



**BAYBURT YÖRESİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN
SİYAH KUŞBURNU (*Rosa pimpinellifolia* L.) MEYVESİNİN
BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİN BELİRLENMESİ**

Büşra KICIK

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği

Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Hamit Emre KIZIL

2021

(Her Hakkı Saklıdır)

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BAYBURT YÖRESİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN SİYAH KUŞBURNU (*Rosa pimpinellifolia* L.) MEYVESİNİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİN BELİRLENMESİ

(Determination of Some Biological Activities of Black Rosehip (*Rosa pimpinellifolia* L.) Fruit Growing Naturally in Bayburt Region)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra KICIK

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hamit Emre KIZIL
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sinan BAYRAM

Bayburt
Ağustos, 2021

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Bayburt Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Siyah Kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) Meyvesinin Bazı Biyolojik Aktivitelerin Belirlenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını ve yararlandığım eserleri kaynakçada gösterdiğimi beyan ederim.

27/08/2021

Büşra KICIK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, kendisini tanımaktan büyük onur duyduğum sevgili danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hamit Emre KIZIL'a, bilgi ve tecrübesi ile lisanüstü öğrenim hayatımın tüm zorlu aşamalarında yardımcı olan, tecrübeleri ile beni aydınlatan ve desteğini hiç eksik etmeyen ikinci danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sinan BAYRAM'a, çalışmalarımda katkısı bulunan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nesrin Ecem BAYRAM'a ve Öğr. Gör. Hasan CAN'a, öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAYBURT YÖRESİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN SİYAH KUŞBURNU (*Rosa pimpinellifolia* L.) MEYVESİNİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİN BELİRLENMESİ

Büşra KICIK

Ağustos 2021, 51 sayfa

Kuşburnu geçmişten günümüze birçok alanda özellikle de gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan bitkilerimizden birisidir. Bu çalışmada Bayburt yöresinde doğal olarak yetişen kuşburnu ailesine ait siyah kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) tercih edilmiştir. Bu tür *Rosa spinosissima* olarak da bilinmektedir. Bu çalışmada *Rosa pimpinellifolia* meyve örneklerinin toplam fenolik içeriğinin, antioksidan özelliklerinin, antibakteriyel aktivitesinin, element profilinin ve MCF-7 kanser hattında çeşitli konsantrasyonlar da antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma da ultrasonik destekli yöntem kullanılarak hazırlanan metanol ekstraktı kullanılmıştır. Meyve özütünün toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi, antioksidan kapasitesi ABTS ve DDPH yöntemiyle, antibakteriyel aktivite disk difüzyon yöntemiyle, elemental profil ICP-MS yöntemiyle ve antiproliferatif etki ise CVDK-8 testi ile belirlenmiştir. Meyve özütünün toplam fenolik içeriği $37,5 \pm 0,2$ mg GA/g, antioksidan aktivite değeri ABTS yöntemi ile $32,06 \pm 1,1$ mg TE/g ve DPPH yöntemi ile $23,47 \pm 1,6$ mg TE/g olarak belirlenmiştir. Beş farklı Gram pozitif bakteri (*Bacillus cereus* BC 6830, *Enterococcus faecalis* NCTC 12697, *Staphylococcus aureus* NCTC 10788, *Staphylococcus aureus* BC7231, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ve beş Gram negatif bakteri (*Escherichia coli* NCTC 9001, *Escherichia coli* BC1402, *Escherichia coli* NCTC 12924, *Salmonella typhimurium* RSSK 95091 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729), antibakteriyel etkiyi belirlemek için kullanılmış olup, 500 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan *Rosa pimpinellifolia* meyve özütlerinin, seçilen hedef patojen suşlarına karşı antibakteriyel etkiye sahip olmadığı tespit edildi. Ayrıca MCF-7 meme kanseri hücre hattına, *Rosa pimpinellifolia* meyvesinin metanol ekstraktları farklı konsantrasyonlarda uygulanmış ve 72. saatten sonra etkisi gözlemlenmiştir. Buna göre en yüksek sitotoksik etki 40 µg/ml'lık konsantrasyonda tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Rosa pimpinellifolia*, biyolojik aktivite, MCF-7.

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF BLACK ROSEHIP (*Rosa pimpinellifolia* L.) FRUIT GROWING NATURALLY IN BAYBURT REGION

Büşra KICIK

August 2021, 51 pages

Rosehip is one of our plants that is widely used in many fields, especially in the food sector, from past to present. In this study, black rosehip (*Rosa pimpinellifolia* L.) belonging to the rosehip family, which grows naturally in the Bayburt region, was preferred. This species is also known as *Rosa spinosissima*. In this study, it was aimed to determine the total phenolic content, antioxidant properties, antibacterial activity, element profile and antiproliferative effects of MCF-7 cancer line at various concentrations of *Rosa pimpinellifolia* fruit samples. In the study, methanol extract prepared using ultrasonic assisted method was used. Total phenolic content of the fruit extract was determined by Folin-Ciocalteu method, antioxidant capacity was determined by ABTS and DDPH method, antibacterial activity was determined by disk diffusion method, elemental profile was determined by ICP-MS method and antiproliferative effect was determined by CVDK-8 test. The total phenolic content of the fruit extract was determined as 37.5 ± 0.2 mg GA/g, the antioxidant activity value was determined as 32.06 ± 1.1 mg TE/g by ABTS method and 23.47 ± 1.6 mg TE/g by DPPH method. Five different Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus* BC 6830, *Enterococcus faecalis* NCTC 12697, *Staphylococcus aureus* NCTC 10788, *Staphylococcus aureus* BC7231, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and five Gram negative bacteria (*Escherichia coli* NCTC 9001, *Escherichia coli* BC1402, *Escherichia coli* NCTC 9001, *Escherichia coli* BC1402, *Salmonella typhimurium* RSSK 95091 and *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729) were used to determine the antibacterial effect, and it was determined that *Rosa pimpinellifolia* fruit extracts prepared at 500 µg/mL concentration did not have antibacterial effect against the selected target pathogen strains. In addition, methanol extracts of *Rosa pimpinellifolia* fruit were applied at different concentrations to the MCF-7 breast cancer cell line, and the effect was observed after 72 hours. Accordingly, the highest cytotoxic effect was detected at a concentration of 40 µg/ml.

Keywords: *Rosa pimpinellifolia*, biologic activity, MCF-7.

İÇİNDEKİLER

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZ	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x

BİRİNCİ BÖLÜM

Giriş	1
-------------	---

İKİNCİ BÖLÜM

Kuramsal Çerçeve ve Alan Yazın Derleme	4
<i>Rosaceae</i> Familyası Genel Özellikleri	4
Kuşburnu Meyvesinin Kullanım Alanları	8
<i>Rosa pimpinellifolia</i> L. (<i>Rosa spinosissima</i> L.).....	9
<i>Rosa pimpinellifolia</i> meyvesinin kullanım alanları ve faydaları.....	12
Kanser	12
Meme Kanseri.....	15
Meme kanseri risk faktörleri.....	15
Obezite.	16
Beslenme.	16
Fiziksel aktivite.	16
Alkol.	16
Sigara.....	17
Genetik kalıtsal özellik.....	17
Meme Kanseri Oluşumunda Etkili Faktörler.....	17
Östrojen.	17
Serbest radikaller ve oksidatif stres.....	18
Apoptozis.	18

Antioksidanlar	19
Endojen antioksidanlar.....	19
Ekzojen antioksidanlar.	20

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

Materyal ve Yöntem	21
Kullanılan Cihazlar ve Cam Malzemeler	21
Kullanılan Standart Çözeltiler ve Reaktifler	22
Hammadde Temini ve Teşhisi.....	22
Bitki Ekstrelerinin Elde Edilmesi	22
Ultrasonik destekli metanol ekstraktının elde edilmesi.....	22
Hücre Kültürü	23
Hücre pasajlanması.	23
Hücre dondurma ve muhafaza.....	24
Hücre sayımı ve canlılık kontrolü.	25
Proliferasyon Analizi	25
<i>In vitro</i> Antibakteriyel Aktivite Testleri.....	26
Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve inkübasyon koşulları.	26
Saf mikroorganizma kültürünün hazırlanması.	27
<i>In vitro</i> antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi.	28
Antioksidan Aktivite.....	28
Kullanılan kimyasallar.	28
ABTS (2,2-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) testi.....	28
DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) testi.	28
Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi	29
Elemental Analiz (ICP-MS)	29
İstatistiksel Değerlendirme	29

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

Araştırma Bulguları	30
Proliferasyon Etkisinin Hücre canlılığı CVDK-8 ile Belirlenmesi	30
72 saatlik inkübasyon bulguları.....	30
<i>In vitro</i> Antibakteriyel Aktivite Testleri.....	31
Antioksidan Aktivite.....	32
Toplam Fenolik Madde İçeriği	32

İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Elemental Analiz	33
---	----

BEŞİNCİ BÖLÜM

Sonuç, Tartışma ve Öneriler	35
-----------------------------------	----

KAYNAKÇA.....	40
---------------	----

ÖZGEÇMİŞ	51
----------------	----



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Ülkemizde Yetişen Kuşburnu Türleri ve Yayılış Alanları</i>	5
Tablo 2. <i>Rosa pimpinellifolia L. 'nin Ülkemizde Yetiştigi Yörelere ve Yöresel İsimleri</i>	10
Tablo 3. <i>Rosa pimpinellifolia L. özütlerinin in vitro antibakteriyel aktivitelerinin tespiti için kullanılan mikroorganizmaların listesi</i>	27
Tablo 4. <i>CVDK-8 test sonuçları</i>	30
Tablo 5. <i>Rosa pimpinellifolia Meyve Ekstraktının Antioksidan Aktivite Sonuçları</i>	32
Tablo 6. <i>Rosa pimpinellifolia Meyve Ekstraktının Toplam Fenolik Madde İçeriği</i>	32
Tablo 7. <i>Örneklerin element içeriği (ppb)</i>	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Rosa pimpinellifolia L. çalı üzerindeki görünümü.	10
Şekil 2. Rosa canina L. çalı üzerindeki görünümü.	10
Şekil 3. Rosa pimpinellifolia L.'nin ülkemizdeki yayılışı.	11
Şekil 4. Rosa canina L.'nin ülkemizdeki yayılışı.	11
Şekil 5. Rosa pimpinellifolia L. ultrasonik destekli metanol ekstraksiyonu (Kıcık, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı).	23
Şekil 6. Patojen mikroorganizma kültür örnekleri (Kıcık, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı).	27
Şekil 7. CVDK-8 test sonuçları ($p<0,05$).	31

KISALTMALAR DİZİNİ

GLOBOCAN	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
ABTS	: 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
TE	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi
TSA	: Tryptic soy agar
ROT	: Serbest oksijen radikalleri
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TOS	: Total oksidan seviyesi
MTT	: Metiltiazoltetrazolium
ICP	: İndüktif eşleşmiş plazma
MS	: Kütle spektrometrisi

BİRİNCİ BÖLÜM

Giriş

Kuşburnu, ülkemizde yabancı olarak yetişmekte olan ve her geçen gün önemi biraz daha iyi anlaşılan bir meyve türüdür ve bu meyve türü üzerinde yapılan tescil çalışmaları, Tokat ve Erzincan illerinde yürütülen seleksiyon çalışmaları ile birlikte belli bir aşamaya gelmiş ve süreç devam etmektedir. Kuşburnu türlerini kültüre alma çalışmaları hala başlangıç aşamasında olmasına rağmen hali hazırda gıda sanayisinde önemli bir hammadde olarak yerini almaktadır. Daha fazla kuşburnu meyvesinin toplanıp işlenmesi için tescil edilmiş çeşitlerin yaygınlaşması veya kuşburnu bahçelerinin kurulması gerekmektedir (Parlar, 2015; Ercişli, 1996; Mısırlı, Güneri, & Gülcan, 1999; Kazankaya, Koyuncu, & Balta, 1999; Kızılcı, 2005; Dölek, 2008).

Rosa cinsi, *Rosaceae* familyasına ait olan önemli kuşburnu türlerinden birisidir ve çeşidine göre boyu 1,5 ile 3,5 metre arasında olup, dik veya çalı formunda bulunabilmektedir. Yerden 4 m kadar derinde olan köklere sahip olan *Rosa* cinsinin gövde ve dalları geriye doğru kıvrık ve çoğunlukla sık dikenlidir. Yapraklar; 5-7 yaprakçıklı, yumurta veya eliptik şeklinde, 24 cm uzunlukta, mat yeşil ya da mavi renklidirler. Meyvenin çiçeklenme zamanı haziran ayında olup (Rehder, 1947) meyve oluşumu çiçek yörüngelerinin etlenmesi ile meydana gelmektedir. İç kısımları tüylüdür ve fazla miktarda sert çekirdek içermektedir (Yamankaradeniz, 1983). Ekim ayında görülen meyveler şekil olarak eliptik, rengi ise genellikle sarı, kırmızı ve turuncudur (İlisulu, 1992; Güleriyüz, & Ercişli, 1996; Rehder, 1947).

“Kuşburnu cinsine ait yaklaşık 100 tür Kuzey Amerika, Ortadoğu, Asya ve Avrupa’da yayılış göstermiş olup” (Ercişli, 2007, s. 5), “ülkemiz kuşburnu türlerinin en önemli gen merkezlerinden biridir ve aynı zamanda yaklaşık 27 kuşburnu türünün yetiştiği tespit edilmiştir” (Davis, 1965, s. 8).

“Kuşburnu yetiştiriciliğinin çiftçilerimiz için önemli bir gelir kaynağı olabileceği düşünülmekte olup kaliteli ve fazla miktarda kuşburnu üretimi için ortam şartların uygun olması gerekmektedir” (Encu, 2015, s. 3). Bu da farklı ürünlerin değerlendirilmesi ve geliştirilmesi için yapılan çalışmalara bağlıdır. Ülkemizde, kuşburnunun yetişme ortamı istekleri ve coğrafi dağılımı konularında farklı bölgelerde bazı bilimsel çalışmalar yapılmıştır (Yücel, 2001; Kazaz, 2013) fakat bu çalışmalar, kuşburnu meyvesinin değerlendirilmesi açısından, daha çok doğal olarak yetişen türlerin taksonomik, genotipik ve morfolojik özelliklerini belirlemek için yapılmıştır. Kuşburnu meyvesinin pomolojik özelliklerini belirlemek üzere yapılan birçok çalışmaya meyve boyutları, meyve ağırlığı, meyve eti oranı, çekirdek sayısı ve ağırlığı, pH,

toplam kuru madde miktarı, suda çözünür kuru madde titre edilebilir asitlik derecesi ve özellikle C vitamini içeriği konu edilmiştir (User, 1967; Ekincialp, & Kazankaya, 2012).

Kuşburnu bitkisinin doğada ki biyolojik çeşitliliğin oluşmasında ve korunmasında önemli bir yeri olup, geniş tepe yapısına sahip olması, derine inmeyen geniş ve yüzeye yakın, yayılıcı kökleri ile toprağın geçirgenliğini ve toprağın su tutma kapasitesini arttırması nedeniyle, erozyonu önleme fonksiyonları bulunmaktadır (Yılmaz, 1996).

Kuşburnu çeşitlerinin ekonomik ve ekolojik bakımdan önemi, bu cinse olan talebi artırmakta ve bu talep artışına bağlı olarak türün yayılış alanlarının ekim veya dikim yoluyla genişletilmesi zorunlu hale gelmektedir. Bunun için öncelikle çeşidin doğal yaşam ortamındaki yetiştirme özellikleri tespit edilmeli, envanter çalışmaları yapılarak, analitik yöntemlerle potansiyel dağılım haritası elde edilmelidir (Mert, Şentürk, Güney, Akdemir, & Özkan, 2013).

Kuşburnu çeşitlerinin, karbonhidratların mevsimsel değişimi üzerine olan etkisi ile ilgili Bulgaristan’da yapılan bir çalışmada, büyüme zamanında bitkilerde daha fazla nişasta toplandığı ve kış aylarında bu nişasta miktarının düştüğü belirlenmiştir. Fakat bitkilerdeki soğuğa direncin en fazla olduğu aylarda şeker miktarlarının da en yüksek seviyelerde olduğu ve ilkbaharda uyanmanın başlamasıyla şeker içeriklerinin azalmaya başladığı tespit edilmiştir (Deceva, & Koseva, 1972).

Kuşburnu meyvesi yaygın olarak çay, marmelat, jöle, reçel gibi yiyecek ve içecek olarak kullanılmaktadır (Yıldız, & Alpaslan, 2012). Aynı zamanda pasta ve şekerleme sanayinde katkı maddesi olarak kullanıldığı gibi askorbik asit düzeyi düşük meyve ve sebze sularının zenginleştirilmesinde de kullanımı söz konusudur. Bu meyvenin tohumları fazla miktarda doymamış yağ içerdiğinden gıda ve kozmetik sanayinde, kök ve çiçekleri ise boya maddesi olarak gıda ve tekstil sanayinde kullanılmaktadır (Türkben, Çopur, Tamer, & Şenel, 1996). Avrupa ülkelerinde gıda ve ilaç sektöründe bu hammadde önemli bir yer almaktadır (Demir, 1990; Bayram, & Aslan, 1996). Diğer taraftan dini törenlerde, kozmetik, parfüm sanayiinde ve ilaç yapımında yıllardır kullanılmaktadır. Bazı çeşitleri Yunanlılar, Romalılar ve Persler tarafından ilaç olarak kullanılmıştır. Güller ile hazırlanan preparatlara pozitif sonuç gösteren 32 farklı hastalık kaydedilmiştir. Bahsedilen bu kırmızı gül petalleri, ilaçlar için hoş koku verici ve kanı durdurucu etkisi yönünden 1930’lara kadar “British Pharmacopoeia”da listelenmiştir (Türkben, 2003). Mısırdaki geniş bir kullanım sahası bulan kuşburnu, M.Ö saflık ve temizliğin simgesi olarak Akdeniz ülkelerinde yetiştirilmiştir. Roma halkı kuşburnu bitkisinin çiçeğini karın ağrısı tedavilerinde ilaç olarak kullanmışlar, hipokrat zamanında iltihaplara karşı, Ortaçağ’da ve daha sonraki dönemlerde ise kan tükürmelere, dişeti kanamalarına, böbrek ve

safra taşlarına, tenyaya, yılançık hastalığına karşı olarak kullanılmıştır (Baytop, 1984, 1999). Kuşburnunun daha da değerli kılınmasına neden olan özelliği, insan sağlığına zararlı pestisit ve ağır metallerin bulunmayışı olmuştur. Bu sebeple bebekler için üretilen mama ve gıdalarda kullanılabilme özelliğini kazandırmıştır (Kostic, 1994). Kuşburnunun kuvvet verici etkisinin olduğu, şeker hastalığına karşı kullanıldığı bunun yanında da C vitamini deposu olduğu bilinmektedir (Baytop, 1999).

Kuşburnu meyvesinde bulunan kimyasal bileşenleri belirlemek amacıyla birçok bilimsel araştırma yapılmıştır. Bu araştırmaların bir kısmında kuşburnu içeriğinde; bioflavonoidler, mineraller, tanen, aminoasit, meyve asitleri, pektin, (Çınar, & Çolakoğlu, 2004; Baytop, 1999) ciddi oranda karotenoid (Kazaz, Baydar, & Erbaş, 2009; Barros, Carvalho, Morais, & Ferreira, 2010; Andersson, Rumpunen, Johansson, & Olsson 2011), fenolik bileşikler (Orhan, Aslan, Hosbas, & Deliorman, 2009; Fattahi, Jamei, & Hosseini, 2012), folik asit (Strålsjö, Alklint, Olsson, & Sjöholm, 2003), α -tokoferol (E Vitamini), γ -tokoferol (Özçelik, 2009; Kazaz vd., 2009; Barros vd., 2010; Andersson vd., 2011), malik asit, früktoz (Özrenk, Gündoğdu, & Doğan, 2012), oleik, linoleik ve linolenik asit gibi önemli yağ asitleri (Özçelik, 2009; Özcan, 2002; Nowak, 2005), kateşin, klojenik asit, kafeik asit ve apigenin 7-O-glukozit (Özçelik, 2009; Demir, & Özcan, 2001) tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmalar sonucunda kuşburnunun K, Ca, Na, Fe, Mn, Mg ve P elementleri bakımından oldukça zengin olduğu ortaya çıkmıştır (Ercişli, 2007; Yamankaradeniz, 1982, Jacobi, 1994; Levent, Alp, Ekin, & Karagöz, 2010).

Bitkilerden elde edilen ürünler ilaç olarak, geçmişten günümüze kadar sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde bile çok sayıda bitki hem ilaç olarak hem de ilaç tedavisine ek tıbbi olarak kullanılmaktadır. (Mans, Da Rocha, & Schwartzmann, 2000).

Literatürde Bayburt bölgesinde doğal olarak yetişen, bilimsel adı *Rosa spinosissima* olarak da bilinen *Rosa pimpinellifolia* L. (Siyah meyveli kuşburnu)'nın ekstraktlarında biyolojik aktivitenin belirlenmesi üzerine bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada *Rosa pimpinellifolia* L. bitkisinden elde edilen ekstraktların antiproliferatif, antimikrobiyal aktiviteleri, antioksidatif özellikleri ile toplam fenolik madde içeriğini tespit etmek ve aynı zamanda *Rosa pimpinellifolia* L. bitkisinin meyve, çekirdek ve yetiştiği bölgedeki toprak örneğinde bulunan elemental analiz gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

Kuramsal Çerçeve ve Alan Yazın Derleme

Rosaceae Familyası Genel Özellikleri

Rosaceae (gülgiller) familyası, dünya üzerinde yaygın olarak bulunmasının yanında çoğunlukla kuzey yarım kürede yayılış göstermektedir. Dünyada 100-120 cins ve buna bağlı 3000-4000 tür, ülkemizde ise 35 cins ve buna bağlı 250 tür bulunmaktadır (Tanker, & Tanker, 1993). Bu familyanın çiçekleri, peyzaj ve çiçekçilik sektöründe önemli kullanım sahası oluşturmakta, meyveleri ise çok değerlidir (Davis, 1965).

Ülkemiz için oldukça önemli değere sahip familyalardan biri olan *Rosaceae* familyasının bitkileri, çok sayıda otsu veya odunsu türle ifade edilmekte olup çalı ya da ağaçlar sınıfında bulunmaktadır. Familya, çoğunlukla çok yıllık bitkileri içermesine karşın az miktarda da olsa tek yıllık bitkileri de kapsamaktadır (Davis, 1965; Ertaş, 2017). Familyanın bazı türleri dikenlidir. Bu dikenler yüzey dikenli (*Rosa*, *Rubus*) veya gövde dikenli (*Prunus*, *Crataegus*) şeklindedir. Aralarında çok az sayıda da olsa tırmanıcı türleri de mevcuttur. Bu bitkinin bir kısmı kışın yapraklarını döker, bir kısmı ise kalıcı ve alternan olarak diziliş gösterir. Yaprakları nadiren de olsa karşılıklı gelişim gösterir. Genellikle yaprak tabanlarında kulakçık bulunur ve bu kulakçıklar yaprak sapının tabanı ile birleşmiş şekildedir (Ertaş, 2017). Familyanın meyve şekli etli veya kuru aken, drupa (çekirdekli sulu), nuks veya folüküldür. Genellikle agregat meyve bulundurlar. Çoğunlukla agregat meyve taşırlar. Tohumlar genellikle endosperma bulundurmazlar, besin maddeleri kotiledonlarda toplanmıştır (Tanker M, & Tanker N, 1993).

Rosaceae familyası, *Prunoideae*, *Siraeoideae*, *Pomoideae* ve *Rosoideae* olarak dört alt familyaya ayrılır (Hummer, & Janick, 2009).

Rosa L. Cinsinin Genel Özellikleri

100'den fazla türü olan *Rosa* cinsi, *Rosaceae* ailesinin en yaygın üyelerinden biridir. Bu cins Avrupa, Asya, Orta Doğu ve Kuzey Amerika'da yaygın olarak bulunmaktadır (Nilsson, 1997).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, *R. canina* ekstrelerinin, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) 'dun gelişimi ve biyofilm oluşumunun inhibisyonunda etkili olduğunu göstermiştir (Serteser vd., 2008; Quave, Plano, Pantuso, & Bennet, 2008).

Türkiye’de 24 çeşit *Rosa* türü yetişmektedir (Tablo 1) (Özçelik, 2009; Çelik, 2005; URL-2, 2014; Deniz, Alma, Öz, Alkan, & Fidan, 2014).

Tablo 1. Ülkemizde Yetişen Kuşburnu Türleri ve Yayılış Alanları

Rosa Taksonları	Yayılış Alanı
<i>Rosa sempervirens</i> L.	Çanakkale, İstanbul ve Maraş
<i>R. phoenicia</i> Boiss.	Çanakkale, Aydın, Antalya, İzmir, Gaziantep, Maraş, Adana, Hatay, Adıyaman ve Siirt
<i>R. arvensis</i> Huds.	Adana ve Osmaniye
<i>R. pisiformis</i> (Christ) D. Sosn. (Endemik)	Kars, Erzincan, Erzurum, Ağrı, Van, Gümüşhane ve Bayburt
<i>R. beggeriana</i> Schrenk.	Amasya, Elazığ ve Erzincan
<i>R. gallica</i> L.	İstanbul, Sinop, Kastamonu Ordu, Gümüşhane, Erzincan, Ankara ve Erzurum
<i>R. hemisphaerica</i> J. Herm.	Çankırı, Ankara, Sivas, Çorum, Gümüşhane, Bayburt , Konya, Kars, Uşak, Nevşehir, Elazığ, Erzurum, Van ve Hakkâri
<i>R. pimpinellifolia</i> L.	Gümüşhane, Bayburt , Çankırı, Konya, Iğdır, Ağrı, Kars, Ardahan, Erzurum, Ağrı ve Van
<i>R. elymaitic</i> Boiss ve Hausskn.	Çoruh Vadisi (Artvin) ve Erzurum
<i>R. foetida</i> J. Herm	Bilecik, Ankara, Çorum, Gümüşhane, Manisa, Maraş, Erzincan, Van, Niğde, Gaziantep ve Mardin
<i>R. villosa</i> L. subsp. <i>villosa</i> L.	Çankırı, Kastamonu, Gümüşhane, Yozgat, Erzurum, Balıkesir ve Erzincan
<i>R. villosa</i> L. subsp. <i>mollis</i> (SM.) Keller Et Gams	Çankırı, Kastamonu, Balıkesir, Erzincan, Erzurum, Gümüşhane, Rize ve Sivas
<i>R. hirtissima</i> Lonacz.	Artvin
<i>R. tomentosa</i> Smith	Hatay
<i>R. jundzillii</i> Beser	Sivas ve Erzincan
<i>R. micrantha</i> Sm	Balıkesir, Trabzon, İzmir, Manisa ve Konya
<i>R. agrestis</i> Savı	İstanbul ve Kırklareli
<i>R. pulverulenta</i> Bieb.	Bolu, Iğdır, Kars, Hakkâri, Bitlis, Adıyaman, Ağrı, Amasya, Ankara, Balıkesir, Bursa, Gümüşhane, Isparta, İzmir, Kayseri, Konya, Malatya, Maraş, Muğla, Niğde, Sivas
<i>R. sicula</i> Tratt	Balıkesir Kazdağı
<i>R. iberice</i> Stev. in Bieb.	Bolu, Amasya, Gümüşhane, Bayburt , Kars ve Van
<i>R. canina</i> L.	Bolu, İstanbul, Kars, Hakkâri, Batman, Kastamonu, Bitlis, Afyonkarahisar, Ağrı, Ankara, Antalya, Artvin, Balıkesir, Çanakkale, Çorum, Elazığ, Isparta, Kocaeli, Kütahya, Maraş, Niğde, Ordu, Sivas, Tekirdağ, Trabzon, Gümüşhane, Yozgat, Karaman
<i>R. montana</i> Chaix subsp. <i>Woronowii</i> (Lonacz.) Ö.Nilsson	Gümüşhane, Rize, Artvin, Sivas, Iğdır, Kars ve Ağrı
<i>R. horrida</i> Fischer	Bolu, İstanbul, Bartın, Amasya, Antalya, Balıkesir, Eskişehir, Kırklareli, Kütahya ve Muğla
<i>R. heckeliana</i> Tratt. subsp. <i>vanheurckiana</i> (crepin) Ö.Nillson	Hakkâri, Bitlis, Ağrı, Bingöl ve Van

Bu meyve türü (*Rosa spp*), insan sağlığına faydalı olan doğal antioksidanlar, mineraller, karotenoidler, bioflavonoidler, tokoferol, meyve asitleri, C vitamini, pektin, tanin ve

aminoasitler içermesi sebebiyle son zamanlarda değ r görmeye başlamıştır ( ınar, &  olakoğlu, 2005; Su, Yin, Charles, Zhou, Moore, & Yu, 2005). Kuşburnunda bulunan fenolik bileşikler insan hayatında önemli bir yere sahiptir. Hayati fonksiyonların gerçekleşebilmesi için gerekli olan enerji vücudumuz tarafından üretilirken aynı zamanda oksidan bileşikler meydana gelir (Di Mascio, Murphy, & Sies, 1991).

Demir (1990) bildirdiğine göre kuşburnu, ciddi oranda besleyici özelliği bulunmakta ve günümüzde hala yabani olarak yetişmektedir. Kullanım alanı oldukça geniş olmasına rağmen kesilip yakacak olarak t k tilmektedir. Bu nedenle, bitki üzerinde bulunan kuşburnu meyveleri diğer canlılar için besin kaynağı olmakta ancak bu meyveler toplanıp gereği gibi değerlendirilmediği için kaynak israfına yol açılmaktadır. Bu durum tarım üretiminin hızlı bir şekilde arttırılması ve üretilen ürünlerin çeşitlendirilmesi gerçeğiyle çelişmektedir. Tarım sisteminin daha da g zelleştirilebilmesi için yapılacak ilk şey; ıslah edilmiş, genetik değeri ve verim potansiyeli yüksek ticari çeşitlerin geliştirilmesi ve yetiştiriciliğin bu çeşitlerle yapılmasıdır (Encu, 2015).

Demir ve  zcan (2001) tarafından Konya (Hadim) ve Kastamonu'dan elde edilen kuşburnunun potansiyel kullanımları araştırılmıştır. İlk adım olarak bu meyvenin besin maddeleri ve teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Tamamen olgunlaşmış meyveler; k l, ham yağ, ham enerji, ham lif, ham protein, askorbik asit, dimetils lfit (DMS) ve K, P, Mg, Ca, Fe içeren mineralleri içerdiği belirlenmiştir. Ayrıca meyvenin boyutu, 1000 meyvenin ağırlığı, bahsi geçen alan, cilt kırılma direnci gibi teknolojik özellikleri ölçülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde Kastamonu meyveleri, Konya (Hadim) meyvelerine göre daha yüksek çıktığı tespit edilmiş ve askorbik asidin, g l meyvelerinde fazla miktarda bulunduğu bildirilmiştir. Statik ve dinamik sürtünme katsayılarının sonuçları, iki g l meyvesi için de benzer bulunmuştur.

Güneş ve şen (2001)  alışmalarında, Tokat ilinde doğal olarak yetişen kuşburnu türleri arasından üstün özelliklere sahip olanların seçilmesini amaçlamışlardır. Araştırmada toplam 227 meyve  rneği kullanılmış ve çalışma sonucunda 15 tip yetiştirilmeye değeri bulunmuştur. Kuşburnu meyvesini değeri kılan faktörler arasında en önemli olanı ise meyvelerin C vitamini içeriği olduğunu belirtmişlerdir.

Ghazghazi vd. (2010), *Rosa canina* yapraklarının fenolik bileşenlerinin, HPLC ile analizinde yüksek oranda  -karoten ve likopen bulunduğunu aynı zamanda bitkinin antioksidan etki gösterdiğini belirtmişler ve buna rağmen keratonoid ekstraktlarının fenol ekstraktlarına göre daha düşük aktivite gösterdiğini bildirilmişlerdir.

Fattahi, Jamei ve Hosseini (2012) bir çalışmada, *Rosa canina* ve *Rosa pimpinellifolia* meyvelerinin antioksidan ve radikal temizleme özelliklerini incelemiş ve radikal temizleme özelliğinin fenolik içeriği ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir.

Deliorman ve Hartevitoğlu (2013) yaptıkları bir çalışmada, kuşburnu meyvelerinin C vitamini, karotenit, uçucu bileşenler belirlemişlerdir.

Kol (2016) tarafından yürütülen bir çalışmada antioksidan içeriğinin fazla olduğu, antidiyabetik, antienflematuar ve kanser önleyici etkisinin varlığı bilinen *Rosa canina* meyve özütlerinin farklı doz (5-1020 ppm) ve farklı sürelerde (4-30 gün) sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının hematolojik parametreler ve bazı serum elektrolitleri üzerine olası pozitif ve negatif etkilerinin belirlenmesi amaçlanmış ve sonuç olarak meyve özütünün 10 ppm miktarının sazan balıklarında hematopoetik organları indüklediği, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, 20 ppm doz grubunda ise baskıladığı ve aynı zamanda kanın oksijen taşıma kapasitesini azaltarak mikrositik anemi oluşturabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Encu (2015) çalışmasında, Van'nın; Gevaş, Çatak ve Erciş ilçeleri, Hakkâri'nin Şemdinli ve Yüksekova ilçeleri, Şırnak'ın Uludere ilçesi olmak üzere 6 farklı bölgeden temin edilen kuşburnu meyveleri içerisinde *Rosa canina* türünün biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi amaçlamıştır. Sonuç olarak bu türlerin kimyasal kompozisyonlarında C vitamini elajik asit, protocatehive, rutin, overcetin, kateşin, galik asit, klorojenik asit, kafeik asit, syring asit, p-kumarik asit, ferullik asit ve phlorodizn saptamıştır.

Karakaya (2016) tarafından; Gaziantep yöresi Nur dağında doğal olarak yetişen *Rosa canina* L. türünün potansiyel dağılım modellemesinin yapıldığı bir çalışmada, 79 örnek alanından elde edilen veriler kullanmıştır. Kuşburnu türünün gösterge türlerini belirlemek için nitelikler arası ilişki analizi (NIT) uygulamıştır. Bu analiz sonucunda *Abies cilicica* Carr., *Pinus nigra* Arnold. ve *Rubus caesius* L. türleri kuşburnu türü ile pozitif yönde birliktelik gösterirken, *Pinus brutia* türü negatif birliktelik gösterge türü olarak belirlemiştir.

Öz (2016), Gümüşhane'de doğal olarak yetişen *Rosa pimpinellifolia* L. ve *Rosa canina* L. türlerinin çiçek, yaprak, gövde ve meyvelerinin uçucu yağ analizi ve biyolojik aktivitelerinin karşılaştırılarak incelenmesi üzerine yürüttüğü çalışmada yüzde olarak en fazla uçucu yağ veriminin *Rosa pimpinellifolia* L. ve *Rosa canina* L. türlerinde olduğu belirlemiştir. *Rosa pimpinellifolia* L. ve *Rosa canina* L.'da en fazla oranda bulunan bileşik her iki türde de yapraklarda; γ -elemen ve linalool olduğu tespit edilmiştir. En fazla bulunan terpen sınıfı monoterpenoidler olmuş ve bu terpenler *Rosa pimpinellifolia* L. türünde gövdede bulunurken, *Rosa canina* L. türünde ise yaprakta bulunduğu tespit edilmiştir. *Rosa canina* L. örneklerine

kıyasla, *Rosa pimpinellifolia* L. örneğinden elde edilen uçucu yağların antioksidan aktivitesinin daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Can, Baltaş, Çakır, Şirin ve Kolaylı (2017) yaptıkları bir çalışmalarında, Gümüşhane ilinden *Rosa canina* (kırmızı kuşburnu) ve *Rosa pimpinellifolia* (siyah meyveli kuşburnu) meyvesini temin ederek bu meyvelerin antioksidan özelliklerini ve enzim inhibisyonlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *Rosa pimpinellifolia* meyvesinin antioksidan özelliği *Rosa canina* meyvesine göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. *Rosa pimpinellifolia* meyvesinin enzim inhibisyonunu *Rosa canina* meyvesi ile kıyaslama yaparak *Rosa pimpinellifolia* meyvesinde daha yüksek olduğu ve aynı zamanda antioksidan aktivite ile enzim inhibisyonları arasında güçlü bir korelasyonun varlığını bildirmişlerdir.

Macit (2018) yaptığı bir çalışmada, araştırma maddesi olarak Erzurum ilinin Aktoprak Köyü'nden toplanan *Rosa canina* L. ve *Rosa pimpinellifolia* L. kökleri ve meyvelerini seçmiştir. *Rosa canina* L. ve *Rosa pimpinellifolia* L. köklerinde bulunan fenolik bileşenler ve bunların biyoyararlılığını in vitro olarak belirlemiştir. Araştırma sonuçlarında *Rosa canina* ve *Rosa pimpinellifolia*'nın toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antioksidan kapasitesi bakımından etkin bir içeriğe sahip olduğunu belirtmiştir. *Rosa pimpinellifolia* ve *Rosa canina* köklerinin meyvelerinden daha zengin fenolik bileşenlere sahip olduğu sonucuna ulaşmış ve 4-Hidroksibenzoik asit, epikateşin, gallik asit, şirincik asit, p-kumarik asit, naringenin, elajik asit *Rosa pimpinellifolia* ve *Rosa canina* meyve ekstraksiyonlarında saptamamıştır. Ancak toplam antioksidan kapasitesi bu iki *Rosa* türünün kök ekstraksiyonlarında meyvelerinden daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır. *Rosa pimpinellifolia*'nın meyve içeriğinde antosiyanin olan siyanidin varlığını gözlemlemiştir.

Kuşburnu Meyvesinin Kullanım Alanları

Kuşburnu türlerinden en fazla araştırılan *Rosa canina*'dır. Bu meyve gıda ve çeşitli nedenlerle tıpta kullanılmaktadır. Meyveleri C vitamini bakımından oldukça zengindir (Özkan vd., 2006; Kazaz vd., 2009).

Kuşburnunun kökü, meyvesi ve çiçek kısımları hazımsızlığa engel olmak için kullanılmaktadır (Macit, & Köse, 2015). Aynı zamanda enfeksiyona karşı savunmayı güçlendirerek soğuk algınlığına karşı oldukça etkili olduğu bilinmektedir (Sen, & Güneş, 1996; Chrubasik, Roufogalis, Müller-Ladner, & Chrubasik 2008).

“*Rosa canina* L. meyvesi yıllardır halk tarafından ilaç olarak kullanılmaktadır” (Ercişli, 1996, s. 10). Romatizmal hastalıklar, gut hastalığı, mide ülseri, siyatik, safra taşı oluşumu, safra

kanallarındaki hastalıklar, soğuk algınlığı gibi hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmakta, aynı zamanda da idrar söktürücü, astrejan, antimitojenik, antimikrobiyal etkisi mevcuttur. Şeker hastalığı ve hemoroite karşı etkisinin olduğu da bilinmektedir. Kök kısımları ve bitki yaprakları ise bronşit tedavisinde kullanılmaktadır (Orhan vd., 2009).

De Oliveira, Sichieri ve Moura (2003) kuersetin alımının diyabet tip II riskini azalttığını belirtmektedir.

Kuşburnu yağının cilt koruyucu, gençleştirici, özellikle göz ve ağız çevresi kırışıklıkları önleyici, güneş ve sert hava etkisinden koruyucu, yaralanmış dokuları iyileştirici ve kalınlaştırıcı, hücre yenileyici gibi birçok faydası bulunmaktadır. Yüz temizleyici kuşburnu yağı, nemlendirici kuşburnu kremi, doğal kuşburnu yüz losyonu, doğal kuşburnu sabunu, yaşlanmayı geciktirici kuşburnu kremi ve kuşburnu spreyi şeklinde insan cildine yararlı birçok üründe bulunmaktadır (Öz, 2016).

***Rosa pimpinellifolia* L. (*Rosa spinosissima* L.)**

Rosa pimpinellifolia L. (siyah meyveli kuşburnu) bir metreye kadar uzayabilen kısa boylu çalı şeklinde bir ağaçtır. Fazla miktarda diken içermekte olup, biraz eğik veya dik şekil almaktadır. Ortalama 7–11 adet oval şeklinde yaprak bulundurmaktadır. Çiçek rengi beyaz veya krem-beyaz renkte olup sürgünlerde tek tek bulunurlar. Meyveleri ise küre şeklinde yandan basık ve tüysüzdür. Renk itibari ile morumsu siyahtır. Sözü geçen bu meyve, haziran ve temmuz aylarında çiçeklenmeye başlamaktadır. *Rosa pimpinellifolia* L. 1200- 2750 metre rakımlarda kurak ve kayalık yamaçlarda, volkanik kayalar ya da kireçtaşı yapılı topraklarda yetişir. (Kutbay, & Kılınç, 1996).

Şekil'1 de *Rosa pimpinellifolia* L. (Anonim, 2019) ve Şekil 2 de *Rosa canina* L. (Anonim, 2019) meyvesinin çalı üzerindeki görünümü verilmiştir.



Şekil 1. *Rosa pimpinellifolia* L. çalı üzerindeki görünümü.

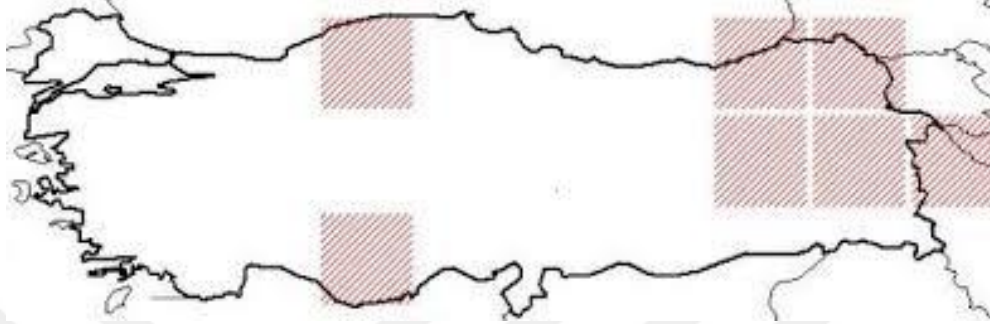


Şekil 2. *Rosa canina* L. çalı üzerindeki görünümü.

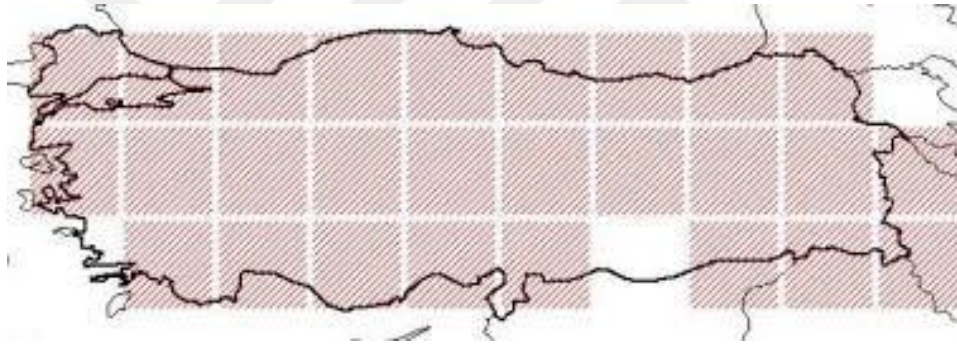
Rosa pimpinellifolia L.'nin yöresel isimleri ise Tablo 2 de, ülkemizde yetiştiği yöreler ise Şekil 3 ve Şekil 4 (Öz, 2016) de, gösterilmektedir.

Tablo 2. *Rosa pimpinellifolia* L. 'nin Ülkemizde Yetiştği Yöreler ve Yöresel İsimleri

Yetiştği yöreler	Yöresel isimleri
------------------	------------------



Şekil 3. *Rosa pimpinellifolia* L.'nin ülkemizdeki yayılışı.



Şekil 4. *Rosa canina* L.'nin ülkemizdeki yayılışı.

Rosa pimpinellifolia L. türü, kültüre alınarak ıslah edilebilir olması ve aynı zamanda meyveleri işlenmeye en yatkın türlerden biri olduğu belirtilmiştir (Anşın, 1996). *Rosa pimpinellifolia* L. nın taksonomik sıra düzeni aşağıdaki gibidir (Öz, 2016).

- Bölüm *Magnoliophyta*
- Sınıf *Magnoliopsida*
- Altsınıf *Rosidae*
- Takım *Rosales*
- Familya *Rosaceae*
- Cins *Rosa*
- Tür *Rosa pimpinellifolia* L.
- Sinonimi *Rosa spinosissima* L.

Porter, Vandenbos, Uçurtma, Veitch ve Simmonds (2012) çalışmalarında, *rosa pimpinellifolia* yapraklarının ekstraktlarından flavonol glikozitleri olarak 3- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-o-(3-hidroksi-3-metilglutaril)- β Dgalaktopiranozid], kamferol (3,5,7,4'-tetrahidroksiflavon) ve kuersetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon) tespit etmişlerdir.

Boyd (2012) çalışmasında, dünya da bulunan siyah kuşburnu (*Rosa spinosissima* L.)'nın doğal yayılışını Avrupa, Asya, Anadolu, Kuzeybatı Çin, Güney Sibirya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'ya kadar uzanan geniş bir coğrafyada yapmakta olduğunu ve *Rosa spinosissima* 'nın deniz seviyesinden 2.700 metre yüksekliğe kadar yetişebilmesi nedeniyle bu özelliğinin onu, *Rosaceae* familyası içinde en geniş doğal yayılış gösteren türler arasında olduğunu söylemiştir. Aynı zamanda siyah kuşburnunun, İngiltere'de "*Pimpinell Rose*", Fransa'da "*Rose Pimprenelle*", İzlanda'da "*Sleeping Beauty*", Norveç'de "*Trollnype*", Danimarka'da "*Klitrose*", Hollanda'da "*Duinroos*" ve Almanya'da "*Dünen Rose*" isimleriyle bilinmekte olduğunu belirtmiştir.

***Rosa pimpinellifolia* meyvesinin kullanım alanları ve faydaları.**

Rosa pimpinellifolia L. meyvesinin yaprakları ve meyveleri kurutularak çay formunda tüketilirken (Anşin, 1996), meyve ve kök kısımları ise idrar yolu enfeksiyonlarında, mide rahatsızlıklarında, hemoroid, öksürük gibi soğuk algınlığında ve kumaş boyasında kullanılır (Macit, & Köse, 2015).

Kanser

"DNA da meydana gelen hasar sonucu hücreler kontrolsüz büyüme sağlayarak düzensiz bölünürler. Bu durum kanser olarak adlandırılmaktadır" (Gürel, 2007, s. 3).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre en ölümcül ikinci hastalık olan kanser vücuttaki hücrelerin kontrolsüz ve anormal olarak çoğalmaları olarak tanımlanan bir hastalıktır. Kanser, ilk olarak Hipokrat tarafından karsinoma ve karsinoz ile ifade edilirken fizikçi Galen ise şişlik anlamına gelen "onkos" terimini kullanmıştır. 2008 yılından beri kanserden ölen insan sayısı tüm dünyada 7,6 milyon civarındayken, Türkiye'de 145.000-160.000 kadar olduğu bilinmektedir, 2030 yılı itibari ile kanser hastalığı sonucu meydana gelen ölümlerin dünyada 12 milyon olacağı tahmin edilmektedir. Dünyada teknolojinin hızla gelişmesi ve ilerlemesi sonucu, teknolojik aletlerin yaygın kullanılması veya ultra viyole ışık gibi sebeplerden kanserli vaka hızı giderek artmaktadır. Günümüzde kanser tedavilerinin oldukça kısıtlı olması sebebiyle

kanser olgularının profilaksisi, erken tanı ve tedavisi üzerinde araştırmaların yapıldığı birçok çalışma bulunmaktadır (Ferlay vd., 2010; zmen, 2008; Kara 2012).

Kanser oluşumunu edinsel ya da genetik mutasyona bağlı değişimler şekillendirir (Weinberg, 2007). Bu gelişimde, hücreye dışardan etki edebilecek sigara, virüs, irritasyon gibi bazı dış faktörler veya mutasyonlar, hormonlar, herediter gibi bazı i faktörler kanserin meydana gelmesinde rol alırlar. Kansere neden olan bu maddeler kanserojen olarak adlandırılmaktadırlar. Hücrelerin sürekli olarak kanserojen maddelere ve dolayısıyla mutasyonel etkilere maruz kalmaları ve hücre büyümesinde etkili olan bazı genlerin farklı oranlarda ortaya çıkması hücrelerde anormalliklere sebep olmaktadır. Bu anormal değişimler, dokularda gerçekleşen kanser tiplerinin oluşmasını sağlamakta ve mutasyona uğrayarak kontrolsüz çoğalan hücreler, mutasyona bağımlı hücreler haline gelir (Ruddon, 2007). Genomun hasar görmesini sağlayan birçok mutasyon, normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine neden olabilmektedir. Genomda meydana gelen bu hasar, DNA replikasyonu sırasında gerçekleşen hatalar sonucu oluşabileceği gibi, bazı serbest radikallerin DNA bazlarına saldırması gibi nedenlerden de kaynaklanmaktadır. DNA'nın birçok hasarı tamir etme mekanizması bulunmaktadır. Fakat DNA tamir mekanizmasının yetersiz kaldığı durumlarda onarılamayan bu hasarlar, DNA dizisinde kalıcı değişikliklerin meydana gelmesini sağlamaktadır (Dngl 2011).

GLOBOCAN (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)'nin 2002 yılında yayınladığı küresel kanser istatistiklerine göre ilk altı kanser çeşidinin yayılma oranı; erkeklerde akciğer, mide, mesane, kolorektal, larinks, prostat; kadınlarda ise meme, kolorektal, mide, over, akciğer kanserleri ve lösemiler şeklindeidir (akabay 2012).

Kanserlerin en belirgin özelliği olan, hücrelerin normal sınırları dışında büyümesi, çevresindeki hücreleri istila etmesi ve diğer organlara da yayılması şekli metastaz olarak ifade edilmektedir. Sözü geçen bu hücreler, farklı etkenlerle değişime uğramış, kontrol edilemeyen bir büyüme ve bölünme (hücre proliferasyonu) gerçekleştirebilmekte, aynı zamanda yer aldığı bölgeden vücudun başka bir çevresine yayılım gösterme (metastaz) zelliğine sahiptirler (Topal, ter, & Korkmaz, 2009; ncel, 2012). Kontrolsüz bölünen kanser hücreleri, bulundukları bölgede bir kitle oluşturup çoğalarak, bulunduğu çevrenin dışında bir yere yerleşme izlenimi göstermiyorsa, benign (selim) tümör, gösteriyorsa malign (habis) tümör olarak isimlendirilir. Malign tümörler, kan, lenf ya da vücut boşlukları yoluyla primer lokalizasyonlarının dışına çıkıp vücudun farklı bölgelerine yerleşerek (metastaz) oralarda da büyümeye devam eder ve ölümcül hale gelir (Topul, 2018). “Kanser nedeniyle sonuçlanan ölümlerin en önemli sebebi metastazdır” (Aslan, 2010, s. 15).

Hemen hemen tüm kanserlerin belirteçleri olarak tanımlanan ve bunlara dâhil edilen altı özellik vardır. Bunlar;

- Büyüme sinyallerinde kendi kendine yetebilme,
- Büyümeyi durdurabilecek sinyallere duyarsızlık,
- Programlanmış hücre ölümünün kaçması (apoptoz),
- Sınırsız çoğaltıcı potansiyel,
- Anjiogenez i sürekli destekleyebilme,
- Doku istilas ve metastazı yapabilme (Seyfried, & Shelton, 2010).

Kanser de bulunan bu altı özelliğin meydana gelmesinde, onkogenler ve tümör baskılayıcı genler olmak üzere etkili iki gen grubu bulunmaktadır (Düngül, 2011; Kızıl, 2016;). Protoonkogenler, bir hücrenin devam eden hayatı sürecinde normal hücresel faaliyetleri idare eden genlerdir. Bu genler herhangi bir etkenle mutasyona uğradıklarında hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına neden olurlar. Bu durumun sonucunda hücre bölünmesi kontrol edilemez hale gelerek onkogene dönüşürler. Bu durum ilerleyen süreçte hücrelerin kanserleşmesine neden olmaktadır (Pitot 1993; Oláh 2005). Tümör baskılayıcı genler ise, hücrede proliferasyonu baskılamakta ve apoptozisin indüklenmesinde faaliyet alırlar. Bu genlerin inaktive edilmesi veya kaybolması durumunda hücre proliferasyonunda artma, hücrenin ölüm sürecinde sorunlar gözlenir. Bu sebeple “işlev kaybı” sonucunu, tümör baskılayıcı genlerden meydana gelen mutasyonlar ortaya çıkarır (Kleinsmith 2006; Martinez, Parker, Fultz, Ignatenko, & Gerner, 2003). Mutasyonun artmasına neden olan genom kararsızlığı, altı işaretin tezahür etmesi için temel olanak sağlayan özellik olarak kabul edildi (Weinberg, & Hanahan, 2000). Bununla birlikte, çoğu gen için mutasyon oranı, kanser hücrelerinde bulunan sayısız patojenik mutasyonun normal bir insan ömrü içerisinde sporadik olarak meydana gelme ihtimalinin düşük olması nedeniyle düşüktür (Loeb, 2001).

Hücre büyümesini doğrudan durduran veya hücre ölümünü normal şartlarla sağlayan genler koruyucu genler olarak tanımlanmaktadır (Kinzler, & Vogelstein, 1997). Diğer bir tanımla, bu genler direk tümör gelişimini sınırlayıcı genlerdir. Tümör oluşumu için koruyucu genlerin, her iki kopyasının da durdurulması gerekmektedir (Knudson 1971; Martinez vd., 2003). Proliferasyonu doğrudan baskılamayan, dolaylı olarak baskılayan fakat genetik dengesizliği engelleyen tümör baskılayıcı genlere ise bakıcı genler denilmektedir. Bu genlerde meydana gelebilecek olan herhangi bir işlev kaybı mutasyonu, genomu mutasyonlara açık hale getirmektedir (Vogelstein vd., 1988).

Kanser hücrelerindeki hücre-hücre ve hücrematris etkileşimleri normal hücrelere göre daha düzensizdir. Kanser hücrelerinde adezyon moleküllerinin üretimi, normal hücrelere kıyasla daha az olması hücrelerin tutunma kabiliyeti azalır (Baba, 2007).

Meme Kanseri

Meme kanseri, memenin kötü huylu tümörüdür. Hastalığın büyük bir kısmı kadınlarda bulunmaktadır fakat erkeklerde de bulunma ihtimali vardır (Sun, & Liu, 2005; Yu, Liao, Chang, & Liu, 2006) Meme kanseri, kadınlarda en sık rastlanan kanser türleri arasındadır. Bir kadının bu kanser türüne yakalanma riski %10-12.2 oranında, yani her 8-10 kadından birisinin meme kanserine yakalanma riski olduğu belirtilmiştir (Onur, 2005). Yaşları dikkate alındığında her 100.000 kadından; 20.8'i 45 yaşına kadar olanlarında, 186.7'si 45-60 yaş aralığındaki kadınlarda ve 238.5'i 60-75 yaş aralığında olanlarda görülmektedir (Kai, 2012).

Bu hastalık semptomlarını gizleyerek metastaz yapabilme özelliğinde olması nedeniyle tehlike arz etmektedir. Meme kanserinin tedavisinde farklı tümörler söz konusu olduğundan tedavisi oldukça zordur. Son zamanlarda hastalığın belirlendiği safhaya göre önemli tedavi seçenekleri ortaya çıkmıştır. Tedavi günümüzde cerrah, onkolog, radyasyon onkoloğu, radyolog, patolog, psikolog, plastik cerrah, fizyoterapist gibi farklı alanlarda uzmanlaşmış hekimler tarafından yapılmaktadır. En önemli tedavi şekilleri, cerrahi operasyon, kemoterapi, hormon tedavisi, radyoterapi ve biyolojik tedavi olarak sıralanabilir (Sun, & Liu, 2005; Yu, Liao, Chang, & Liu, 2006). Nonstroidal anti-östrojen tedavide kullanılan tamoksifenin meme kanseri hastalarının yalnızca 1/3'ünde etkili olduğu gözlemlenmiştir ve bu gözlemler, meme kanserinin tedavisinde ve önlenmesinde yeni alternatif ilaçların araştırılmasını önemli hale getirmiştir (Dikmen, 2008).

Meme kanserindeki risk faktörleri arasındaki temel genetik yatkınlık TP53 (p53), PTEN, Rb, BRCA-1, BRCA-2 gibi tümör baskılayıcı genlerdeki heterozigotluğun kaybolması ya da C-ERBB2 ve CMYC gibi onkogenlerde meydana gelen amplifikasyonlardır. Son zamanlarda meme kanseri insidansında artışın gözlenmesine rağmen kanserdeki mortalitede azalma söz konusu olmuştur. Erken tedavi uygulamalarında, cerrahi ve radyoterapi ile birlikte hormonal tedavi ya da kemoterapi hastaların hayatta kalmalarında önemli sonuçlar sağlamıştır (Dickson, & Lippman, 2001).

Meme Kanseri Risk Faktörleri

Yetersiz beslenme, meme gelişimi sırasında radyasyona maruz kalma, az miktarda fiziksel aktivite, genetik yatkınlık ve cinsel hormonlar meme kanseri risk faktörleri olarak

belirlenebilir. Meme kanserinde erken teşhis tedavinin en önemli evresidir. Bu evre de en çok kullanılan yöntem mamografi olarak belirlenebilir (King, & Robins, 2006).

Obezite.

Obezitenin toplumda rastlanma sıklığı 1980'lerin başından beri giderek artmaktadır. Birçok hastalığın başlamasında birinci sırada yer alan risk faktörüdür. Vücut Kitle İndeksi yüksek olan kadınlarda postmenopozal meme kanseri riskinin arttığı gözlemlenmiştir (Suzuki, Orsini, Saji, Key, & Wolk, 2009; Renehan, Tayson, Egger, Heller, & Zwahlen, 2008; Mcpherson, Steel, & Dixon, 2000). Yapılan çalışmalarda, fazla kilolu ve obez kişilerin başta meme kanseri olmak üzere birçok kanser türü için önemli risk faktörü olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle yaşam boyu sağlıklı, ideal bir kiloya sahip olmak, yüksek kalorili besinlerden kaçınmak, fiziksel aktiviteli bir yaşam tarzı sergilemek birçok kanser türünden korunmak için en etili faktörler arasında yer almaktadır (Suzuki vd., 2009).

Beslenme.

Kanserden korunmak için beslenme içeriği önemli bir değere sahiptir. Yapılan birçok çalışmada yüksek yağ içeren diyetlerin meme kanseri riskini arttırdığı gözlemlenmiştir. Zeytinyağı, meyve sebze, kepekli doğal tahılları tüketmek, işlenmiş etler ve kırmızı et tüketimini sınırlamak meme kanseri ve diğer kanserlerden korunmak için önemlidir (Kushi, Doyle & McCullough, 2012).

Fiziksel aktivite.

Fiziksel aktivitenin düzenli yapılması, kalori alımı ile enerji harcanmasını dengeleyerek ideal vücut ağırlığını koruduğu tespit edilmiştir. Birçok kanser çeşidi için fiziksel aktiviteli bir hayat tarzı oluşturmak koruyucu olabilir. Düzenli olarak yapılan fiziksel aktivite meme kanseri riskini %30-40 azaltmaktadır (Cummings vd., 2009).

Alkol.

Alkol, ağız, farinks, karaciğer kolorektal, meme kanserleri gibi birçok kanser türünün risk faktörüdür (Zhao vd., 2013). Amerikan Kanser Derneği'nin 2012'de yayınladığı Kanserden Korunmada Beslenme ve Fiziksel Aktivite Rehberi'nde alkol tüketenler ile tüketmeyenler arasında kıyaslama yapıldığında, tüketenlerde %10-12 oranında yüksek meme kanseri riski taşıdıkları bildirilmiştir (Kushi vd., 2012; Cummings vd., 2009). Kanser hastalığının alkole bağlanması çeşitli faktörlerin sebebi olmuştur. Bunlardan bir tanesi etanolün primer metaboliti ve oksidatif stresin sonucunda oluşan asetaldehittir (Varela-Rey, 2013).

Sigara.

Sigara içeriğinde bulunan 300 bileşiğin en az %30 u kansorejen içermektedir ve dumanındaki en önemli karsinojenik maddeler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, heterosiklik aromatik aminler, aril aminler ve N-nitrosaminlerdir (Bartsch, 2000). Yapılan birçok çalışmada erken yaşta sigaraya başlayan ve uzun süre içen kişilerde meme kanseri riskinin arttığı gözlemlenmiştir (Xue, 2011).

Genetik Kalıtsal Özellik

Tüm meme kanserlerinin %5-10'u yüksek riskli genlerdeki (BRCA1, BRCA2 vb.) mutasyonlara bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Bu duruma benzer şekilde p53 geni hücreleri malign transformasyondan koruyan çok önemli bir proteindir. Meme kanserinde %20-30 oranında p53 inaktivasyonu gözlenir ve p53 mutasyonlarının varlığı tümörün in situdan invazif karsinoma geçişi için bir belirteç olarak kullanılabilir (Hannahan, & Weinberg, 2000).

Kara (2012) yaptığı bir çalışmada, farklı dozlarda ve sürelerde uygulanacak resveratrolün kanser hücrelerindeki olası apoptotik ve sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmasında insan meme kanseri MCF-7 hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hattında ise 10-140 µM konsantrasyonda MTT analizi yapılarak sitotoksik dozları belirlenmiştir. Çalışma için 6 deney grubu oluşturularak total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS), apoptotik aktivite ve p53 gen ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır. Çalışmada, MCF-7 hücrelerine uygulanan resveratrolün hücre çoğalmasını engellediği ve p53 protein sentezini 24 saatlik inkübasyon grubunda düşürdüğü, 48 saatlik inkübasyonun ise arttırdığı belirlendi. Ayrıca resveratrolün uygulaması ile TOS değerinde değişme gözlenmezken TAS miktarının değiştiği saptanmıştır. Çalışma sonucunda oluşan p53 genindeki artışın apoptotik aktiviteyi arttıracak ve bu durum dikkate alındığında kanser tedavisinde ajan olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Çalış (2016) bir çalışmada, MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerini kullanmıştır. Çalışmasında MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinden 5'er grup oluşturularak, uygulamanın 24, 48 ve 72. saatlerindeki hücrelerin çoğalma, tutunma, canlılık ve lateral motiliteleri belirleyerek bu hücrelerin tüm saatlerde S1P1 ile S1P3'ün tek tek ve birlikte susturması ile gruplardaki hücrelerin % canlılığının azaldığını gözlemlemiştir.

Meme Kanseri Oluşumunda Etkili Faktörler

Östrojen.

Meme kanseri sürecinde hormonların önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (Karakuş, 2010). Yapılan araştırmalar sonucu bu hormonlar arasında en fazla risk teşkil eden östrojen hormonu olduğu bildirilmiştir (Martin A.M, & Weber, 2000; Martin S.P, Pike, Ross, Jones, & Handerson, 1990). Östrojen hormonu, meme kanserinin erkeklere oranla kadınlarda daha fazla (100kat) olmasına neden olmaktadır (Santen vd., 2009). Östrojen, yüksek oranda ovaryumlarda bulunan olgun granüloza hücrelerinden, az miktarda da böbreküstü bezlerinden ve plasentadan salgılanır (Altunkaynak, Ünal D., Aksak, & Ünal B., 2012; Russo J., Lareef, Balogh, Guo, Russo I.H., 2003). Hormonların hücrelerdeki etkileri, hücre yüzeyinde ya da içerisinde bulunan ilgili hormona karşı reseptör proteinlerine bağlanmasıyla açığa çıkar. Bu etki sonunda hücrede bir takım biyokimyasal değişiklikler meydana gelir. Östrojen reseptör pozitifliği meme kanseri vakalarında % 40-80 civarında olduğu bilinmektedir (Kömürcü, 1995).

Serbest radikaller ve oksidatif stres.

Son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron çifti içeren atom veya moleküle “Serbest radikaller” denir (Woods, Cavanaugh, Norkus, Plessinger, & Miller, 2002). Kararsız olan bu atom veya moleküller hızlı bir şekilde diğer molekül yada radikallerle reaksiyona girerek kararlı bir konfigürasyon oluşturmaya çalışırlar ve bunun sonucunda oluşan en etkili serbest radikaller “Serbest Oksijen Radikalleri”dir (ROT) (Basu, 1999; Woods vd., 2002).

Fagositoz hücreleri canlılardaki en aktif ROT üreticileridir. Çeşitli metabolik yollarla uyarıldıklarında, bu fagositik hücreler oksijeni indirgemek suretiyle hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve superoksit ($\text{O}_2^\cdot$) gibi ROT’ları oluşturmaktadırlar. Bunların dışında bulunan diğer ROT kaynakları; oksijenin kullanıldığı mitokondriyal elektron taşıma zinciri, doymamış yağ asitlerinin ve katesolaminlerin oksidasyonu ile NADPH bağımlı oksidazlardır (Basu, 1999; Thannickal, & Fanburg, 2000).

ROT’nin üretimi endojenik kaynaklı olduğu gibi aynı zamanda ekzojenik kaynaklı da olabilmektedir. Ekzojenik kaynaklar; alkol, birçok hava kirleticileri, ilaçlar, ozon, oksijen, iyonize ve iyonize olmayan radyasyonlar, patojenik bakteri ve virüslerdir (Halliwell, & Gutteridge, 2001).

Apoptozis.

Apoptozis, genetik olarak kontrol edilen bir hücre ölümü şeklidir. Bu durum embriyogenez sırasında doku remodelingi için ve daha sonra yetişkin yaşamında hücre numaralarının homeostatik dengesinin korunması için gereklidir. Apoptozun insan hastalığına

verdiği önem, apoptotik sürecin bozulmasının, farklı ürünlerde hastalıklardan etkilendiği düşünüldüğü gerçeğinin farkına varmaktan kaynaklanmaktadır. Apoptozun bozulmasından meydana gelen hastalık koşullarında manipüle edilebilir. Her ne kadar birden fazla hücre ölümü biçimi tanımlanmış olsa da apoptoz, hücre büzülmesi, zar taşması, kromatin yoğunlaşması ve nükleer fragmantasyonu, mikrodamar kaybı ve yaygın kromozomal DNA'nın bozulması gibi morfolojik değişiklikler ile karakterize edilir. Apoptozis istemi, zamana-senkronizasyon, atakoptototik uyarılara ve mitokondriyal fonksiyonların bozulmasına bağlı olarak, hücresel komponentlerin parçalanmasına yol açan olayların merkezinde yer almaktadır (Martinez *vd.*, 2003).

Apoptozun meydana gelmesinde 17. kromozomda bulunan p53 geni rol alır. Bu gen tümör süpresör özelliği taşımaktadır ve bir takım mutasyonlar geçirmektedir (Hollstein, Sidransky, Vogelstein, & Harris, 1991). Mutasyon sonucu oluşan p53 geni; fonksiyon kaybı ve yeni onkojenik özellik kazanmış protein olarak karşımıza çıkabilmektedir (Roemer, 1999). p53 geni DNA-hasarı, (Nelson, & Kastan, 1994) hipoksi (Graeber *vd.*, 1996), ışın tedavisi (Lowe, & Ruley, 1993) ve ısı şoku (Vogelstein, Lane, & Levine, 2000; Vousden, 2002) gibi bir çok genotoksik stres faktörü aracılığıyla aktive edilebilen bir gendir. Bu aktivasyon, hücrelerde transkripsiyon faktörlerinin artmasına sebep olmaktadır. Ayrıca p53 aracılı DNA onarımı, bunun sonucu genom-stabilitesi (Tanaka *vd.*, 2000) hem anjiyogenezin (El-Deiry, 1998) hem de tümörde büyümenin inhibisyonu gibi hücresel değişimde önemli bir rol oynar (Zhu *vd.*, 1999). Böylece DNA hasarı üzerine tepki gösterir ve hasarlı hücrenin apoptoz yolu ile yıkımlanması sağlanır (Levine, 1997).

Antioksidanlar

Canlıların yapısında ortaya çıkan zararları ya da meydana gelen hasarları önleyen birçok mekanizma bulunmakta olup, özellikle reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu ve bunların meydana getirdikleri hasarı önlemek için veya ROT oluşumunun etkilerini azaltan birçok savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bahsedilen bu mekanizmalardan birisi olan antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek reaktif oksijen türlerini toplayıp, lipid peroksidasyonunu durdururlar (Reiter, 2000).

Endojen antioksidanlar.

Endojen antioksidanlar kendi arasında ikiye ayrılır.

Enzimatik olanlar:

En önemli enzimatik antioksidantlar, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx)'dır (Anar, 2014). Diğer enzimatik antioksidanlar ise katalaz (CAT), glutatyon-s-transferaz (GST), hidroksiperoksidaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemidir (Arı, 2018).

Enzimatik olmayanlar:

α - tokoferol (E vitamini), β -karoten, askorbik asit, melatonin, ürik asit, bilirübin, glutatyon, albümin, transferrin, ferritin, seruloplazmindir (Arı, 2018).

Ekzojen antioksidanlar.

Allopürinol, oksipürinol, folik asit, C vitamini, trolox-C (E vitamini analogu), asetilsistein, mannitol, ve adenosin olarak sayılabilir (Soyalp, 2011; Gök vd, 2006).



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

Materyal ve Yöntem

Kullanılan Cihazlar ve Cam Malzemeler

Cihazlar

Santrifüj cihazı
Santrifüj Tüpü
Rotary Evaporatör
Mikropipet
Multichannel pipet
Pipet uçları
Pipet
Pipetör
96- well plate
İnkübatör (37 °C %5 CO₂'li)
Vortex
Azot Tankı
Flask
Sıcak su banyosu
Steril Kabin
Hassas Terazi
Buzdolabı
Falkon tüpü
Etüv
Otoklav
pH Metre
Mikroskop
İnvert Mikroskop
Derin Dondurucu (-20)
Derin Dondurucu (-80)
Plastik Pipet
Lam
Lamel
Mikrofiltre
Neubauer Camı (Hücre sayım camı)
Spektrofotometre
Petri kapları
Ependorf tüpü
Beher
Erlen Mayer
Öze
Drigalsky öze
Steril cerrahi eldiven
Mezür
Laminar Hava Akışlı Kabin
Eküvyon çubukları

Liyofilizatör
Soxhlet cihazı
Deney tüpü
Gaz kromatografi cihazı
Kütle spektrometrisi cihazı
Vial

Kullanılan Standart Çözeltiler ve Reaktifler

Kimyasal Standart Çözeltiler

FBS
DMEM
DMSO
Trypsin
Trypan Blue
MCF-7
EDTA
Ethanol
Metanol
Tryptic Soy Agar (TSA)
Distile su
Hekzan
Potasyum hidroksit
Helyum
Trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman carboxylic acid),
2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid,
1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,
Sodyum karbonat,
Potasyum persülfat,
Folin–Ciocalteu
Fenol ayıracı
Gallik asit

Hammadde Temini ve Teşhisi

Siyah Kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) bitkisi Bayburt İli Merkezine bağlı Gümüşsu Köyü’nden toplanarak temin edilmiş ve Dr. Öğr. Üyesi Betül GIDİK tarafından teşhis edilmiştir.

Bitki Ekstrelerinin Elde Edilmesi

Toplanan *R. pimpinellifolia* bitkisinin bir kısmı güneş ışığına maruz kalmaksızın karanlık ortamda ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmak üzere kurutulmuştur. Kalan kısmı daha sonra değerlendirilmek üzere -20°C de muhafaza edilmiştir.

Ultrasonik destekli metanol ekstraktının elde edilmesi.

Tamamen kurutulmuş olan 1 gr meyve örneği bir öğütücü yardımıyla toz haline getirildikten sonra üzerine 10 mL %80'lik metanol eklenmiş ve vortex yardımıyla karıştırıldıktan sonra ultrasonik su banyosunda 60 dk boyunca 40 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra 5000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiş ve supernatant bir cam tüpe aktarılmıştır. Bu ekstraksiyon prosedürü iki kez tekrarlanmış ve en son elde edilen süpernatantlar bir cam tüpte birleştirilerek toplam hacim methanol (%80) ile 25 mL'e tamamlanmıştır. Bu karışım 0.45 µm'lik membran filtereden geçirilip bir amber şişeye aktarılmıştır. Elde edilen özütün bir kısmı meyvelerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde, toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde ve *in vitro* antibakteriyel aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere -18°C'de muhafaza edildi. Özütün geri kalan kısmından vakumlu evaporatör yardımıyla methanol çözücüsü uzaklaştırıldı. Elde edilen meyve ekstraktı liyofilizatörde kurutularak proliferatif testlerde kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edildi.



Şekil 5. *Rosa pimpinellifolia* L. ultrasonik destekli metanol ekstraksiyonu (Kıcık, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı).

Hücre Kültürü

Hücre kültürü için MCF-7 (Meme kanseri) hücre hattı seçildi.

Hücre pasajlanması.

Ticari olarak dışardan satın alınan 500 ml DMEM besiyerinin içerisine 50 ml FBS ilave edildi. Elde edilen karışım ters düz edilerek homojen karışım sağlandı. Daha sonra 50 ml'lik falkonlara bölünerek kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı.

- %10 DMSO içeren DMEM besiyeri, önceden hazırlanan 37°C sıcak su banyosunda 10 dk bekletilerek oda sıcaklığına getirildi.
- Deney aşaması süresince kullanılacak bütün gereçler %70'lik etanol ile steril edildi ve çalışmanın her aşaması steril şartlarda laminar-hava akışlı steril kabinde gerçekleştirildi.
- Oda sıcaklığına getirilen besiyeri steril kabin içerisine alındı.
- %80-90 doygunluğundaki Yeditepe Üniversitesi Biyosidal ve AR-GE Laboratuvarları'ndan getirilen MCF-7 hücresi içerisindeki eski medium aspire edilerek atıldı.
- Flaskın tabanındaki hücreler 2 ml steril fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı.
- PBS solüsyonu hücrelerden uzaklaştırıldı.
- Hücrelerin flasktan ayrılması için 2 ml tripsin-EDTA solüsyonu ilave edilerek 2 dk %5 CO₂'li inkübatörde bekletildi.
- İnkübatörden çıkartılan flasklara sert darbeler uygulanarak hücrelerin flasktan ayrılması sağlandı.
- Mikroskopta yuvarlak hale gelen hücrelerin tutunmayı bırakıp kaymaya başladığı gözlemlendiği anda taze besiyerinden 2 ml medium eklenerek pipetaj yapıldı.
- Homojen karışımı sağlanan hücreler 15ml'lik santrifüj tüplere aktarıldı ve 1200 rpm de 3 dk santrifüj edildi.
- Santrifüjden alınan hücrelerin süpernatant kısmı hücrelerden uzaklaştırılarak atıldı.
- Hücre içerisine taze besiyerinden (DMEM) 1 ml ilave edilerek pipetaj yapıldı ve hücrelerin homojen karışımı sağlandı.
- İçerisinde 5'er ml besiyeri bulunan 4 adet 25'lik flasklara 250'şer ml hücre eklendi.
- Flaskların üzerlerine pasaj sayısı ve tarihi yazılarak 37°C de %5 CO₂ içeren inkübatör de 24-48 saat bekletildi.

Hücre dondurma ve muhafaza.

5 ml FBS, 5 ml DMSO (dimetilsülfoksosit) ve 40 ml DMEM besiyeri karıştırılarak pipetaj yapıldı. Homojen karışım sağlandıktan sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi. DMEM VASAT olarak hücre dondurma aşamasında bu solüsyon kullanıldı.

- +4°C den çıkartılan DMEM vasat solüsyonu 37°C su banyosunda 10 dk bekletilerek oda sıcaklığına getirildi.
- İnkübatörden çıkartılan flasklar invert mikroskopta incelenerek %80-%90 doygunluktaki hücreler dondurma işlemi için laminar-hava akışlı steril kabinin içerisine alındı.

- Hücreler 2 ml (PBS) ile yıkandı.
- PBS solüsyonu pipetle hücrelerden uzaklaştırıldı.
- Hücrelerin tabandan ayrılması için 2 ml tripsin-EDTA solüsyonu ilave edilerek 2 dk inkübatörde bekletildi.
- İnkübatörden çıkartılan hücrelerin tabandan ayrılması sağlandıktan sonra kontrolü için ters mikroskopta incelendi.
- Tabandan ayrılan hücrelere 2 ml DMEM besiyeri eklenerek karışım santrifüj tüpüne aktarıldı ve 1200 rpm de 3 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant kısmı atılan hücrelere 1 ml DMEM VASAT eklenerek pipetaj işlemi uygulandı.
- Homojen karışımı sağlanan hücreler viallere aktarıldı ve daha sonra kullanılmak üzere -80°C de saklandı.

Hücre sayımı ve canlılık kontrolü.

Her pasaj işlemi öncesi hücreler tripan mavisini boyası (sigma) ile canlılıkları kontrol edildi. Flaskta bulunan hücreler daha önce belirtildiği gibi santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süspansiyon döküldü ve 1 ml besiyeri eklendi. Başka bir tüpte 10 µl hücre süspansiyonu ile 10 µl tripan mavisini boyası karıştırılarak thoma lamı ile lamel arasına 10 µl bu karışımdan dikkatlice konuldu. Thoma lamı üzerindeki süspansiyon ile birlikte invert mikroskoba yerleştirilip 4 bölgede bulunan hücrelerin sayımı gerçekleştirildi. Tripan mavisini boyasının ölü hücreleri boyadığı fakat canlı hücreleri boyamadığı dikkate alınarak sayım yapıldı.

Proliferasyon Analizi

Proliferasyon, kimyasal madde veya bir bağışıklık hücresi tarafından hücrelere zehirli etkilere neden olan özellikleri ifade eder. Sitotoksikite analizlerinde, yapısal bütünlük veya metabolik yollardaki ilaca bağlı değişiklikler ölçülür, hayatta kalma deneylerinde olmasına rağmen, nihayetinde hücre geri kazanımına veya hücre ölümüne bağlı olarak ölçülen metabolik bozulmalardır (Özdoğan, 2013). Ayrıca sitotoksikitenin in vitro testler ile ölçülmesi, hayvan kullanımını da en aza indirmektedir. (Bridges, Benford, & Hubbard, 1983).

Tetrazolyum tuzları, heterosiklik yapıdaki organik bileşiklerdir. Bu tuzlar elektron alarak indirgenmekte ve formazan yapısına dönüşerek renk değişikliği oluşturmaktadır, bu değişim aktif halde bulunan mitokondrilerin tetrazolyum halkalarını parçalaması sonucu oluşmaktadır (Mosmann, 1983). Ölmüş hücrelerde bu yetenek bulunmadığından dolayı renk değişikliği oluşturma söz konusu değildir (Riss, & Moravec, 2004). Dolayısıyla üretilen formazan boyasının miktarı, canlı hücrelerin sayısı ile doğru orantılıdır (Şekil 6) (Tanas, 2019).

Tetrazolyum tuzları olan XTT, WST-8, MTT, WST-1 veya MTS arasında hassasiyeti en fazla olan WST-8'dir. WST-8, hücre kültürü ortamında çözünür olan turuncu renkli bir ürün verecek şekilde hücrelerde dehidrojenazlarla azaltılmaktadır (Gezmiş, 2019). Bu amaçla bir tetrazolyum tuzu olan WST-8 analizi yapmak için ticari olarak satılan Ecotech Biotechnology® CVDK-8 kiti kullanılmıştır ve aşağıdaki basamaklar izlenmiştir.

1. Yeterli büyüklüğe ulaşan MCF-7 hücreleri, 96 kuyulu plakalara ekilmiş ve 24 saat boyunca bekletildikten sonra hücrelerin bu plakalara tutunmaları sağlanmıştır.
2. Daha sonra toksik olduğu bilinen DMSO ile birlikte 5 farklı konsantrasyonlarda (40, 100, 200, 300, 400 mg/L) siyah kuşburnu meyve ekstresi uygulandıktan sonra 96 kuyulu plakalar 24 saat boyunca inkübatör cihazı içerisinde bekletilmiştir.
3. İnkübasyondan sonra hücre canlılığı kitte belirtilen esaslara göre belirlenmiştir.
4. *R. pimpinellifolia* ile muamele edilmiş hücrelerin üzerine 10 µl CVDK-8 reaktifi eklenmiş ve hücreler 4 saat inkübatöre alınmıştır.
5. Deney tamamlandıktan sonra her bir örneğin absorbansı için 450 nm'de ölçüm yapılmış ve % canlılık oranları hesaplanmıştır.

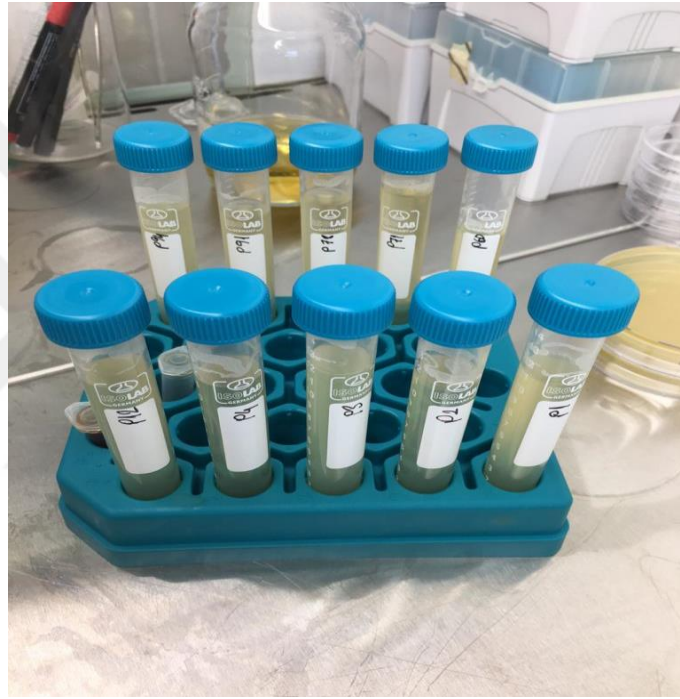
***In vitro* Antibakteriyel Aktivite Testleri**

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve inkübasyon koşulları.

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Bayburt Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Araştırmada 5 Gram pozitif ve 5 Gram negatif olmak üzere toplamda 10 adet patojen mikroorganizma kullanılmıştır. *Rosa pimpinellifolia* özütlerinin *in vitro* antibakteriyel aktivitelerinin tespiti için kullanılan mikroorganizmalar aşağıda listelenmiştir (Tablo 3). Methanol özütlerinin *in vitro* antibakteriyel etkilerinin tespiti sürecinde öncelikle, azot altında numune uçurma cihazı (N-Biotek NB-503GB, Kore) kullanılarak çözücü (Methanol) uzaklaştırılmıştır. Elde edilen etken madde hassas terazi (Mettler-Toledo, İsveç) kullanılarak tartılmış ve üzerine dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiştir. Böylelikle etken maddenin konsantrasyonu 500 µg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 3. *Rosa pimpinellifolia* L. özütlerinin *in vitro* antibakteriyel aktivitelerinin tespiti için kullanılan mikroorganizmaların listesi

Sıra no	Gram pozitif	Gram negatif
1	<i>Bacillus cereus</i> BC6830	<i>Escherichia coli</i> NCTC 9001
2	<i>Enterococcus faecalis</i> NCTC 12697	<i>Escherichia coli</i> BC1402
3	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 10788	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 12924
4	<i>Staphylococcus aureus</i> BC7231	<i>Salmonella typhimurium</i> RSSK 95091
5	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 27729



Şekil 6. Patojen mikroorganizma kültür örnekleri (Kıcık, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı).

Saf mikroorganizma kültürünün hazırlanması.

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi işlemlerinde 24 saatlik genç kültürler kullanılmıştır. -20°C’de stok kültürlerde muhafaza edilen patojen suşlar, tryptic soy agar (TSA) besiyerine tek koloni düşürecek şekilde çizgi ekim yöntemi (streak plate) ile inoküle edilmiştir. Ekim sonrasında 24 saat süreyle 37°C’de inkübe edilen suşlardan tek koloniler alınarak 15 ml’lik Falkon tüplerde daha önce hazırlanmış olan steril tryptic soy broth besiyerine aktarılmış ve 18 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda gelişen suşlar 0.5 McFarland standard bulanıklığına ayarlanarak inokulum olarak kullanılmıştır (Ecem-Bayram, Gerçek, Bayram, & Togar, 2020).

***In vitro* antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi.**

Rosa pimpinellifolia L. özütlerinin *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon metodu ile gerçekleştirilmiştir. Daha önce ultrasonik özütleme yöntemi ile hazırlanan metanol özütü azot altında uçurma cihazı kullanılarak çözücü uzaklaştırılmıştır. Elde edilen etken madde tartıldıktan sonra, konsantrasyon 500 µg/mL olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiştir. Hazırlanan bu özütten 10 µL alınarak, 6 mm çapındaki boş antimikrobiyal duyarlılık disklerine (OXOID) emdirilmiştir. Bu işlem sonrasında, diskler steril kabin içerisinde iki saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Bu süreç sonunda steril pamuk uçlu eküvyon çubukları kullanılarak, patojen mikroorganizmalar daha önceden hazırlanmış olan TSA besiyerlerine inoküle edilmiştir. İnokülasyon işlemlerinin hemen ardından, mikrodalga ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan su ve methanol özütlerinin emdirildiği diskler petrilere dikkatlice yerleştirilmiştir. Bu işlemlerin hemen ardından petriler 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Iqbal, Bakht, & Shafi, 2018; Dhanasekaran vd., 2019).

Antioksidan Aktivite

Meyvelerin aktioksidan kapasitesi ABTS ve DPPH yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Kullanılan kimyasallar.

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman carboxylic acid), 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, sodyum karbonat, potasyum persülfat, Folin–Ciocalteu fenol ayracı ve gallik asit Sigma–Aldrich (İstanbul)’den satın alındı. Ethanol ve metanol Merck firmasından temin edildi. Deneylerde kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktaydı.

ABTS (2,2-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) testi.

7 mM konsantrasyonda hazırlanan ABTS reaktifinin suda çözünmesi sağlandıktan sonra 2.45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona sokuldu ve hazırlanan çözelti kullanılmadan önce 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. 1 mL metanolik meyve ekstraktı ve 1 mL ABTS solüsyonu metanol (%80) ile toplam hacim 4 ml olacak şekilde seyreltilti. Tüpler oda sıcaklığında 6 dakika kapalı tutulduktan sonra, numunelerin absorbanları 734 nm’de ölçüldü (Re vd., 1999). Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Sonuçlar trolox eşdeğeri (TE mg/g) olarak ifade edildi.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) testi.

DPPH testi, Herald, Gadgil ve Tilley (2012)'nin önerdiği yöntem modifiye edilerek gerçekleştirildi. 15 µL meyve ekstaktına 185 µL metanolde hazırlanan DPPH solüsyonu eklendi ve 10 sn boyunca vortekslendi. Bu karışım oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 45 dk bekletildikten sonra 515 nm de mikrolaka okuyucuda (Epoch™ microplate spectrophotometer, BioTek Instruments, USA) absorbansı ölçüldü. Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar trolox eşdeğeri (TE mg/g) olarak ifade edildi.

Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriği, Magalhaes, Santos, Segundo, Reis ve Lima (2010) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre referans standart olarak gallik asit kullanılarak tespit edildi. 50 µL meyve ekstraktı ve 50 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (1: 5, v/v) ve 100 µL Na₂CO₃ (0.35 M) mikrolaka kuyucuğunda karıştırıldıktan sonra 3 dk sonra 760 nm'de mikrolaka okuyucuda (Epoch™ microplate spectrophotometer, BioTek Instruments, USA) absorbansı ölçüldü. Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g)) olarak ifade edildi.

Elemental Analiz (ICP-MS)

Öğütölüp toz haline getirilen meyve ve çekirdek örneği ile birlikte ilgili bölgeden alınan toprak örnekleri Bayburt Üniversitesi Merkezi Laboratuvar (BUMER)' da ICP-MS cihazı kullanılarak elemental analiz değerlendirilmesi yapıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma 3 tekrarlı olarak yapılmış ve veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Veriler istatistiksel olarak Student's t test aracılığıyla analiz edilmiş ve $p < 0,05$ değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

Araştırma Bulguları

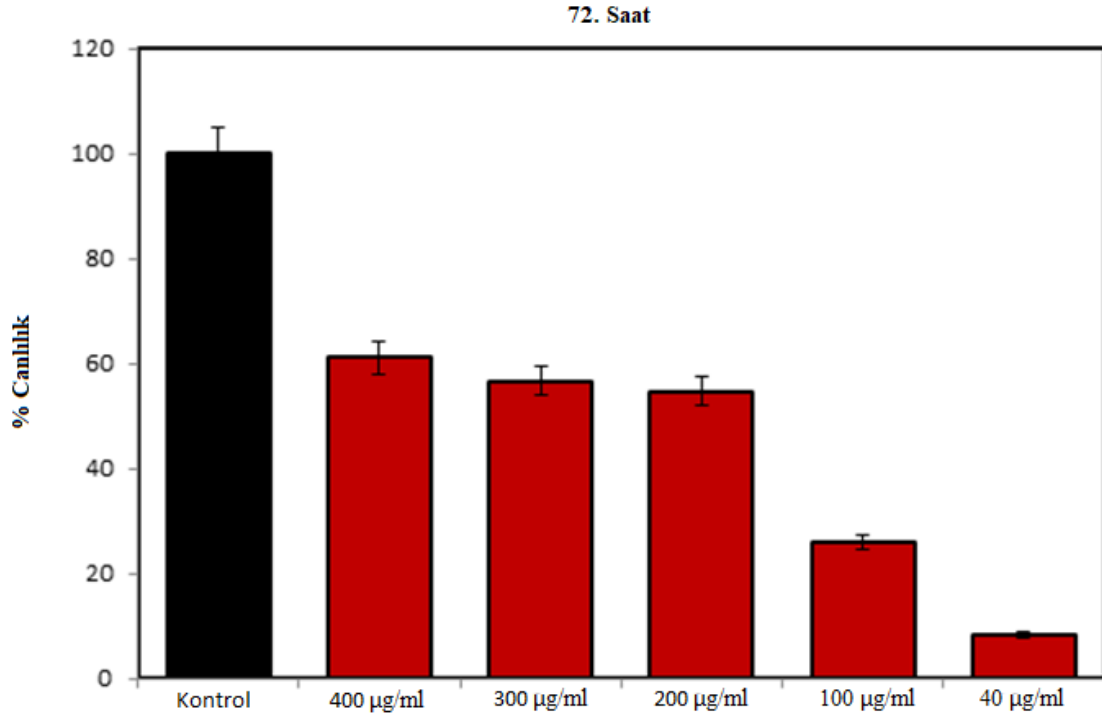
Proliferasyon Etkisinin Hücre canlılığı CVDK-8 ile Belirlenmesi

72 saatlik inkübasyon bulguları.

Rosa pimpinellifolia meyvesinin metanol ekstresinin farklı dozlarının MCF-7 kanser hattı üzerinde ki antiproliferatif özelliği 72. saatte tespit edilmiştir. Buna göre meyve ekstralarının bütün dozları MCF-7 hücrelerinde antiproliferatif özellik göstermiştir. 400, 300 ve 200 µg/ml'lik dozlar yakın bir şekilde toksisite göstermesine karşın 100 ve 40 µg/ml'lik dozların daha yüksek antiproliferatif özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4, Şekil 8). En yüksek sitotoksik etki 40 µg/ml'lik konsantrasyonda, en düşük sitotoksik etki ise 400 µg/ml'lik konsantrasyon da tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4. CVDK-8 test sonuçları

	% Canlılık	Standart Hata
Negatif Kontrol	100	12,78404
400 µg/ml	61,12671	5,111126
300 µg/ml	56,65146	10,45241
200 µg/ml	54,66329	3,261156
100 µg/ml	26,07431	4,908404
40 µg/ml	8,363837	0,577553



Şekil 7. CVDK-8 test sonuçları ($p < 0,05$).

***In vitro* Antibakteriyel Aktivite Testleri**

Bu çalışmada *Rosa pimpinellifolia* L. bitkisinin meyvelerinden ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan su ve metanol özütlerinin antibakteriyel etkileri 10 farklı patojen bakteriye karşı disk difüzyon metodu ile test edilmiştir. Bu süreçte, 5 farklı Gram pozitif ve 5 farklı Gram negatif bakteri kullanılmıştır (Tablo 3). Gerçekleştirilen *in vitro* antibakteriyel aktivite testleri sonucunda 500 µg/mL konsantrasyonda *Rosa pimpinellifolia* özütlerinin hedef patojenlere karşı bir etki göstermediği ve antimikrobiyal test disklerinin etrafında herhangi bir inhibisyon zonu oluşmadığı gözlemlenmiştir.

Öz, Deniz, Okan, Baltacı, & Karataş (2021) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *Rosa canina* L. ve *Rosa pimpinellifolia* L. bitkilerinin çiçek, yaprak, gövde ve meyve örneklerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu tespit edilmiş ve bu örneklerin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Bu amaçla, antimikrobiyal aktivitelerin tespiti sürecinde 16 farklı mikroorganizma kullanılmıştır (12 farklı bakteri ve 4 farklı fungus). Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda *Rosa canina* L. ve *Rosa pimpinellifolia* L. bitkilerinin çiçek, yaprak, gövde örneklerinden elde edilen uçucu yağların sınırlı sayıda ve düşük düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenirken, meyvelerden elde edilen uçucu yağlarda antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir.

Bu çalışmaya ek olarak, Gıdık, Akar, Can, Sefalı, & Ertürk (2019), tarafından yapılan bir çalışmada beş farklı kuşburnu örneği (*Rosa carom*, *Rosa iberica* Stev, *Rosa villosa*, *Rosa beggeriana* Schrenk ve *Rosa spinosissima*) antioksidan etki, antimikrobiyal aktivite ve total fenolik içerik açısından incelenmiştir. Bu çalışmada kuşburnu örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu ile değerlendirilmiş ve 10 farklı mikroorganizma kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla hazırlanan özütlerin konsantrasyonu 40 mg/mL olarak ayarlanmıştır ve hazırlanan özütlerin hedef mikroorganizmalara karşı farklı düzeylerde inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlar, farklı kuşburnu meyve örneklerinin 40 mg/mL konsantrasyonda antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen bu sonuçlar, *Rosa pimpinellifolia* L. meyve örneklerinin ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan özütlerinin 500 µg/mL konsantrasyonda, çalışmada seçilen hedef patojenlere karşı antibakteriyel etkiye sahip olmadığını göstermektedir.

Antioksidan Aktivite

Bu tez çalışması kapsamında incelenen *Rosa pimpinellifolia*'nın meyve örneğinin antioksidan kapasite ölçümü iki farklı test yöntemi (ABTS, DPPH) kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuç olarak metanol ekstaktraktının antioksidan kapasitesite değeri ABTS testi ile 32.06 ± 1.1 mg TE/g ve DPPH testi ile 23.47 ± 1.6 mg TR/g olarak tespit edildi (Tablo 5).

Tablo 5. *Rosa pimpinellifolia* Meyve Ekstaktraktının Antioksidan Aktivite Sonuçları

	ABTS (mg TE/g)	DPPH (mg TE/g)
Ekstakt	% $32,06 \pm 1.1$	% $23,47 \pm 1.6$

Toplam Fenolik Madde İçeriği

Rosa pimpinellifolia'nın meyve örneği kullanılarak hazırlanmış olan metanol ekstaktraktının toplam fenolik madde içeriği $37,5 \pm 0.2$ mg/g GA/g olarak tespit edildi (Tablo 6).

Tablo 6. *Rosa pimpinellifolia* Meyve Ekstaktraktının Toplam Fenolik Madde İçeriği

	TF (mg GA/g)
Ekstakt	$37,5 \pm 0.2$

İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Elemental Analiz

Rosa pimpinellifolia'nın meyve, toprak ve yetiştirdiği toprak örneğinin ICP-MS Analiz raporu Tablo 7'de gösterilmektedir.

Tablo 7. Örneklerin element içeriği (ppb)

Sample	Meyve	Tohum	Toprak
7 Li	35.767	9.766	19480.424
9 Be	0.733	0.000	673.533
11 B	8373.619	0.000	30659.983
24 Mg	1777106.115	1562801.584	9151191.911
27 Al	38599.524	0.000	59604126.803
28 Si	89636.468	0.000	733928.993
39 K	40522714.034	10249672.693	13863707.011
44 Ca	1321891.687	800326.061	33426657.194
51 V	90.470	24.447	85896.440
52 Cr	0.000	0.000	55564.526
55 Mn	104137.451	83714.294	882476.661
56 Fe	35295.917	22338.735	30833314.246
59 Co	84.669	141.904	15283.417
60 Ni	467.258	612.723	42446.262
63 Cu	5819.094	7268.186	34218.439
66 Zn	4047.450	7722.407	50123.622
71 Ga	12.194	0.000	12395.540
75 As	42.093	4.226	24570.380
78 Se	0.000	0.000	1501.393
85 Rb	7598.804	2137.913	48559.811
88 Sr	8081.289	3594.578	273985.189
107 Ag	0.000	0.000	19.200
111 Cd	204.253	86.817	6167.020
133 Cs	12.160	2.182	3725.090
137 Ba	5939.848	2563.388	158411.419
201 Hg	0.000	23.995	6.277
205 Tl	0.000	0.000	199.777
208 Pb	0.000	0.000	7652.631
209 Bi	0.000	0.000	165.342

Elde edilen sonuçlara göre meyve, toprak ve tohumda en yüksek konsantrasyonda tespit edilen ilk üç element Mg (meyve için 1777106.115 ppb, tohum için 1562801.584, toprak için 9151191.911ppb) Ca (meyve için 1321891.687, tohum için 800326.061, toprakta için 33426657.194), K(meyve için 40522714.034, tohum için 10249672.693, toprak için 13863707.011) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte toprak örneğinde incelemesi yapılan tüm elementlere farklı örneklerde rastlanırken, Be, B, Al, Si, Cr, Ga, Se, Ag, Tl, Pb, Bi elementleri tohumda, Cr, Se, Ag, Hg, Tl, Pb, Bi elementleri ise meyvede kantitatif olarak tespit edilememiştir.

Elde edilen sonuçlara göre berilyum, bor, aliminyum, silisyum, galyum ve gümüş elementleri toprakta sırasıyla 673.533 ppb, 30659.983 ppb, 59604126.803 ppb, 733928.993 ppb, 12395.540 ppb ve 24570.380 ppb oranında gözlenirken tohumda hiç gözlenmemiş, meyvede eser miktarda gözlenmiştir.

Magnezyum toprakta bol miktarda bulunur. Bitkilerin beslenmesinde önemlidir. Zaten meyvenin tohumunda da var olan Mg topraktan da ek olarak beslenerek meyveye geçmiştir.

- **Potasyum**'un meyvedeki miktarı toprak ve tohumda yer alan K miktarlarının toplamından fazla. Bunun çeşitli nedenleri olabilir. En bilinen nedenler arasında gübre ve kullanılan sulama suyu akıllara gelmektedir.
- **Kobalt, nikel, bakır ve çinko** elementleri tohumda meyveye göre daha fazla gözlenmiştir. Toprakta daha da fazla bulunmaktadır. Meyvede elementin azalmasının nedeni sulama esnasında tohumda var olan elementin bir kısmının toprağa karışmış olması ihtimalidir.
- **Selenyum** elementinde topraktan meyveye geçiş olmamıştır. Tohumda da zaten gözlenmemiştir.
- **Rubidyum, stronsiyum, kadmiyum, sezyum, baryum, kalsiyum, vanadyum, manganez, lityum ve demir** toprakta bol miktarda gözükürken tohumda ve meyvede oldukça az gözlenmiş. Meyvede tohumla göre daha fazla rastlanmasının sebebi topraktan meyveye element geçişi olmuştur.
- **Gümüş** elementi antioksidan özellikte bir element olduğu için toprakta varlığı aranır ancak tohumda ve meyvede kesin olarak var olmaları beklenmez.
- **Kurşun, talyum, bizmut ve krom** toprakta var olmasına rağmen tohumda ve meyvede yoktur. Bu bazı meyveler için normaldir. Meyvelerin toprak içerisinde yer alan kök yapıları bazı elementler konusunda seçici davranabilmektedir.

BEŞİNCİ BÖLÜM

Sonuç, Tartışma ve Öneriler

Tez çalışması kapsamında, Bayburt yöresinde yetiştirilen *Rosa pimpinellifolia* L. meyvesinin ultrasonik destekli ekstraksiyon sistemi kullanılarak metanol ekstraktı hazırlanmış ve bazı biyolojik aktivite tayinleri yapılmıştır. Proliferasyon analizi MCF-7 hücre hattı kullanılarak CVDK-8 yöntemiyle, antibakteriyel aktivite testleri ise 5 Gram (-), 5 Gram (+) patojen bakteri kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle yapılmıştır. Antioksidan aktivite ABTS ve DPPH yöntemleri kullanılarak tayin edilmiş ve ayrıca toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde ise Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Ek olarak element içeriğini tespit etmek için ICP-MS cihazı kullanılarak meyve, çekirdek ve toprakta toplam 29 adet elementin tespiti yapılmıştır.

Yapılan proliferasyon çalışmaları sonucuna göre meyve ekstraktlarının bütün dozları MCF-7 hücre hattında antiproliferatif özellik göstermiş olup en etkili sitotoksik dozun, uygulanan en düşük doz (40 µg/ml) olarak tespit edilmesi de ilginç ve önemli bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sonuca göre uygulanan yüksek dozların, düşük dozlara oranla MCF-7 kanser hattında daha az sitotoksik etki gösterdiğinin ortaya çıkması, olası antikanser çalışmaları için ışık tutacak önemli bir sonuç olarak kayıtlara geçmektedir.

Rosa pimpinellifolia L meyve özütünün *in vitro* antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan testlerde disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Bu işlemler sırasında 10 adet patojen bakteri kullanılmış ve seçilen patojen mikroorganizmalar tablo 3'te listelenmiştir. Bu amaçla 500 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan meyve özütlerinden 10 µL alınarak antimikrobiyal test disklerine emdirilmiş ve hazırlanan bu diskler dikkatli bir şekilde besiyerlerine yerleştirilmiştir. 24 saatlik inkübasyon periyodu sonunda bu disklerin etrafında herhangi bir inhibisyon zonu oluşmadığı gözlemlenmiştir. Üç kez gerçekleştirilen tekrarlı testler sonucunda 500 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan *Rosa pimpinellifolia* L meyve özütünün çalışmada seçilen hedef patojen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkiye sahip olmadığı gözlemlenmiştir.

Öz vd. (2021) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *Rosa canina* L. ve *Rosa pimpinellifolia* L. bitkilerinin çiçek, yaprak, gövde ve meyve örneklerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu tespit edilmiş ve bu örneklerin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Bu amaçla, antimikrobiyal aktivitelerin tespiti sürecinde 16 farklı

mikroorganizma kullanılmıştır (12 farklı bakteri ve 4 farklı fungus). Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda *Rosa canina* L. ve *Rosa pimpinellifolia* L. bitkilerinin çiçek, yaprak, gövde örneklerinden elde edilen uçucu yağların sınırlı sayıda ve düşük düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenirken, meyvelerden elde edilen uçucu yağlarda antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir (Öz et al., 2021).

Bu çalışmaya ek olarak, Gidik vd. (2019), tarafından yapılan bir çalışmada beş farklı kuşburnu örneği (*Rosa carom*, *Rosa iberica* Stev, *Rosa villosa*, *Rosa beggeriana* Schrenk ve *Rosa spinosissima*) antioksidan etki, antimikrobiyal aktivite ve total fenolik içerik açısından incelenmiştir. Bu çalışmada kuşburnu örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu ile değerlendirilmiş ve 10 farklı mikroorganizma kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla hazırlanan özütlerin konsantrasyonu 40 mg/mL olarak ayarlanmıştır ve hazırlanan özütlerin hedef mikroorganizmalara karşı farklı düzeylerde inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlar, farklı kuşburnu meyve örneklerinin 40 mg/mL konsantrasyonda antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmaya kıyasla, bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar, *Rosa pimpinellifolia* L. meyve örneklerinin ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan özütlerinin 500 µg/mL konsantrasyonda, çalışmada seçilen hedef patojenlere karşı antibakteriyel etkiye sahip olmadığını göstermektedir. Bu iki çalışma arasında yüksek düzeyde konsantrasyon farkının çalışmalarda ortaya çıkan farklılığın temel nedeni olarak açıklamak mümkündür.

In vitro antibakteriyel aktivite testlerine ek olarak, antioksidan aktivite tayini yapılmış ve bu işlemler ABTS ve DPPH teknikleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu testler sonucunda elde edilen değerler sırasıyla 32,06 mg TE/g ve 23,47 mg TE/g olarak tespit edilmiştir. Shameh vd. (2019) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, İran'ın Kuzey Batı Bölgesinden toplanılan 5 farklı *Rosa* türünün (*R. canina*, *R. coschata*, *R. damascena*, *R. webbiana*, *R. hemisphaerica*) 21 farklı genotipinin toplam fenolik içeriği tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların, *Rosa pimpinellifolia* için tespit ettiğimiz sonuçlara kıyasla daha düşük olduğu (3,31-8,17 mg GA/g arasında) görülmektedir. Aynı araştırmacılar belirtilen türler için DPPH testi ile ölçülen antioksidan aktivite değerlerini ise bizim tespit ettiğimiz aralıkta (3,80 mg AAE/g ile 37,86 mg AAE/g arasında) tespit etmişlerdir. Bununla birlikte bu tez çalışmasında tespit edilen antioksidan aktivite değeri Shameh vd. (2019) yaptığı çalışmada bir *R. canina* genotipi hariç diğer *Rosa* genotipleri için tespit edilen değerlerden daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Tahirović ve Bašić (2017) farklı ekstraksiyon solüsyonları (distile su, %50 methanol, %50 ethanol, %80 methanol, %80 ethanol) kullanarak hazırladıkları *Rosa canina*

ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini en düşük 35,89 mg/g olarak %80'lik etanol çözeltisi kullanarak hazırladıkları bitki ekstraktından, en yüksek toplam fenolik içeriği ise 78,83 mg/g olarak %50'lik metanol çözeltisi kullanarak hazırladıkları ekstraktta elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada daha yüksek konsantrasyonda (%80) metanol kullanılarak hazırlanan çözeltinin toplam fenolik içeriği 51,19 mg TE/g olarak daha düşük olarak tespit edilmiştir. Nitekim araştırmacıların rapor ettiği bu sonuçlar metanol konsantrasyonunun artışının bu bitkiden fenolik madde izolasyonuna negatif etki yaptığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise daha yüksek metanol konsantrasyonun ekstraksiyonunda kullanılmış olması fenolik içeriğin bu çalışmaya kıyasla daha düşük olarak (37.5 ± 0.2 mg/g) elde edilmesine sebep olmuş olabilir. Aynı çalışmada *Rosa canina* meyve ekstraktlarının DPPH ile tespit edilen antioksidan aktivite değeri 63,8-101.86 mg TE/g arasında, ABTS ile testi ile ise 78,10-154,1 mg TE/g arasında bizim tespit ettiğimizden daha yüksek bir oranla elde edilmiştir. Nitekim bu farklılıklar türe özgü olabileceği gibi farklı ekstraksiyon koşullarının kullanılmasından da kaynaklanmış olabilir.

Demir vd. (2014) Gümüşhane ilinden topladıkları *R. canina*, *R. dumalis*, *R. gallica*, *R. dumalis* subsp. *Boissieri*, *R. hirtissima* meyve ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini bizim *Rosa pimpinellifolia* için tespit ettiğimiz değere (37,5 mg TE/g) yakın bir şekilde 31,08-52,94 mg/g arasında tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar örneklerin ABTS testi ile belirledikleri antioksidan aktivite değerini 8.88-8.89 mg TE/g arasında bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değerden (32.06 mg TE/g) daha düşük olarak tespit etmişlerdir.

Bizim çalışmamızdan farklı olarak Gıdık vd. (2019) Türkiye'nin Bayburt ilinden toplamış oldukları beş farklı *Rosa* türünde (*R. carom*, *R. iberica* Stev, *R. villosa*, *R. beggeriana*, *R. spinossissima*) toplam fenolik içeriği 310.974-509.410 mg GA/g arasında bizim tespit ettiğimiz değerlerden daha yüksek olarak tespit etmişlerdir. Altan (2014), yaptığı bir çalışmada kuşburnu meyvesinin antioksidan kapasite değerini ortalama 362,475 μ m TE/g olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada bitkinin toplam fenolik içeriği 9,701 mg GA/g olarak bizim bu çalışmada elde ettiğimiz değerden daha düşük olarak kaydedilmiştir. Güven (2016), *R. pimpinellifolia* yalancı meyve, meyve ve köklerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite üzerine yaptığı çalışmada, *R. pimpinellifolia* meyvesinin metanol ekstresinde antioksidan aktiveyi DPPH metodu ile 11.1 μ g/ml, ABTS metodu ile 56,7 μ g/ml olarak belirlemiştir. Aynı çalışmada *R. pimpinellifolia* meyvesinin metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı $224,12 \pm 0.225$ mg GAE/g olarak bu çalışmada tespit edilenden daha yüksek bir oranda belirlenmiştir. Benzer şekilde Fattahi vd. (2012), *R. canina* ve *R. pimpinellifolia* meyveleri üzerinde yaptığı çalışmada toplam fenolik

madde içeriğinin ortalama değerini bu çalışmadan elde edilen değerden daha düşük olarak (1,99 mg GAE/g) rapor etmişlerdir.

Macit (2018), *R. pimpinellifolia* meyve metanolik ekstraktının farklı metodlar kullanarak antioksidan aktivitesini belirlemiştir. Bu sonuçlara göre meyve antioksidan potansiyeli DPPH metodunda $30,11 \pm 2.26$ mg TEAC/mL, CUPRAC metodunda $71,81 \pm 7.66$ mg TEAC/mL, ABTS metonda $39,15 \pm 5.44$ mg TEAC/mL ve FRAB metonda ise $15,21 \pm 2.31$ mg TEAC/mL olarak tespi edilmiştir. Meyve kök metanol ekstraktlarındaki değerlerini ise aynı yöntemlerde sırası ile $69,19 \pm 3.75$ mg TEAC/mL, $77,33 \pm 6.64$ mg TEAC/mL, $48,22 \pm 5.00$ mg TEAC/mL, $49,05 \pm 1.40$ mg TEAC/mL olarak rapor edilmiştir. Bu sonuçlarına göre *R. pimpinellifolia* kök metanolik ekstraktlarının meyve metanolik ekstraktına göre daha zengin antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna ulaşmıştır.

Ergen (2019), *R. pimpinellifolia* L. (siyah meyveli kuşburnu) meyvesi üzerinde yaptığı antioksidan çalışmasında su ve metanol ekstraktı kullanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre meyvenin antioksidan kapasitesi bakımından beta karoten ve DPPH metodlarında su ekstraktı, metanol ekstraktına göre daha yüksek sonuç verdiğini, ABTS ve CUPRAC yöntemlerinde ise metanol ekstraktında daha yüksek sonuç verdiğini belirtmiştir.

Zor (2019), *Rosa pimpinellifolia* meyvesi üzerinde yaptığı çalışmasında antioksidan kapasiteyi ABTS yöntemi ile $9,42 \mu\text{g/ml}$, DPPH yöntemi ile $38,35 \mu\text{g/ml}$ olduğunu belirtmiştir.

Öz (2016), *R. pimpinellifolia* L. ve *R. canina* L. kuşburnu türlerinin çiçek, yaprak, gövde ve meyvelerinde uçucu yağ analizleri ve biyolojik aktiviteleri üzerine yaptığı çalışmasında *R. pimpinellifolia* L. bitki kısımlarının elde edilen uçucu yağların antioksidan aktiviteleri kuşburnu örneklerine kıyasla daha fazla olduğunu tespit etmiştir. 2013 yılında *R. pimpinellifolia* meyvesinde $\%38,82 \pm 0.58$, 2014 yılında ise $\%48 \pm 0.17$ verilerini bildirmiştir. Bu durum farklı dönemlerde hasat edilen meyvelerin içeriklerinde farklılıklar gözlenebileceğinin bir göstergesidir.

Farklı *Rosa* türlerinin total fenolik ve aynı zamanda antioksidan aktiviteleri arasındaki tüm bu farklılıklar bitki türlerinin farklılığıyla açıklanabileceği gibi, bitki meyvelerinin ekstraksiyonu aşamasında kullanılan çözücü tipi (su, etanol, metanol vs.) ve oranı, ekstraksiyon yöntemi (maserasyon, ultrasonik destekli, mikrodalga, süperkritik vs.) ve prosedürü (zaman, sıcaklık vs.) gibi faktörlerden kaynaklı olarak değişkenlik göstermiş olabilir. Bununla birlikte bitkilerdeki fenolik bileşikler gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin çeşitliliği ve konsantrasyonunun büyük ölçüde iklim, coğrafik konum, sıcaklık, nem, toprak özellikleri gibi farklı abiyotik faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterdiği dikkate alındığında; tüm bu

alışmalar arasındaki farklılıklar, bitki türlerinin elde edildikleri lokasyonların ve elde edilme zamanları gibi bir çok ekolojik özellikle ilişkilendirilebilir. Nitekim yapılan bir çalışmada 2013 yılında toplanan *Rosa pimpinellifolia*’nın C vitamin içeriğinin (199.90 mg/100g) 2014 yılında toplanan *Rosa pimpinellifolia*’ninkine kıyasla (305.92 mg/100g) neredeyse yarı yarıya daha az olduğu rapor edilmiştir (Öz vd., 2018). Bu durum ürünün hasat edildiği zamanında da ürünlerin biyokimyasal içeriğini etkilediğinin bir göstergesidir.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları, *R. pimpinellifolia* L meyvelerinin dikkate değeri antioksidan kapasite ve total fenolik içeriğine sahip olduğu için gıda ve ilaç endüstrileri gibi farklı alanlarda değerlendirilebilecek bir potansiyele sahip olduğunu işaret etmektedir. Bununla birlikte bitkinin ayrıntılı olarak bireysel fenolik bileşik içeriği ve ayrıca antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikleri araştırılabilir.

Elemental analiz sonucunda ise Be, B, Mg, Al, Si, Ca, V, Mn, Fe, Ga, As, Rb, Sr, Cd, Cs ve Ba elementlerinde topraktan *Rosa pimpinellifolia* bitkisinin meyve içeriğine geçmiş olması önemli bir sonuç olarak belirlenmiş olup, bitkinin yetiştiği toprak özelliklerinin de meyvenin gösterdiği biyolojik aktivite ile ilgili olabileceği görülmektedir.

KAYNAKÇA

- Altan, D. D. (2014). *Kuşburnu meyvesinin geleneksel yöntemle meyve suyuna işlenmesi aşamalarında antioksidan kapasite değişiminin incelenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.364270).
- Altunkaynak, B. Z., Ünal D., Aksak, S., & Ünal, B. (2012). Östrojen hormonu ve menopoz. *Deneyisel ve Klinik Tıp Dergisi*, 29(4), 252-256.
- Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Lai, O. S., & Aggarwal, B. B. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research*, 25(9), 2097-2116.
- Anar, M. (2014). *Bazı liken türlerinin antimutajenik özelliklerinin belirlenmesi* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.352155).
- Andersson, S. C., Rumpunen, K., Johansson, E., & Olsson, M. E. (2011). *Gül kalçalarındaki karotenoid içeriği ve kuşburnu (Rosa spp.) kompozisyonu, olgunluğa uygun markerin belirlenmesi ve sağlığa yararlı gıda ürünleri için etkileri*, Gıda kimyası, 128 (3), 689-696.
- Anşin, R., & Kılınç, M. (1996). *Doğu karadeniz bölgesinde yetişen doğal Rosa. L.. taksonları*, Kuşburnu Sempozyumu, Eylül, Gümüşhane Bildiriler Kitabı: 85-95.
- Arı, M. (2018). *Meme kanseri hücre dizisinde (mcf-7) oleuropein ve d vitamininin antiproliferatif, apoptotik ve antioksidan etkilerinin araştırılması* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.519758).
- Aslan, G. (2010). Tümör immünolojisi. *Turkish Journal of Immunology*, 15, 7-13.
- Baba, A. I., & Cătoi, C. (2007). Comparative Oncology. Bucharest: *Publishing House of the Romanian Academy*.
- Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. (2010). *Çilek ağacı, karaçam ve gül meyveleri: antioksidan özellikli besin ve fitokimyasallarda detaylı karakterizasyon*. Besin kimyası, 120(1), 247-254.
- Bartsch, H., Nair, U., Risch, A., Rojas, M., Wikman, H., & Alexandrov, K. (2000). Genetic polymorphism of cyp genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 9(1), 3-28.
- Basu, T. K., Temple, N. J., and Garg, M. L. (1999). Antioxidants in Human Health and Disease, *CABI Publishing*, 2. Bölüm, 15–17.
- Bayram, M., & Arslan, Ö. (1996). *Kuşburnunun farklı ürünlere işlenmesi*. Kuşburnu Sempozyumu, 5-6.
- Baytop, T. (1984). *Türkiyede bitkilerle tedavi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 40, İstanbul.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. ISBN:975-420-0211, 480 s, *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul.
- Boyd, P. D. (2012). *Rosa spinosissima*-aspects of its natural history and associations with people from prehistory to the present day. In WFRS 12th International Heritage Rose Conference, Sakura, Japan June.
- Bridges, J. W., Benford, D. J., & Hubbard, S. A. (1983). The design and use of in vitro toxicity tests. In *Animals in Scientific Research: An Effective Substitute for Man?* (pp. 47-68). Palgrave, London.

- Can, Z., Baltaş, N., Çakır, H. E., Şirin, Y., & Kolaylı, S. (2017). Siyah kuşburnu (*rosa pimpinellifolia* L.) ve kırmızı kuşburnu (*rosa canina* L.) meyvelerinin antioksidan özellikleri ve bazı enzim inhibisyonlarının belirlenmesi. Presented at the Ivek 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul.
- Chrubasik, C., Roufogalis, B. D., Müller-Ladner, U., & Chrubasik, S. (2008). A systematic review on the *rosa canina* effect and efficacy profiles. *Phytotherapy Research: an International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(6), 725-733.
- Cummings, S. R., Tice, J. A., Bauer, S., Browner, W. S., Cuzick, J., Ziv, E. and Kerlikowske, K. (2009). Prevention of breast cancer in postmenopausal women: approaches to estimating and reducing risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(6), 384-398.
- Çakabay, B. (2012). *Meme kanserinde GASC1 ekspresyonu* (Uzmanlık tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.314482).
- Çalış, İ. U. (2016). *Meme kanserinin metastazında sfingozin 1-fosfat ve reseptörlerinin rolü* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.424627).
- Çelik, F. (2005). Türkiye'de doğal olarak yetişen kuşburnu (*rosa* L.) türleri ve yayılış alanları. Doktora Seminer-II, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Van.
- Çınar, İ., & Çolakoğlu, A. S. (2004). Potential health benefits of rose hip products. In *I International Rose Hip Conference*, 690, (pp. 253-258).
- Çınar, İ., & Çolakoğlu, A.S. (2005). Potential health benefits of rose hip products, *Acta Horticulturae*, 690, 253–257.
- Davis, P. H., (1965). *Flora of Turkey and the east aegean islands*, Edinburgh: Edinburgh at the University Press, Chapter 1.
- De Oliveira, M. C., Sichieri, R., & Moura, A. S. (2003). Weight loss associated with a daily intake of three apples or three pears among overweight women. *Nutrition*, 19(3), 253-256.
- Deceva, R., & Koseva, D. (1972). Study of carbohydrate-metabolism of some oil-bearing roses during annual growth-cycle. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 44, 60-63.
- Deliorman, O. D., & Hartevidoğlu, A. (2013). Kuşburnu bitkisinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri, *Spatula*, 3, 1, 23-30.
- Demir, F., & Özcan, M. (2001). Chemical and technological properties of rose (*rosa canina* L.) fruits grown wild in turkey, *Journal of Food Engineering*, 47(4), 333-336.
- Demir, N., Yildiz, O., Alpaslan, M., & Hayaloglu, A. A. (2014) Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa* L.) fruits in Turkey. *LWT Food Sci. Technol.* 2014, 57, 126–133.
- Demir, İ. (1990). Genel bitki ıslahı. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 496, 366s.
- Deniz, İ., Alma, M. H., Öz, M., Alkan, E., & Fidan, M. S. (2014). Gümüşhane yöresinde doğal olarak yetişen odun dışı orman ürünlerinden kara kuşburnu (*rosa pimpinellifolia*), III. *Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri Sempozyumu*, Kahramanmaraş, Bildiriler Kitabı: 426-439. Mayıs,
- Dhanasekaran, S., Rajesh, A., Mathimani, T., Samuel, S. M., Shanmuganathan, R., & Brindhadevi, K. (2019). Efficacy of crude extracts of *Clitoria ternatea* for antibacterial

- activity against gram negative bacterium (*Proteus mirabilis*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101328.
- Di, Mascio., P, Murphy., M. E., & Sies, H. (1991). Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiol. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1), 194S-200S.
- Dickson, R. B., & Lippman, M. E. (2001). *Cancer Principles & Practice of Oncology*, 6th Edition, Pages 1633,1641, 1688.
- Dikmen, M., Öztürk, N., & Öztürk, Y. (2008). Nar meyve kabuğu ekstresinin mcf-7 hücre proliferasyonu üzerine sitotoksik ve inhibitör etkileri, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 37(3), 179-190.
- Dölek, Ü. (2008). *Amasya yöresinde doğal olarak yetişen kuşburnuların (rosa spp.) seleksiyon yoluyla ıslahı* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.179605).
- Düngül, D. Ç. (2011). *Sporadik kolorektal kanser vakalarında genom ebadında tek nükleotit polimorfizm profilinin belirlenmesi ile yeni genetik yatkınlık genlerinin ve kanserin gelişmesinde etken olan genlerin belirlenmesi* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.301039).
- Dwivedi, V., Shrivastava, R., Hussain, S., Ganguly, C., & Bharadwaj, M. (2011). Cytotoxic potential of Indian spices (Extracts) against esophageal squamous carcinoma cells. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 12, 2069-73.
- Ecem-Bayram, N., Gerçek, Y. C., Bayram, S., & Toğar, B. (2020). Effects of processing methods and extraction solvents on the chemical content and bioactive properties of propolis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 905-916.
- Ekincialp, A., & Kazankaya, A. (2012). Hakkari yöresi kuşburnu genotiplerinin (*rosa spp.*) bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1), 7-11.
- El-Deiry, W. S. (1998). Regulation Ofp53downstream Genes. In *Seminars. In Cancer Biology* (Vol. 8, No. 5, Pp. 345-357). Academic Press.
- Encu, T. (2015). *Doğu anadolu bölgesinin bazı lokasyonlarından (van-hakkari-şırnak) alınan kuşburnu (rosa canina L.) meyvelerinin pomolojik ve bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.390566).
- Ercisli, S. (2007). Chemical Composition of Fruits in Some Rose (*Rosa Spp.*) Species. *Food Chemistry*, 104(4), 1379-1384.
- Ercişli, S. (1996). *Gümüşhane ili ve ilçelerinde doğal olarak yetişen kuşburnuların (rosa ssp.) seleksiyon yoluyla ıslahı ve çelikle çoğaltma imkanları üzerine bir araştırma* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.58015).
- Ergen, B. (2019). *Rosa pimpinellifolia L. (Koyungözü) meyvesinin bazı fizikokimyasal özellikleri ile antioksidan aktivite ve fenolik profilinin belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.548474).
- Ertaş, E. (2017). *Rosa canina ve lycium barbarum bitki özütlerinin dna koruyucu aktivitelerinin ve stenotrophomonas maltophilia üzerine etkilerinin araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.490112).

- Fattahi, S., Jamei, R. & Hosseini, S. S. (2012). Antioxidant and antiradical activities of *rosa canina* and *rosa pimpinellifolia* fruits from west azerbaijan. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 2, 4, 523-529.
- Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: globocan 2008. *International Journal of Cancer*, 127(12), 2893-2917.
- Gezmiş, T. (2019). *İminodiasetik asidin in vitro ve in vivo anti-alzheimer potansiyelinin değerlendirilmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.537252).
- Ghazghazi, H., Miguel, M. G., Hasnaoui, B., Sebei, H., Ksontini, M., Figueiredo, A. C., & Barroso, J. G. (2010). Phenols, essential oils and carotenoids of *rosa canina* from tunisia and their antioxidant activities. *African Journal Of Biotechnology*, 9(18), 2709-2716.
- Gıdık, B., Akar, Z., Can, Z., Sefalı, A., & Ertürk, Ö. (2019). Determination of antioxidant antimicrobial activities phenolic compounds of wild *Rosa* L. species bayburt turkey. *Fresenius environmental bulletin*, 28(12a), 9973–9982.
- Gök, V., Kayacı, A., & Telli, R. (2006). Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı doğal antioksidanlar, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 35-40.
- Graeber, T. G., Osmanian, C., Jacks, T., Housman, D. E., Koch, C. J., Lowe, S. W., & Giaccia, A. J. (1996). Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours, *Nature*, 379: 88-91.
- Güleryüz M., & Ercişli, S. (1996). Kuşburnu Yetiştiriciliği. *Kuşburnu Sempozyumu*, Gümüşhane.
- Güneş, M., & Şen, S. M. (2001). Tokat Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnuların (*Rosa* spp.) Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerinde Bir Araştırma , 30(1).
- Gürel, D. K. (2007). *Çukurova üniversitesi tıp fakültesi balcalı hastanesi erişkin onkoloji, hematoloji kliniklerinde kemoterapi uygulanan hastaların yaşam kalitesi ve bunu etkileyen faktörlerin incelenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.193523).
- Güven, L. (2016). *Rosa pimpinellifolia yalancı meyve meyve ve köklerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.437766).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2001). Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford Science Publications*, 22–24.
- Hannahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer, 100(1), 55-70.
- Herald, T. J., Gadgil, P., & Tilley, M. (2012). High-throughput micro-plate assays for screening flavonoid content and DPPH scavenging activity in sorghum bran and flour. *J Sci Food Agric*, 92:2326–2331.
- Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., & Harris, C. C. (1991). P53 Mutations in Human Cancers, *Science*, 253(5015), 49-53.
- Hummer, K. E., & Janick, J. (2009). Rosaceae: taxonomy, economic importance, genomics. In *Genetics and genomics of Rosaceae* (pp. 1-17). Springer, New York, NY.
- Iqbal, M., Bakht, J., & Shafi, M. (2018). Phytochemical screening and antibacterial activity of different solvent extracted samples of *Arisaema jacquemontii*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 31(1).

- İlisulu, K. (1992). İlaç ve Baharat Bitkileri Ders Kitabı, 360, 302, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 1256, Ankara.
- Jacobi, K. (1994). Roses Grange Books plc. Grange Yard. Oxf. Pr. London 96 pp.
- Kai, K. (2012). Survival Models With Wene Groups as Covariates, Dortmund University Department of Statistics.
- Kara, A. (2012). *Resveratrolün meme kanseri hücre kültüründeki p53 aracılı apoptoz aktivasyonunun ve sitotoksitesinin polimeraz zincir reaksiyonu (pcr), immunsitokimya ve mtt yöntemleriyle araştırılması* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.342015).
- Karakaya, T. (2016). *Gaziantep yöresi Nur Dağı'nda kuşburnu (rosa canina l.)'nun ekolojik özellikleri ile potansiyel dağılım modellemesi ve haritalanması* (Doktora tezi).Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.446695).
- Karakuş, E. (2010). Östrojen-bağımlı meme kanseri ve sodyum-bağımlı steroid sülfat taşıyıcısı soat, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 5(3), 155-166.
- Kazankaya, A., Koyuncu, M. A., & Balta, F. (1999). Van yöresinde doğal olarak yetişen kuşburnuların seleksiyonu, *Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 14-17.
- Kazaz, G. (2013). *Sütçüler yöresinde kuşburnu (rosa canina L.) türünün coğrafi dağılım modellemesi* (Doktora Tezi), Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.353436).
- Kazaz, S., Baydar, H., & Erbas, S. (2009). Variations in chemical compositions of *rosa damascena* mill. and *rosa canina* L. fruits. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(3), 178-184.
- Kızıllı, H. E. (2016). *Bazı liken sekonder metabolitlerinin antiproliferatif, apoptotik ve antioksidatif özelliklerinin belirlenmesi* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.426087).
- Kızılcı, G. (2005). *Bazı ümitvar kuşburnu (rosa spp.) tiplerinin Erzincan ekolojik koşullarına adaptasyonu (seleksiyon II)* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.170417).
- King, J. B. R., & Robins, M. W. (2006). Cancer biology, Pearson Education Limited, Essex, İngiltere, 3. Baskı.
- Kinzler, K. W., & Vogelstein, B. (1997). Gatekeepers and Caretakers, *Nature*, 386(6627), 761.
- Kleinsmith, L. J. (2006). Principles of cancer biology. Benjamin Cummings, 352, Michigan.
- Knudson, A. G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(4), 820-823.
- Kol, A. (2016). *Kuşburnu (rosa canina L.) bitki özütü uygulamasının sazan (cyprinus carpio 1758 L.) balıklarında hematolojik parametreler ve bazı serum mineral düzeyleri üzerine etkisi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.418529).
- Korkmaz, M., & Özçelik, H. (2015). Türkiye güllerinin (*rosa L.*) yöresel adları ve yetiştikleri yöreler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(1), 75-82.
- Kostic, S. (1994). Nutritive value of rose hips and it's usability in baby food vitaminization, Review of Research Work at the Faculty of Agriculture.

- Kömürcü, H. E. (1995). *Memenin malign epitelyal tümörlerinde immünohistokimyasal olarak saptanan pS2 proteininin östrojen ve progesteron reseptörleriyle karşılaştırması* (Uzmanlık tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.44276).
- Kushi, L. H., Doyle, C., & McCullough, M. (2012). American cancer society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA: A Cancer Of Journal Of Clinicians*, 2012, 62(1), 30-67
- Kutbay, H. G., Karaer, F., & Kılınç, M. (1996). The relationships of some nutrients between *Cuscuta epithymum* (L.) L. var. *Epithymum* and *heliotropium europaeum* L. *Turkish Journal Of Botany*, 20(6), 515-519.
- Levent, A., Alp, Ş., Ekin, S., & Karagöz, S. (2010). Trace Heavy Metal Contents and Mineral of *Rosa Canina* L. Fruits From Van Region of Eastern Anatolia, Turkey. *Reviews in Analytical Chemistry*, 29(1), 13-24.
- Levine, A. J. (1997). P53, The cellular gatekeeper for growth and division, *cell*, 88(3), 323-331.
- Liaudanskas, M., Noreikienė, I., Zymonė, K., Juodytė, R., Žvikas, V., & Janulis, V. (2021). Composition and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in Fruit of the Genus *Rosa* L. *Antioxidants*, 10(4), 545.
- Loc, N. H., & Kiet, H. V. (2011). Micropropagation of *Solanum hainanense* Hance. *Annals of Biol Res*, 2, 394-8.
- Loeb, L. A. (2001). A mutator phenotype in cancer, *Cancer Research*, 61(8), 3230-3239.
- Lowe, S. W., & Ruley, H. E. (1993). Stabilization of the p53 Tumor Suppressor is induced by adenovirus 5 e1a and accompanies apoptosis. *Genes & Development*, 7(4), 535-545.
- Macit, M. (2018). *Rosa canina* L. ve *rosa pimpinellifolia* L. köklerindeki fenolik bileşiklerin miktarı ve biyoyararlılığının tespiti (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.519970).
- Macit, M. G., & Köse, Y. B. (2015). Medicinal plants used for folk medicine in Oltu (Erzurum/Turkey), *Biological Diversity and Conservation*, 8(2), 74-80.
- Magalhaes, L., Santos, F., Segundo, M., Reis, S., & Lima, J. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, 83, 441-447.
- Mans, D. R. A., Rocha, A. B. D., & Schwartzmann, G. (2000). Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compounds. *The Oncologist*, 5, 185-98.
- Martin, A. M., & Weber, B. L. (2000). Genetic and hormonal risk factors in breast cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 92(14), 1126-1135.
- Martin, S. P., Pike, M. C., Ross, R. K., Jones, P. A., & Henderson, B. E. (1990). Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Research*, 50(23), 7415-7421.
- Martinez, J. D., Parker, M. T., Fultz, K. E., Ignatenko, N. A., & Gerner, E. W. (2003). Molecular Biology of Cancer. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 5, 1-50.
- McPherson, K., Steel, C., & Dixon, J. M. (2000). Breast Cancer—Epidemiology, Risk Factors and Genetics, *Bmj*, 321(7261), 624-628.

- Mert, A., Şentürk, Ö., Güney, C. O., Akdemir, D., & Özkan, K. (2013). mapping of some distal variables available for mapping habitat suitabilities of the species: a case study of buldan district. *3rd International Geography Symposium*, Pp 210.
- Mısırlı, A., Güneri, M., & Gülcan, R. (1999). İzmir-kemalpaşa'da doğal olarak yetişen kuşburnu bitkilerinin fenolejik ve pomolojik değerlendirilmesi, *Türkiye III. Bahçe Bitkileri Kongresi*, 764-772.
- Mirjalili, M. H., Akhoondi, R., & Hadian, J. (2015). Chemical composition of the aliphatic compound-rich essential oil of *rosa foetida* from iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(1), 171-172.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2):55-63.
- Nelson, W. G., & Kastan, M. B. (1994). Dna strand breaks: the dna template alterations that trigger p53-dependent dna damage response pathways, *Molecular and Cellular Biology*, 14(3), 1815-1823.
- Nilson, O. (1997). Rose in: flora of turkey and the east aegean islands, davis, p.h., ed., edinburgh: *Edinburgh University Press*, 4: 106-128.
- Nowak, R. (2005). Fatty acids composition in fruits of wild rose species. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 74(3).
- Oláh, E. (2005). Basic concepts of cancer: genomic determination. The Journal of The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine ,16(2).
- Onur, H. (2005). *Meme kanseri*, tıbbi onkoloji kitabı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antip Yayınları, Editör İçli F. Sayfa 247
- Orhan, N., Aslan, M., Hosbas, S., & Deliorman, O. D. (2009). Antidiabetic effect and antioxidant potential of *rosa canina* fruits. *Pharmacognosy Magazine*, 5(20), 309.
- Öncel, M. (2012). Isı şok proteinleri ve kanse. *Eur J Basic Med Sci*, 2(1), 16-23.
- Öz, M. (2016). *Rosa pimpinellifolia* L. ve *rosa canina* L. kuşburnu türlerinin çiçek, yaprak, gövde ve meyvelerinde uçucu yağ analizleri ve biyolojik aktiviteleri (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.430365).
- Öz, M., Deniz, İ., Okan, O. T., Baltacı, C., & Karataş. S. M. (2021). Determination of the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of different parts of *rosa canina* L. and *rosa pimpinellifolia* L. Essential oils. *Journal of essential oil bearing plants*.
- Özcan, M. (2002). Nutrient composition of rose (*rosa canina* l.) seed and oils. *Journal Of Medicinal Food*, 5(3), 137-140.
- Özçelik, H. (2009). Türkiye *Rosa* L.(Gül) Taksonlarının Genetik Çeşitliliğinin Tespiti. *Ekonomiye Kazandırılma Olanaklarının Araştırılması ve Süleyman Demirel Üniversitesi Bünyesinde Rosarium (Gülistan) Tesisi*, TÜBİTAK, TOVAG, 105.
- Özdoğan, N. (2013). *Rosa heckeliana* (rosacea) roots extract: bioactivity guided fractionation and cytotoxicity against breast cancer cell lines (Doctoral Dissertation). It was Obtained From the Higher Education Council National Thesis Center. (Thesis No. 365598)
- Özkan, K., Süel, H., Mert, A., Gülsoy, S., Başayığit, L., & Şenol, H. (2006). Abiotic site factors influencing distribution of dog rose (*rosa canina* L.) in west buldan mountainous region), *Proceedings Of Buldan Symposium 2*, Aydoğdu Ofset, Ankara, 581-588.

- Özmen, V. (2008). Dünya’da ve Türkiye’de meme kanseri. *Meme Sağlığı Dergisi*, 2008, 4: 79.
- Özrenk, K., Gündoğdu, M. & Doğan, A. (2012). Erzincan yöresi kuşburnu (*rosa canina* L.) meyvelerinin organik asit, şeker ve mineral madde içerikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1), 20-25.
- Öz., M., Baltacı, C., & Deniz, İ. (2018). Gümüşhane yöresi kuşburnu (*Rosa canina* L.) ve siyah kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) meyvelerinin C vitamini ve şeker analizleri. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 284-292.
- Parlar, Ç. (2015). *Van ilinde doğal olarak yetişen rosa canina L. genotiplerinin toplam fenolik içerikleri ile moleküler açıdan akrabalık ilişkilerinin incelenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi’nden edinilmiştir. (Tez No. 390627)
- Pitot, H. C. (1993). The molecular biology of carcinogenesis, *Cancer*, 72(S3), 962-970.
- Porter, E. A., van den Bos, A. A., Kite, G. C., Veitch, N. C., & Simmonds, M. S. (2012). Flavonol glycosides acylated with 3-hydroxy-3-methylglutaric acid as systematic characters in *rosa*, *Phytochemistry*, 81, 90-96.
- Quave, C. L., Plano, L. R., Pantuso, T., & Bennett, B. C. (2008). Effects of extracts from italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3), 418-428.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237
- Rehder, A. (1947), Manuel of cultivated trees and shrubs hardy in north america. *The Macmillan Publishing Company*, New York.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Osuna, C., & Gitto, E. (2000). Melatoninin oksidatif stresin azaltılmasındaki etkileri. *Biyomedikal bilim dergisi*, 7 (6), 444-458.
- Renehan, A. G., Tyson, M., Egger, M., Heller, R. F. & Zwahlen, M. (2008). Body-Mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies, *The Lancet*, 371(9612), 569-578.
- Riss, T. L., & Moravec, R. A. (2004). Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. *Assay and Drug Development Technologies*, 2(1):51-62
- Roemer, K. (1999). Mutant P53: gain-of-function oncoproteins and wild-type p53 inactivators. *Biological Chemistry*, 380(7-8), 879-887.
- Ruddon, R. W. (2007). *Cancer Biology*. Oxford University Press, 3. Baskı, USA.
- Russo, J., Lareef, M. H., Balogh, G., Guo, S., & Russo, I. H. (2003). Estrogen and its metabolites are carcinogenic agents in human breast epithelial cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 87(1), 1-25.
- Santen, R., Cavalieri, E., Rogan, E., Russo, J., Guttenplan, J., Ingle, J., & Yue, W. (2009). Estrogen mediation of breast tumor formation involves estrogen receptor-dependent, as well as independent, genotoxic effects. *Annals of the New York Academy Of Sciences*, 1155(1), 132-140.
- Sen, S. M., & Gunes, M. (1996). Some chemical and physical properties of roses are grown in tokat provinces in turkey. *In Proceedings of ist National Rose Hip Conference*, 231-239.

- Serteser, A., Kargioğlu, M., Gök, V., Bağcı, Y., Özcan, M. M., & Arslan, D. (2008). Determination of antioxidant effects of some plant species wild growing in turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7-8), 643-651.
- Seyfried, T. N. & Shelton, L. M. (2010). Cancer as a Metabolic Disease. *Nutrition & Metabolism*, 7(1), 7.
- Shafi, G., Hasan, T. N., Syed, N. A., Al-Hazzani, A. A., Alshatwi, A. A., Jyothi, A., & Munshi, A. (2012). *Artemisia absinthium* (AA): a novel potential complementary and alternative medicine for breast cancer. *Mol Biol Rep.* ;39(7):7373-9.
- Shameh, S., Alirezalu, A., Hosseini, B., & Maleki, R. (2019). Fruit phytochemical composition and color parameters of 21 accessions of five *Rosa* species grown in North West Iran. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(13), 5740-5751.
- Soyalp, M. (2011). *Çevresel asbeste maruz kalanlarda oksidatif stres ve kollajen metabolizmasının değerlendirilmesi* (Uzmanlık tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.304509).
- Strålsjö, L., Alkint, C., Olsson, M. E., & Sjöholm, I. (2003). Total folate content and retention in rosehips (*rosa* ssp.) after drying. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 51(15), 4291-4295.
- Su, L., Yin, J. J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., & Yu, L. L. (2005). Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry*, 100 (3): 990–997.
- Suzuki, R., Orsini, N., Saji, S., Key, T. J. & Wolk, A. (2009). Body weight and incidence of breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status—a meta-analysis. *International Journal of Cancer*, 124(3), 698-712.
- Tanaka, H., Arakawa, H., Yamaguchi, T., Shiraishi, K., Fukuda, S., Matsui, K., & Nakamura, Y. (2000). A ribonucleotide reductase gene involved in a p53-dependent cell-cycle checkpoint for dna damage, *Nature*, 404(6773), 42.
- Tanas, A. (2019). *Sarkozin'in in vitro ve in vivo nöroprotektif etkilerinin değerlendirilmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.543165).
- Tanker, N., Koyuncu, M. & Coşkun, M. (1993). *Farmasötik botanik ders kitabı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları* (70), 218, 29.
- Taştekin, B. (2017). *Samsun ve çevresinde yetişen kuşburnu meyvesinin antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal potansiyelinin araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.487462).
- Thannickal, V. J., & Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-L1028.
- Tahirović, A., & Bašić, N. (2017). Determination of phenolic content and antioxidant activity of *Rosa canina* L. fruits in different extraction systems. *Works of the Faculty of Forestry University of Sarajevo*, 47(1).
- Topal, T., Öter, S., & Korkmaz, A. (2009). Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Dergisi*, 19(3).
- Topçul M. Kanser. <http://www.sb.k12.tr/IMG/pdf/kanser.pdf> 22.04.2018
- Türkben, C. (2003). Kuşburnu, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.

- Türkben, C., Çopur, U., Tamer, E., & Şenel, Y. (1996). Bursa yöresinde doğal olarak yetişen kuşburnu (*rosa spp.*) meyvelerinin bazı özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Gümüşhane Kuşburnu Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, S.809-814.
- URL-1 (Anonim), *Rosa Pimpinellifolia* L. <https://www.classicroses.co.uk/rosa-pimpinellifolia-shrub-rose.html>, 20.03.2019
- URL-2 (Anonim), *Rosa canin* L. <https://www.fidandeposu.com/rosa-canina-kusburnu-fidani>, 20.03.2019
- User, E. T. (1967). Memleketimizde orta ve kuzey anadolu’da yetişen kuşburnunun c vitamini bakımından durumu, bununla ilgili halk gelenekleri hakkında bir araştırma. *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, 27(1), 39-60.
- Varela-Rey, M., Woodhoo, A., Martinez-Chantar, M. L., Mato, J. M., & Lu, S. C. (2013). Alcohol, dna methylation, and cancer. *Alcohol Research: Current Reviews*, 35(1), 25.
- Vogelstein, B., Fearon, E. R., Hamilton, S. R., Kern, S. E., Preisinger, A. C., Leppert, M., & Bos, J. L. (1988). Genetic alterations during colorectal-tumor development. *New England Journal of Medicine*, 319(9), 525-532.
- Vogelstein, B., Lane, D., & Levine, A. J. (2000). Surfing The P53 Network, *Nature*, 408(6810), 307.
- Vousden, K. H. (2002). Activation of the p53 tumor suppressor protein, *biochimica et biophysica acta (BBA)-Reviews On Cancer*, 1602(1), 47-59.
- Weinberg R.A (2007). The biology of cancer. Garland Science New York, 1. Baskı
- Weinberg, R. A., & Hanahan, D. (2000). The Hallmarks of Cancer, *Cell*, 100(1), 57-70.
- Woods Jr, J. R., Cavanaugh, J. L., Norkus, E. P., Plessinger, M. A., & Miller, R. K. (2002). The effect of labor on maternal and fetal vitamins c and e. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 187(5), 1179-1183.
- Xue, F. Willet, W. C., & Rosner, B.A. (2011). Cigarette smoking and incidence of breast cancer, *Arch Internal Medicine*, 171(2), 125-33.
- Yamankaradeniz, R. (1982). *Erzurum yöresinde doğal olarak yetişen kuşburnunun bileşimi ve değerlendirme olanakları üzerine araştırmalar* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi’nden edinilmiştir. (Tez No.304509).
- Yamankaradeniz, R. (1983). Farklı olum aşamalarındaki kuşburnu (*rosa sp.*) nun fiziksel ve kimyasal nitelikleri, *Gıda Dergisi*, 8(4).
- Yılmaz, S. (1996). Kuşburnu bitkisinin erozyon kontrolündeki yeri ve önemi. *Kuşburnu Sempozyumu*, 5-6.
- Yildiz, O., & Alpaslan, M. (2012). Properties of rose hip marmalades, *Food Technology and Biotechnology*, 50(1), 98-106.
- Yu, F. Y., Liao, Y. C., Chang, C. H., & Liu, B. H. (2006). Citrinin Induces Apoptosis In HL-60 Cells Via Activation Of The Mitochondrial Pathway, *Toxicology Letters*, 161(2), 143-151.
- Yücel, E. (2001). Eskişehir yöresi yaban güllerinin (*rosa spp.*) doğal yayılışı ve ekolojik özellikleri. *Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, (6), 15-32.
- Zeynalov, Y., & Türkoğlu, M. (2016). Ağrı Dağı’nın Florası, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Ankara, ISBN: 978-605-4610-89-1.

- Zhao, Y., Tan, Y. S., Aupperlee, M. D., Langohr, I. M., Kirk, E. L., Troester, M. A., & Haslam, S. Z. (2013). Pubertal high fat diet: effects on mammary cancer development, *Breast Cancer Research*, 15(5), R100.
- Zhu, K., Wang, J., Zhu, J., Jiang, J., Shou, J., & Chen, X. (1999). P53 induces tap1 and enhances the transport of mhc class 1 peptide, *Oncogene*, 18(54), 7740.
- Zor, M. (2019). *Kara kuşburnu (Rosa pimpinellifolia L.) meyvesi ve çekirdeğinden elde edilen ekstraktların dondurma üretiminde kullanım olanakları* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.608265).



ÖZGEÇMİŞ

..... yılında’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini’de tamamladı. yılında Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. yılında lisans eğitimini tamamladı ve aynı yıl Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. Ağustos ayında İl Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü’nde Laboratuvar Stajını, ... yılında Fabrikasında ve Bisküvi Fabrikasında, ... yılında ise Fabrikası’nda İşletme Stajını tamamladı. yılları arasında Kredi Yurtlar Kurumunda Yönetici Gıda Mühendisi olarak görev yapmıştır. Ağustos - Aralık ayları arasında Hava Ulaştırma Ana Üs Komutanlığı’nda Gıda Mühendisi (İZP) olarak görev yapmıştır. Aralık –..... Temmuz ayları arasında firmasında Gıda Mühendisi (İZP) olarak çalışmıştır. Temmuz ayından itibaren ’nde Gıda Mühendisi (İZP) olarak çalışmaktadır.