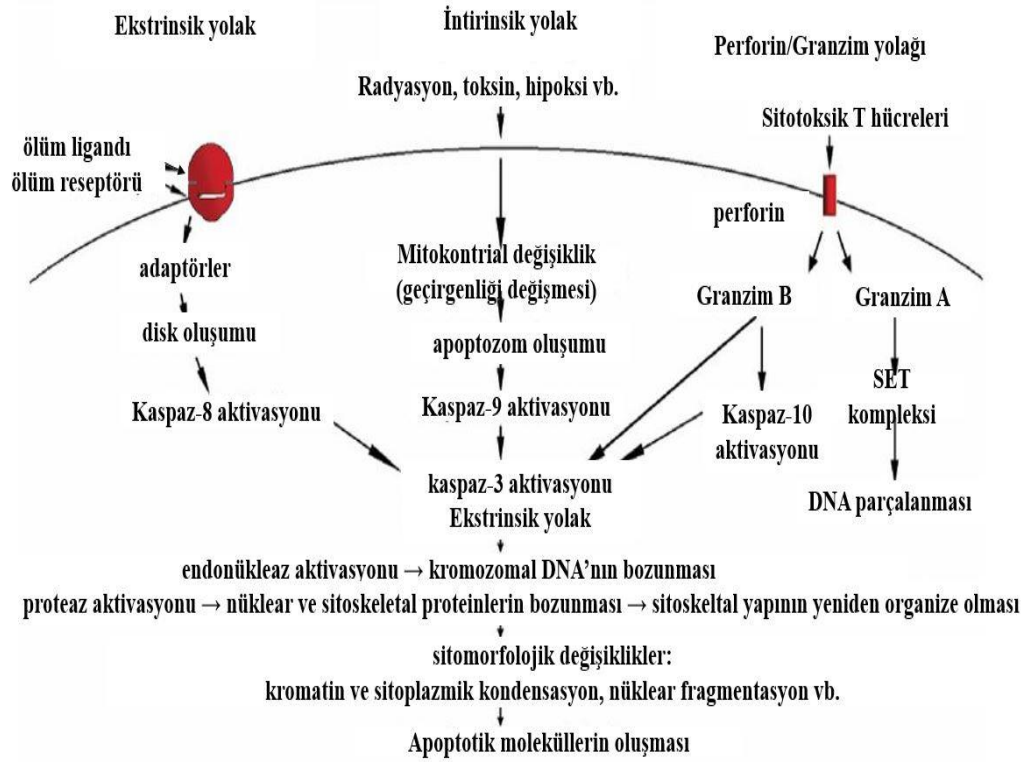
Hücrede granzim B, çeşitli proteinleri aspartat kalıntılarına parçalar ve bu parçalanma prokaspaz-10 aktivasyonunu ve ICAD (Inhibitor of Caspase Activated DNAase)'un bozunmasını sağlar. Ayrıca granzim B, Bid parçalanmasını ve sitokrom c salınımını da uyurabileceği gibi direkt olarak kaspaz-3 aktivasyonunu da tetikler (Elmore., 2007).

2.2.3. İntirinsik yolak (mitokondriyal yolak)

Radyasyon, kemotöröpötik ajanlar, DNA hasarı gibi hücrede stres yaratan durumlarda hücreler kendi apoptozlarını aktive edebilmektedir ve bu apoptotik yolak intrinsik veya mitokondriyal yolak olarak tanımlanmaktadır (Pistritto ve ark., 2016; Johnson ve ark., 2015). Hücrede stres meydana geldiğinde, hücredeki mitokondriyal membran geçirgenliği bozulur ve mitokondriyal membrandaki geçiş porları açılarak organellerin intermembran boşluklarında bulunan mitokondrial proteinler sitozole salınır (Johnson ve ark., 2015; Elmore., 2007). Sitozole salınan proteinler sitokrom c, Smac/Diablo, endonükleaz G ve diğer intermembran proteinleridir (Abate ve ark., 2020). İntirinsik yolaktaki en önemli proteinlerden bir tanesi olan sitokrom c, sitozole salındığı zaman adaptör protein Apaf1'e (apoptotic protease activating factor-1) bağlanarak oligomerize olur ve apoptozomu oluşturur ve intrinsik yolakta görevli

kaspaz 9 aktive edilir (Johnson ve ark., 2015). Kaspaz 9'un aktive olması sonlandırıcı kaspazlar olan prokaspaz-3 ve prokaspaz-7'yi de aktive eder (Fan ve ark., 2005).

Bcl-2 ailesi proteinleri intrinsik yolağın en önemli intraselüler düzenleyicileridir (Johnson ve ark., 2015). Bcl-2 ailesi proteinleri proapoptotik (apoptozu indükleyici) ve antiapoptotik (apoptozu inhibe edici) olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır (Grilo ve Mantalaris., 2019). Bax (Bcl-2 ilişkili protein X), Bak (Bcl-2 homolog antagonist öldürücü) ve Bok (Bcl-2 ile ilişkili yumurtalık öldürücü) proteinler bu aileye ait proapoptotik proteinlerken, Bcl-2, 1bcl-xL (B-hücre lenfoma ekstra büyük), Bcl-W (Bcl-2 benzeri protein 2), Mcl-1(indüklenmiş miyeloid lökemi hücresi farklılaştırıcı protein), Bcl2A1 (Bcl-2 ilişkili protein A1) ve Bcl-B (Aminoasit sekansı Boo proteinine benzeyen Bcl-2 proteini) proteinleri antiapoptotik proteinlerdir (Grilo ve Mantalaris., 2019). Bu proteinlerin görevi sitokrom c ve diğer mitokondrial membran proteinlerin sitozole salınımını kontrol etmektir (Johnson ve ark., 2015; Grilo ve Mantalaris., 2019). Özellikle Bax ve Bcl-2 proteinleri intrinsik apoptozun önemli regülatörleridir ve bu Bax/Bcl-2 arasındaki denge hücre canlılığının devamı ya da apoptozunda önemli bir göstergedir (Elmore., 2007). Bcl-2 kaspazları inhibe edip Bax gibi proapoptotik proteinleri baskılayarak hücre ölümünü inhibe etmekte ve hücre canlılığını sağlamaktadır (Rahmanian ve ark., 2016).



Şekil 2. Apoptotik yollar (Elmore., 2007)

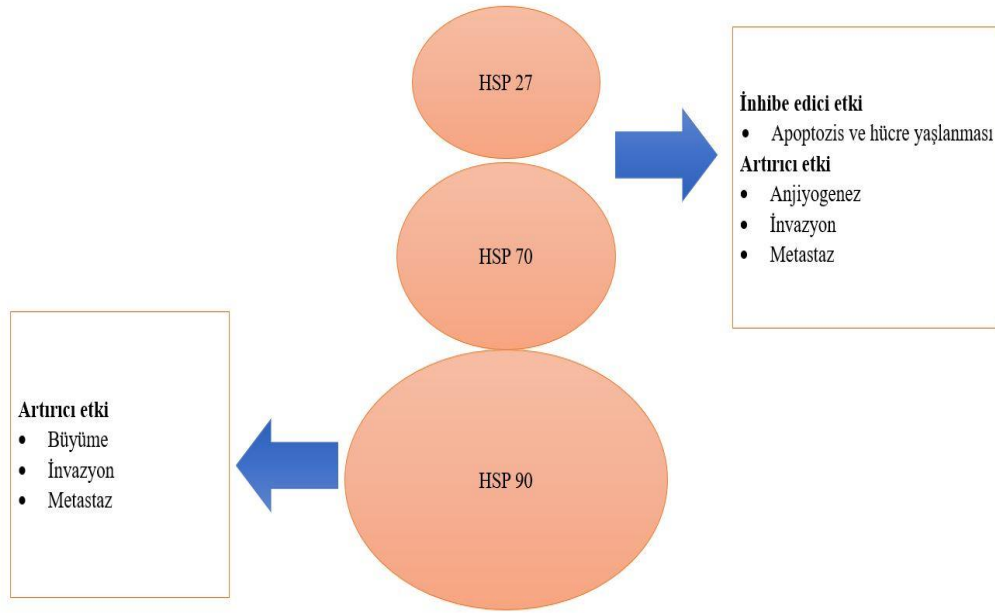
2.2.3.1. İntirinsik yolak ve ısı şok proteinleri

Isı şok proteinleri (Heat Shock Proteins-HSP), şaperon ailesine ait protein katlanması ve maturasyonunda rol oynayan proteinlerdir (Chatterjee ve Burns., 2017). Hücrede hipertermi, iskemi, anoksi, hipoksi, toksinler, ultraviyole (UV) ışınları, viral partiküller, ağır metaller ilaçlar ya da diğer kimyasal ajanlar gibi hücrede stres veya protein denatürasyonunun indüklendiği durumlarda ekspresyonu artmaktadır ve hücredeki hemostatik dengenin sağlanması, proteinlerin doğal yapısı ve fonksiyonunun korunmasını sağlamaktadır (Chatterjee ve Burns., 2017). Strese karşı Hsp proteinlerinin ekspresyonunun artırılması normal hücreler için olağan bir durumdur ancak bu ekspresyonun regülasyonunun bozulması kanser gibi çeşitli hastalıkların gelişim riskini artırmaktadır (Chatterjee ve Burns., 2017). Kanser hücreleri, normal hücrelere göre daha fazla metabolik ihtiyaca sahip olup sinyalizasyon yollarında artma söz konusudur ve yaşamın devamlılığını sağlayabilmek için daha fazla şaperona ihtiyaç duymaktadırlar (Chatterjee ve Burns., 2017).

Hsp protein ailesi moleköl ağırlıklarına göre sınıflandırılmaktadır ve Hsp27 (HSPB1), Hsp40 (DNAJ), Hsp60 (HSPD), Hsp70 (HSPA), Hsp90 (HSPC), Hsp110 (HSPH) gibi alt sınıflara ayrılmaktadır (Calderwood., 2018; Sottile ve ark., 2015). Hsp27, Hsp70 ve Hsp90 stresle indüklenabilen ısı şok proteinleridir ve malignan hücrelerde ekspresyonu artmaktadır (Chatterjee ve Burns., 2017).

Hsp 27, küçük Hsp familyasına ait 12-43 kdal moleköl ağırlığına sahip bir ısı şok proteinidir ve hücrede strese yanıt olarak eksprese edilmektedir (Wu ve ark., 2017). Yüksek Hsp27 ekspresyonu, epitelial-mezenkimal transisyon, hücre migrasyonu, invazyonu, MMP aktivitesini artırarak kanser gelişimi, ilerlemesi ve metastazını aktive edebilmekte ve yine tümör hücresinde apoptozu etkileyebilmektedir. Ayrıca Hsp27 tümör hücresinin prognozunun ve tedaviye olan direncinin de göstergesi olarak kabul edilmektedir (Şekil 3.) (Liang ve ark., 2018).

Hsp27 apoptotik yolağı çeşitli basamaklarda inhibe edebilmektedir (O'Callaghan-Sunol ve ark., 2007). Hsp27 sitokrom c'ye bağlanarak Apaf1'e ve prokaspaz-9'a bağlanarak kaspaz aktivasyonunu inhibe edici aktivite göstermektedir (Bruey ve ark., 2000). Bununla birlikte, Bcl-2 protein ailesine ait proapoptotik Bid proteinin kaspaz-8 bağımlı aktivitesini önleyebileceğinden apoptozu inhibe edebilir. Ayrıca, Hsp27 proteini çeşitli kemoterapötik ajanların tümör hücresinde oluşturduğu ROS (reaktif oksijen türevleri) üretimini azaltarak hücrede hücrenin apoptoza gitmesini önleyebilmektedir (O'Callaghan-Sunol ve ark., 2007).



Şekil 3. Hücre içi HSP'lerin tümörjenik etkileri (Calderwood., 2017)

2.3. Hücre Yaşlanması (Senesens)

Hücre yaşlanma, ökaryotik hücrelerde hücre bir kadedir (Yuan ve ark., 2020). Senesens ilk olarak 1961 yılında primer insan fibroblast hücrelerinde büyümenin durmasından önce bölünme sayısının azalması ile birlikte hücre bölünmesinin geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olarak durmasıyla tanımlanmıştır (Gonzalez ve ark., 2016; Mikuła-Pietrasik ve ark., 2019). Hücreler normal büyüme koşullarında proliferasyon olabilecekleri gibi sessiz de kalabilirler veya farklılaşabilirler (Yuan ve ark., 2020). Ancak hücreler aşırı oksidatif stres, telomer kısalması, onkogen aktivasyonu, DNA hasarına sebep olan çeşitli ajanlar (iyonize radyasyon, kemoterapötik ajanlar) gibi durumlara yanıt olarak hücre ölümüne gitmek yerine hücre siklusunu durdurarak senesense girebilirler (Yuan ve ark., 2020; Hanahan ve Weinberg., 2011). Senesens durumundaki hücreler yaşayan ancak hücre siklusunu durdurmuş ve apoptoza direnç gösteren hücrelerdir (Binenbaum ve ark., 2020). Senesens, kanser tedavisinde tümör hücrelerinin büyümesi ve farklılaşmasını inhibe ederek tümörögenezi baskılayıcı etki gösteren mekanizmalardan bir tanesi olmakla birlikte kanser hücrelerinin gelişimine de sebep olabilmektedir (Gonzalez ve ark., 2016; Mikuła-Pietrasik ve ark., 2019).

Hücrelerde farklı tiplerde senesens meydana gelebilmektedir (Hernandez-Segura ve ark., 2018). Senesens genel olarak tekrarlayan ve stres indüklü prematüre olmak üzere iki ana mekanizma ile gerçekleşebilmektedir (Mikuła-Pietrasik ve ark., 2019). Tekrarlayıcı senesensin esas sebebi; hücrelerin her bölünmede telomerlerinde meydana gelen kısalmadır ve telomer bağımlı senesens olarak da tanımlanmaktadır (Binenbaum ve ark., 2020). Bununla birlikte hücreler çeşitli stres durumlarında hızlı bir şekilde hücre siklusunu durdurabilmekte ve bu da stres indüklü senesens olarak tanımlanmaktadır. Stres indüklü senesens telomer bağımlı olabileceği gibi telomer uzunluğu ile ilişkili olmayabilmektedir (Mikuła-Pietrasik ve ark., 2019).

Hücre yaşlanmasının aktivasyonu çeşitli sinyalizasyon yolları ile ilişkilidir. p53-p21 ve p16^{INK4a}-pRB sinyalizasyon yolları hücrede yaşlanmayı başlatmakta ve iletirmektedir (Yuan ve ark., 2020). p21 ve p16 proteinleri siklin bağımlı kinaz (CDK-Cyclin Dependent Kinases) inhibitörleridir (Yamashiro ve ark., 2011). Bu inhibitörler hücrede proliferasyonu artıran siklinler ve siklin bağımlı kinazlarla birlikte kompleks yaparak hücre siklusunu durdurucu etki göstermektedirler (Yamashiro ve ark., 2011). Hücrede genomik bir hasar olduğu durumlarda DNA hasar yanıtı gelişerek p53-p21 sinyalizasyonu aktive olmaktadır (Yuan ve ark., 2020). p53'ün aktive olması p21 sentezini artırmaktadır. p21 varlığında, Rb fosforillenemez ve bir transkripsiyon faktörü olan E2F'ye bağlı olarak kalmaktadır. E2F'nin Rb ile bağlı olması hücre döngüsünü G1 fazında durdurucu etki göstermektedir (Lehninger VE ARK., 2004; Rayess ve ark., 2012). Rb fosforilasyonunun gerçekleşmesi hücre siklusunun artışı ile karakterizedir. Rb'nin aşırı fosforillendiği durumlarda p16 ekspresyonu uyarılmakta ve CDK4/6'yi inhibe ederek hücre siklusunu durdurmaktadır (Rayess ve ark., 2012). Hücrede artmış p16 seviyeleri hücrede strese bağlı senesensin göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir (Gire ve Dulic., 2015; Mikuła-Pietrasik ve ark., 2019). Senesens indüklenen bazı tümör hücrelerinde düşük p16 seviyeleri olduğu ve bu hücrelerin p53 inaktivasyonu aracılığı ile hücre siklusunu tekrardan başlatabileceği rapor edilmiştir (Beauséjour ve ark., 2003).

Tümörögeneziste hücre siklusunu kontrol eden proteinlerden bir tanesi de lamin ailesine ait proteinlerdir (Malvezzi ve ark., 2018). Bu proteinler, hücrede nüklear membranın iç kısmında bulunmakta ve hücrenin yapısal devamlılığının korunmasını sağlamaktadır (Malvezzi ve ark., 2018). Lamin A, B (B1 ve B2) ve C olmak üzere üç ana kısımda incelenmektedir (Shimi ve ark., 2011; Freund ve ark., 2012). Lamin A ve

C hücre farklılaşması ile ilişkilendirilirken Lamin B1 hücre proliferasyonu ile ilişkilendirilmektedir (Lukášová ve ark., 2018; Malvezzi ve ark., 2018). Kanseri hücrelerindeki lamin B1 ekspresyonu kanser hücrelerinin tipine göre farklılık gösterebilmektedir (Sakthivel et al., 2016). Lamin B1 prostat, karaciğer ve pankreatik kanserlerinde yüksek miktarda eksprese edilirken, mide, akciğer ve kolon kanserlerinde düşük eksprese edilmektedir (Sakthivel et al., 2016, Izdebska et al., 2018). Hücre yaşlanmasına girmiş hücrelerde lamin B1 ekspresyonu düşük olup bu durum hücrelerin uyku durumunda kalıp saklanabilmelerine yardımcı olabilmektedir (Malvezzi et al., 2018). Bununla birlikte kolorektal kanserde artmış lamin B1 ekspresyonunun p53-p21 yolağı üzerinden senesensi indükleyebileceğini gösteren veriler de bulunmaktadır (Liu ve ark., 2013).

Siklinler hücre siklusunun en önemli düzenleyicilerindendir ve CDK'lar tarafından aktive edilirler. Siklin B1 hücre siklusunda önemli bir siklin olup G2/M fazı ve mitozis için oldukça önemli bir proteindir (Ye ve ark., 2017). Siklin B1 ekspresyonu normal hücrelerde düşük olup G2/M fazında artış gözlemlenmektedir (Ye ve ark., 2017). Bununla birlikte siklin B1 ekspresyonu kolon kanseri gibi çeşitli kanser hücrelerinde artış göstermektedir (Ye ve ark., 2017). Siklin B1 ekspresyonunun azalması hücrelerde proliferasyonu inhibe ederek senesensi indükleyebilmektedir (Zhang ve ark., 2018).

2.4. Eksozomlar

Eksozomlar, prokaryot ve ökaryot hücrelerde direkt ya da indirekt şekilde oluşabilen ekstrasellüler veziküllerdir (Ersöz ve ark., 2016). Eksozomlar vücutta çeşitli hücrelerden salgılanır ve protein Mesajcı ribonükleik asit (mRNA), mikrozomal ribonükleik asit (miRNA) ve çeşitli sinyalizasyon moleküllerini içerir (Chen ve ark., 2019). Eksozomların görevlerinin ilk başta hücre atıklarını uzaklaştırmak olduğu düşünülse de daha sonrasında hücreler arası haberleşme, sinyal iletimleri gibi önemli yollarda etkili olduğu gösterilmiştir (Ersöz ve ark., 2016). Eksozomları hücreler tarafından hücre içerisine alınabilmesi hücreler arası iletişim ve sinyalizasyonun sağlanmasına yardımcı olmaktadır ve bu durum kanser hücrelerinin büyüme ve sağ kalımları ile yakından ilişkilidir (Li ve ark., 2016). Tümör hücresinden salgılanan eksozomlar aynı tip bir hücreye (otokrin etki), komşu hücreye (parakrin etki) ya da dolaşım yolu ile daha uzak bir organa taşınabilmektedir. Bu sayede de tümör hücresine

karşı oluşturulacak immün yanıtın azalmasına, anjiyogenezin, hücre invazyonunun ve metastazın indüklenmesine sebep olabilmektedirler (Falcone ve ark., 2015). Eksozomları bu kadar önemli kılan diğer bir nokta içerdikleri mRNA ve miRNA kargolarıdır (Ersöz ve ark., 2016). MiRNA'lar hücrelerde çeşitli davranışları etkileyerek hücrelerin farklılaşması, gelişmesi, metabolizması, proliferasyonunu indükleyebilmektedir (Falcone ve ark., 2015). Bu özelliklerinin yanında metastatik ilerlemeyi durdurucu etki gösteren tümör baskılayıcı miRNA'lar da bulunmaktadır. Ancak bu miRNA'lar kanser kök hücreleri gibi birçok tümör hücresi tarafından azaltılmaktadır ve tümör hücrelerinin agresif davranışlarını devam ettirebilmek için bu şekilde davrandığı düşünülmektedir (Falcone ve ark., 2015; Ohshima ve ark., 2010).

2.5. Resveratrol

2.5.1. Tanımı

Resveratrol, stilben sınıfında yer alan polifenolik bir fitoaleksindir. İlk olarak 1940 yılında *Veratrum grandiflorum* (Maxim ex miq.) O. Loes bitkisinin köklerinde tanımlanmıştır (Sales ve Resurreccion., 2014). Tanımlanan bu bileşik, kimyasal yapı olarak rezorsinol türevi olması, izole edildiği bitki (*Veratrum türleri*) ve yapıdaki hidroksil gruplarının (-OH) kombinasyonu olarak resveratrol olarak isimlendirilmiştir (Park ve Pezzuto., 2015). Resveratrol, 1963 yılında geleneksel Çin ve Japon tıbbında çeşitli hastalıkların (karaciğer, deri, kalp ve dolaşım sistemi ve lipid metabolizması) tedavisinde kullanılan *Polygonum cuspidatum* köklerinden izole edilmiştir (Sales ve Resurreccion., 2014). 1976 yılında asma yapraklarında mantar enfeksiyonları ve ultraviyole ışınlar maruziyet sonrası bitkinin savunma mekanizması olarak sentezlendiği bildirilmiş, (Langcake ve Pryce., 1976), 1992 şarapta *trans*-resveratrol bulunduğunun rapor edilmesiyle birlikte resveratrolün memeli biyokimyasındaki etkilerine ve klinik çalışmalarda kullanılmasına yönelik ilgi artmıştır (Soleas ve ark., 1997).

Resveratrol birçok farklı bitki türünde bulunabilmekle birlikte besinsel kaynaklarda daha sınırlı şekilde bulunmaktadır (Koushki ve ark., 2018; Harikumar ve Aggarwal., 2008) Resveratrol; beyaz çöplme otu, üzüm kabuğu, *Rheum officinale* Bail, üzüksü meyveler, yer fıstığı, kakao ve *Polygonum cuspidatum* gibi bitkilerde ve şarapta bulunmaktadır (Şekil.4.) (Jiang ve ark., 2017; Koushki ve ark., 2018). Ayrıca

dut, kıvılcık, yaban mersini gibi çeşitli üzümşü meyveler, erik ve domates gibi besinler de resveratrol içermektedir (Dybkowska ve ark., 2018). Besinlerin içermiş oldukları resveratrol miktarları Tablo.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Çeşitli Besinlerin Resveratrol İçerikleri (Koushki ve ark., 2018; Hurst ve ark., 2008; Dybkowska ve ark., 2018)

Besin	Resveratrol içeriği
Polygonum cuspidatum	524 µg/g
Üzüm	0,16-3,52 µg/g
Üzüm kabuğu	50-100 µg/g
Kurutulmuş üzüm kabuğu	24,06 µg/g (kuru ağırlık)
Üzüm kabuğu ekstraktı	3,54 µg/g (kuru ağırlık)
Üzüm çekirdeği ekstraktı	5,89 µg/g (kuru ağırlık)
Kırmızı üzüm suyu	0,5 mg/L
Yer fıstığı	0,02-1,92 µg/g
Yer fıstığı (çiğ)	0,09-0,30 µg/g
Yer fıstığı (kavrulmuş)	0-0,13 µg/g
Erik (kabuk)	0,1-6,2 µg/g
Domates (kabuk)	18,4±1,6 µg/g (kuru ağırlık)
Dut ekstraktı	50.61 µg/g (kuru ağırlık)
Yaban mersini	~0,032 µg/g
Kıvılcık suyu	0,2 mg/L
Kırmızı şarap	0,1-14,3 µg/ml
Beyaz şarap	<0,1-2,1 µg/ml
Kakao tozu	1,85 ±0,43 µg/g
Bitter çikolata	0,35 ±0,08 µg/g
Sütlü çikolata	0,10 ±0,05 µg/g

2.5.2. Kimyasal yapısı ve biyosentezi

Kimyasal olarak *trans*-3,5,4’-trihidroksistilben yapıda olup birbirine etilen köprüsü ile bağlanmış iki fenolik halkadan oluşmaktadır. Suda çözünmez ancak etanolde çözünür özellik göstermektedir (Dybkowska ve ark., 2018). Resveratrolün *trans*- ve *cis*- olmak üzere iki geometrik izomeri bulunmaktadır (Weiskirchen ve Weiskirchen., 2016). İki izomer birbiri ile benzerlik gösterse de *trans*- resveratrol

çoğunlukla üzümde bulunurken *cis*- formu kırmızı şarapta daha yoğun olarak bulunmaktadır (Yeung ve ark., 2019). Resveratrol polimerleri; üzüm kabuklarının fermentasyonu, UV ışınları ve yüksek pH maruziyeti ile parçalanmakta ve *trans*-resveratrol oluşmaktadır. *Trans*-resveratrolün isomerizasyonu sonucu *cis*-resveratrol oluşmaktadır (Dybkowska ve ark., 2018). *Trans*-resveratrol doğada daha yaygın bulunmaktadır ve stabilitesi ile biyoyararlılığı *cis*-resveratrole göre daha yüksektir (Weiskirchen ve Weiskirchen., 2016; Harikumar ve Aggarwal., 2008).

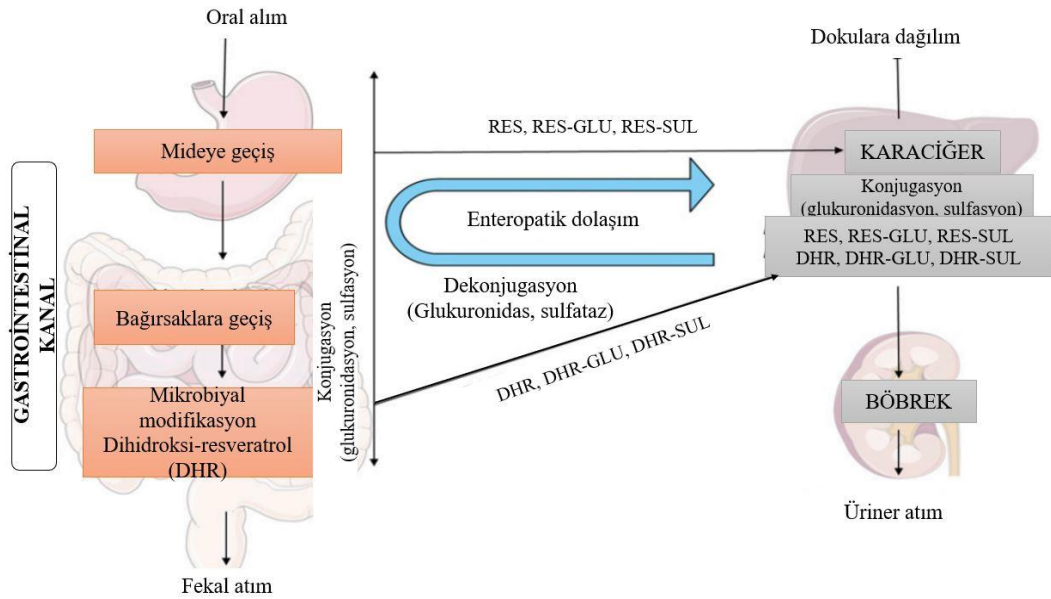
Stilbenler fenilalanin/polimalonat yolağı ile sentezlenmektedir. *Trans* resveratrolün sentezi fenilalanin ya da tirozin ile başlayabilmektedir. Bu iki aminoasit de *para*-kumarik aside dönüşebilmektedir ve oluşan bu molekül, *para*-kumarik asit koenzim A ligaz (4CL) enzimi tarafından *para*-kumaril-CoA' ya dönüşmektedir. *Para*-kumaril-CoA, stilben sentaz aracılığı ile üç molekül malonil-CoA ile kondense olarak *trans*-resveratrolü oluşturmaktadır (Jeandet ve ark., 2012).

Resveratrolün terapötik aktivitesi; içermiş olduğu karboksil gruplarının sayısı, bu grupların moleküle bağlandığı pozisyonlar, molekül içi hidrojen bağları, stereoisomer ve yapıdaki çift bağların pozisyonu gibi yapısal karakteristik özelliklerine bağlıdır (Garg ve Sardana., 2017). Özellikle hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonu resveratrolün antioksidan ve antiproliferatif aktivitesi üzerinde önemli bir rol oynamaktadır (Coppa ve ark.,2011). Resveratrolün antioksidan ve antiproliferatif aktivitesini gösterebilmesi için *trans*- konformasyonunda olması gerekmektedir. Ayrıca 4' pozisyonunda hidroksil grubunun varlığı antioksidan aktivitesi için gerekli değilken antiproliferatif aktivite gösterebilmesi için 4'. pozisyonunda *orto*-difenoksil ve *para*-difenoksil fonksiyonel gruplarını ve çift bağ taşıması gerekmektedir (Stivala ve ark., 2001; Garg ve Sardana., 2017).

2.5.3. Metabolizması ve biyoyararlılık

Resveratrol doğal olarak glikozillenmiş formda (3,4',5-trihidroksi-stilben-3-β-D-glukozit) bulunmaktadır. Resveratrolün oral alımı ile birlikte alınan miktarın %70-75'inin emildiği rapor edilmektedir (Chaplin ve ark., 2018; Garg ve Sardana., 2017) Emilen resveratrolün %25'lik kısmı direkt olarak vücuttan atılmakta ve sadece %1,5'lik bir oranda hiçbir değişime uğramadan dolaşım sistemine katılmakta, %50'ı glukuronizasyona uğramakta, %13,5'lik kısmı ise sulfatlanmaktadır (Springer ve

Moco., 2019). Resveratrolün Emilimi basit difüzyonla ya da integrin gibi transmembran proteinleri ile kompleks yaparak gerçekleşmektedir. Kanda bulunan serbest resveratrol lipoproteinler ve albümine bağlı şekilde dolaşıma katılmakla birlikte kanda bulunan serbest resveratrol miktarı düşük seviyelerdedir. Bu düşüklüğün sebebi resveratrolün karaciğer ve bağırsakta üridin 5'-difosfo-glukuronosiltransferaz enzimi (UGT) aracılığı ile glukuronizasyona ve sulfotransferaz (SULT) enzimi aracılığı ile sulfasyona uğramasıdır (Şekil.4) (Chaplin ve ark., 2018; Springer ve Moco., 2019, Bird ve ark., 2017). Glukuronizasyon ve sulfasyona uğrayan resveratrolün biyoyararlılığı azalmaktadır. Resveratrolün dolaşımında bulunduğu başlıca formları glukuronid (*trans*-resveratrol-3-glukuronid, *trans*-resveratrol-4'-glukuronid) ve sülfatlanmış (*trans*-resveratrol-3-sulfat, *trans*-resveratrol-3,4'-disulfat, *trans*-resveratrol-3,5-disulfat) şekildedir (Chaplin ve ark., 2018).



Şekil 4. Resveratrol metabolizması (Bird ve ark., 2017).

Bağırsak mikrobiyotası; resveratrol öncü moleküllerinin resveratrole dönüştürülmesinde ve biyoyararlılığının artırılmasında etkin rol oynamaktadır (Gowd ve ark., 2019; Chaplin ve ark., 2018). Bağırsak bakterileri piseid gibi resveratrol öncüsü glukozit bileşiklerin glikozitlerini parçalayarak resveratrol gibi aglikon bileşikleri oluşturur. *Bifidobacteria infantis* ve *Lactobacillus acidophilus*; piseid'ten resveratrol üretiminde rol oynayan iki önemli bakteri türüdür. Resveratrol bağırsaklarda tekrardan glikozillenerek piseide dönüştürülmektedir ve piseid de

sonrasında piseid glukuronide konjuge edilmektedir. Piseid serbest formda emilmekle birlikte çoğunlukla konjuge formda bulunmaktadır (Chaplin ve ark., 2018).

Resveratrol ve öncü moleküllerinin bağırsak bakterileri tarafından metabolize edilmesi çeşitli resveratrol metabolitlerinin açığa çıkmasına sebep olur. Dihidroresveratrol, 3,4'-dihidroksi-*trans*-stilben and 3,4'-dihidroksibibenzil (lunularin) bu metabolitlerden bazılarıdır. Bu metabolitler de resveratrol gibi glukuronid formda bulunmaktadır. Oral resveratrol alımından sonra dihidroresveratrol glukuronid metaboliti plazma ve idrarda diğer metabolitlere kıyasla daha fazla bulunmaktadır (Chaplin ve ark., 2018). Resveratrol metabolitlerinin teröpatik aktivitesi kanda ve plazmada bulunma süresi ile doğru orantılıdır (Garg ve Sardana; 2017). 25 mg'lık resveratrolün oral alımdan sonra pik konsantrasyonun 0.5-2 saat sonrasında görüldüğü ve konsantrasyonun <10ng/mL olduğu rapor edilmiştir (Goldberg ve ark., 2003). Farklı bir çalışmada ise yine 25 mg'lık oral resveratrol alımı sonucu pik konsantrasyonun 491±90 ng/mL (about 2 µM) olduğu plazma yarılanma ömrünün de 9.2±0.6 h olduğu bildirilmiştir (Walle ve ark., 2004).

2.5.4. Resveratrol ve sağlık

Akdeniz diyeti ve Fransız diyeti gibi orta düzeyde şarap tüketiminin olduğu beslenme modellerinde kardiyovasküler hastalık insidansının ve mortalitesinin daha düşük olduğu rapor edilmiş ve bu durumun şarapta bulunan polifenolik bileşiklerle ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Ndlovu ve ark., 2019). 1992 yılında Sieman ve Creasy kırmızı şarapta *trans*-resveratrol bulunduğunu rapor etmesiyle birlikte resveratrolün memeli biyokimyasındaki etkilerine ve klinik çalışmalarda kullanılmasına yönelik ilgi artmıştır (Soleas ve ark., 1997).

Resveratrol güçlü bir antioksidandır. Antioksidan özelliğinin yüksek olması amfifilik karaktere sahip olmasıyla ilişkilendirilmektedir. Hem hidrofobik hem de hidrofilik kısımlarının olması hücre ve hücre membranındaki yapıları oksidatif hasardan koruyabileceğini düşündürmektedir ve bu özellikleri sayesinde çeşitli kronik hastalıklardan koruyucu potansiyel etki gösterebilmektedir (Dybkowska ve ark., 2018; Valentovic., 2018; Pandey ve Rizvi., 2011)

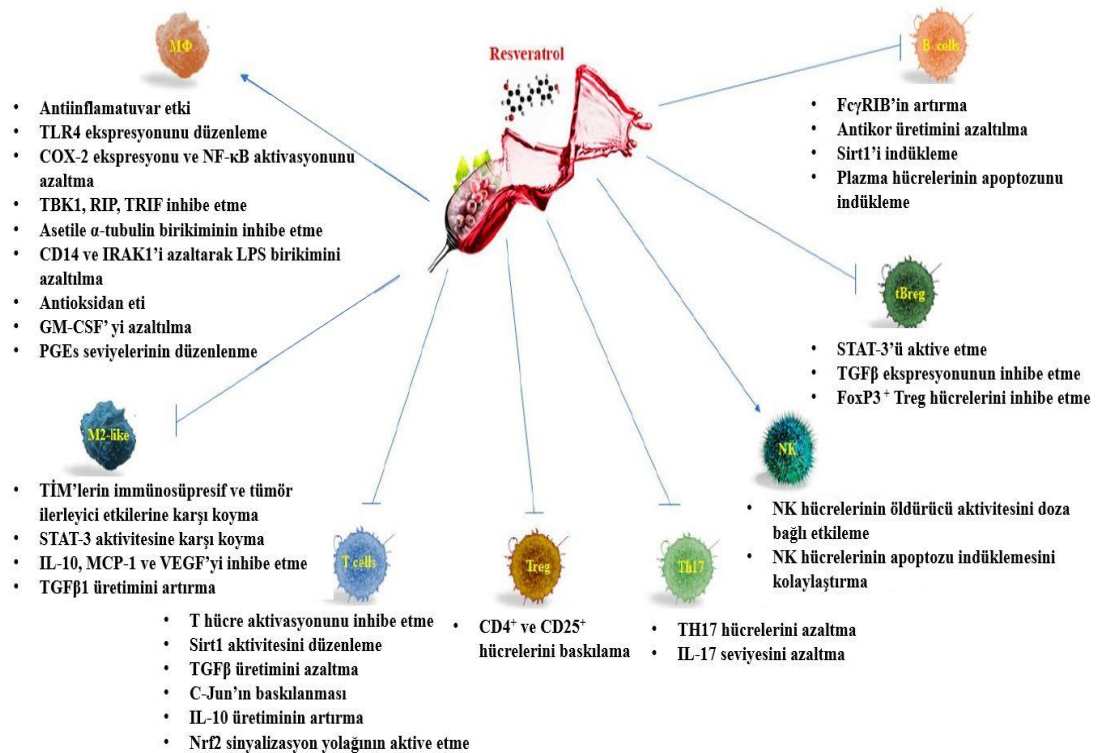
1997 yılında resveratrol ve deri kanseri hücreleri üzerinde yapılan çalışma ile resveratrolün antioksidan ve antitumörjenik etki göstererek faz II enzimlerini uyardığı, antiinflamatuar etki göstererek siklooksijenaz ve hidroksiperoksidaz enzimlerini inhibe ettiği bildirilmiş ve böylece bu bileşiğin kanserin başlaması ve ilerlemesinde durdurucu potansiyel etkisinin olabileceği savunulmuştur (Jang ve ark., 1997). Resveratrolün antikanser etki gösterebileceği fark edildikten sonra bu bileşiğin sağlık üzerindeki potansiyel etkilerine olan ilgi de artış göstermiştir (Meng ve ark., 2020). Araştırma sonuçları; resveratrolün kardiyoprotektif, antiplatelet, antiinflamatuar, antidiyabetik, antiaging, nöroprotektif, hepatoprotektif, antiastım, antiartirit ve antikanser aktivite gösterdiğini belirtmektedir (Şekil 6.) (Pandey ve Rizvi., 2011; Kuršvietienė., 2016).



Şekil 5. Resveratrol ve sağlık üzerindeki potansiyel etkileri (Pandey ve Rizvi., 2011; Park ve Pezzuto., 2015; Malaguarnera., 2019).

Resveratrol immün sistem hücrelerinin regülasyonu, proinflamatuar sitokinlerin sentezi ve gen ekspresyonlarını etkileyerek immün sistem üzerinde potansiyel etki gösterebilmektedir. Bu şekilde obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejenerasyon ve kanser gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklar üzerinde koruyucu

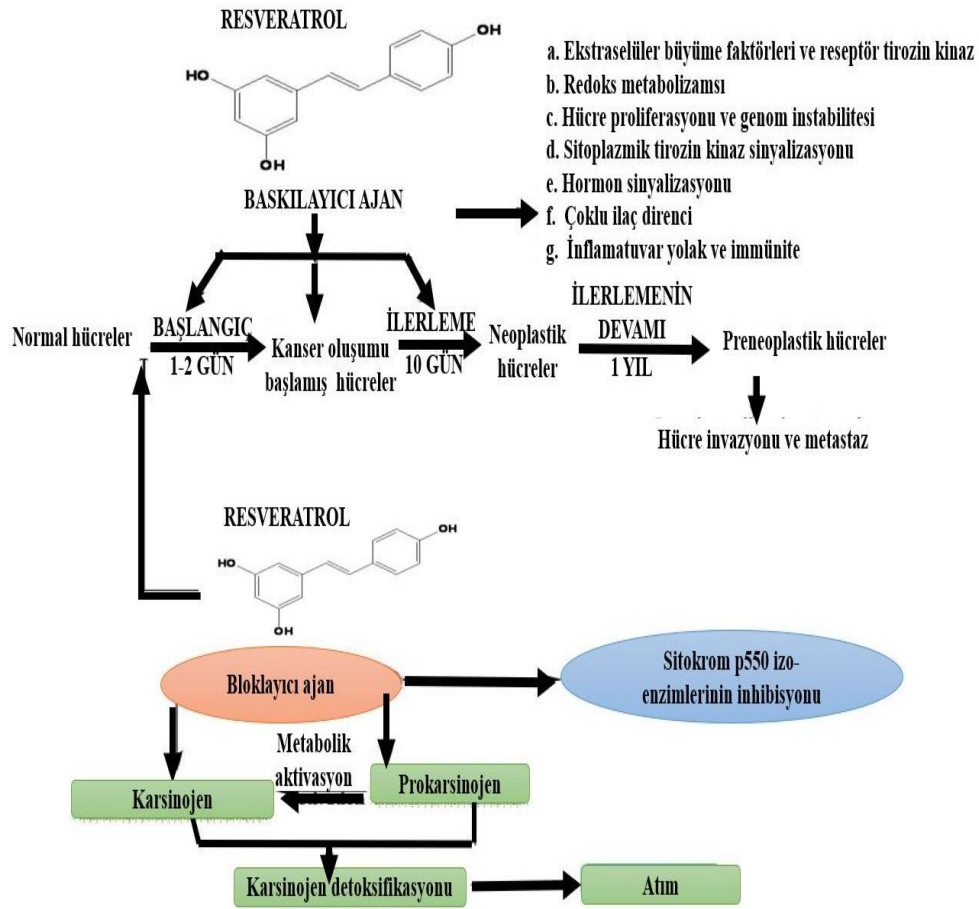
etkide bulunabilmektedir (Malaguarnera., 2019). Resveratrol toll-like reseptör (TLR) ve proinflamatuvar genlerin ve eikasonoidlerin ekspresyonunu baskılayarak potansiyel antiinflamatuvar aktivite gösterebilmektedir. Bununla birlikte makrofajları, T hücreleri, doğal öldürücü (natural killer [NK]) hücreleri aktive edip ve CD4⁺ ve CD25⁺ gibi düzenleyici T hücrelerini baskılayarak immün sistem homeostazını sağlamaktadır (Yang ev ark., 2008; Svajger ve Jeras., 2012). Ayrıca resveratrol sirtuin, adenosin monofosfat kinaz (AMPK), nüklear faktör-κB (NF-κB), inflamatuvar sitokinler, antioksidan enzimler gibi çeşitli hedef molekül ve sinyalizasyon yollarını etkileyerek reaktif oksijen türevlerini (ROS) temizleyici, siklooksijenaz (COX) inhibisyonunu sağlayıp, sirtuin-1 gibi antiinflamatuvar yolları aktifleştirebilmektedir. Bu potansiyel etkileri sayesinde glukoneogenez, lipid metabolizması, mitokondriyal biyogenezis, anjiyogenez ve apoptoz gibi çeşitli basamaklarda etki gösterebilmektedir (Şekil 6) (Malaguarnera., 2019).



Şekil 6. Resveratrol ve immün sistem üzerine potansiyel etki mekanizmaları (Malaguarnera., 2019).

2.5.5. Resveratrol ve potansiyel antikanser aktivitesi

Resveratrol kanserin başlaması, ilerlemesi ve metastazı üzerinde etki göstererek kanseri inhibe edici potansiyel aktivite gösterebilmektedir (Şekil 7.) (Koushki ve ark., 2018). Ayrıca yapısında bulunan hidroksil grupları sayesinde güçlü bir antioksidan olan resveratrol serbest radikalleri temizleyici potansiyel etki göstermektedir (Rauf ve ark., 2017; Koushki ve ark., 2018). Antioksidan aktivitesi sayesinde lipid peroksidasyonu ve ROS'un sebep olduğu DNA hasarını önleyici aktivite göstererek hücrelerde mutasyon oluşumu ve tümörögenезisi baskılayabilmektedir (Dybkowska ve ark., 2018). Resveratrol glutatyon S-transferaz (GST), üridin difosfat (UDP)-glukuronosil-transferaz ve kuinon redüktaz gibi faz II detoksifikasyon enzimlerini artırarak tümörögenезisi inhibe edici potansiyel aktivite gösterebilmektedir (Kraft ve ark., 2009). Diğer taraftan resveratrol siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimini inhibe ederek hücre proliferasyonunu ve anjiyogenezi indükleyebilecek prostaglandinler (PG) ve nitrik oksit (NO) oluşumunu azaltabilmektedir (Koushki ve ark., 2018). İnflamatuvar bir yolak olan nüklear faktör kappa B (NF-kB), COX-2 gibi proinflamatuvar mediatörlerin transkripsiyonunda önemli rol oynamaktadır. Resveratrol NF-kB yolağını inhibe ederek COX-2 seviyesinin azalmasını da sağlayabilmektedir (Elshaer., 2018). Kronik inflamasyon dokularda malignan tümör oluşumuna sebep olabilmektedir. İnflamatuvar hücrelerde hücreler proinflamatuvar sitokinlerin yanında büyüme ve sağkalım ile ilgili proteinlerin ekspresyonunu artırabilmekte bu da anjiyogenezi ve DNA hasarını indükleyebilmektedir. Resveratrol potansiyel antiinflamatuvar aktivite göstererek karsinogenез oluşumunu baskılayıcı aktivite gösterebilmektedir (Kraft ve ark., 2009).

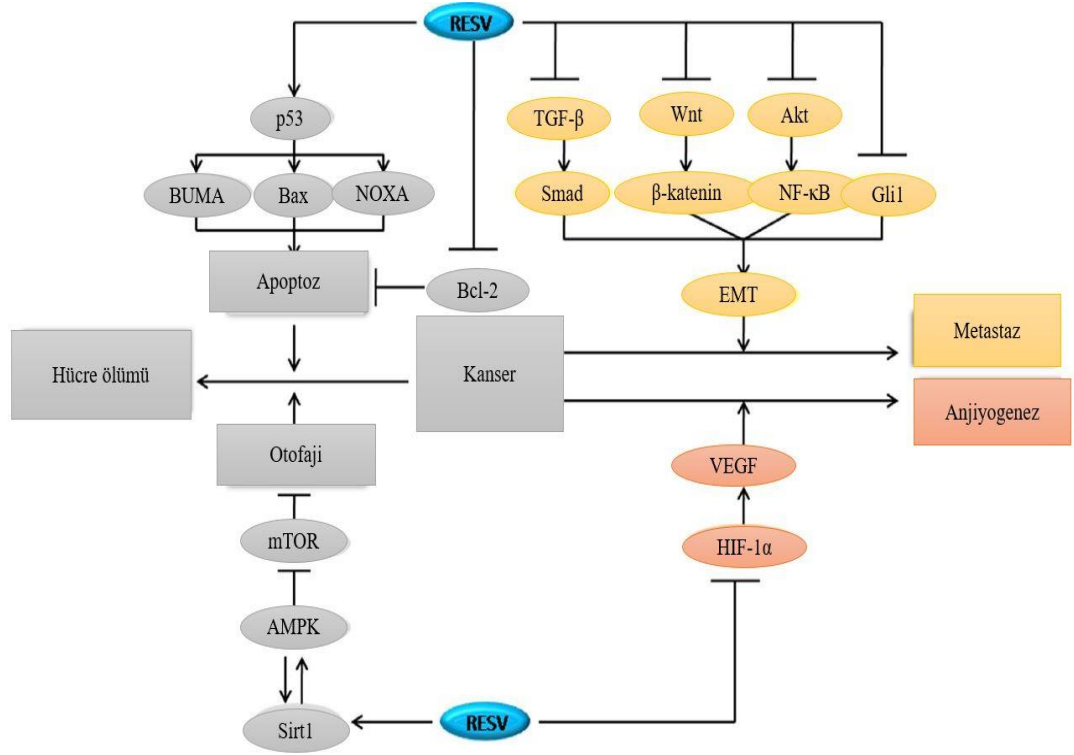


Şekil 7. Resveratrolün potansiyel antikanser aktiviteleri (Rauf ve ark., 2018)

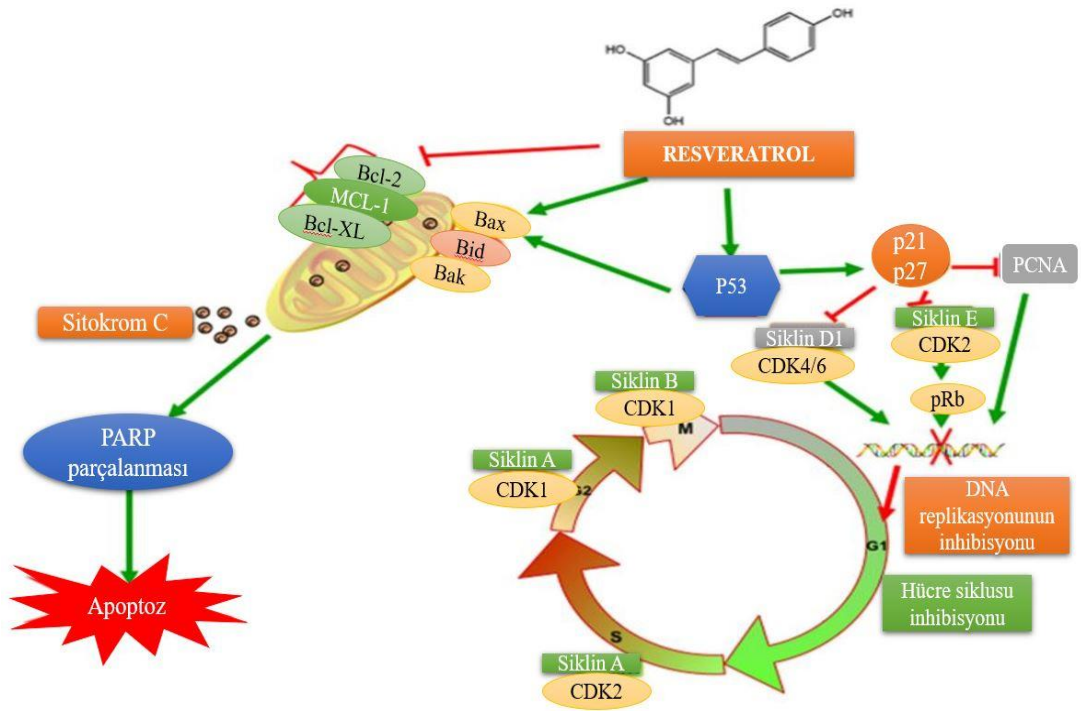
Bunun dışında resveratrol çeşitli proteinler üzerinden kanseri çeşitli aşamalarda etkileyebilmektedir (Harikumar ve Aggarwal., 2008) Genel olarak resveratrolün; mitokondrial ve kaspaz kaskad enzimatik sistemi aktive edici, CDK inhibitörlerinin, tümör baskılayıcı genlerin, ölümü indükleyici sitokinler ve reseptörlerinin ekspresyonunu artırıcı, kemoterapi direncine sebep olan proteinlerin (survivin, cFLIP, cIAP) ve antiapoptotik proteinlerin (Bcl-2, Bcl-XL) ekspresyonunu azaltıcı, AMPK aktive edici ve mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK), fosfoinositid-3-kinaz (PI3K)/Akt, hedgehod (HH), hippo-YAP, PKC, EGFR kinaz, NF-κB, aktive edici protein 1 (AP-1), hipoksi indükleyici faktör-1α (HIF-1α) ve STAT 3 (Signal transducer and activator of transcription 3) inhibisyonunu sağlayıcı potansiyel etkileri ile tümör hücrelerde hücre ölümünü tetikleyebilmektedir (Şekil 8.) (Aggarwal ve ark., 2004; Park ve Pezzuto., 2015; Jiang ve ark., 2017; Elshaer ve ark., 2018). Ayrıca resveratrol kanser hücrelerinde kemoterapiye olan duyarlılığı artırıcı potansiyel etki gösterebilmektedir (Jiang ve ark., 2017). Resveratrolün hepatoselüler adenokarsinoma

hücresi HepG-2, servikal karsinom hücreleri HeLa, kolorektal kanser hücreleri CaCo-2 ve lökemi CEM/ADR5000 gibi kanser ilaçlarına direnç gösteren çeşitli kanser hücre hatlarında, çeşitli metabolik enzimleri düzenleyerek tedaviye olan direnci azaltabileceği ve kaspaz bağımlı yolak üzerinden apoptozu indükleyebileceği rapor edilmiştir (El-Readi ve ark., 2019). Bununla birlikte resveratrolün kaspaz bağımlı olmayan yollar üzerinden de hücrede apoptozu indükleyebileceğini gösteren çalışmalar rapor edilmiştir (Pozo-Guisado ve ark., 2005). Resveratrol çeşitli kanser hücrelerindeki apoptozu indükleyici potansiyel etki mekanizması hücre tipine ve resveratrolün dozuna göre farklılık gösterebilmektedir (Elshaer ve ark., 2018; Rauf ve ark., 2017; El-Readi ve ark., 2019; Jiang ve ark., 2017).

Resveratrol tümör hücrelerinde hücre ölümünü tetikleyici potansiyel etkilerinin yanında tümör hücresinde hücre siklusunu etkileyerek hücre yaşlanmasını da indükleyebilmektedir (Saiko ve ark., 2008; Farhadnejad ve ark., 2019, Elshaer ve ARK., 2018). Resveratrol çeşitli kanser hücre hatlarında siklin B1, D1 E gibi proteinlerin ekspresyonu azaltarak DNA replikasyonu ve hücre siklusunu durdurucu potansiyel aktivite gösterebilmektedir (Şekil 9.) (Joe ve ar., 2002; Singh ve ark., 2017). Yine resveratrol gastrik ve prostat ve kolorektal kanser hücrelerinde p16, p21, siklin D1, siklin B ve siklin bağımlı kinazları etkileyerek hücre siklusunu azaltabilmekte ve hücrede yaşlanmayı indükleyebilmektedir (Yang ve ark., 2013; Fang ve ark., 2012; Liu ve ark., 2014).



Şekil 8. Resveratrolün kanserle ilişkili terapötik mekanizmalarının şematik diyagramı (Elshaer ve ark., 2018).



Şekil 9. Resveratrol ve hücre siklusu üzerine etkileri (Singh ve ark., 2017)

Resveratrolün antikanser aktivitelerinden bir tanesi MiRNA ekspresyonunu düzenleyici potansiyel etkileridir (Lee ve ark., 2018). Resveratrolün meme kanser hücrelerinde tümör baskılayıcı MiRNA ekspresyonunu artırabileceğini rapor etmiştir (Hagiwara ve ark., 2012). Prostat kanser hücrelerinde resveratrol uygulamasıyla birlikte onkogenik MiRNA ekspresyonlarının azaldığı, tümör baskılayıcı MiRNA ekspresyonunda ise artış olduğu bildirilmiştir (Dhar ve ark., 2011). Resveratrolün çeşitli kanser hücrelerinde onkogenik miRNA'ların ekspresyonunu azaltırken tümör baskılayıcı MiRNA'ları artırıcı etki gösterebilmektedir (Dhar ve ark., 2011). Bununla birlikte resveratrolün tüm MiRNA'lar üzerindeki etkileri hala netleştirilememiştir.

2.5.6. Resveratrol ve güvenilir alım dozu

0.5-1 g/gün'e kadar oral yolla alınan resveratrolün gastrointestinal kanalda antikanser aktivite gösterdiği rapor edilmektedir (Patel ve ark., 2010). Güvenilir ve tolere edilebilir alım dozu 5 g/gün olarak verilmekle birlikte 2.5-5 g/gün alım aralığında başağrısı gibi semptomlara sebep olabileceği de rapor edilmektedir (Patel ve ark., 2011; EFSA., 2016; Brown ve ark., 2010). EFSA resveratrol suplemanlarının maksimum 150mg/gün şeklinde olmasını hedeflemektedir ve günde 150 mg/gün sentetik *trans*-resveratrol alımının güvenilir alımını aşmadığını rapor etmektedir (EFSA., 2016).

3.0. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hücre Hatları ve Hücre Kültürü

Colo-320 (ATCC: CCL-220.1) ve Colo-741 (ECACC: 93052621) hücre hatları içerisine %10 ısı ile inaktive edilmemiş FBS (fetal bovine serum) (Capricorn Scientific, FBS-11B), 1% penisillin-streptomisin (Biochrom, A2213) and 1% glutamin (EMD Millipore, K0282) eklenmiş RPMI-1640 (Biochrom, FG 1215) kültür vasatı içerisinde kültüre edilmiştir. Hücreler 37 °C’de %5 CO₂’te inkübe edilmiştir. Konfluent kültüre hücreler %0.25 tripsin EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Biochrom, L 2143) solüsyonu ile subkültür edilmiştir.

3.2. Hücre Canlılığı ve Büyüme Analizi

Hücre canlılığının tanımlanmasına yönelik MTT (3-(4,5- Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromür) (Biotium, #30006) analizi kullanılmıştır. MTT analizi, mor bir formazan ürünü elde etmek için canlı hücreler tarafından MTT azalmasının kolorimetrik ölçümüne dayanmaktadır (Stockert ve ark., 2018). Colo-320 ve Colo 741 hücreleri flakslardan toplanarak vasat içerisinde süspanse edilmiş ve 96 gözlü platelere her kuyucukta 100 µL kültür vasatında 5×10⁴/mL yoğunlukta hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır. Hücre ve resveratrol (Sigma, R5010) bulunmayan grup negatif kontrol grubu olarak, sadece hücre içeren grup ise pozitif kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Deney grubunu oluşturan hücrelere her konsantrasyon için üç kez olacak şekilde 5 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL and 100 µg/mL konsantrasyonlarda resveratrol uygulaması yapılmış ve hücreler 24 h ve 48 h inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürelerinin tamamlanmasıyla birlikte plateteki her bir kuyucuğa su banyosunda 37 °C sıcaklığa getirilmiş 10 µL MTT solüsyonu eklenmiştir. MTT eklenen hücreler 37 °C’de, %5 CO₂’de 4 h boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından oluşan formozan tuzlarını çözmek için 200 µL DMSO (dimetilsülfoksit) eklemesi yapılmıştır. Daha sonrasında absorbans ölçümü spektrofometre (Versa Max, Molecular Devices, Sunnyvale, USA) kullanılarak 570 nm’de ölçülmüştür. Tüm deneyler üç kez tekrarlanmıştır.

3.3. İmmünohistokimyasal Analizler

Kültüre edilmiş Colo-320 ve Colo-741 hücreleri immünohistokimyasal analizle Bax, Bcl-2, kaspaz-3, Hsp27, lamin B1, p16 and siklin B1 antikorlarına bağlanmaları açısından değerlendirilmiştir. Colo-320 ve Colo-741 hücreleri 4°C’de 30 dk boyunca PBS (phosphate buffered saline) içerisinde %4 paraformaldehit ile fikse edilmiştir. Sonrasında geçirgenliğin artırılması için tween 20 (Sigma-Aldrich) eklenmiş ve 15 dk beklenmiştir. Hücreler PBS ile yıkanmış ve endojen peroksidaz aktivitesinin durdurulması için %3 H₂O₂ ile 5 dk boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücreler 5 dk boyunca PBS ile yıkanarak Bax, Bcl-2, kaspaz-3, Hsp27, lamin B1, p16 and siklin B1 antikorları eklenmiş ve 4 °C’de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra biyotinlenmiş ikincil antikorların (Histostain-Plus, IHC Kit, HRP, 859043, Thermo Fischer) eklemesi yapılmış, 30 dk’lık inkübasyon süresinden sonra 5 dk boyunca üç kez PBS ile yıkanmıştır. Hücreler yıkandıktan sonra içerisine DAB (diaminobenzidin) eklenmiş ve immünoetiketlemenin artması için 5 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası DAB distile suyla yıkanmıştır. Hücreler 5 dk Mayer's hematoksilin (Merck Millipore, 107961, Germany) ile karşı boyanmış ve sonrasında su ile yıkanmıştır. Yıkanan hücreler kapatma vasatı (mounting medium) kullanılarak cam lamellar lam üzerine alınmıştır. Tüm örnekler ışık mikroskobu (Olympus BX40, Tokyo, Japan) altında değerlendirilmiştir.

Bax, Bcl-2, kaspaz-3, Hsp27, lamin B1, p16 ve siklin B1'in boyanması, aşağıdaki denklemle hesaplanan H-SCORE kullanılarak yarı kantitatif olarak derecelendirilmiştir;

$$H-SKOR = \sum_{i=1}^n (i + 1)$$

Denklemde i, sırasıyla 1, 2 veya 3 değeriyle (sırasıyla hafif, orta veya güçlü) boyanmanın yoğunluğu ve n, her yoğunlukta boyanan hücrelerin yüzdesini temsil etmektedir. Boyanma yüzdesi %0 ile %100 arasında bir değerde olmaktadır.

3.4. TUNEL Analizi

Apoptotik hücrelerde DNA fragmentasyonunu belirlemek için TUNEL analizi yapılmıştır. Apoptotik hücreleri etiketlemek için Apoptoz Tespit Kiti (Apoptag Plus Peroksidaz In Situ tespit kiti, S7101, Millipore, ABD) kullanılmıştır. Kültür edilen hücreler %4 paraformaldehit kullanılarak 4 °C’de 30 dk boyunca fikse edilmiştir. Fiksasyon işleminden sonra hücreler üç kez PBS ile yıkanmış ve %3 H₂O₂ ile 5 dk oda sıcaklığında tekrardan fikse edilmiştir. Sonrasında TdT enzimi eklenmiş ve 37 °C’de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hücreler oda sıcaklığında, 10 dk boyunca durdurma yıkama tampon ile sonrasında da 5 dk PBS ile üç kez yıkanmıştır. Yıkanan hücreler 45 dk boyunca streptavidin-peroksidaz ile inkübe edilmiş ve üç kez PBS ile 5 dk boyunca tekrar yıkanmıştır. Hücreler boyamanın görünür hale gelebilmesi için 5 dk boyunca DAB ile inkübe edilmiş, sonrasında distile su ile yıkanmış ve kapatma vasatı ile hücre lamel lam üzerine alınmıştır.

3.5. X-gal Analizi

Kültür edilmiş hücreler 30 dk boyunca içerisine %4 paraformaldehit ile 2 mM MgCl eklenmiş PBS ile oda sıcaklığında iki kez fikse edilmiştir. Fiksasyon işleminden sonra hücreler 40mM sitrik asit (Likitkimya., 77-92-9), 150mM sodyum klorid (Surechem, S0102/R6), 5mM potasyum ferro siyanid (K₄Fe(CN)₆ , Labshop41, 13746-66-2), 5mM potasyum ferri siyanid (K₃Fe(CN)₆, Zag Chem., 14459-95-1), 2 mM MgCl (Fluka,63063), monobazik sodyum fosfat 2 (NaH₂PO₄ (Merck, 10634), ve 1 mg/ml X-gal (C₁₄H₁₅BrClNO₆, NZYtech, MB020501) içeren -gal tamponu kullanılarak etiketlenmiş ve bir gece 37 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücreler üç kez boyama ve tampon solusyonları ile üç kez yıkanmıştır. Yıkama sonrasında hücreler Mayer hematoksilin ile zıt boyaması yapılmış ve distile su ile bir kez yıkandıktan sonra kapama vasatı ile kapatılmıştır.

3.6. Total MikroRNA Analizi

Hücreler 4 °C’de çözdürüldükten sonra ölü hücreler ve diğer kalıntılardan uzaklaştırılmak amacıyla santrifüj edilmiştir. Sonrasında çöktürme tamponu uygulanmış ve 4 °C’de 60 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tekrar santrifüj edilen hücrelerden elde edilen süpernatant atılmış, pellet kısmı ise tekrardan süspanse edilmiştir. Sonrasında miRCURY™ Exosome Isolation Kiti (Exiqon 300102) kullanılmış ve total miRNA eldesi sağlanmıştır.

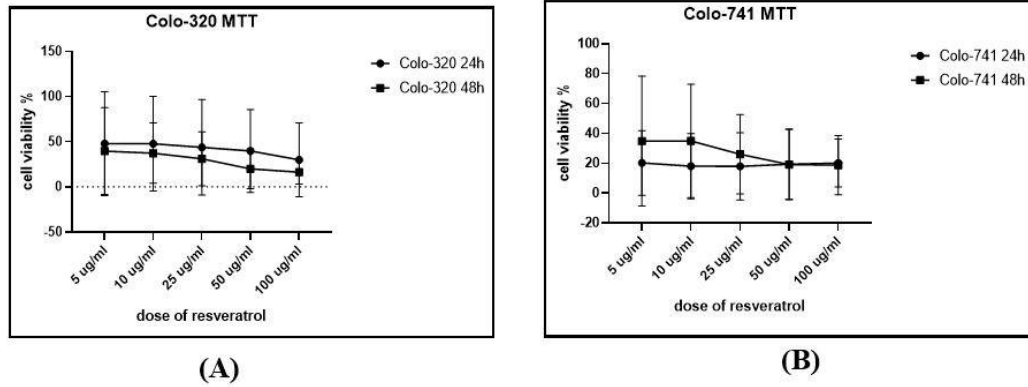
3.7. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Çalışma verileri GraphPad Prism 8 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılık analizleri iki yönlü ANOVA ve Mann Whiyney U testleri kullanılarak yapılmıştır. P değeri <0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

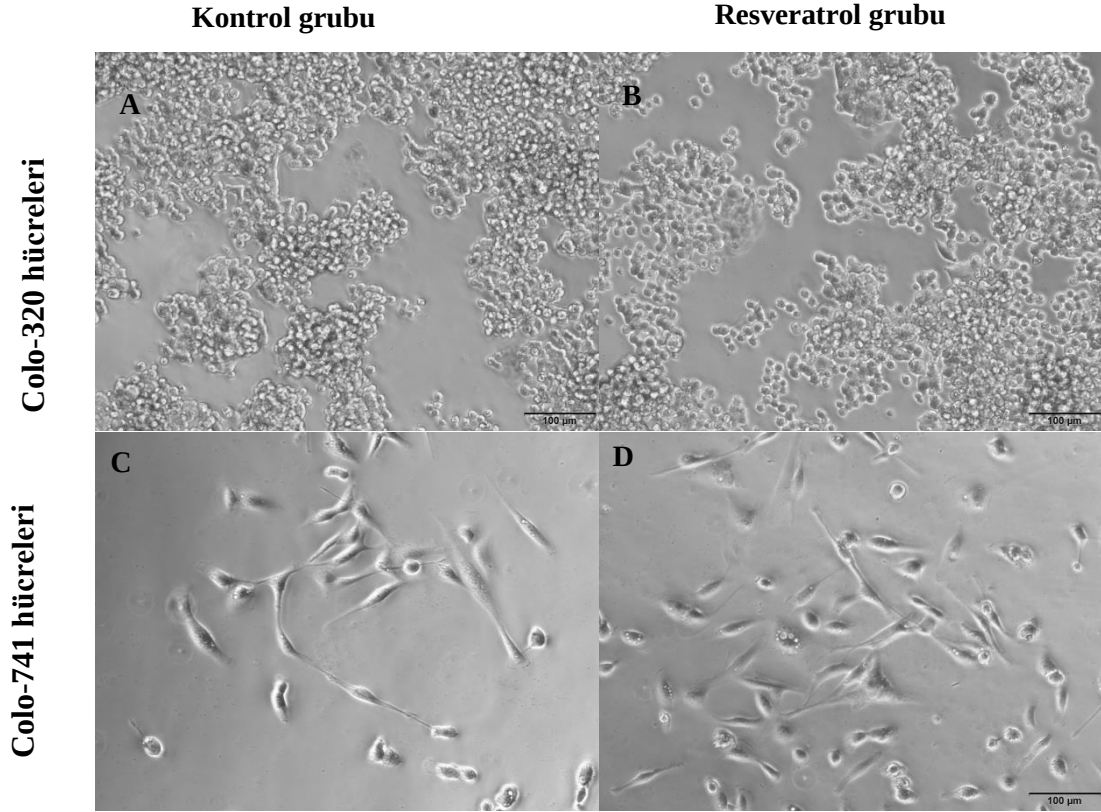
4.0. BULGULAR

4.1. Hücre Canlılığı ve Büyüme Analizi

MTT analizleri resveratrolün 48 h'lük inkübasyon süresinde Colo-320 hücreleri için 25 µg / mL konsantrasyonda (Şekil 10A., 11A,B) ve Colo-741 hücreleri için 10 µg / mL konsantrasyonda (Şekil 10B., 11A,B) diğer konsantrasyonlara kıyasla hücre büyümesinin inhibisyonunda daha etkili olduğunu göstermiştir.



Şekil 10. Sırasıyla 24 ve 48 saat boyunca farklı resveratrol konsantrasyonları uygulanan Colo-320 (A) ve Colo-741 (B) hücrelerinin doz tepki eğrileri ve IC₅₀ değerleri



Şekil 11. Mikroskop altında Colo-320 ve Colo-741 hücreleri, 48 H'lik inkübasyon sonucu A) Colo-320 kontrol grubu, (B) Colo-320 resveratrol grubu, (C) Colo-741 kontrol grubu, (D) Colo-741 resveratrol grubu. Ölçek= 100 µm

4.2. İmmünohistokimyasal Analiz

Tüm gruplarda Bax immünoaktivitesi saptanmakla birlikte Colo-320 kontrol grubunda Bax immünoaktivitesi yoğunluğunun daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 12A,B). H-SKOR analizi sonrası Bax immünoaktivitesi sadece resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücrelerinde Colo-320 kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$ Tablo 3.). Resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri ve Colo 741 kontrol hücreleri (Şekil 13A,B.) arasında Bax yoğunluğu açısından bir fark bulunmamıştır. Ayrıca resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 ve resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri arasında da Bax yoğunluğu açısından istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır ($p > 0,05$ Tablo 4.).

Bcl-2 immünoaktivitesi; resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücrelerinde zayıf, Colo-741 kontrol grubunda (Şekil 12C,D ve 13C,D.) ise negatif olarak saptanmıştır. Bcl-2 H-SKOR değerlerinin ise resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücrelerinde azaldığı, resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücrelerinde ise arttığı gösterilmiştir. Resveratrol uygulaması sonucu her iki hücre

hattındaki Bcl-2 H-SKOR değerlerindeki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, Tablo 3.). Ayrıca resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 ve resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri kendi içerisinde karşılaştırıldığında Bcl-2 immünoreaktivitesinin Colo-741 hücrelerinde Colo-320 hücrelerine göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$, Tablo 3.).

Sonuçlar kaspaz-3 immünoreaktivitesi açısından değerlendirildiğinde Colo-320 kontrol grubunda orta, Colo-741 kontrol grubunda ise güçlü immünoreaktivite gözlemlenmiştir (Şekil 12E,F ve 13E,F). Resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücreleri Colo-320 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en düşük immünoreaktiviteyi göstermekle birlikte bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 3.). Resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 ve Colo-741 kontrol grubu karşılaştığında kaspaz-3 için H-skor değerlerinin benzer olduğu saptanmıştır ($p > 0,05$, Tablo 3.). Ek olarak, kaspaz-3 H-SKOR değerleri açısından ne resveratrol uygulaması yapılmış hücre hatlarında ne de kontrol gruplarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p > 0,05$, Tablo 3.).

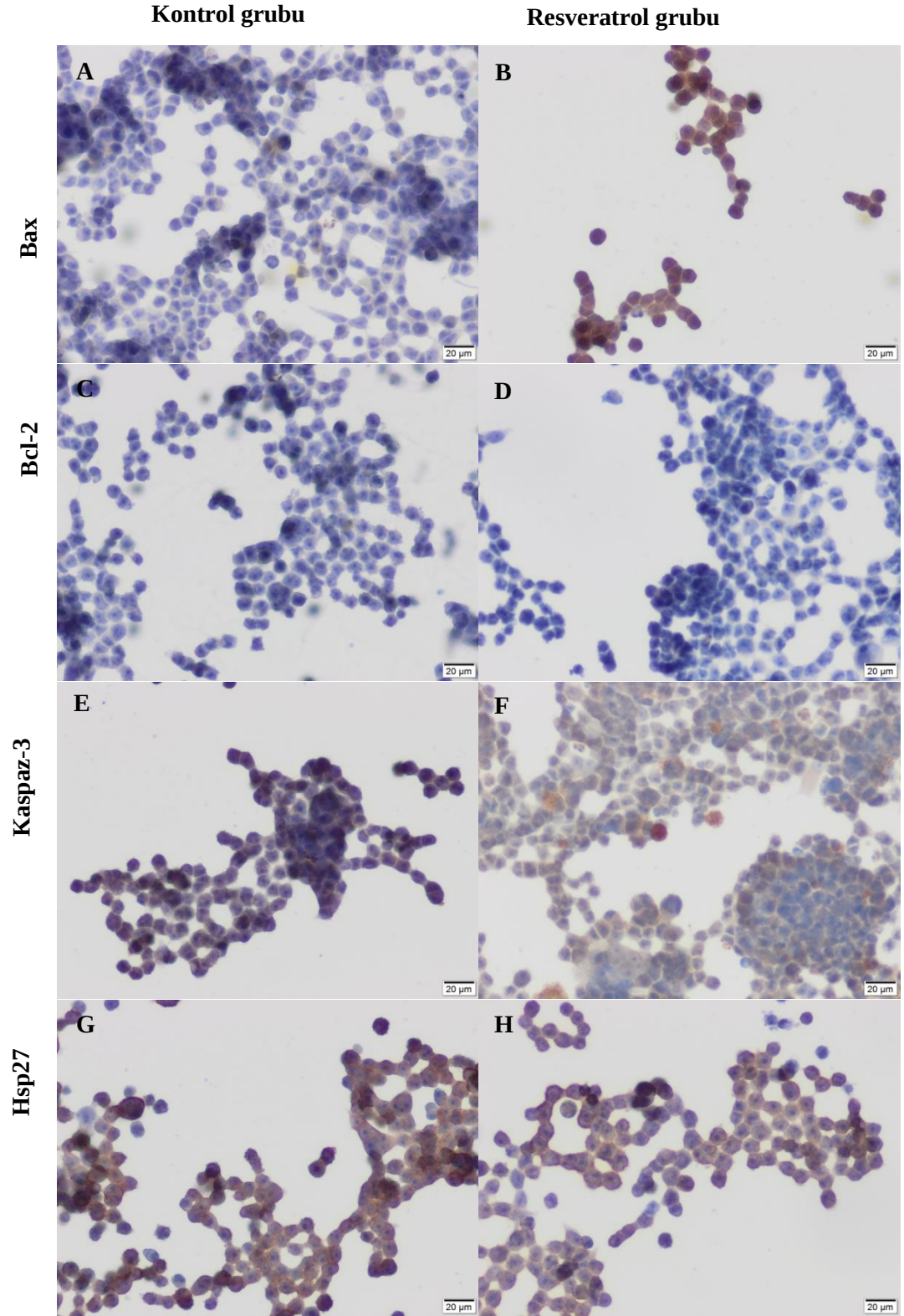
Hsp27 immünoreaktivitesi Colo-320 (Şekil 12G.) kontrol grubunda yüksek iken resveratrol uygulamasından sonra orta seviyeye düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 12H.). Bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 3.). Colo-741 hücrelerinde Hsp27 yoğunluğu zayıf-negatif olarak bulunmuştur (Şekil 13G,H). Hsp27 H-SKOR değeri resveratrol uygulanmış Colo-320 hücrelerinde resveratrol uygulanmış Colo-741 hücrelerine kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$, Tablo 3.)

Lamin B1 immünoboyama yoğunluğu tüm hücre gruplarında benzer şekilde çok güçlü olarak saptanmıştır (Şekil 12I,J. ve 13I,J). Lamin B1 H-SKOR değerleri de tüm gruplarda benzer şekilde bulunmuştur ve arada istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.)

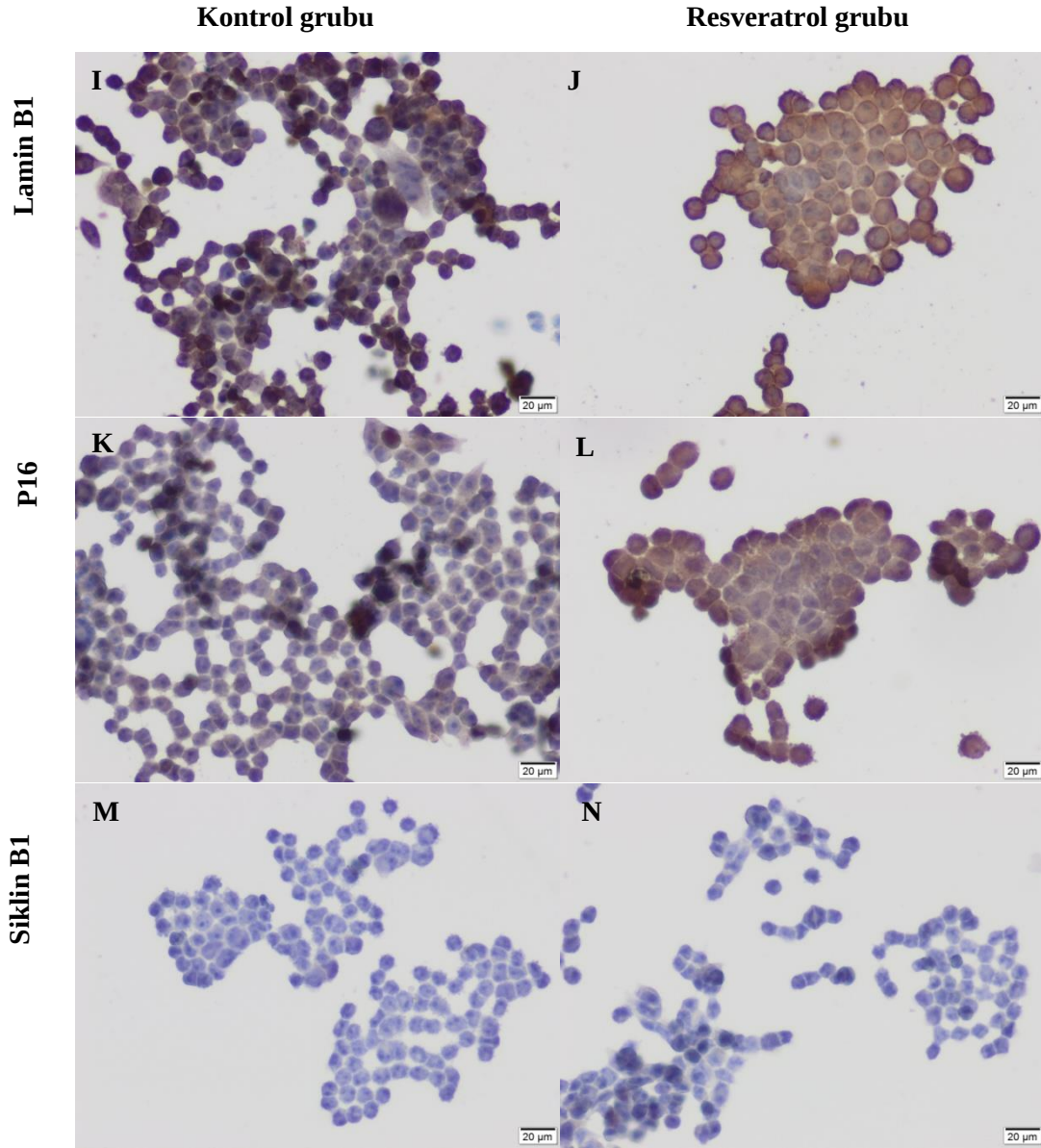
P16 immünoreaktivitesi; resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 (Şekil 12L.) ve Colo-741 (Şekil 13L.) hücrelerinde saptanmış ve yoğunlukları benzer şekilde bulunmuştur ($p > 0,05$, Tablo 3.). Buna ek olarak p16 yoğunluğu sadece Colo-741 (Şekil 13K.) kontrol grubunda tespit edilmiştir ancak bu yoğunluğun H-SKOR

değerleri karşılaştırıldığında resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri ile arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 3.)

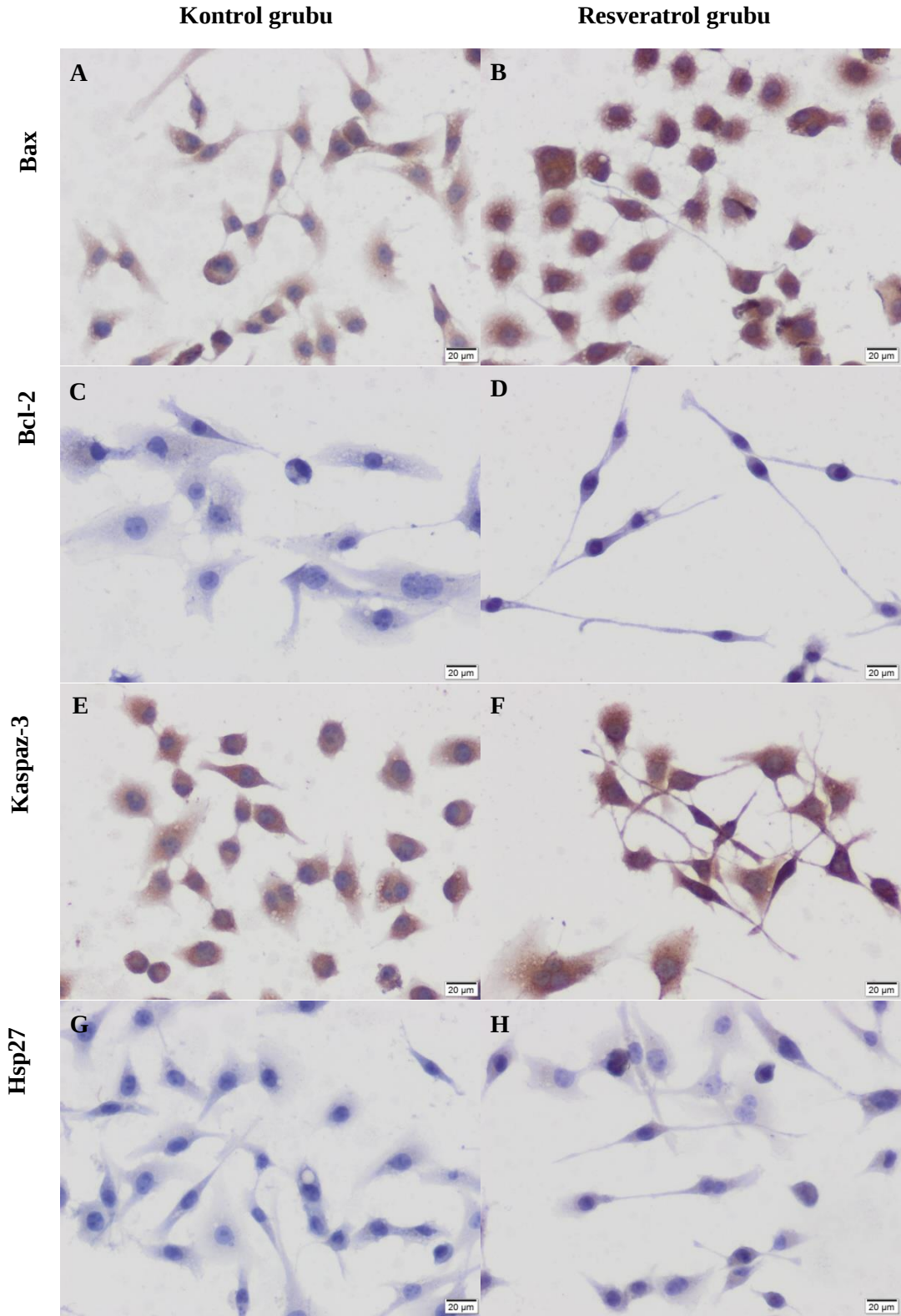
Siklin B1 için tüm hücre gruplarında çok zayıf immünoreaktivite (Şekil 12M,N ve 13M,N) ve benzer H-SKOR değerleri saptanmıştır (Tablo 3). Resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 ve Colo-741 hücreleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



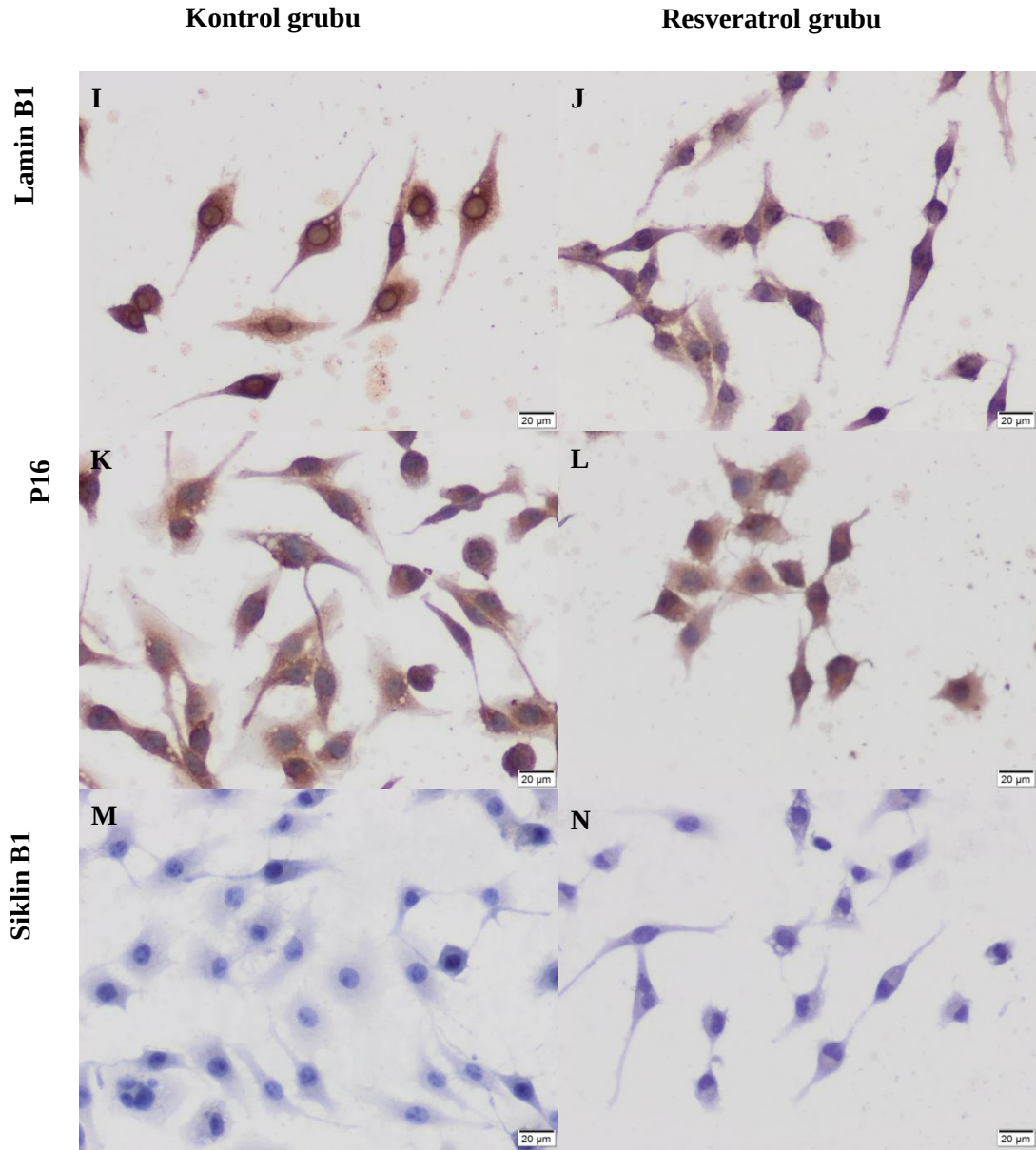
Şekil 12. Kontrol ve 25µg/ml resveratrol uygulanmış (B,D,F,H,J,L,N) Colo-320 hücrelerinde Bax (A,B), Bcl-2 (C,D), Kaspaz-3 (E,F), Hsp27 (G,H), Lamin B1 (I,J), p16 (K,L), Siklin B1 (M,N) immünoreaktiviteleri. Ölçek= 20 µm



Şekil 12. (devam). Kontrol ve 25µg/ml resveratrol uygulanmış (B,D,F,H,J,L,N) Colo-320 hücrelerinde Bax (A,B), Bcl-2 (C,D), Kaspaz-3 (E,F), Hsp27 (G,H), Lamin B1 (I,J), p16 (K,L), Siklin B1 (M,N) immünoreaktiviteleri. Ölçek= 20 µm



Şekil 13. Kontrol ve 10µg/ml resveratrol uygulanmış (B,D,F,H,J,L,N) Colo-741 hücrelerinde Bax (A,B), Bcl-2 (C,D), Kaspaz-3 (E,F), Hsp27 (G,H), Lamin B1 (I,J), p16 (K,L), Siklin B1 (M,N) immünoreaktiviteleri. Ölçek= 20 µm



Şekil 13. (devam) Kontrol ve 10µg/ml resveratrol uygulanmış (B,D,F,H,J,L,N) Colo-741 hücrelerinde Bax (A,B), Bcl-2 (C,D), Kaspaz-3 (E,F), Hsp27 (G,H), Lamin B1 (I,J), p16 (K,L), Siklin B1 (M,N) immünoreaktiviteleri. Ölçek= 20 µm

Tablo 3. Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin kontrol ve resveratrol grupları için Bax, Bcl-2, Caspase-3, Hsp27, Lamin B1, p16 ve Siklin B1'in H-SKOR analizi.

	Colo-320 Hücreleri		Colo-741 Hücreleri	
	Kontrol grubu	Resveratrol grubu	Kontrol grubu	Resveratrol grubu
Bax	227,763±8,217	317,929±58,848 ^a	293,750±14,930	287,289±10,666
Bcl-2	247,115±20,038	105,463±5,787 ^{a,b}	100,000±0,000	289,583±35,599 ^{a,b}
Kaspaz-3	293,808±16,584	242,445±11,318	285,972±10,974	290,416±68,019
Hsp27	266,915±23,396	290,873±4,095 ^b	100,000±0,000	144,047±66,340 ^b
Lamin B1	290,059±14,510	310,742±30,516	281,250±37,500	257,916±61,242
p16	286,356±15,351	287,196±17,897	313,125±33,112	278,125±25,769
Siklin B1	100,000±0,000	101,408±2,816	100,000±0,000	100,000±0,000

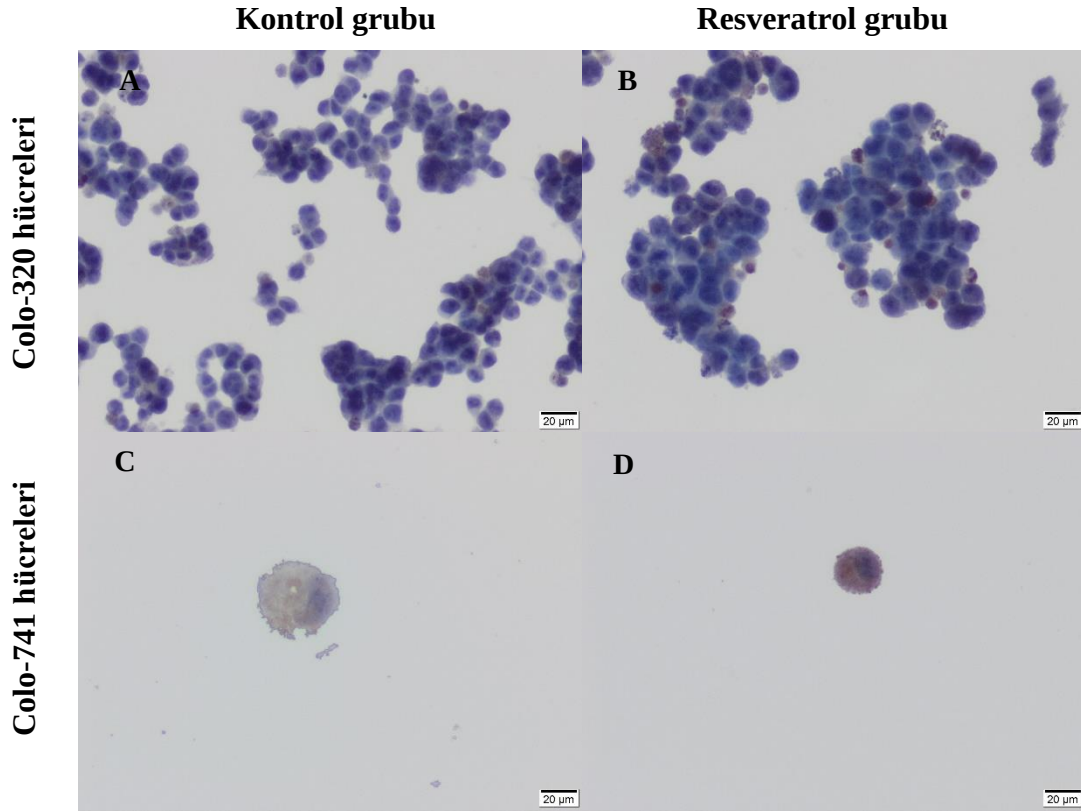
Veriler ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir ve 2 yönlü-ANOVA ile karşılaştırılmıştır.

^a Hem Colo-320 hem de Colo-741 hücrelerinde resveratrol uygulaması yapılmış grup ile kontrol grubu arasındaki fark ($P < 0,05$)

^bResveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücreleri ile resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri arasındaki fark ($P < 0,05$)

4.3. TUNEL Analizi

TUNEL analizi, sırasıyla 48 saat boyunca 25 µg/mL ve 10 µg/mL doz resveratrol ile inkübe edilen Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin her ikisini de kullanmıştır. TUNEL pozitif hücreleri resveratrol uygulanmış Colo-320 hücrelerinde (Şekil 14A,B.) kontrol grubuna göre artış göstermiştir ($p < 0,001$, Tablo 4.). Resveratrol uygulanmış Colo-741 hücrelerinde TUNEL pozitif hücreler saptanmasına rağmen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 14C,D Tablo 4.). Resveratrol uygulanmış Colo-741 hücrelerinde, resveratrol uygulanmış Colo-320 hücreleri ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde daha fazla TUNEL pozitif hücre saptanmıştır ($p < 0,05$, Şekilb 14B., Table 4.).



Şekil 14. TUNEL boyamasının değerlendirilmesi: (A) Colo-320 kontrol hücreleri, (B) Colo-320 resveratrol uygulaması yapılmış hücreler, (C) Colo-741 kontrol hücreleri, (D) Colo-741 resveratrol uygulaması yapılmış hücreler. Ölçek= 20 µm

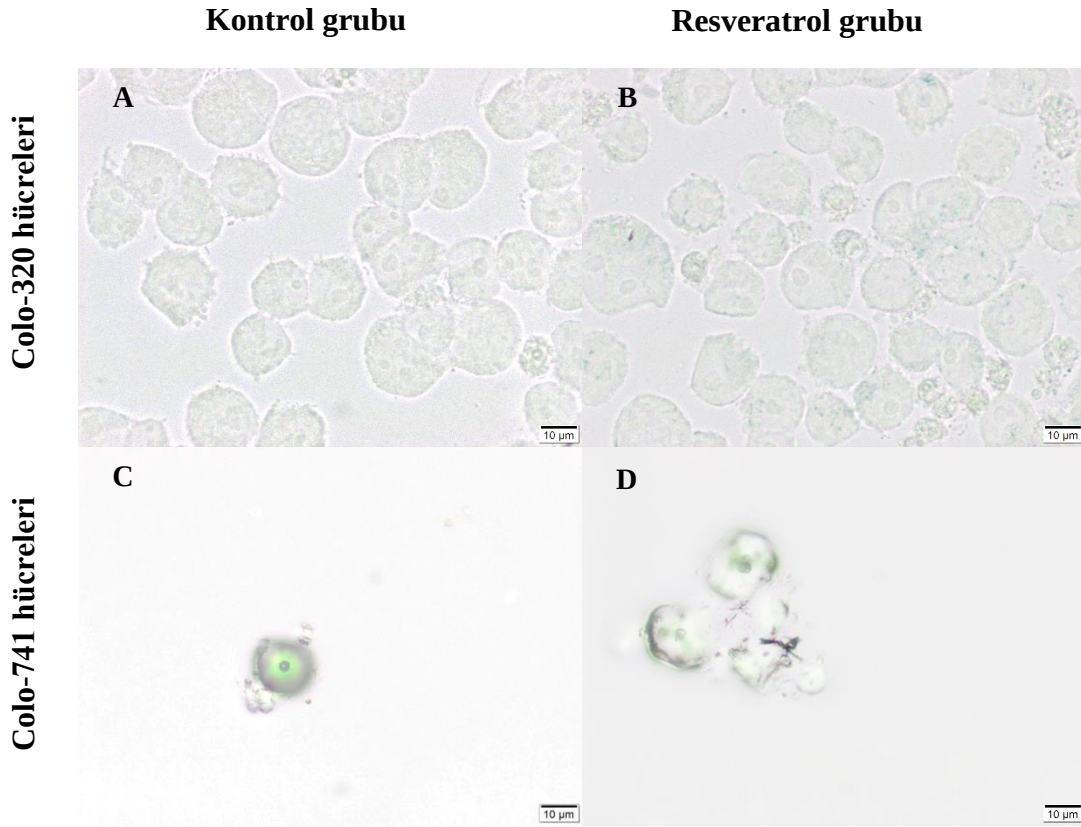
Tablo 4. 48 saatlik inkübasyon sonrası sırasıyla 25 ug / ml ve 10 ug / ml konsantrasyonda resveratrol uygulaması yapılmış TUNEL pozitif Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin yüzdesi.

	Kontrol grubu	Resveratrol grubu
Colo-320 hücreleri	1,30±1,56	18,12±10,52 ^a
Colo-741 hücreleri	25,00±50,00	100,00±0,00 ^b

Veriler ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir ve Mann Whitney U ile karşılaştırılmıştır
^aHem Colo-320 hem de Colo-741 hücrelerinde resveratrol uygulaması yapılmış grup ile kontrol grubu arasındaki fark ($P < 0,05$)
^bResveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücreleri ile resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri arasındaki fark ($P < 0,05$)

4.4. x-Gal Analizi

X-gal pozitif hücrelerin resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düştüğü saptanmıştır ancak bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (Şekil 15A,B., Tablo 5.). Senesens durumundaki hücrelerin resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücrelerinde kontrol grubu ile benzer olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 15C,D, Tablo 5.). Diğer yandan resveratrol uygulanmış Colo-741 hücrelerinde, resveratrol uygulanmış Colo-320 hücrelerine göre daha fazla X-gal pozitif hücre tespit edilmiştir ($p < 0,05$, Şekil 15B,D Table 5).



Şekil 15. X-gal boyamasının değerlendirilmesi: (A) Colo-320 kontrol hücreleri, (B) resveratrol ile muamele edilmiş Colo-320 hücreleri, (C) Colo-741 kontrol hücreleri, (D) resveratrol ile muamele edilmiş Colo-741 hücreleri. Ölçek= 20 µm

Tablo 5. Resveratrol ile tedavi edilen X-Gal pozitif Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinin yüzdesinin sırasıyla 48 saat boyunca 25 ug / ml ve 10 ug / ml konsantrasyonda kantitatif analizi.

	Kontrol grubu	Resveratrol grubu
Colo-320 hücreleri	17,33±21,17	9,63±2,77 ^b
Colo-741 hücreleri	100,00±0,00	100,00±0,00 ^b

Veriler ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir ve Mann Whitney U ile karşılaştırılmıştır
^aHem Colo-320 hem de Colo-741 hücrelerinde resveratrol uygulaması yapılmış grup ile kontrol grubu arasındaki fark ($P < 0,05$)
^bResveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücreleri ile resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri arasındaki fark ($P < 0,05$)

5.5. MikroRNA Analizi

Resveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 ve Colo-741 hücreleri; kontrol grupları ile karşılaştırıldığında miRNA konsantrasyonu azalma göstermekle birlikte bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 6.). MiRNA konsantrasyonu resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücrelerinde, resveratrol uygulanmış Colo-320 hücrelerine göre daha yüksek saptanmıştır. Ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p > 0,05$, Tablo 6.).

Tablo 6. Colo320 ve Colo741 hücrelerinde eksozom analizi sonrasında elde edilen miRNA konsantrasyonları

Colo-320 hücreleri		Colo-741 hücreleri	
Kontrol grubu	Resveratrol grubu	Kontrol grubu	Resveratrol grubu
11,00 ng/ µl	10,83 ng/ µl	15,15 ng/ µl	12,95 ng/ µl

Veriler Mann Whitney U ile karşılaştırılmıştır
^aHem Colo-320 hem de Colo-741 hücrelerinde resveratrol uygulaması yapılmış grup ile kontrol grubu arasındaki fark ($P < 0,05$)
^bResveratrol uygulaması yapılmış Colo-320 hücreleri ile resveratrol uygulaması yapılmış Colo-741 hücreleri arasındaki fark ($P < 0,05$)

5.0. TARTIŞMA

Resveratrol birçok kanser türüne karşı koruyucu ve tedavi edici potansiyel aktivite gösteren biyoaktif bir bileşendir (Sales et al 2014). Resveratrol kanser üzerindeki koruyucu etkisini hücre siklusunu düzenleyerek gösterebilmektedir. Buna ek olarak resveratrolün kanser üzerindeki etkileri hücre, doku, primer ya da metastatik kanserlere göre de farklılık gösterebilmektedir (Farhadnejad et al., 2019).

Resveratrolün kanser üzerine etkisini irdeleyen çalışmalar incelendiğinde resveratrolün çeşitli kanser hücre hatlarında apoptozu indüklediği, hücre büyümesi ve proliferasyonu baskılayarak hücre siklusunu durdurucu potansiyel etkileri üzerinde durulmaktadır (Kim ve ark., 2016; Jiang ve ark., 2017). Başka bir çalışmada antikanser ilaçlarına karşı direnç gösteren kolorektal kanser hücrelerinde (HCT116 ve DLD1) resveratrol ve antikanser ilacı ile kombine tedavinin kanser hücrelerinde proliferasyonu baskılamada tek başına kullanıma göre daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Chung ve ark., 2018; Buhrmann ve ark., 2015). Ayrıca resveratrol ve metabolitleri kanser hücrelerinin metastazını inhibe edici aktivite gösterebilmektedir (Kim ve ark., 2016). Çeşitli çalışmalar resveratrolün antikanser aktivitesinin hücre tipi ve orijinine bağlı olarak farklılık gösterebileceğini vurgulamaktadır (Elshaer ve ark., 2018).

Resveratrolün hücre ölümü ve senesens üzerindeki biyolojik etkileri çeşitli moleküler yollarla kontrol edilmekle birlikte primer ve metastatik kanser hücrelerindeki etkisi henüz net olarak bilinmemektedir (Ferhadnejad ve ark., 2019). Buna ek olarak hücrelerde senesensi indüklenmesi tümör hücresinin farklılaşmasını ve proliferasyonunu önleyerek hücreyi apoptozla götüren önemli mekanizmalardan biridir (Ferhadnejad ve ark., 2019). Bu sebeple tedavi sonrasında apoptoz ve senesens arasındaki denge ile ilgili daha fazla araştırma yapılması öngörülmektedir.

Bax ve Bcl-2 mitokondrial aracılı apoptozun düzenleyicisi olan iki önemli proteindir. Bax/Bcl-2 oranı hücrelerdeki apoptoz ve hücre canlılığı için bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Elmore, 2007). Bu çalışmada resveratrol, primer kanser hücrelerinde proapoptotik Bax seviyesini artırırken, antiapoptotik Bcl-2 seviyesini azaltmıştır. Azalan Bcl-2 seviyesine ek olarak primer kanser hücrelerinde metastatik hücrelere göre Bax/Bcl-2 oranı daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar resveratrolün primer kanser hücrelerinde mitokondrial aracılı apoptozu indüklediğini

göstermektedir. Diğer taraftan, çalışma sonuçları metastatik kolon kanseri hücrelerinin Bcl-2 ekspresyonunu resveratrole karşı hücre canlılığını korumak için artırmış olabileceğine de işaret etmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada kullanılan resveratrol dozu ve inkübasyon süresi metastatik Colo-741 hücrelerinde Bax ekspresyonunu artırmada yeterli olmamış olabilir. Resveratrolün yüksek dozlarda ya da başka bir polifenolik bileşikle kombine edilmesinin metastatik hücrelerde apoptozun indüklenmesinde daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Resveratrolün akciğer ve kolon kanseri hücrelerinde doz ve süreye bağlı olarak Bax ve kaspaz-3 ekspresyonunu artırırken, Bcl-2 ve Bcl-2/Bax oranını azalttığı rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2015, Chen ve ark., 2009). Ayrıca Baek ve arkadaşları (Baek ve ark., 2016) resveratrolün, skuamöz baş ve boyun tümörlerinde antiapoptotik Bcl-2 ekspresyonunu azaltırken apoptozu indüklediğini göstermiştir. Roemer ve arkadaşları (Mahyar-Roemer ve ark., 2002) yapmış oldukları çalışmada resveratrolün kolorektal kanser hücre hattı HCT116 ve HCT116 Bax -/- hücrelerinde hem Bax bağımlı hem de Bax bağımsız yolak üzerinden apoptozu indüklediğini rapor etmişlerdir. Bax bağımsız yolakta mitokondrial membran potansiyelinin daha geç bozulduğu ve apoptozun geciktiği bildirilmiştir. Bunun yanında resveratrol türevlerinin antikanser aktivitesini inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır (Li ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2014). Resveratrol türevi PMS'nin (2,3',4,4',5'-entametoksi-*trans*-stilben) kolorektal kanser hücre hattında Bax ekspresyonunu etkilemezken Bcl-2 ekspresyonunda etkili olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar; Bcl-2 ekspresyonu PMS uygulamasının ilk 12 h'de artış gösterdiğini daha sonra ise azaldığını ve hücrede kaspaz aktivasyonu ile birlikte apoptozun indüklendiğini bildirmişlerdir (Li ve ark., 2009). Resveratrol analogu pisetannolün kolorektal kanser hücre hatlarında (HCT116 ve HT29) Bcl-2 ekspresyonunu azaltıp kaspaz-3 aktivasyonunu sağlayarak hücrede apoptozu indüklediği de rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2014).

Kaspazlar apoptozu kontrol eden enzimlerdir (Pistritto ve ark., 2016). Mitokondrial ya da hücre membran aracılı apoptozda kaspaz-8 ve 9, apoptozun son basamağı olan kaspaz-3'ü aktive etmektedir (Elmore, 2007., Pistritto ve ark., 2016). Bu araştırmanın sonuçları; kaspaz-3 seviyeleri primer kolon kanser hücrelerinde resveratrol uygulamasından sonra istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma gösterirken, metastatik hücre hattında kontrol grubuna göre yine istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış göstermiştir. Resveratrol hem primer hem de metastatik

hücrelerde hücre canlılığını azaltmakla birlikte çalışılan hücre hatlarında doz ve süreye bağlı olarak kaspaz-3 aktivitesini başlatamamıştır. Kaspaz-8 ve 9 aktivitelerinin ölçülmesi bu hücre hatlarındaki apoptotik fazın belirlenmesinde yardımcı olabilmektedir. Bununla birlikte, yüksek doz resveratrol ve resveratrolle kombine edilmiş antikanser ilacının hücrede kaspaz-3'ün aktive edilmesinde daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışma sonuçları incelendiğinde TUNEL pozitif hücrelerin sayısının resveratrol uygulamasından sonra Colo-320 hücrelerinde artış gösterdiği saptanmıştır. El-Readi ve arkadaşları (El-Readi ve ark., 2019); resveratrolün Caco-2 hücrelerinde antikanser ilacı ile benzer şekilde kaspaz-3,8 ve kaspaz-6/9 seviyelerini artırdığını rapor etmiştir. Chen ve arkadaşları (Chen et al., 2016) ise resveratrolün metastatik kolon kanser hücre hattı SW620'de kaspaz-3 ve 9 ekspresyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Resveratrol ve türevlerinin etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; resveratrol türevi PHS'nin (3,3',4,5,5'-pentahidroksi-*trans*-stilben) resveratrole kıyasla kolorektal kanser hücrelerinde oksidatif stresi artırarak apoptozu indüklemeye daha etkili olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte PHS'nin özellikle kaspaz-9 aktivasyonunu sağlayarak hücrede mitokondrial apoptozu başlatabileceği ve kaspaz-3'ü de aktive ettiği öngörülmüştür (Li ve ark., 2010). Li ve arkadaşları (Li ve ark., 2009) ise; farklı bir resveratrol türevi olan PMS'nin (2,3',4,4',5'-entametoksi-*trans*-stilben) kaspaz-3, 7, 8 ve 9 aktivasyonunu sağlayarak apoptozu indükleyebileceğini rapor etmişlerdir. Resveratrol ve metabolitlerinin kaspaz aktivasyonunu indüklediğini gösteren çalışmaların yanında kanser hücrelerinde kaspaz bağımsız yolak üzerinden de apoptozu indükleyebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Pozo-Guisado ve ark. 2005), Pozo-Guisado Gusiado ve arkadaşları (Pozo-Guisado ve ark. 2005), resveratrolün MCF-7 meme kanser hücre hatlarında kaspaz-3 aktivitesini değiştirmeksizin hücrede NF- κ B ve Bcl-2 ekspresyonunu azalttığını ve oksidatif stresi artırarak mitokondrial membran potansiyelini bozarak hücrede kaspaz bağımsız yolak üzerinden apoptozu indüklediğini rapor etmişlerdir. Bu sonuç doğrultusunda resveratrolün primer kanser hücrelerinde kaspaz bağımlı olmayan yollar üzerinden apoptozu indükleyebileceği düşünülmektedir.

Senesens, hücreleri hücre döngülerini durdurmaya iterek proliferatif yeteneklerinin kaybına sebep olmaktadır (Gonzalez ve ark., 2016). Önceki çalışmalar resveratrol ve metabolitlerinin farklı kanser tiplerinde “senesens ile ilişkili molekülleri” kontrol ederek hücrede senesensi indükleyebileceğini göstermektedir (Ji

ve ark., 2018; Giménez-Bastida ve ark., 2019). Hsp27 bir ısı şok proteini olup senesensi düzenlemekte ve farklı kanser türlerinde yüksek miktarda eksprese edilmektedir (O'Callaghan-Sunolet ve ark., 2007). Bcl-2 proteinleri, intrinsik apoptotik yolağın düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin; proapoptotik Bax ve antiapoptotik Bcl-2 proteinleri bu familya içerisinde yer almaktadır (Wei ve ark., 2001). Bax proteini, mitokondriden sitokrom c salınımını indükleyerek intrinsik apoptozu stimüle etmektedir. Sitokrom c, sitozolik apoptozis proteaz faktör 1 (Apaf-1) ve prokaspaz 9 ile etkileşime geçerek apoptozomu oluşturmakta ve apoptozom da kaspaz-3 ve hücrede apoptozu aktive etmektedir (Li ve ark., 1997). Diğer taraftan Hsp27 indirekt olarak Bax proteininin mitokondriye translokasyonunu inhibe etmekte ve böylelikle sitokrom c salınımını kısıtlayarak apoptozu önlemektedir (Acunzo ve ark., 2012). Bu araştırmanın sonuçları incelendiğinde; hücre sağkalımını sağlayan proteinlerden biri olan Hsp27; primer kanser hücrelerinde hücre yaşlanmasından kaçabilmek için metastatik hücrelere göre daha fazla artış göstermiştir. Resveratrol primer kanser hücrelerinde Bax seviyesini artırarak intrinsik apoptozu aktive etmiştir. Ancak hücrelerdeki Hsp27 artışının bir diğer sebebinin Bax inhibisyonu ile hücreyi apoptozdan korumak için olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu araştırmanın sonuçları metastatik kolon kanser hücrelerinin resveratrole dirençli olduğunu göstermektedir. Resveratrol uygulanan metastatik kolon kanser hücrelerindeki Bcl-2 immünoreaktivitelerindeki artış, kanser hücrelerinin ölüm yollarından kaçmak için proliferasyonu büyük ölçüde artırmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan diğer araştırmalar incelendiğinde yüksek dozlarda kullanılan resveratrolün (250 µM) meme kanser hücresi MCF-7'de 48 h'lik inkübasyon ile birlikte Hsp27 ekspresyonunun azalttığı ve hücrelerde doxorubicin duyarlılığını artırdığı rapor edilmiştir (Díaz-Chávez ve ark., 2013). Resveratrolün U-87 insan glioblastoma hücrelerinde Hsp27 ekspresyonunu azalttığı, SiRNA ile kombine edildiğinde Hsp27'nin susturulmasında ve hücrede kaspaz 3 aktivasyonu ve apoptozu indüklemeye daha etkili olduğu rapor edilmiştir. (Önay Uçar ve Şengelen., 2019). Bununla birlikte resveratrolün kolorektal kanser hücrelerinde Hsp27 ekspresyonu üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca resveratrolün Hsp27 seviyelerinde azalmaya ve hücreleri senesense götürdüğü ile ilişki net bir şekilde ortaya konamamıştır. Diğer çalışmaların aksine bu çalışmada resveratrol

uygulamasından sonra Hsp27 seviyelerinin hem Colo-320 hem de Colo-741 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu artış Colo-320 hücrelerinde Colo-741 hücreleri ile kıyaslandığında anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar resveratrolün primer kanser hücrelerinde metastatik hücrelere göre daha fazla strese sebep olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Son yıllarda çalışmalar resveratrolün glioma ve pankreas gibi çeşitli kanser tiplerinde epitel-mezenkimal geçişi düzenleyerek tümör hücresinde hücre migrasyonu ve invazyonunu düzenleyebileceğini göstermektedir (Cilibrasi ve ark., 2017; Hoca ve ark., 2019). Metalloproteinaz 2 (MMP-2), Hsp27 aktif enzimidir ve metastatik ilerleme ile ilişkilidir (Paul ve ark., 2002). Bu araştırmanın sonuçlarına göre resveratrol uygulaması Hsp27 ekspresyonunun artışını baskılayamamıştır. Bu sebeple resveratrolün kolon kanser hücrelerinin metastazını baskılayamadığı görülmektedir. Yine de mevcut sonuçların kolon kanserindeki metastazla ilgili farklı sinyalizasyon yollarlarında görevli moleküllerle incelenmesi gerekmektedir.

Lamin B1 nüklear membranda bulunan ve proliferasyonu düzenleyen bir proteindir (Sakthivel ve ark., 2016). Hücrede lamin B1 seviyesi azaldığında hücre proliferasyonunda da azalma meydana gelmekte ve hücrede yaşlanma indüklenmektedir (Shimi ve ark., 2011). Biyoaktif bileşenlerin kolorektal kanserde lamin B1 ekspresyonunu artırarak hücreleri senesense götürebileceği düşünülmekle birlikte konu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Liu ve ark., 2013). Buna rağmen resveratrolün lamin B1'i etkileyerek hücrelerde yaşlanmayı indüklediği ile ilgili kesin bir veri bulunmamaktadır. Bu araştırmanın sonuçları lamin B1 seviyelerinin resveratrol uygulamasından sonra Colo-320 hücre hattında artarken, Colo-741 hücrelerinde azaldığını göstermektedir. Lamin B1 seviyelerindeki değişiklik hiçbir hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ve bu sonucun doz ve süre ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Colo-320 hücrelerinin lamin B1 seviyelerini senesenssten kaçabilmek için artırmış olabileceği öngörülmektedir. Diğer taraftan resveratrolün lamin B1 seviyesini azaltmada Colo-741 hücrelerinde daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ancak lamin B1'in azaltılarak senesenssin indüklenmesi metastatik hücrelerde hücrenin devamlılığını sağlamak ve apoptozdan kaçmak için bir savunma mekanizması olabilir.

CDK inhibitörleri, siklin ve siklin bağımlı kinazlar aracılığı ile hücre siklusunu düzenlemektedir. P16, CDK inhibitör ailesine ait tümör baskılayıcı bir proteindir ve hücre yaşlanmasında görevlidir (Yamashiro ve ark., 2011). Bu araştırmanın sonuçları incelendiğinde p16 seviyelerinin Colo-320 hücrelerinde kontrol ve resveratrol grubunda benzer olduğu görülmüştür. Bununla birlikte metastatik kolon kanseri hücrelerinde resveratrol grubunda kontrol grubuna göre azalmış p16 seviyeleri bulunmuştur. P16 seviyelerindeki değişiklik her iki kanser hücre hattı için de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Primer hücrelerdeki artmış p16 seviyesi resveratrolün yüksek dozda kullanıldığında hücrede senesensi indükleyebileceğini düşündürmektedir. Ji ve arkadaşları (Ji ve ark., 2018) 100 µM resveratrolün akciğer kanser hücrelerinde p16 seviyesini artırdığı ve prematüre senesensi indüklediğini göstermiştir. Colin ve arkadaşları (Colin ve ark., 2014) resveratrolün SW620 kolon kanseri hücrelerinde p16 seviyesini artırarak hücreyi senesense götürdüğünü rapor etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada konjuge resveratrol metabolitinin MCF-7 meme kanser hücre hattında p16 ekspresyonunu artırdığı, hücre siklusunu G2M/S fazında durdurduğu ve hücrede apoptozu indüklemeyip senesensi indüklediği bildirilmiştir (Giménez-Bastida ve ark., 2019).

Siklin B1 hücre siklusunun anahtar düzenleyicisidir ve kanser hücrelerinde yüksek miktarda eksprese edilmektedir (Ye ve ark., 2017). Bu çalışma: kolorektal kanser hücrelerinde siklin B1 ve senesens arasındaki ilişkinin resveratrol açısından incelendiği ilk çalışmadır. Çalışma sonuçlarına göre siklin B1 ekspresyonu ne Colo-320 ne de Colo-741 hücrelerinde resveratrol uygulamasından sonra değişiklik göstermemiştir. X-gal boyama sonuçları göz önüne alındığında ise, resveratrol uygulaması yapılan Colo-320 hücrelerinde senesens durumundaki hücre sayısının azaldığı ancak bu azalmanın anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum resveratrolün primer kolon kanseri hücrelerinde senesensten ziyade apoptozu indüklemeye daha etkili olabileceğini düşündürmektedir. Diğer yandan resveratrol uygulaması yapılan Colo-741 hücrelerinde Colo-320 hücrelerine kıyasla daha fazla senesens durumunda hücre bulunmuştur. Bu durum, metastatik kanser hücrelerinin senesensi apoptozdan kaçmak için kullanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Metastatik kanser hücrelerinde artmış senesens hücre sayısını ve azalmış lamin B1 seviyelerini daha iyi gözlemleyebilmek için daha yüksek doz resveratrol ve daha uzun inkübasyon süresinin etkili olabileceği düşünülmektedir. Joe ve arkadaşları (Joe ve

ark., 2002) çeşitli kanser hücreleri ile yaptıkları çalışmada resveratrol uygulamasından sonra U937 lenfoma kanser hücreleri ve Bic-1 insan özefagus adenokarsinoma hücrelerinde siklin B1 ekspresyonunun etkilenmediğini, SW480 kolon kanser hücrelerinde ise azaldığını ve hücre siklusunun S fazında durduğunu rapor etmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada resveratrolün SW480 kolorektal kanser hücrelerinde siklin B1 ekspresyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Delmas ve ark., 2002). Resveratrolün siklin B1 ekspresyonunu azaltarak hücre siklusunu durdurucu etkilerini gösteren çalışmalar olmakla birlikte hücrede siklin B1 ekspresyonu ile senesens arasındaki bağlantının incelendiği tek çalışma pankreas kanser hücrelerinde rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2019).

MiRNA'lar endojen kodlanmayan küçük RNA molekülleridir ve hücrede çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenlerler (Falcone ve ark., 2015). MiRNA'lar hücrede hücre gelişme, farklılaşma, proliferasyon, K⁺ kanallarının düzenlenmesi, stres yanıtı, DNA onarımı, hücre adezyonu, hücre ölümü, inflamasyon, metabolizma ve tümör gelişimi gibi birçok biyolojik süreçte etki gösterebilmektedir (Kim ve ark., 2017). Resveratrolün MiRNA ekspresyonunu etkileyerek kolorektal kanser ilerlemesini durdurucu etkilerini gösteren çalışmalar olmakla birlikte Colo-320 ve Colo-741 hücre hatlarında bu etkinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada resveratrolün MiRNA seviyeleri üzerinde her iki hücre hattında da kontrol grubuna kıyasla anlamlı olmayan bir azalma gözlemlenmiştir. Colo-741 hücrelerinde bu azalma daha belirgin şekilde olmuştur. Yüksek doz ve inkübasyon süresinin metastatik hücre hattında miRNA seviyelerinde anlamlı bir azalmaya sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca MiRNA içerik analizinin yapıldığı çalışma dizaynlarının hücrelerde meydana gelen onkogenik ve tümör baskılayıcı MiRNA seviyelerindeki değişiklikleri belirlemede daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar resveratrolün MiRNA ekspresyonu üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. SW480 hücrelerinde resveratrolün MiRNA kompozisyonunu düzenleyebileceği, onkogenik miRNA ekspresyonunu azaltırken antikanser ve antimetastatik aktiviteye sahip anahtar MiRNA ekspresyonlarını artırabileceği rapor edilmiştir (Tili ve ark., 2010). Yang ve arkadaşları resveratrolün HCT116 ve HT29 hücre hatlarında tümör baskılayıcı MiRNA ekspresyonunu artırarak hücrede proliferasyon, migrasyon ve invazyonu baskılayarak apoptozu indüklediğini göstermişlerdir (Yang ve ark., 2015). Farklı bir çalışmada resveratrol metaboliti olan

piseatannolün kolorektal kanser hücrelerinde (HCT116 ve HT29) proapoptotik MiRNA ekspresyonunu artırarak hücrede apoptozu indüklediği rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2014).

Resveratrol ve metabolitlerinin kanser hücreleri üzerinde çeşitli etkileri bulunmakla birlikte antikanser aktivite göstermesini sağlayacak hücre için konsantrasyonlar henüz bilinmemektedir. Primer ve metastatik hücreler kendilerine özgü karakteristik hücre özellikleri göstermektedir. Bu nedenle çalışmanın ana kısıtlılığı ajanın hücre içi seviyelerinin değerlendirmesinin yapılamamasıdır. Ayrıca kaspaz-8 ve 9 seviyelerinin incelenmesi kolon kanser hücrelerinde indüklenen apoptozun hangi fazda olduğunu belirlenmesinde yardımcı olabilir. Mevcut çalışmadaki bulgular gelecekteki diğer çalışmalar için bir temel oluşturmaktadır.

6.0. SONUÇ ve ÖNERİLER

Resveratrol ile ilgili in vitro çalışmalar artmakla birlikte, bu çalışmalarda resveratrol yüksek dozlarda kullanılmaktadır. Bu durum resveratrolün fizyolojik etkilerinin doğru yansıtılamamasına sebep olabilmektedir. Resveratrolün biyoyararlılığının düşük olduğu bilinmektedir ve ayrıca resveratrol hızlıca metabolize olmakta ve vücuttan atılmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalar her zaman in vivo çalışmalarla korelasyon göstermeyebilmektedir (Park ve Pezzuto., 2015). Bu sebeple konu ile ilgili çalışmaların yapılması büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada resveratrolün apoptoz ve hücre sağ kalımı üzerindeki etkileri primer ve metastatik kolon kanseri hücrelerinde değerlendirilmiştir. Sonuçlar resveratrolün mitokondriyal apoptozu indüklediğini ve primer kolon kanseri hücrelerinde hücre sağ kalımını azaltmada senesensden daha etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, resveratrol metastatik kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeyen hücre canlılığını azaltmıştır.

Apoptozun indüklenmesi veya sağ kalım ve ölüm sinyal yolları arasındaki dengenin kontrol edilmesi, metastazın önlenmesi ve kanser hastalarının tedavisi için oldukça önemli bir rol oynayabilmektedir. Bunun yanında senesens durumundaki hücrelerin kontrolünün sağlanması ile tedavi etkinliği ve hastaların hayatta kalımları arasındaki ilişki henüz net bir şekilde ortaya konamamıştır. Resveratrolün apoptoz ve hücre siklusu üzerindeki mekanizmaları hücre tipine bağlı değişiklik gösterebilmektedir.

Bu araştırmanın sonuçları ışığında;

1. Resveratrolün kolorektal kanser hücrelerindeki antikanser etkilerinin belirlenebilmesi için in vivo çalışmalarla desteklenmesi,
2. Resveratrolün kolorektal kanser hücrelerindeki antikanser etkilerinin daha net ortaya konabilmesi için klinik çalışmalarla desteklenmesi,
3. MTT ve immünohistokimyasal analizlerin yapılması için resveratrolün farklı doz ve inkübasyon sürelerinde uygulanarak daha ileri çalışmaların yapılması,
4. Resveratrolün mevcut hücre hatlarında apoptotik ve senesens ile ilgili yollarının ortaya konmasına yönelik çalışmaların artırılması,
5. Resveratrolün biyoyararlılığının düşük olması sebebi ile yapılan in vitro çalışmaların in vivo çalışmalarla biyoyararlılığının değerlendirilerek desteklenmesi,

6. Resveratrol ve metabolitlerinin potansiyel antikanser aktivitesinden yararlanmak için resveratrolde zengin besinlerin tüketimlerinin ve Akdeniz diyeti gibi beslenme modellerinin önerilmesi,
7. Resveratrolün potansiyel antikanser etkilerini gösterebilmesi için diyet örüntüsünde ne miktarda tüketilmesi gerektiğine yönelik çalışmaların ivedilikle ele alınıp yaşama geçirilmesi,
8. Resveratrolün farmakoterapötik etkilerinin belirlenebilmesi için daha ileri çalışmaların yapılması öngörülmektedir

8.0.KAYNAKLAR

Abate M, Festa A, Falco M, Lombardi A, Luce A, Grimaldi A, vd. Mitochondria as playmakers of apoptosis, autophagy and senescence. *Semin Cell Dev Biol.* 2020; 98:139–53.

Acunzo J., Katsogiannou M., Rocchi P. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1), α B-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2012; 44: 1622-31.

Afrin S, Giampieri F, Gasparini M, Forbes-Hernández TY, Cianciosi D, Reboredo-Rodriguez P, Zhang J, Manna PP, Daglia M, Atanasov AG, Battino M. Dietary phytochemicals in colorectal cancer prevention and treatment: a focus on the molecular mechanisms involved. *Biotechnology advances.* 2020;38:107322.

Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer research.* 2004;24(5A):2783-840.

Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut.* 2017;66(4):683–91.

Baek SH., Ko JH., Lee H., Jung J., Kong M., Lee JW., Lee J., Chinnathambi A., Zayed ME., Alharbi SA., Lee SG. Resveratrol inhibits STAT3 signaling pathway through the induction of SOCS-1: Role in apoptosis induction and radiosensitization in head and neck tumor cells. *Phytomedicine* 2016; 23: 566-77.

Beauséjour CM, Krtolica A, Galimi F, Narita M, Lowe SW, Yaswen P, vd. Reversal of human cellular senescence: Roles of the p53 and p16 pathways. *EMBO J.* 2003;22(16):4212–22.

Binenbaum I, Lefaki M, Chondrogianni N, Chatziioannou A. Bioinformatic framework for analysis of transcription factor changes as the molecular link between

replicative cellular senescence signaling pathways and carcinogenesis. *Biogerontology*. 2020;21(3):357–66.

Bird JK, Raederstorff D, Weber P, Steinert RE. Cardiovascular and antiobesity effects of resveratrol mediated through the gut microbiota. *Advances in Nutrition*. 2017;8(6):839-49.

Board, PDQ Adult Treatment Editorial. "Colon Cancer Treatment (PDQ®)." In *PDQ Cancer Information Summaries [Internet]*. National Cancer Institute (US), 2019.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424.

Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M, Crowell JA, Perloff M, Booth TD, vd. Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: Safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. *Cancer Res*. 2010;70(22):9003–11.

Bruey JM, Ducasse C, Bonniaud P, Ravagnan L, Susin SA, Diaz-Latoud C, Gurbuxani S, Arrigo AP, Kroemer G, Solary E, Garrido C. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nature cell biology*. 2000;2(9):645-52.

Buhrmann C, Shayan P, Kraehe P, Popper B, Goel A, Shakibaei M. Resveratrol induces chemosensitization to 5-fluorouracil through up-regulation of intercellular junctions, Epithelial-to-mesenchymal transition and apoptosis in colorectal cancer. *Biochem Pharmacol*. 2015;98(1):51–68.

Calderwood SK. Heat shock proteins and cancer: Intracellular chaperones or extracellular signalling ligands? *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2018;373:(1738).

Chaplin A, Carpené C, Mercader J. Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota. *Nutrients*. 2018;10(11):1651.

Chatterjee S, Burns TF. Targeting heat shock proteins in cancer: A promising therapeutic approach. *Int J Mol Sci*. 2017;18(9).

Chen BY, Sung CW, Chen C, Cheng CM, Lin DP, Huang CT, Hsu MY. Advances in exosomes technology. *Clinica Chimica Acta*. 2019; 493:14-9.

Chen H., Jin ZL., Xu H. MEK/ERK signalling pathway in apoptosis of SW620 cell line and inhibition effect of resveratrol. *Asian Pac. J. Trop. Med* 2016; 9: 49-53.

Chung SS, Dutta P, Austin D, Wang P, Awad A, Vadgama J V. Combination of resveratrol and 5-fluorouracil enhanced antitelomerase activity and apoptosis by inhibiting STAT3 and Akt signaling pathways in human colorectal cancer cells. *Oncotarget*. 2018;9(68):32943–57.

Cilibrasi C., Riva G., Romano G., Cadamuro M., Bazzoni R., Butta V., Paoletta L., Dalpra L., Strazzabosco M., Lavitrano M., Giovannoni R. Resveratrol impairs glioma stem cells proliferation and motility by modulating the wnt signaling pathway. *PLoS One* 2017; 12: e0169854.

Colin DJ., Limagne K., Lizard G., Ghiringhelli F., Solary E., et al. The role of reactive oxygen species and subsequent dna-damage response in the emergence of resistance towards resveratrol in colon cancer models. *Cell Death Dis* 2014; 5: 1533-45.

Coppa T, Lazze MC, Cazzalini O, Perucca P, Pizzala R, Bianchi L, Stivala LA, Forti L, Maccario C, Vannini V, Savio M. Structure–activity relationship of resveratrol and its analogue, 4, 4'-dihydroxy-trans-stilbene, toward the endothelin axis in human endothelial cells. *Journal of medicinal food*. 2011;14(10):1173-80.

Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet*. 2019;394(10207):1467–80.

Delmas D, Passilly-Degrace P, Jannin BR, Malki MC, Latruffe NO. Resveratrol, a chemopreventive agent, disrupts the cell cycle control of human SW480 colorectal tumor cells. *International journal of molecular medicine*. 2002;10(2):193-9.

Dhar S, Hicks C, Levenson AS. Resveratrol and prostate cancer: promising role for microRNAs. *Molecular nutrition & food research*. 2011 Aug;55(8):1219-29.

Díaz-Chávez J., Fonseca-Sánchez MA., Arechaga-Ocampo E., Flores-Pérez A., Palacios-Rodríguez Y., Domínguez-Gómez G., Marchat LA., Fuentes-Mera L., Mendoza-Hernández G., Gariglio P., López-Camarillo C. Proteomic profiling reveals that resveratrol inhibits Hsp27 expression and sensitizes breast cancer cells to doxorubicin therapy. *Plos One* 2013; 8: 64378.

Dybkowska E, Sadowska A, Świdorski F, Rakowska R, Wysocka K. The occurrence of resveratrol in foodstuffs and its potential for supporting cancer prevention and treatment. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2018;69(1):5–14.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Safety of synthetic trans-resveratrol as a novel food pursuant to Regulation (EC) No 258/97. *EFSA Journal.* 2016;14(1):4368.

Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495–516.

El-Readi MZ, Eid SY, Abdelghany AA, Al-Amoudi HS, Efferth T, Wink M. Resveratrol mediated cancer cell apoptosis, and modulation of multidrug resistance proteins and metabolic enzymes. *Phytomedicine.* 2019;55:269–81.

Elshaer M, Chen Y, Wang XJ, Tang X. Resveratrol: An overview of its anti-cancer mechanisms. *Life sciences.* 2018; 207:340-9.

Ersöz E, Can OB, Uzunoğlu S. Eksozomların Kanserdeki Rolü. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 2016;3(1):144-52.

Falcone G, Felsani A, D'Agnano I. Signaling by exosomal microRNAs in cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2015;34(1):1–10.

Fan TJ, Han LH, Cong RS, Liang J. Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2005;37(11):719–27.

Fang Y, Demarco VG, Nicholl MB. Resveratrol enhances radiation sensitivity in prostate cancer by inhibiting cell proliferation and promoting cell senescence and apoptosis. *Cancer Sci.* 2012;103(6):1090–8.

Farhadnejad H, Emamat H, Zand H. The Effect of Resveratrol on Cellular Senescence in Normal and Cancer Cells: Focusing on Cancer and Age-Related Diseases. *Nutr Cancer*. 2019;71(7):1175–80.

Freund A, Laberge RM, Demaria M, Campisi J. Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Mol Biol Cell*. 2012;23(11):2066–75.

Garg R, Sardana S. Research Problems Associated with Resveratrol (trans-3, 5, 4'-trihydroxystilbene; RSV) and Various Strategies to Overcome those Problems. *Current drug delivery*. 2017;14(3):364-76.

Giménez-Bastida JA., Ávila-Gálvez MA., Espín JC., González-Sarrias A. Conjugated physiological resveratrol metabolites induce senescence in breast cancer cells: role of p53/p21 and p16/Rb pathways, and abc transporters. *Mol. Nutr. Food Res* 2019; 63: 1900629.

Gire V, Dulic V. Senescence from G2 arrest, revisited. *Cell Cycle*. 2015;14(3):297–304.

Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ. Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clin Biochem*. 2003;36(1):79–87.

Gonzalez LC, Ghadaouia S, Martinez A, Rodier F. Premature aging/senescence in cancer cells facing therapy: good or bad? *Biogerontology*. 2016;17(1):71–87.

Gowd V, Karim N, Shishir MR, Xie L, Chen W. Dietary polyphenols to combat the metabolic diseases via altering gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*. 2019;93: 81-93.

Grilo AL, Mantalaris A. Apoptosis: A mammalian cell bioprocessing perspective. *Biotechnol Adv*. 2019;37(3):459–75.

Hagiwara K, Kosaka N, Yoshioka Y, Takahashi RU, Takeshita F, Ochiya T. Stilbene derivatives promote Ago2-dependent tumour-suppressive microRNA activity. *Sci Rep*. 2012;2:1–9.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144(5):646-74.

Harikumar KB, Aggarwal BB. Resveratrol: a multitargeted agent for age-associated chronic diseases. *Cell cycle*. 2008;7(8):1020-35.

Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of cellular senescence. *Trends in cell biology*. 2018 Jun 1;28(6):436-53.

Hoca M., Becer E., Kabadayı H., Yücecan S., Vatansever HS. The effect of resveratrol and quercetin on epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer stem cell. *Nutr Cancer* 2019; 8: 1-2.

Hurst WJ, Glinski JA, Miller KB, Apgar J, Davey MH, Stuart DA. Survey of the trans-resveratrol and trans-piceid content of cocoa-containing and chocolate products. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(18):8374-8.

IARC (2019). Colorectal cancer screening. *IARC Handb Cancer Prev*. 17:1–300. Available from: <http://publications.iarc.fr/573>.

Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, Fong HH, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Moon RC. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 1997;275(5297):218-20.

Jeandet P, Delaunois B, Aziz A, Donnez D, Vasserot Y, Cordelier S, vd. Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012.

Ji S., Zheng Z., Liu S., Ren G., Gao J., Zhang Y., Li G. Resveratrol promotes oxidative stress to drive dlc1 mediated cellular senescence in cancer cells. *Exp Cell Res* 2018; 370: 292-302.

Jiang Z, Chen K, Cheng L, Yan B, Qian W, Cao J, Li J, Wu E, Ma Q, Yang W. Resveratrol and cancer treatment: Updates. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2017;1403(1):59-69.

Joe AK, Liu H, Suzui M, Vural ME, Xiao D, Weinstein IB, vd. Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. *Clin Cancer Res.* 2002;8(3):893–903.

Johnson A, Morgan L., Walter RR. *Molecular Biology of The Cell.* 6th ed. Garland Science; 2015, p:1021-1034.

Kim S, Song ML, Min H, Hwang I, Baek SK, Kwon TK, Park JW. miRNA biogenesis-associated RNase III nucleases Drosha and Dicer are upregulated in colorectal adenocarcinoma. *Oncology letters.* 2017;14(4):4379-83.

Koushki M, Amiri-Dashatan N, Ahmadi N, Abbaszadeh HA, Rezaei-Tavirani M. Resveratrol: A miraculous natural compound for diseases treatment. *Food Science & Nutrition.* 2018;6(8):2473-90.

Kraft TE, Parisotto D, Schempp C, Efferth T. Fighting cancer with red wine? Molecular mechanisms of resveratrol. *Critical reviews in food science and nutrition.* 2009 ;49(9):782-99.

Kuršvietienė L, Stanevičienė I, Mongirdienė A, Bernatoniienė J. Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Med.* 2016;52(3):148–55.

Langcake P, Pryce RJ. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology.* 1976;9(1):77-86.

Lee PS, Chiou YS, Ho CT, Pan MH. Chemoprevention by resveratrol and pterostilbene: Targeting on epigenetic regulation. *BioFactors.* 2018;44(1):26–35.

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Overhead Transparency Set for Lehninger Principles of Biochemistry 4th Ed. WH Freeman; 2004; p:468-475

Li H, Wu WK, Zheng Z, Che CT, Li ZJ, Xu DD, Wong CC, Ye CG, Sung JJ, Cho CH, Wang M. 3, 3', 4, 5, 5'-pentahydroxy-trans-stilbene, a resveratrol derivative, induces

apoptosis in colorectal carcinoma cells via oxidative stress. *European journal of pharmacology*. 2010;637(1-3):55-61.

Li H, Wu WKK, Zheng Z, Che CT, Yu L, Li ZJ, vd. 2,3',4,4',5'-Pentamethoxy-trans-stilbene, a resveratrol derivative, is a potent inducer of apoptosis in colon cancer cells via targeting microtubules. *Biochem Pharmacol*. 2009;78(9):1224–32

Li J, Yang X, Guan H, Mizokami A, Keller ET, Xu X, Liu X, Tan J, Hu L, Lu Y, Zhang J. Exosome-derived microRNAs contribute to prostate cancer chemoresistance. *International journal of oncology*. 2016;49(2):838-46.

Li P., Nijhawan D., Budihardjo I., Srinivasula SM., Ahmad M., Alnemri ES., Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997; 9: 479-89.

Liang HH, Huang CY, Chou CW, Makondi PT, Huang M Te, Wei PL, vd. Heat shock protein 27 influences the anti-cancer effect of curcumin in colon cancer cells through ROS production and autophagy activation. *Life Sci*. 2018;209:43–51.

Liu B, Zhou Z, Zhou W, Liu J, Zhang Q, Xia J, vd. Resveratrol inhibits proliferation in human colorectal carcinoma cells by inducing G1/S-phase cell cycle arrest and apoptosis through caspase/cyclin-CDK pathways. *Mol Med Rep*. 2014;10(4):1697–702.

Liu L, Wang J, Shi L, Zhang W, Du X, Wang Z, vd. β -Asarone induces senescence in colorectal cancer cells by inducing lamin B1 expression. *Phytomedicine*. 2013;20(6):512–20.

Lukášová E, Kovařík A, Kozubek S. Consequences of Lamin B1 and Lamin B Receptor Downregulation in Senescence. *Cells*. 2018;7(2):11.

Mahyar-Roemer M, Köhler H, Roemer K. Role of Bax in resveratrol-induced apoptosis of colorectal carcinoma cells. *BMC Cancer*. 2002;2:1–9.

Malvezzi H, Viana BG, Dobo C, Filippi RZ, Podgaec S, Piccinato CA. Depleted lamin B1: a possible marker of the involvement of senescence in endometriosis? Arch Gynecol Obstet. 2018;297(4):977–84.

Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Dieste AP, Cerrada E, Yoldi MJR. Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. Int J Mol Sci. 2017;18(1).

Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. Immunity. 2005;22(3):355–70.

Meng X, Zhou J, Zhao CN, Gan RY, Li H Bin. Health benefits and molecular mechanisms of resveratrol: A narrative review. Foods. 2020;9(3):1–27.

Mikuła-Pietrasik J, Niklas A, Uruski P, Tykarski A, Książek K. Mechanisms and significance of therapy-induced and spontaneous senescence of cancer cells. Cellular and Molecular Life Sciences. 2019 Aug 14:1-7.

Ndlovu T, van Jaarsveld F, Caleb OJ. French and Mediterranean-style diets: Contradictions, misconceptions and scientific facts-A review. Food research international. 2019;116:840-58.

O’Callaghan-Sunol C, Gabai VL, Sherman MY. Hsp27 modulates p53 signaling and suppresses cellular senescence. Cancer Res. 2007;67(24):11779–88.

Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, Hatakeyama K, Kanto K, Watanabe Y, vd. Let-7 microRNA family Is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. PLoS One. 2010;5(10):1–10.

Önay Uçar E, Şengelen A. Resveratrol and siRNA in combination reduces Hsp27 expression and induces caspase-3 activity in human glioblastoma cells. Cell Stress Chaperones. 2019;24(4):763–75.

Pandey KB ve Rizvi SI. Anti-oxidative action of resveratrol: Implications for human health. Arabian journal of chemistry. 2011;4(3):293-8.

Park EJ, Pezzuto JM. The pharmacology of resveratrol in animals and humans. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2015;1852(6):1071–113.

Patel KR, Brown VA, Jones DJL, Britton RG, Hemingway D, Miller AS, vd. Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. *Cancer Res.* 2010;70(19):7392–9.

Patel KR, Scott E, Brown VA, Gescher AJ, Steward WP, Brown K. Clinical trials of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1215(1):161–9.

Paul C., Manero F., Gonin S., Kretz-Remy C., Viot S., Arrigo A.P. Hsp27 as a negative regulator of cytochrome C release. *Molecular and Cellular Biology* 2002; 22: 816-34.

Pistritto G, Trisciuglio D, Ceci C, Alessia Garufi, D’Orazi G. Apoptosis as anticancer mechanism: Function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY).* 2016;8(4):603–19

Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S, Lorenzo-Benayas MJ, Centeno F, Alvarez-Barrientos A, vd. Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF- κ B. *Int J Cancer.* 2005;115(1):74–84.

Rahmanian N, Hosseinimehr SJ, Khalaj A. The paradox role of caspase cascade in ionizing radiation therapy. *J Biomed Sci.* 2016;23(1):1–13.

Rauf A, Imran M, Suleria HA, Ahmad B, Peters DG, Mubarak MS. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food & function.* 2017;8(12):4284-305.

Rayess H, Wang MB, Srivatsan ES. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16. *International journal of cancer.* 2012 Apr 15;130(8):1715-25.

Saiko P, Szakmary A, Jaeger W, Szekeres T. Resveratrol and its analogs: Defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? *Mutat Res - Rev Mutat Res*. 2008;658(1–2):68–94.

Sakanashi F, Shintani M, Tsuneyoshi M, Ohsaki H, Kamoshida S. Apoptosis, necroptosis and autophagy in colorectal cancer: Associations with tumor aggressiveness and p53 status. *Pathol Res Pract*. 2019;215(7):152425.

Sakthivel KM, Sehgal P. A novel role of lamins from genetic disease to cancer biomarkers. *Oncol Rev*. 2016;10(2):65–71.

Sales JM, Resurreccion AV. Resveratrol in peanuts. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2014 Jan 1;54(6):734-70.

Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases. *Cell Death Differ*. 2015;22(4):526–39.

Shimi T, Butin-Israeli V, Adam SA, Hamanaka RB, Goldman AE, Lucas CA, vd. The role of nuclear lamin B1 in cell proliferation and senescence. *Genes Dev*. 2011;25(24):2579–93.

Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RG, Barzi A, Jemal A. Colorectal cancer facts and figures 2017–2019. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(3):177-93.

Singh SK, Banerjee S, Acosta EP, Lillard JW, Singh R. Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis with docetaxel in prostate cancer cells via a p53/p21WAF1/CIP1 and p27KIP1 pathway. *Oncotarget*. 2017;8(10):17216–28.

Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone?. *Clinical biochemistry*. 1997;30(2):91-113.

Song M, Garrett WS, Chan AT. Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1244-60.

Sottile ML, Losinno AD, Fanelli MA, Cuello-Carrión FD, Montt-Guevara MM, Vargas-Roig LM, Nadin SB. Hyperthermia effects on Hsp27 and Hsp72 associations

with mismatch repair (MMR) proteins and cisplatin toxicity in MMR-deficient/proficient colon cancer cell lines. *International Journal of Hyperthermia*. 2015 Jul 4;31(5):464-75.

Springer M, Moco S. Resveratrol and its human metabolites—effects on metabolic health and obesity. *Nutrients*. 2019;11(1):1–17.

Stivala LA, Savio M, Carafoli F, Perucca P, Bianchi L, Maga G, Forti L, Pagnoni UM, Albini A, Prosperi E, Vannini V. Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(25):22586-94.

Stockert JC, Horobin RW, Colombo LL, Blázquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochem*. 2018;120(3):159–67.

Švajger U, Jeras M. Anti-inflammatory effects of resveratrol and its potential use in therapy of immune-mediated diseases. *International reviews of immunology*. 2012;31(3):202-22.

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

Tili E, Michaille JJ, Alder H, Volinia S, Delmas D, Latruffe N, Croce CM. Resveratrol modulates the levels of microRNAs targeting genes encoding tumor-suppressors and effectors of TGFβ signaling pathway in SW480 cells. *Biochemical pharmacology*. 2010;80(12):2057-65.

Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(10):735–47.

Valentovic MA. Evaluation of resveratrol in cancer patients and experimental models. In *Advances in cancer research* 2018;137:171-188. Academic Press.

Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE, Walle UK. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos.* 2004;32(12):1377–82.

Wang X., Wang D., Zhao Y. Effect and mechanism of resveratrol on the apoptosis of lung adenocarcinoma cell line A549. *Cell Biochem Biophys* 2015; 73: 527-31.

Wei MC., Zong WX., Cheng EH., Lindsten T., Panoutsakopoulou V., Ross AJ., Roth KA., MacGregor GR., Thompson CB., Korsmeyer SJ. Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science* 2001; 292: 727-30.

Weiskirchen S, Weiskirchen R. Resveratrol: how much wine do you have to drink to stay healthy?. *Advances in Nutrition.* 2016;7(4):706-18.

World Cancer Research Fund International/American Institute for Cancer Research. Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Colorectal Cancer 2017. Available at: wcrf.org/colorectal-cancer-2017.

Wu J, Liu T, Rios Z, Mei Q, Lin X, Cao S. Heat Shock Proteins and Cancer. *Trends Pharmacol Sci.* 2017;38(3):226–56.

Yamashiro Y, Sasaki H, Ibaraki N, Nagai K, Kawakami Y, Yaguchi H, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor p16 and p21 expression, and cell cycle change in human lens epithelial cell line SRA 01/04 following contact inhibition in normal culture. *Ophthalmic Res.* 2011;46(1):38–43.

Yang Q, Wang B, Zang W, Wang X, Liu Z, Li W, et al. Resveratrol inhibits the growth of gastric cancer by inducing G1 phase arrest and senescence in a Sirt1-dependent manner. *PLoS One.* 2013;8(11).

Yang S, Li W, Sun H, Wu B, Ji F, Sun T, Chang H, Shen P, Wang Y, Zhou D. Resveratrol elicits anti-colorectal cancer effect by activating miR-34c-KITLG in vitro and in vivo. *BMC cancer.* 2015;15(1):969.

Yang Y, Paik JH, Cho D, Cho JA, Kim CW. Resveratrol induces the suppression of tumor-derived CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. *International immunopharmacology*. 2008;8(4):542-7.

Ye C, Wang J, Wu P, Li X, Chai Y. Prognostic role of cyclin B1 in solid tumors: A meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(2):2224–32.

Yeung AW, Aggarwal BB, Orhan IE, Horbanczuk OK, Barreca D, Battino M, Belwal T, Bishayee A, Daglia M, Devkota HP, Echeverría J. Resveratrol, a popular dietary supplement for human and animal health: Quantitative research literature analysis-a review. *Animal Science Papers and Reports* 2019; 37 :2, 103-118

Yuan L, Alexander PB, Wang XF. Cellular senescence: from anti-cancer weapon to anti-aging target. *Sci China Life Sci*. 2020;63(3):332–42.

Zamora-Ros R, Cayssials V, Jenab M, Rothwell JA, Fedirko V, Aleksandrova K, Tjønneland A, Kyrø C, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Carbonnel F. Dietary intake of total polyphenol and polyphenol classes and the risk of colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *European journal of epidemiology*. 2018;33(11):1063-75.

Zhang H, Jia R, Wang C, Hu T, Wang F. Piceatannol promotes apoptosis via up-regulation of microRNA-129 expression in colorectal cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;452(3):775–81.

Zhang H, Zhang X, Li X, Meng WB, Bai ZT, Rui SZ, vd. Effect of CCNB1 silencing on cell cycle, senescence, and apoptosis through the p53 signaling pathway in pancreatic cancer. *J Cell Physiol*. 2018;234(1):619–31

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Servet	Soyadı	Madencioğlu
Doğum yeri	Lefkoşa/Kıbrıs	Doğum Tarihi	29.01.1990
Uyruğu	KKTC	Tel	0533 855 15 75
E-mail:	servetmadencioğlu@hotmail.com servet.madencioğlu@neu.edu.tr		

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Okul	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık Y	Yakın Doğu Üniversitesi	Halen
Yüksek Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi	2015
Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi	2012
Lise	20 Temmuz Fen Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Araştırma Görevlisi	Yakın Doğu Üniversitesi	8 yıl (2012-halen)

Yabancı Diller	Okuduğunu Anlama *	Konuşma*	Yazma*
İngilizce			



3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020)

19-20 March 2020, Ankara, Turkey
www.EurasianBioChem.org

➤ ORAL PRESENTATION

Resveratrolün kolon kanserinde hücre yaşlanması ve apoptozu indüklemesi

Servet Madencioglu^{1*}, Eda Becer², Hilal Kabadayı⁴, Hafize Seda Vatansever^{3,4}, Sevinç Yücecane¹

¹Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Lefkoşa, Kıbrıs

²Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Lefkoşa, Kıbrıs

³Yakın Doğu Üniversitesi, DESAM Enstitüsü, Lefkoşa, Kıbrıs

⁴Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, Manisa, Türkiye

*servetmadencioglu@hotmail.com

Özet

Giriş: Kolorektal kanser erkeklerde üçüncü, kadınlarda ise ikinci en yaygın kanser türü olup dünyadaki kanser insidansının %10'undan fazlasını oluşturmaktadır. Literatür incelendiğinde fitokimyasalların kolon kanserinden koruyucu potansiyel etki gösterdiği bildirilmektedir. Fitokimyasallardan resveratrol trans-3,5,4' trihidroksistilben kimyasal yapıda olup stilbenoid sınıfında yer alan bir fitoaleksindir ve çöpleme otu, üzüm kabuğu, *Rheum officinale* Bail, üzümü meyveler, yer fıstığı, *Polygonum cuspidatum* gibi bitkilerde ve şarapta bulunmaktadır. Güçlü bir antioksidan olan resveratrolün çeşitli metabolik yolları etkileyerek akciğer, meme, kolon ve prostat kanseri gibi çeşitli kanser türlerinin başlaması ve ilerlemesini durdurucu potansiyel etki gösterebildiği yönde araştırmalar mevcuttur. Çalışmanın amacı resveratrolün primer (Colo-320) ve metastatik (Colo-741) kolon kanseri hücrelerindeki apoptotik ve hücre yaşlanması üzerindeki etkilerinin belirlenmesidir.

Yöntem ve Metod: Colo-320 ve Colo-741 hücrelerinde hücre büyümesi ve sitotoksitesi MTT testi kullanılarak belirlenmiştir. Resveratrolün apoptotik ve hücre yaşlanmasını indükleyici aktivitesi immunositokimya yöntemi ile test edilmiştir. İmmünohistokimya Bax, Bcl-2, kaspaz-3, Hsp27, Lamin B1, p16, siklin B1 dağılımları değerlendirilmiştir. Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde GraphPad Prism 8 Statistical Software programı kullanılmıştır.

Bulgular: MTT sonuçlarına göre Colo-320 hücresi için 25 µg/ml, Colo-741 hücresi için 10 µg/ml resveratrol daha etkili bulunmuştur. İmmünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre, Colo-320 hücrelerinde Bax immünoaktivitesi resveratrol uygulamasından sonra artarken (p<0.05), Bcl-2 immünoaktivitesinde azalma gözlemlenmiştir (p<0.01). Resveratrol uygulamasından sonra Colo-320 hücrelerinde Hsp27, lamin B1 ve p16 immünoaktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlemlenmiş (p>0.05) iken, Colo-741 hücrelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (p<0.01). Bununla birlikte resveratrol uygulamasından sonra Hsp27 immünoaktivitesi, Colo-320 hücrelerinde Colo-741 hücrelerine kıyasla daha fazla bulunmuştur (p<0.01).

Sonuç: Resveratrol hem primer hem de metastatik kolon kanseri hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı, ancak resveratrol primer kanser hücrelerinde mitokondrial yolk üzerinden apoptozu indüklemeye daha etkili olduğu bulunmuştur. Resveratrolün apoptotik ve hücre siklusu üzerindeki etkileri hücre tipine göre farklılık gösterebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Resveratrol, kolon kanseri, apoptoz



29.05.2020 Cum 15:53

Eugenio Nadotti <noreply@mattioli1885journals.com>

[PN] Editor Decision about issue (volume number)

Kime ☐ servet madencioğlu

Hello Doctor,

I'm pleased to inform you that your article will be published in the issue 1/2021 of Progress in Nutrition (Volume 23, N. 1, 2021 - March issue).

The DOI of the article is 10.23751/pn.v23i1.9571

I will send you the galley proof for your corrections before the publication of the issue.

I have also activated the plugin "Online first" and so you can see the article already online before the publication at the end of the website home page: <http://www.mattioli1885journals.com/index.php/progressinnutrition/index>

Thanks for your collaboration

Best regards

Progress in Nutrition

Editorial Office

**[THIS IS AN AUTOMATED MESSAGE - PLEASE DO NOT REPLY DIRECTLY TO THIS EMAIL BUT REPLY TO:
valeriaceci@mattioli1885.com]**