



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**BAZI SERBEST ve BAZI DOYMAMIŞ YAĞ ASİTLERİNİN HELA
(İNSAN SERVİKAL TÜMÖR HÜCRESİ), C6 (SIÇAN BEYİN
TÜMÖRÜ) ve HT-29 (KOLON TÜMÖR) HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖR AKTİVİTESİ ve SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yeşim YUMAK

Danışman: Prof. Dr. Necmettin YILMAZ

TOKAT- 2022



Bu tez çalışması,

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
2020/25 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof Dr. Necmettin YILMAZ danışmanlığında hazırlamış olduğum “Bazı Serbest Ve Bazı Doymamış Yağ Asitlerinin HeLa (İnsan Servikal Tümör Hücresi), C6 (Sıçan Beyin Tümörü) Ve HT-29 (Kolon Tümör) Hücreleri Üzerindeki Antitümör Aktivitesi ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması" adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

08/05/2022

Yeşim YUMAK

ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecimin ilk gününden itibaren benden bilgisini ve desteğini esirgemeyen, zorlandığım zamanlarda beni cesaretlendiren başta tez danışmanım Prof. Dr. Necmettin YILMAZ'a Biyoloji Anabilim Dalı Bölüm Başkanı Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL'a, projemizin çalışmaları sırasında yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı Doç Dr. Ercan ÇAÇAN'a, İstanbul Bahçeşehir Üniversitesi'nden Timuçin AVŞAR'a ve doktora öğrencisi Müge Didem ORHAN'a, bana İstanbul'da bulunduğum tezime başladığım zaman zarfı sürecinde benden desteklerini esirgemeyen diğer tüm laboratuvar üyelerine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Projeye maddi destek sağlayan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na ve laboratuvar/ ekipmanlarını kullanabilmem için izin veren Bahçeşehir Üniversitesi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Benden hiçbir zaman maddi manevi desteğini esirgemeyen, bana hep güven veren canım babam Ahmet YUMAK'a, hayattaki mutluluk kaynağım olan anneme ve aileme minnettarım. Bu zaman zarfında tüm zorluklarda beni hiç yalnız bırakmayan başta kuzenim Burcu BOLAT'a ve arkadaşım Dr. Pınar SİYAH'a, sabır, anlayış, sevgi vb. her türlü maddi manevi desteğini esirgemeyen diğer herkese teşekkürlerimi borç bilirim.

ÖZET

BAZI SERBEST ve BAZI DOYMAMIŞ YAĞ ASİTLERİNİN HELA (İNSAN SERVİKAL TÜMÖR HÜCRESİ), C6 (SIÇAN BEYİN TÜMÖRÜ) ve HT-29 (KOLON TÜMÖR) HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖR AKTİVİTESİ ve SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yumak, Yeşim

Yüksek Lisans, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Necmettin Yılmaz

Mayıs 2022, 12+49 sayfa

Kanser dünyada görülme sıklığı ve ölüm nedenleri arasında ilk sırada olup %22'lik bir bölümü kapsamaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma verilerinde tahminlere göre 2030 yılında 26 milyonu aşkın kişide görülme olasılığının olduğu ileri sürülmektedir. Kemoterapötik tedavi yaklaşımlarının önüne geçen ilaç direnç mekanizması önemli ve büyük bir sorun olması sebebiyle, başarılı tedaviye engel oluşturmaktadır. Diyet ürünü, kolesterol, kalp ve damar hastalıkları gibi rahatsızlıklarda kullanılmakta olan ve süt içeriğinde zengin oranlarda bulunan yağ asitlerinin kanser tedavi çalışmalarında olumlu sonuçlar meydana getirebileceğini düşündürmüştür. Bu tez çalışmasında, anti-oksidan, anti-mikrobiyal, anti-tümör gibi birçok özelliği bilinen kaprik, kaproik, kaprilik ve palmitoleik yağ asitlerinin C6, HT-29 ve HeLa hücre hatları üzerinde ayrı ayrı ve ikili kombinasyonları şeklinde uygulanarak kanser hücre canlılığına olan etkisi araştırıldı. Hücre canlılığı, proliferasyon veya ilaç sitotoksitesini ölçmek için yaygın olarak kullanılmakta olan MTT deneyleri ile gerçekleştirildi. Elde edilen IC50 değerleri ve hücre canlılığına bağlı kombinasyonlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında her hücre hattında oluşturulan farklı konsantrasyonlardaki ikili kombinasyonların kabul edilebilir aktivite gösterdiği analiz edildi. Kombinasyon ve tekli konsantrasyon verileri değerlendirildiğinde, üç hücre hattı içerisinde en iyi inhibisyon verileri sırasıyla HeLa, HT-29 ve C6 hücre hatlarında analiz edilmiştir. HeLa hücre hattında uygulanmış olan kombinasyonlarda %75-80; HT-29 hücre hattında %35-50; ve C6 hücre hattında %20-50 oranında inhibisyonların gerçekleştiği ve bu verilere uygun olarak ele alınan yağ asitlerinin kombinasyonlarının anti-tümör aktiviteye sahip olduğu rapor edildi. Özet olarak, elde edilen canlılık parametrelerinin hücre hattına, uygun doz ve zaman aralıklarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği sonucuna varmak mümkündür.

2022, 64 SAYFA

Anahtar Kelimeler: Kaprik, Kaprilik, Kaproik, Palmitoleik Yağ Asitleri, Anti-tümör

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTITUMORS ACTIVITY and CYTOXIC EFFECTS OF SOME FREE and SOME UNSATURATED FATTY ACIDS ON HELA (HUMAN CERVICAL TUMOR CELL), C6 (RAT BRAIN TUMOR) and HT-29 (COLON TUMOR) CELLS

Yumak, Yeşim

Master's Thesis, Biology Major

Advisor: Prof. Dr. Necmettin Yılmaz

Mayıs 2022, 12+ 49 pages

Cancer is in the first place among the incidence and causes of death in the world and covers a portion of 22%. According to the estimations in the International Cancer Research data, it is claimed that there is a possibility of being seen in more than 26 million people in 2030. The drug resistance mechanism, which prevents chemotherapeutic treatment approaches, is an important and major problem, thus creating an obstacle to successful treatment. It has been suggested that fatty acids, which are used in diseases such as diet product, cholesterol, cardiovascular diseases, and rich in milk content, may produce positive results in cancer treatment as well. In this thesis study, the effect of capric, caproic, caprylic and palmitoleic fatty acids, which are known to have many properties such as anti-oxidant, anti-microbial, anti-tumor, on cancer cell viability was investigated by applying them separately or in binary combinations on C6, HT-29 and HeLa cell lines. MTT assays, which are widely used to measure cell viability, proliferation or drug cytotoxicity were performed. When the obtained IC50 values and the combinations depending on cell viability were compared statistically, it was analyzed that the binary combinations at different concentrations formed in each cell line showed acceptable activity. When combination and single concentration data were evaluated, the best inhibition data out of the three cell lines were analyzed in HeLa, HT-29 and C6 cell lines, respectively. 75-80% in combinations applied in HeLa cell line; 35-50% in the HT-29 cell line; and 20-50% inhibitions in C6 cell line and the combinations of fatty acids considered in accordance with these data have been reported to have anti-tumor activity. In summary, it is possible to conclude that the viability parameters obtained vary depending on the cell line, appropriate dose and time intervals.

2022, 64 PAGES

Keywords: Capric, Caprylic, Caproic, Palmitoleic Fatty Acids, Antitumor

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME	I
JÜRİ KABUL VE ONAY	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
ÖNSÖZ	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
KISALTMALAR SİMGELER	X
1.GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR	4
2.1. Kanser	4
2.1.1. HT-29 (Kolorektal Kanser) hücre hattı	5
2.1.3. C6 (Sıçan Glioma Kanseri- Glioblastoma Multiforme) hücre hattı.....	6
2.1.4. Hücre döngüsü	7
2.2. Yağ Asitleri, Yapısı ve Fonksiyonları	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	21
3.1. Kanser Hücre Hatları ve Hücre Kültürü	21
3.1.1. Bütün hücre kültürü büyütme, pasajlama, ekim, ilaçların ayrı ayrı ve kombinasyonlarının uygulanması	21
3.2. Yağ Asitlerinin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	22
3.3. HeLa, HT-29 ve C6 Hücre Hatlarının Kaprik, Kaproik, Kaprilik ve Palmitoleik Yağ Asitleri ile Muamelesi için Uygun Konsantrasyonların, IC50 Değerlerinin Belirlenmesi... 23	
3.3.1. MTT testi ile IC50 (inhibisyon konsantrasyon değeri) aralığının belirlenmesi.....	24
3.3.2. Hücre hatlarına göre belirlenen IC50 değerlerine göre oluşturulan ikili kombinasyon uygulamaları	25
3.4. Hücre Canlılık Analizleri - MTT (Metiltiazoldifenil-tetrazolium bromid)	25
3.5. İstatistiksel Analiz	26

4. BULGULAR	27
4.1. Her Hücre Hattı için IC50 Aralığının Belirlenmesi.....	27
4.2. Hücre Hatlarında Oluşturulan İkili Kombinasyon Uygulamalarının MTT Analizi Öncesi Mikroskop Görüntüsü (20X'lik objektif, 200µm).....	31
4.3. Yağ Asitlerinin İkili Kombinasyonlarının 48 ve 72 Saatlik İnkübasyon Sonrası MTT Analiz Sonuçları	34
5. TARTIŞMA - SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR.....	42
7. ÖZGEÇMİŞ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 2.1. 2004-2030 yıllarında görülen ve öngörülen ölüm nedenleri grafiği.....	5
Şekil 2.2. 2018 Globocan verilerine göre erkek ve kadınlarda görülen kanser türlerine bağlı istatistiksel ölüm yüzdeleri.....	7
Şekil 2.3. Hücre siklusu kontrol evreleri ve görev alan bazı spesifik genler.....	8
Şekil 2.4. Apoptoz mekanizmasında hücrede meydana gelen morfolojik değişimler	9
Şekil 2.5. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin (OZYA-kaproik,kaprilik, kaprik) ve tekli doymamış yağ asiti (palmitoleik asit) 3 boyutlu (3D) yapısı.....	10
Şekil 2.6. Yağların/ yağ asitlerinin sindirim, emilim ve taşınmasının şematik gösterimi.....	12
Şekil 2.7. Yağ asitlerinin hepatik metabolizması.....	13
Şekil 2.8. Orta zincirli yağ asitlerinin emilim mekanizmasının şematik gösterimi.....	17
Şekil 2.9. MCFA (Orta Zincirli Yağ Asitleri)'ların Beta-oksidasyonu.....	18
Şekil 2.10. Dekanoik asitin insan trofoblast hücreleri üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada şematik gösterimi.....	20
Şekil 3.1. Hücre açma, pasajlama uygulamalarının şematik gösterimi.....	21
Şekil 3.2. MTT analizleri için hücre ekim ve uygulamalarının şematik gösterimi.....	24
Şekil 3.3. Kullanılan bütün hücre hatları için IC50 değer aralığı ve %'lik canlılık oran hesaplamaları.....	26
Şekil 4.1. C6 glioma kanser hücre hattının yağ asitleri muamelesi ile elde edilen MTT deneyi sonucunda IC50 doz-yanıt eğri grafikleri.....	28
Şekil 4.2. . HeLa servikal kanser hücre hattının yağ asitleri muamelesi ile elde edilen IC50 doz-yanıt eğri grafikleri.....	29
Şekil 4.3. . HT-29 kolon kanser hücre hattının yağ asitleri muamelesi ile elde edilen IC50 doz-yanıt eğri grafikleri.....	30
Şekil 4.4. HeLa Hücre hattının 48 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar.....	31
Şekil 4.5. HeLa Hücre hattının 72 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar.....	31

Şekil 4.6. C6 hücre hattının 48 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar.....	3
2	
Şekil 4.7. C6 hücre hattının 72 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar.....	32
Şekil 4.8. HT-29 hücre hattının 48 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar	33
Şekil 4.9 HT-29 hücre hattının 72 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar.....	33
Şekil 4.10. HeLa kadın serviks kanseri hücre hattının muamele sonrası proliferasyonuna bağlı MTT sonuçları ile oluşturulan canlılık bar grafikleri.....	34
Şekil 4.11. HT-29 kolon kanseri hücre hattının muamele sonrası proliferasyonuna bağlı MTT sonuçları ile oluşturulan canlılık bar grafikleri.....	35
Şekil 4.12. C6 fare Glioma kanser hücre hattının muamele sonrası proliferasyonuna bağlı MTT sonuçları ile oluşturulan canlılık bar grafikleri.....	36

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 3.1. Ticari olarak alınmış olan yağ asitlerinin uygun solüsyon içerisinde çözündürülerek stoğunun hazırlanması ve saklanma koşulları.....	23
Tablo 3.2. IC50 değeri aralığını belirlemek için uygulanan konsantrasyonlar.....	24
Tablo 3.3. IC50 değeri aralıklarına göre hücre hatlarına uygulanan ikili kombinasyonlar.....	25
Tablo 4.1. Hücre canlılığının %50 inhibe edildiği MTT sonrası elde edilen verilerin IC50 değeri aralığı çizelgesi.....	27



KISALTMALAR VE SİMGELER

Kısaltmalar

%: Yüzde

μL: Mikrolitre

μM: Mikromolar

AA : Araşidonik Asit

ABD : Amerika Birleşik Devleti

AD: Alzheimer Hastalığı

C⁰: Santigrat Derece

C: Karbon

C6 : Sıçan Glioma Kanseri Hücre Hattı

CDK: Siklin Bağımlı Kinazlar

CO₂: Karbondioksit

Dk: Dakika

DMSO: Dimetil Sülfoksit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

FBS: Fetal Bovine Serum

HeLa: Servikal Kanseri Hücre Hattı

HT-29: Kolon Kanseri Hücre Hattı

LA: Linoleik Asit

LCFA: Uzun zincirli yağ asitleri

LCT: Uzun Zincirli Trigliseritler

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

LXR : Karaciğer X reseptörleri, α/ β tipi

M: Molarite

MCT-OZT: Orta Zincirli Trigliseritler

mM: Millimolar

mTOR: Rapamisinin Mekanik Hedefi

MTT: Metiltiazoldifenil-Tetrazolyum Bromid

MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asiti

OZYA - MCFA: Doymuş Orta Zincirli Yağ Asitleri

P53: Tümör Baskılayıcı Gen

PAO: Palmitoleik Asit

PBS: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi

PPAR: Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Olan Reseptör

PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asiti

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

Rpm: Revolutions per minute (Dakikadaki Devir Sayısı)

SCFA: Kısa zincirli Yağ Asitleri

SCT: Kısa Zincirli Trigliseritler

SREBP: Sterol Düzenleyici Element Bağlayıcı Protein

WCRF: World Cancer Research Fund International

1.GİRİŞ

Kanser, başlıca ölüm nedenleri arasında yer alan, uzun yıllardır tarih boyunca ve günümüzde var olan, genetik ve çevresel etkenlere bağlı gelişen kompleks ve kişisel bir hastalık türüdür. Bilinmekte olan yaklaşık olarak 100'ü aşkın kanser türü bulunmakta ve bunlar arasında bazı kanser türlerine karşı aynı tedavi yaklaşımları gerçekleştirilmektedir. Fakat her insanın DNA'sının farklı olmasına bağlı tedaviden aynı cevabın alınmasını beklemek mümkün değildir (Baykara, 2016). Kanser gelişmesi ve yayılabilmesi için kanser hücrelerinin hücre bölünmesinde kontrol evrelerinde bulunan genlerden kaçarak kontrolsüz ve devamlı bölünmesi, dolaşım yoluyla sağlıklı normal hücrelere transfer olması gibi özellikleri kazanmış olması gerekmektedir. Dünyada yaklaşık olarak her yıl 9 milyon insana kanser teşhisi konmakta ve bu hastaların yaklaşık %50'lik dilimini oluşturanlar hayatını kaybetmektedir.

Dünyada ve ülkemizde kardiyovasküler hastalıklardan sonra %22'lik bir orana sahip en önemli sağlık sorunlarının ve ölüm nedenlerinin başında yer almakta olan kanser, bütün dünyada her yıl yaklaşık 10 milyon kişiye tanısının konulduğu aynı zamanda 6 milyona yakın kişinin de kanserden hayatını kaybettiği DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından 2001 yılı kayıtlarında rapor edilmiştir (Pınar, 2003). Uluslararası kanser araştırma merkezinin kayıtlarına göre 2008 yılında 12 milyon kişide kanser tanısı teşhis edilirken, dünya genelinde bu oranın 2030 yılında tahminler doğrultusunda 26 milyonu aşkın olacağı düşünülmektedir (Demirdöğen, 2013). 2009 yılındaki verilere bakıldığında kadınlarda kanser hızı yüzbinde 173,3 iken erkeklerdeki hızı yüzbinde 269,7 kadın-erkek kanser insidansına bakıldığında ise yüzbinde 221,5 olarak bildirilmiştir. Diğer ülkeler ile Türkiye kanser insidansı kadın ve erkeklerin tamamı baz alınarak kıyaslandığında düşük bir hızla artış gösterdiği bildirilmiştir (Gültekin ve ark., 2008). Kanser önemli sağlık sorunu teşkil etmesi dışında, sıklıkla görülmesi ve ölüm nedenleriyle üst sıralarda yer almasına bağlı olarak sosyal ve ekonomik çerçevede de toplum sorunu olmuştur.

Yaşamın devamlılığı için insan vücut hücrelerinin sürekli olarak yenilenmesi gerekmekte olup buna bağlı olarak normal hücre sayısının hep aynı tutulabilmesi için vücuttan atılan hücrelerin yerine yenilerinin gelmesi ile hızlı ve kontrollü bir şekilde bu süreç böyle devam etmektedir. Genlerin kontrolünü sağladığı bu denge hücrelerin aşırı bölünmesini engelleyerek yada hücrelerin bölünüp çoğalması ile gerçekleşmektedir (Aliustaoğlu, 2009). Kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmalarının yanı sıra metastaz ve invazyon gibi hayati önemi tetikleyecek malign özellikleri de bulunmaktadır. Bu etkenler mutajenik olup önemli bir kısmı hücrenin mutasyonlara karşı hassas olduğu hücre siklusu sırasında gerçekleşmektedir (Ringer ve Schnipper, 2001).

Kanser hücrelerine uygulanan tedavinin başarısız olmasında rol oynayan metastaz ve invazyon olmak üzere iki etkin faktör bulunmaktadır. Dolayısıyla kanser tedavisinde invazyon ve metastaz kontrolü önem arz etmektedir. Malignite ile beraber kanser hücrelerinin çoğalması normal kontrol mekanizmaları ile kontrol edilemezler. Kanser hücrelerinin sürekli gelişim halinde bulunması ve kanserojen etki ortadan kalktıktan sonra bile büyümelerine devam etmeleri sonucunda normal dokulardan farklı anormal bir doku kitlesinin meydana gelmesine neden olmaktadır. Kanser hücreleri toksik ve proteolitik enzimler salgılayarak sağlıklı doku hücrelerini fagosit ederek kendilerine alan açarlar ve böylece kapladıkları alanı genişletirler. Buna ek olarak kanserli dokular, normal dokuların besinlerine ortak olup sayısı da giderek arttığı için sağlıklı doku hücrelerini artan bir açlık ve besin yetersizliğine sokmaktadır (Aliustaoğlu, 2009).

Apoptozis, hücrenin kendi otonom mekanizmasıyla yakında bulunan komşu diğer hücrelere hasar vermeden yaşlanmış, bakterilerle enfekte, virüslerle kontamine olmuş zararlı hücrelerin enerji (ATP) varlığında kontrollü bir şekilde ortadan kaldırılmasıdır (Gültekin ve ark., 2008). Böylece organizmanın total hücre sayısı dengelenmektedir. Çok hücreli organizmalarda programlanmış hücre ölüm mekanizması apoptoz dokuların homeostazının geliştirilerek sürdürülebilmesi için gerçekleştirilmesi gereken "hücre intihar" (örn; genetik hasara uğramış, aşırı üretilmiş vs. hücreler) süreçlerini kapsamaktadır (Philippoussis ve ark., 2001).

Hücre proliferasyonu ve apoptozunu kontrol eden genler Kinazlar, Vogelstein tarafından bekçi genler (gatekeeper genes) olarak adlandırılmıştır. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar kansere neden olmaktadır. Bekçi genler, proto-onkogenler ve anti-onkogenler (tümör süpresör genler) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Proto-onkogenler, hücre üremesini ve apoptozu kontrol eden genlerdir. Proto-onkogenlerdeki mutasyonlar sonucu bu genlerin aktivitesinin değişmesiyle bu genler onkogenlere dönüşmektedir. Onkogenler hücre proliferasyonunu hızlandırarak ya da hücrenin apoptozdan kaçmasını sağlayarak kansere neden olmaktadır. Anti-onkogenler (tümör süpresör genler) ise hücre proliferasyonunu inhibe ederek veya geciktirerek aktivite göstermektedir. Bu genlerin mutasyona uğraması yada inaktif bir form kazanmaları kansere neden olmaktadır (Aslan, 2010).

Diğer önemli sağlık sorunlarının tedavisinde de kullanılan ve birden fazla özelliğe sahip doğal terapötikler aynı zamanda çoğu kanser türü tedavisinde denenmektedir. Bu bağlamda oldukça zengin sütün yağ asidi içeriği oranlarına bakıldığında inek sütüne nazaran keçi sütünde daha çok kısa ve orta zincirli yağ asitleri bulunmaktadır. Çoğu hastalığı tetiklemekte olan aşırı kiloya karşı hazırlanan diyet besin tüketim listesinin başında yağ asiti içeriğince zengin olan sütün bulunması kanser çalışmalarında da olumlu sonuçlar meydana getirebileceğini düşündürmüştür. Lipaz enzimi uzun zincirli yağ asitlerinin ester gruplarına göre kısa ve uzun zincirli yağ asitleriyle daha hızlı etkileşime girebilmekte olup keçi sütü yağının sindirimi daha kolay gerçekleşmektedir. Başta kanser tedavisinde olmak üzere kanda lipoproteinlerin aşırı artması ya da yağlı

dışkı, akciğerlerimizde yoğun mukoz oluşumuna bağlı gelişen kistik fibroz, çocukluk epilepsisi, safra kesesi taşı oluşumu, prematüre bebeklerin beslenmesi gibi hastalıkların tedavisinde keçi sütü içeriğinin yaklaşık %15'lik kısmında bulunan orta zincirli kaproik, kaprilik, laurik ve kaprik yağ asitleri kullanılmaktadır (St-Onge ve Jones, 2002; Marten ve ark., 2006). Aynı zamanda birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar ile bu yağ asitlerinin kolesterol depolanmasını dengeleyerek, engelleyerek veya sınırlandırarak serum kolesterol seviyesini azalttığı rapor edilmiştir. Keçi sütü içeriğindeki kaprik ve kaprilik yağ asitleri antimikrobiyal aktiviteye sahip olup son yıllarda *Candida albicans* vs. mayaların gelişimini engellemek için diyet katkı maddesi olarak ele alınmıştır (Yılmaz ve ark., 2006).

Günümüzde kemoterapötik tedavi yaklaşımlarının önüne geçen ilaç direnç mekanizması önemli ve büyük bir sorun olmakla beraber başarılı tedaviye engel oluşturmaktadır (Gasser ve ark., 2005; Cacın ve ark., 2014; Kucuk ve ark., 2021, Berkel ve Cacın, 2021). Bu nedenlerden dolayı kanserleri önlemek ve tedavi etmek için etkili, güvenli, hedefe yönelik ve minimal yan etkiye sahip biyomoleküllere ihtiyaç duyulmaktadır. Potansiyel antikanser aktivite gösteren doğal kaynaklardan bazıları bitkileri, mikroorganizmaları ve deniz organizmalarını içerir. Antikanser tedavi stratejilerinde gözlemlenen en önemli problemlerden biri olan ilaç direnç mekanizmaları sebebiyle DNA onarımı, ilaçların inaktif hale gelmesi, hücre ölüm mekanizmasında rol alan gen veya genlerin dolayısıyla hücre ölümünün inhibisyonu gibi birçok sonuçla karşılaşmaktadır (Housman ve ark., 2014).

Düşük miktarda Omega-7 bile zararlı yağ asitlerinin üretimini durdururken insülin düzeylerini ayarlayabilmektedir. Tip 2 diyabet riskini azaltabilmekte, damar sertliğini engelleyebilmekte ve C- reaktif protein olarak adlandırılan, kalp krizi ve inme ile ilişkili olan iltihaplanma belirteçlerini kontrol altına alabilmektedir. Omega-7 içeriğince zengin yabani iğdenin bağışıklık sistemine katkılarıyla kanser hücreleri üzerinde de etkili olduğu düşünülmektedir. İçeriğindeki antioksidanlar sayesinde serbest radikalleri etkisiz hale getirerek kansere karşı koruma sağlamaktadır.

Yağ dokularından salgılanan ve periferik dokularda azalan insülin direnci ile bağlantılı tekli doymamış yağ asidi (MUFA) olan palmitoleik asit, vücudumuzda üretilmekte olup yaş ilerledikçe üretimi azalmakta olan bir yağ asididir. Makademya fıncığı yanında omega 7 kaynağı olan tek meyve yabani iğdedir. Yabani iğde aynı zamanda, flavonoidler, likopen, karotenoidler dediğimiz yoğun antioksidanlar ve A, B1, B12, C, E, K gibi vitaminler yönünden oldukça zengin bir meyve olduğundan kalp damar sağlığı ve bağışıklık sistemimiz için birçok faydası bulunmaktadır (Fetterman ve Zdanowicz, 2009; Passos ve ark., 2016).

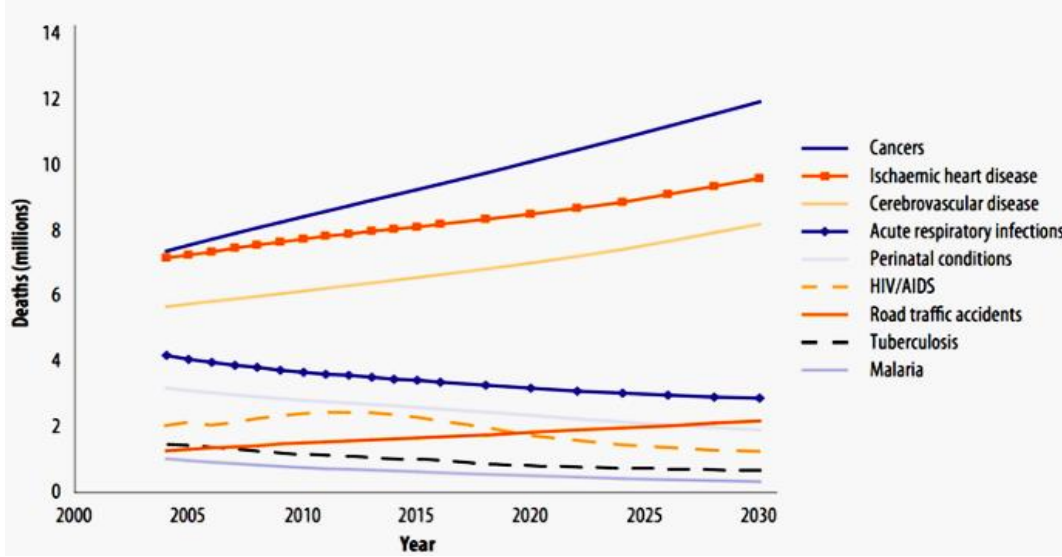
2. LİTERATÜR

2.1. Kanser

Kalp damar hastalıklarından sonraki ikinci en fazla ve sıklıkla görülen ölüm nedenleri arasında yer alan kanser, türüne ve gelişiminin hangi evresinde olduğuna bağlı cerrahi yöntemle uzaklaştırma, kemoterapi, radyoterapi vb. tedavi yaklaşımlarının tek başlarına yada birbirlerini destekleyici şekilde uygulamaları ile gerçekleştirilir. Görülme sıklığına bağlı olarak bu zamana ve 2030 kadar ilk sıralarda yer alacağına dair grafik Şekil 2.1.'de verilmiştir. Metastatik kanser türlerinde kemoterapi, radyoterapi ve son yıllarda immünoterapi tedavileri uygulanmaktadır (Narayanan ve ark., 2015; Berkel ve Cacın, 2021). Bazı hastalar bu tedavi sürecine ek olarak bitkisel tedavi, meditasyon, akupunktur, alternatif tıp teknikleri kullanmaktadır. Kanser hücreleri, genetik, mikro-çevre ve metabolik etkiler ile meydana gelen değişikliklere bağlı olarak yüksek oranlarda reaktif oksijen türlerini salgılamaktadır. Yüksek seviyelerde ROS salgılanması kanser hücrelerinin aşırı proliferasyonuna, canlılığın diğer organlarına olan metastaza ve istilasına sebep olmaktadır (Kou ve ark. 2020).

Tümör oluşumuna bağlı tümör kitleleri vücudun otoimmün sistemi tarafından yabancı olarak algılanmakta ve tanınarak parçalanmaktadır. Bu sebeple birçok kanser hücresi immün sistem tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Otoimmün sistemin baskılanması durumunda kanser oluşumu ve metastazı artış göstermektedir (Aliustaoğlu, 2009). Kanser hücre hatlarının birçoğunda apoptoz yeteri kadar gerçekleşmemektedir (Cacın ve ark., 2015). Apoptozis, hücrenin embriyonal gelişiminde, organizmanın total hücre sayısının ve hücre kontaminasyonun kontrolünde, tümör oluşumunu inhibe etmek de rol alan kontrollü hücre ölüm mekanizmasıdır (Gültekin, 2008).

Kanser türleri arasında sıklıkla rastlanılan ve en ölümcül olan akciğer, prostat, over, kolon ve meme kanser hücreleri üzerine kimyasal ajan veya ilaç direnç mekanizmalarına bağlı olarak özellikle antikanser aktiviteye sahip birçok bileşik varlığını tespit etmek için büyük bir yoğunlukta araştırmalar gerçekleştirilmektedir (Al-Janabi ve ark., 2020; Saygi ve Cacın, 2021; Hadjira ve ark., 2021; Aissous ve ark., 2021). Kanser hastalarında teşhisin ileri fazda konulmasına bağlı olarak hastaların yaşamı için kısa sürede tedaviye yönelik iyi sonuçların elde edilmesi büyük önem arz etmektedir. Kanser tedavilerinde başta gelmekte olan kemoterapi ve diğer tedavi yöntemlerinin etkinliğinin artırılması şart olan bir konudur. Kanser hastalarından alınan olumlu sonuçlar kısa süreli olup yeniden gelişim gösterebilmektedir. Kanser türlerinin çoğunda tedavide, cerrahi operasyon sonrası malignite tekrarını azaltmak amacıyla birçok kemoterapötik ajan kullanılmasına rağmen kanser hastalarının başarılı bir şekilde tedavi edilmesinde kemoterapiye karşı var olan veya çoğunlukla sonradan kazanılan direnç hala en büyük problem olarak karşılaşılmaktadır.



Şekil 2.1. 2004-2030 yıllarında görülen ve öngörülen ölüm nedenleri grafiği (Özgül, 2019)

2.1.1. HT-29 (Kolorektal Kanser) hücre hattı

Kolorektal kanser, bütün kanser türlerinin yaklaşık olarak %10-20'lik kısmını kapsayan, hem erkek hem kadınlarda teşhis edilen ve gastrointestinal traktusta en yaygın görülen kanser çeşididir. Uluslararası kanser araştırma fonu (World Cancer Research Fund International- WCRF) 2018 yılı verilerine bakıldığında görülme sıklığı en fazla olan kanser türleri arasında ilk üçüncü sırada yer alan kolon kanseridir. Ek olarak GLOBOCAN 2018 verilerinde en fazla teşhis edilen kanser türleri arasında yer aldığı rapor edilmiş olup Şekil 2.2.'de de dilim grafik şeklinde gösterilmiştir (Sharma, 2020). Amerika Birleşik Devleti (ABD)'nde yıllık yaklaşık olarak 145.000 vaka sayısı tespit edilirken, 55.000 aşkın kişi kolorektal kanser sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Buna bağlı olarak ABD' de ölüm nedeni veri sıralamasında ilk ikinci sırada bulunmaktadır (Başpınar, 2015). Türkiye'de 2007-2008 yılları arasında toplam 12 il içerisinde yapılmış olan kanser kayıt datalarına bakıldığında tüm kanser çeşitleri arasında tanısı konulan hasta oranı yüzdelik diliminde kadınlarda %7,8 ve erkeklerde %7,5 olmak üzere kaydedilmiştir. 2015 verilerine göre ise çok sık rastlanan kanser türü olarak analiz edilmiştir. (Anonim, 2020). Tüm dünya çapında yıllık yaklaşık bir milyonu aşkın tanı konmakta ve bunların 500.000 kadarı hayatını yitirmektedir (Winawer ve Sherlock, 2007). Kanser tanısı yaklaşık %40 hastada erken evrede tespit edilmektedir. Ülke veya bölgelere göre indisansının değişimi genetik eğilim, diyet veya çevresel faktörler gibi nedenlerle ilişkilendirilmektedir. Kolorektal kanser riski özellikle 40 yaş ve üstü insanlar için oldukça yüksek risk teşkil etmektedir. Fakat her yaşta insanda görülebilmesi mümkündür. HT-29 hücre hattı metastazı temel anatomik kontrakt bölgelerle arasında lenf düğümleri, sindirim sistemini, üreme ve karaciğer organlarının yüzeylerini kaplayan epitel hücrelerden oluşan peritoneal yüzeyler ile gerçekleştirmektedir (Gheytanchi ve ark., 2021; Pour Gholami ve ark., 2005). Kolon kanserinin kaynağının hayvansal yağ alımının yüksek olması ilişkilendirilmektedir. Fakat buna hipoteze dair veri bulunmamaktadır (Yu ve Li, 2006).

Kolon kanseri, onkogen mutasyonu, tümör süpresör genlerinin mutasyona bağlı inaktive form kazanması, vb. nedenlerle meydana gelmektedir. Kanser oluşum sürecinde 4/5 genin mutasyon geçirmesi malignite için yeterlidir. Protoonkogenlerde, DNA onarımında rol alan gen ve gen gruplarındaki değişimler ve tümör süpresör gen aktivitesindeki inhibisyonlar kolon kanseri oluşum nedenleri olarak söylenebilir (Başpınar, 2015).

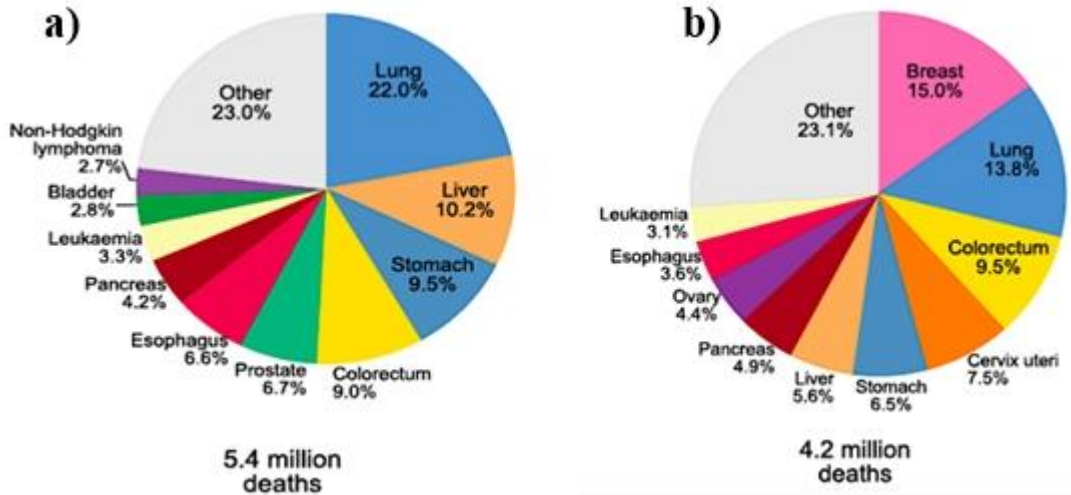
Kolon knaseri tümör tedavilerinde sıklıkla lokal yayılımın küçük olduğu vakalarda cerrahi yöntem uygulanırken bunun dışında ileri malignitelerde kemoterapi (cerrahi teknik öncesi uygulanan neoadjuvan , adjuvan, vb.) girişiminde bulunmaktadır (Gettigan ve Henry, 2013).

2.1.2. HeLa hücre hattı

Kadınlarda (Serviks) over kanseri ile birlikte kolon, akciğer ve meme kanser türlerinden sonra çok rastlanılan ve kansere bağlı ölümler arasında dördüncü sırada yer almakta olan bir kanser çeşididir (Ali ve ark., 2013). 2018 yılının verilerine bakıldığında çoğu genç kesim olmakla beraber 570. 000 yeni kanser tanısı konmuş ve kansere bağlı 311. 000 ölümün olduğu analiz edilmiştir. Servikal kanser oluşum nedenleri arasında başlıca bağışıklık baskılanması, sigara tüketimi, birçok kez hamile kalma vs. faktörlerin olduğu bildirilmiştir (Ghodratı, 2019).

2.1.3. C6 (Sıçan Glioma Kanseri- Glioblastoma Multiforme) hücre hattı

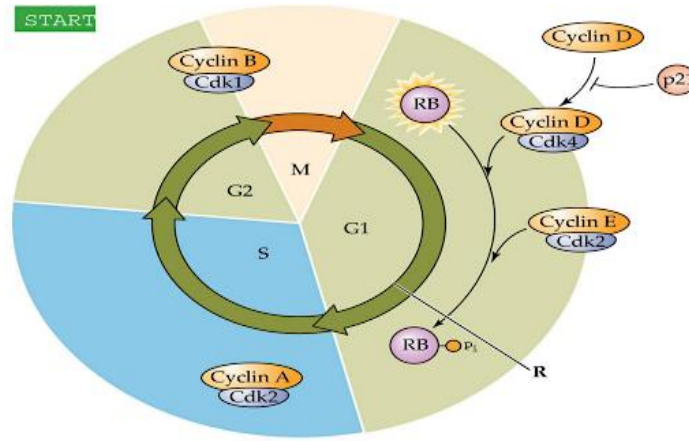
Glioblastoma Multiforme (GBM) olarak bilinen C6, kanser hücresi formuna dönüşen neoplastik hücrelerinin insan merkezi sinir mekanizmasına olan infiltrasyonu nörolojik fonksiyonların kaybına ve ölüme sebebiyet veren tümör hücre hattıdır (Kirtikar ve Basu, 1975). Sıçan glioma kanseri hücrelerinin insan beyin kanseri hücrelerine benzerliklerine bağlı olarak, malign tümör oluşum ve gelişiminin anlaşılmasında, klinik tanımlamalarda ve doğru tedavi yönteminin analizinde yol gösterici belirteç olarak in vitro çalışmalarda kullanılmaktadır. Primer beyin tümörlerinin yaklaşık %60'lık kısmını gliomalar oluşturmaktadır (Gazi ve Tapul, 2006).



Şekil 2.2. 2018 Globocan verilerine göre erkek ve kadınlarda görülen kanser türlerine bağlı istatistiksel ölüm yüzdeleri. a) Erkelerde görülen kanser türleri ve yüzdelik oranları, b) Kadınlarda görülmekte olan kanser türlerinin ölüm yüzdeleri. (Özgül N., 2019)

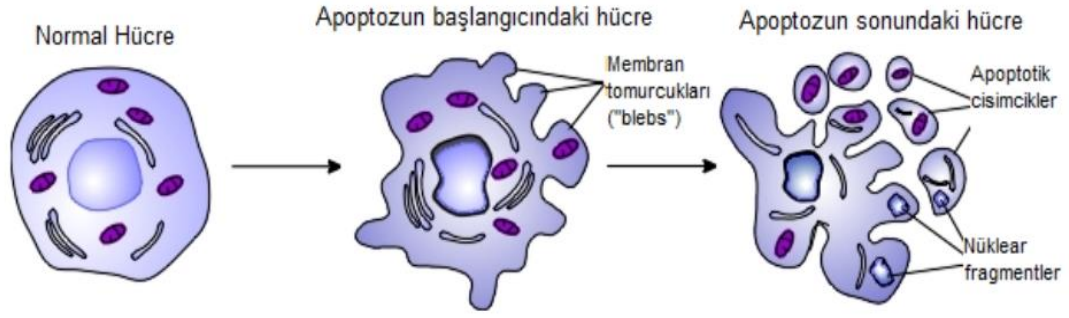
2.1.4. Hücre döngüsü

Temel olarak dört fazda, iki bölümde gerçekleşmektedir. Bu bölümlerden ilki hücre bölünmesi için gerekli olan hazırlıkların tamamının yapıldığı ‘‘İnterfaz’’, diğeri ise ‘‘Mitoz’’ bölümüdür. Bunlar G1/S/G2/M fazları olarak sırasıyla gerçekleşmektedir. İnterfaz bölümünün ilk evresini oluşturan ve DNA sentezlenmesinden sorumlu S evresi ile mitoz bitiş noktası arasında bulunan G1 fazı , DNA sentezlemesi için ihtiyaç duyulan proteinlerin sentezinin yapıldığı hazırlık evresidir. DNA sentezinin (replikasyon) gerçekleştiği, kromozom sentezlenmesinin tamamlanarak hücreye diploid formun kazandırıldığı S fazıdır. Başlangıçtaki evrelerin tamamlanması ile beraber mitoz evresinde gerekli mikrotübüllerin sentezi gibi hazırlıklar G2 fazında başlatılır. Son M (mitoz) evresinde ise nükleus ve sitoplazma bölünmesi, kardeş kromatitlerin sentezlenmiş mikrotübüllerin varlığıyla zıt kutuplara çekilmesi ile beraber döngü tamamlanır. İki yeni hücrenin meydana gelmesi ile sonuçlanır (Smith ve Martin, 1973; Yokuş ve Çakır, 2012).



Şekil 2.3. Hücre siklusu kontrol evreleri ve görev alan bazı spesifik genler. (Karagöz, 2004)

Normalde vücutta bölünmeyen hücreler (karaciğer, vb.) herhangi bir uyarı gelene kadar hücre döngüsünün bekleme evresi olarak adlandırılan G0 fazında beklemektedir. Hücre siklusunda bir sonraki faza geçmeden kontrollerin yapıldığı kontrol noktaları bulunmaktadır. Gerekliğinde kontrol noktalarından herhangi birinde meydana gelen modifikasyonlar hücre döngüsünün ilerleyişini durdurarak veya programlı hücre ölümünü (apoptozis) aktifleştirerek engeller. Aksi halde bu durum kanser hücrelerinin gelişimine neden olmaktadır (Aliustaoğlu, 2009; Ringer ve Schnipper, 2001). Herhangi bir bölünme uyarımı olmadan G1 fazına tekrar girebilen kanser hücrelerinin bu karakteristik özelliklerinin temeli gama radyasyonu, UV vb. etkenler sonucu gelişen gen mutasyonlarına bağlı kontrol noktalarından (restriksiyon noktası, G1-S, G2-M) kaçabilmelerine dayanır. Kanser hücrelerinde p53 (tümör baskılayıcı gen) geni eksikliğinde veya mutasyonunda kontrol noktasında durdulamadığından hatalı DNA duplikasyonu devam eder. Sağlıklı hücrelerde ise ekspresyon seviyesi normal olan p53 geni varlığında DNA hasarının onarımı için döngüyü G1 noktasında (restriksiyon noktası) durdurarak hücreye zaman tanır. Onarımın gerçekleşmemesi durumunda hücre apoptoza uğrar (Cabadak, 2008). Kanser türlerinin çoğunda apoptoz mekanizması yada mekanizmada görevli genler mutasyona uğramakta ve işlevini gerçekleştirememektedir. Hücre döngüsünde geçişlerin ve kontrol noktalarının asıl düzenleyicisi siklinler ve siklin bağımlı kinazlar (CDK) olmakla beraber aktif formlarını siklinlerle kompleks oluşturarak heterodimer yapıları ile kazanır. DNA replikasyonunda rol oynayan gen gruplarının aktifliği için ihtiyaç duyulan proteinlerin fosforilasyonundan siklin/CDK kompleksi sorumludur (Reed, 2008; İçli ve Akbulut, 2005). Hücre siklusunun düzenlenmesinde görevli kontrol noktaları ve ilgili genler Şekil 2.3.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Apoptozis mekanizmasında hücrede meydana gelen morfolojik değişimler (Oktay, 2011)

Apoptoz sinyalinin hücreye iletilmesine bağlı olarak hücrede hücre çekirdeği başta olmak üzere Şekil 2.4.'de görüldüğü gibi bazı biyokimyasal ve morfolojik değişimler meydana gelmektedir. Hücre iskeletinin dağılması ve çekirdek zarının erimesi meydana gelen diğer değişimlerdir. Apoptoz sırasında oluşan hücre büzülmesinin temeli Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+} taşıyıcı sistem elemanlarının inhibisyonuna bağlı olarak hücre içi ve dışı sıvı giriş çıkışının gerçekleşmemesine dayanmaktadır. Plazma membranında bulunan iyon kanal ve pompalarındaki bozulmalarda bu yapı bozukluğunun temelinde rol almaktadır (Dinçel ve Kul, 2016).

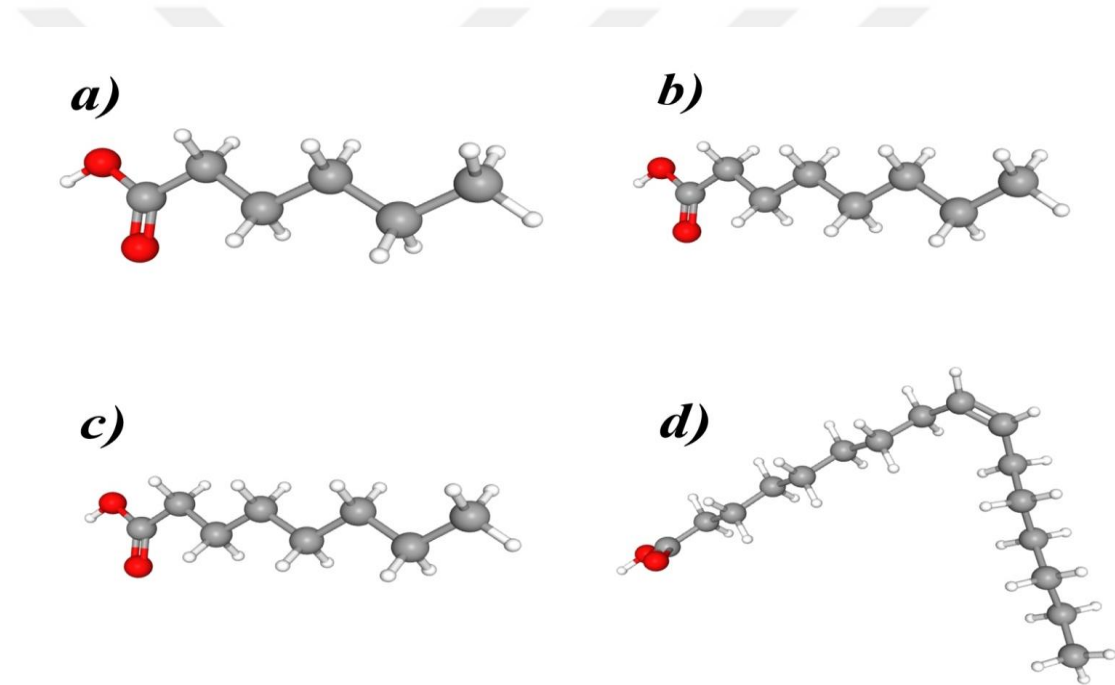
2.2. Yağ Asitleri, Yapısı ve Fonksiyonları

Lipitler; fosfolipitler, stereoller, açilgliseroller, sfingolipitler ve yağ asitlerini yapısında barındıran yada türevi olan önemli biyomoleküller sınıfını oluşturmaktadır. Organizmada enerji üretiminde ve depo edilmesinde, hücre membran işlevlerinde, gen aktivasyonu, sinyal modülasyonu gibi birçok biyolojik evrede aktif fonksiyonlara sahiptir (Fielding ve ark., 2003; Meer ve ark., 2008; Philip, 2013; Kendall ve ark., 2015 ; Roopashree ve ark., 2021). Yağ moleküllerinin temel yapı taşı olan yağ asitlerinin karbon sayısı 2-34 arasında değişim göstermektedir. 2-6 arasında karbon sayısına sahip olanlar kısa, 6-10 arasında olanlar orta, 10-34 karbon zincir uzunluğuna sahip olanlar ise uzun zincirli yağ asidi olarak bilinmektedir (Gümüş ve Yardımcı, 2018). Yağ asitlerinin fiziksel, kimyasal ve beslenme özellikleri; molekülde yer alan karbon atomu sayısı, doymuşluk derecesi, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısı ve karbon atomlarına bağlı hidrojenlerin pozisyonları ile belirlenmektedir (İto ve ark., 1982).

Tek veya çift sayılı karbon zincir yapısına sahip olan ve buna bağlı gruplandırılmaları gerçekleştirilen yağ asitleri, $(-CH_2-CH_2-)$ şeklinde hidrokarbon yapısına sahip olup çift bağ bulundurmayanlar doymuş yağ asidi (SFA), en az bir adet çift bağ bulunduran $(-CH=CH-)$ tekli doymamış yağ asidi (MUFA), birden fazla çift bağ içerenler ise çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) olarak isimlendirilmektedirler. Hayvan ve bitkisel yağların yağ asitleri profiline bakıldığında genel olarak 12/24 arasında karbon atomu sayısına sahip uzun zincirli doymuş/ doymamış yağ asitlerinin baskın olduğu analiz edilmiştir. Uzun, orta ve kısa zincirli yağ asitlerinin her biri, farklı uzunluklara sahip $(-CH_2-)$

hidrokarbon, karboksil (-COOH) ve zincir iskelete bağı bir metil (CH₃-) grubunun bağlanmasıyla meydana gelen organik monokarboksilik asitlerdir (Roopashree ve ark., 2021).

Doymuş orta zincirli yağ asitleri (OZYA - MCFA) grubunda yer alan alifatik kuyruğu 6 karbonlu kaproik asit (hexanoic-caproic -C6), 8 karbonlu kaprilik asit (octanoic - caprylic - C8), 10 karbonlu kaprik asit (decanoic -capric - C-10) ve 12 karbonlu laurik asit (dodecanoic -lauric - C12) gibi kimyasal isimlerle isimlendirilmektedir. Bu yağ asitlerinin gliserolle esterleşmesi sonucu ile Orta Zincirli Trigliseritler (OZT - MCT)'in sentezi gerçekleştirilmektedir (Demirci, 2018; Marten ve ark., 2006) OZT'lerin içeriğini % 1-2 C12-C6, % 25-35 C-10 ve % 65-75 C8 bileşimleri oluşturmaktadır. Yapısında trigliserit yapıyla bağı olmayan yağ asitleri serbest yağ asitleri olarak isimlendirilmektedir (Bach ve Babayan, 1982).



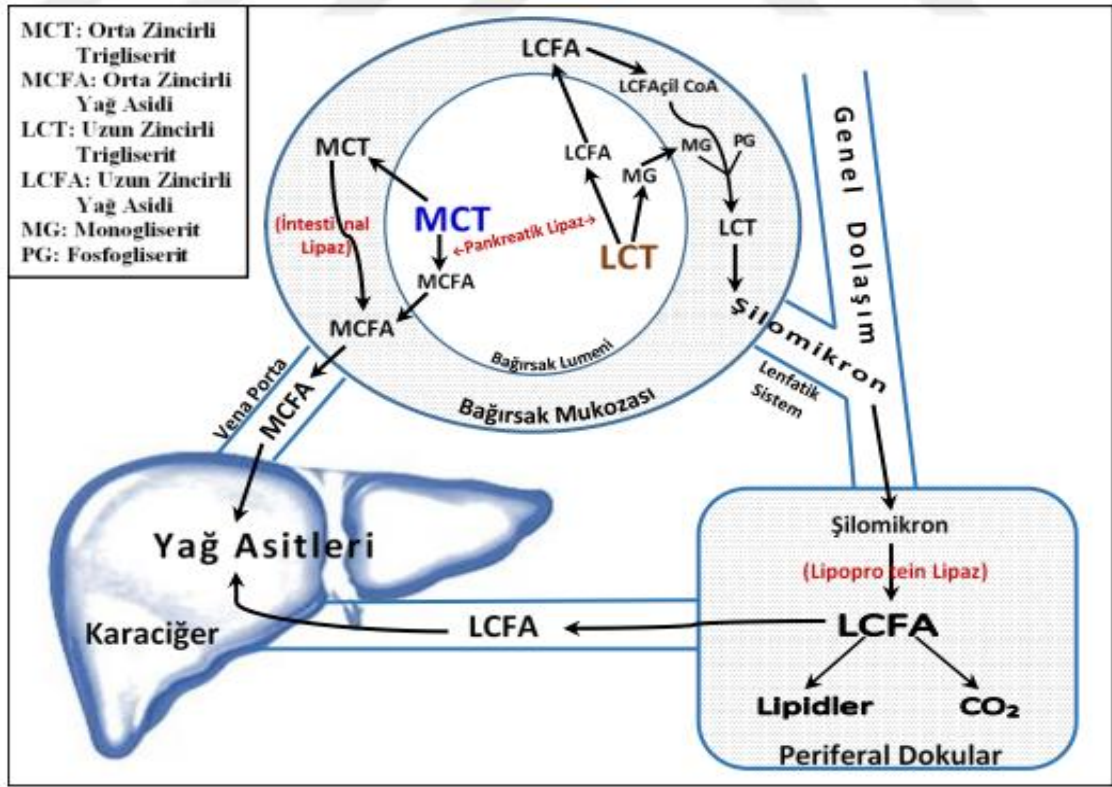
Şekil 2.5. Orta Zincirli Yağ Asitlerinin (OZYA-kaproik,kaprilik, kaprik) ve tekli doymamış yağ asiti (palmitoleik asit) 3 boyutlu (3D) yapısı. **a)** kaproik (C6- heksanoik) asit, **b)** kaprilik(C8-oktanoik) asit, **c)** kaprik(C10- dekanok) asit, **d)** palmitoleik asit (C 16:1) (kırmızı: oksijen, gri: karbon, beyaz: hidrojen) (**PubChem**)

Birçok ülkede toplam enerji alımının %30-35'lik bölümünü kapsamakta olan yağ asitleri, daha çok süt ürünleri, tahıl, et ürünleri, balık yağı ve bitkisel yağlar başta olmak üzere en önemli temel diyet ürünleri kategorisinde yer almaktadır. Bitki, hayvan ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan doymuş palmitik (16:0) yağ asiti, bazı mantar ve hayvanlarda ise elzem olarak bulunan stearik (18:0) yağ asitidir. 6-8-10 karbonlu orta zincirli doymuş yağ asitleri ise hindistan cevizi ve sütün triağılglicerollerin de bulunmaktadır (Arild C. Rustan ve ark. 2005).

Yağ asitlerinin bir kısmı hücre zarının yapısal bileşeni olarak fosfolipit formunda bulunmaktadır. Zar yapısındaki profilleri, zar kalınlığını, akışkanlığını ve zar yapısındaki proteinlerin aktivitesini etkilemektedir. Hücre membranının stabilitesi içerdiği bazı spesifik proteinler ve kolesterol gibi belirli moleküllerin varlığı ile artırılmakla beraber membran akışkanlığı bu moleküllerin içeriğinin artması ile ters orantılı olarak ilişkilendirilmektedir. Membran akışkanlığı üzerine etkisi olan bir diğer etken ise yağ asitlerinin (FA) doymamışlık derecesidir. Zar yapısına katılan doymamış yağ asitleri -*cis* konfigürasyonunda çift bağlara sahip olup her çift bağ hidrokarbon (-CH₂-) zincirinin 60 derece katlanmasıyla gerçekleşmektedir. Bu gerekçelere bağlı olarak membranda FA'leri daha fazla alan kaplamakta ve zar akışkanlığının artmasına yol açmaktadır (Kremmyda ve ark., 2011). Bir gliserol omurgasına bağlı üç yağ asiti içeren trigliserit molekülleri, yağ asit grubunun uzunluğuna bağlı olarak kısa zincirli trigliseritler (SCT), orta zincirli trigliseritler (MCT), uzun zincirli trigliseritler (LCT) olmak üzere isimlendirilmiş üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar arasında MCT'ler bir gliserole bağlı üç yağ asiti içermekte olup, sindirimi karmaşık diğer lipid moleküllerinden farklı olarak gastrointestinal mekanizmadan kan dolaşımına daha kolay geçiş sağlayarak Emilimi gerçekleşmektedir. MCFA'ların sindiriminde pankreas enzimine yada safra tuzlarına ihtiyaç duyulmamaktadır. İnce bağırsağa yağ asiti formunda ulaşır ve karaciğere transport edilerek metabolize edilirler. Lenfatik kanal yolu ve periferik dolaşımla Emilimi gerçekleştirilen UZYA ile kıyaslandığında MCFA'ların portal ven yoluyla bağırsaktan çok hızlı bir şekilde karaciğerlere Emilimi gerçekleşmektedir (Andre C. B. ve ark., 1996; Marten, B. ve ark., 2006) .

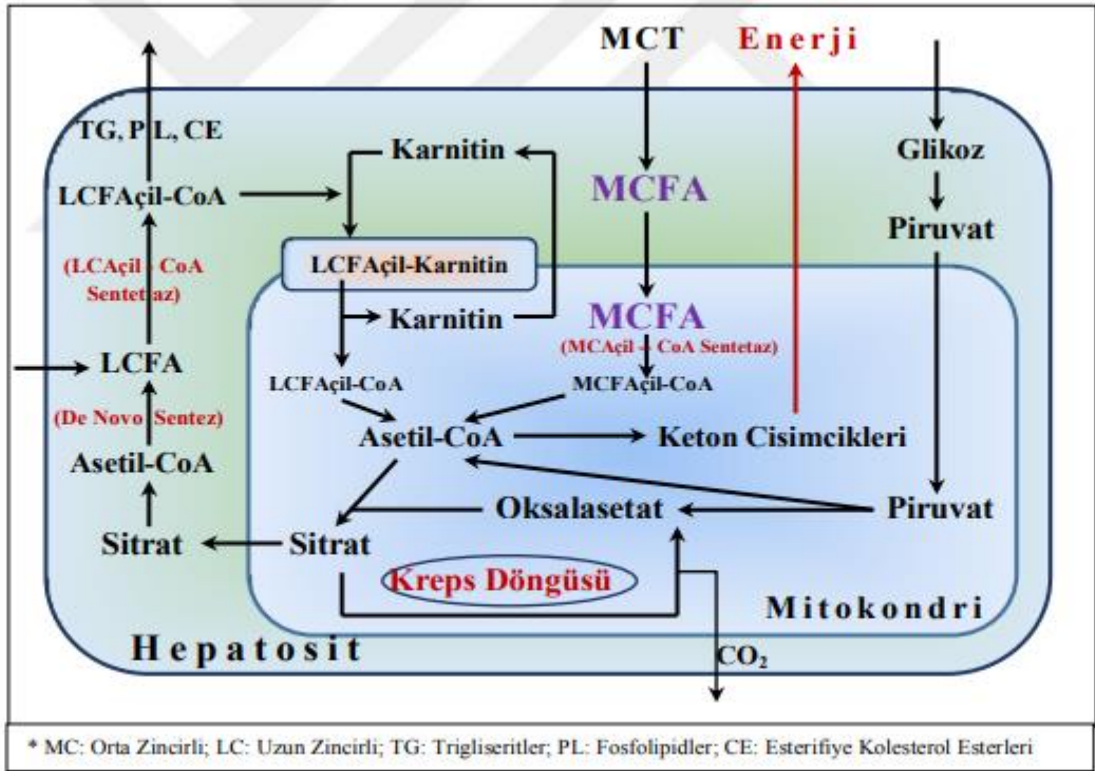
Temelde yağ asitleri, depo yağların, bazı hormonların, plazma trigliseritlerinin ve biyolojik birçok membranın bileşeni olarak işlev görmektedir. Canlıların temel enerji deposunu oluşturan ve yağ asit bileşenlerinden olan trigliseritler vücuda alınan yağların mono ve digliserit olarak Emilmesi sonrasında lipoproteinler içerisinde taşınarak depo edilmektedir. Organizmada bulunan bütün hücre gruplarının yapı ve işlevsel tüm aktivitelerinde gerekli maddelerin karşılanması, korunması ve diğer faaliyetlerin sürdürülmesinde yağ asitleri, bileşenleri ve/veya izomerleri görev almaktadır.

Hızlı bir şekilde metabolizasyonu gerçekleştirilebilen ve eşsiz bir taşıma sistemine sahip OZYA (MCFA), aktivitelerinin bazılarını reseptör aracılı hücre içi yollar ile gerçekleştirebiliyorken dolaşımda bulunan hormon ve metabolit seviyelerini modifiye ederek vücut metabolizmasına katkı sağlamaktadır. Yağ asitlerinin metabolizasyon evreleri Şekil 2.6.'da şematik olarak gösterilmiştir. Vücutta enerji ihtiyacının giderilmesinde önemli bir yere sahip temel metabolik bir yol olan beta-oksidasyon, FA'ların mitokondride 2 karbonlu ünitelere parçalanması ve katabolize edilmesi işlemidir. Karbon sayısı on iki veya daha az olan FA'lar taşıyıcılara ihtiyaç duymadan mitokondriye direk olarak giriş sağlayabilirken , karbon sayısı fazla olanlar karnitin mekiği taşıyıcı sistemine gerek duymaktadır.



Şekil 2.6. Yağların/ yağ asitlerinin sindirim, emilim ve taşınmasının şematik gösterimi (Bach ve Babayan 1982; Demirci, 2018)

Bütün memelilerde emilim sonrası karaciğerde toplanan yağ asitleri okside edilerek enerji kaynağı olarak yada denova sentez (yağ asidi biyosentez) mekanizması, desatürasyon (doymuş yağ asitlerinin desatürasyon enzimi aracılığıyla doymamış yağ asitlerine dönüşüm mekanizması), elongasyon, esterifikasyon (trigliseritlerin oluşturulma mekanizması) vb. isimleriyle bilinen biyosentez mekanizmaları ile işlenmesinin ardından organizmanın ihtiyaç duyduğu ürünlere (fosfolipitlere, kolesterollere vb.) dönüşümü gerçekleştirilmektedir. De-novo sentez mekanizması, sitoplazmada asetil Co-A ile gerçekleştirilmekte ve son ürün palmitik asit (16:0) oluşturulmaktadır. Doymuş yağ asitlerine nazaran doymamış yağ asitlerine metabolik fonksiyonların korunması, membran yapısına katılma, ortam akışkanlığının sağlanması gibi fonksiyonlardan dolayı daha fazla gereksinim duyulmaktadır. Buna bağlı olarak kısa ve orta zincirli yağ asitleri, trigliseritleri birkaç fonksiyonel mekanizma dışında enerji kaynağı olarak yada UZYA/ UZT yapısı oluşturularak kullanıldığı ileri sürülmektedir (Chanmugam ve ark., 1992; Demirci, 2018).



Şekil 2.7. Yağ asitlerinin hepatik metabolizması. (Bach ve Babayan, 1982)

OZYA canlı vücudunda glikoneogenez/ lipogenez, hepatik glikoz gibi reaksiyonları inhibe edici, yağ asiti oksidasyonunda ve plazmadan salınımlarında arttırıcı yöndeki aktiviteleri ile beraber dokularda lipit ve karbonhidrat metabolizmalarının düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. Yağ asitlerinin enerji oluşumu için izlemiş olduğu hepatik metabolizma aşamaları Şekil 2.7.'de gösterilmiştir. OZT'lerin vücuda alınması ile OZYA 'ların hızlı bir şekilde metabolize edilmeleri sonucunda serbest yağ asitlerinin oluşumunda ve özellikle β -OH-bütirik asit kan keton cisimciği seviyesinde anlamlı bir artışın olduğu fakat bunların başta kas olmak üzere diğer dokularda enerji deposu olarak kullanıldığı ileri sürülmektedir (Bach ve Babayan, 1982).

Yağ asitleri, organizmanın enerji kaynağı , hücre membranlarının temel ve önemli bileşeni, genlerin aktivasyonu, bağışıklık düzenleyicisi, sinyal modülasyonunda, çoğu mekanizmada rolü olan önemli substrat, vb. biyolojik işlevlerde görev almaktadır (Liu, 2015; Demirci, 2015; Philip ve Calder, 2013; Meer ve ark., 2008). Hayvan ve insanlarda OZT-OZYA 'ların yoğun olduğu besinlerin tüketiminin UZT-UZYA ile beslenmeye karşı organizmadaki mitokondriyal oksidatif stres seviyesinde azalmanın fazla ve yağ oksidasyonunun indüklenmesinde artış olduğu ispatlanmıştır (Küçükersan, 2020; Demirci, 2018). İnflamasyonda ve karsinogenezin gelişme ve ilerleme aşamalarında etkili olan oksidatif stres, kimyasal tepkimeler sonucu oluşan reaktif oksijen ve azot türlerinin oluşumu doğrultusunda hücrelerin antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge bozukluğunun sonucu oluşmaktadır. Mekanizmada

meydana gelen bu düzensiz reaksiyon dizisi DNA'nın, lipid ve proteinlerin modifikasyonuna sebep olmaktadır (Çağlar ve ark., 2017).

Vücutta sindirim mekanizması farklı olan orta zincirli yağ asitlerinin üzerine gerçekleştirilen in-vitro yapılan birçok çalışmada bağırsak hasarını indirdiği, hepatotoksiteden koruma ve proinflamatuvar aktivitelere sahip olduğu analiz edilmiştir (Gümüş ve Yardımcı, 2018). Yağ asitlerinden kısa ve uzun zincirli yağ asitlerinin (LCFA) potansiyel sağlık özellikleri bulunmaktadır. Hücre sinyal mekanizması yollarında ana molekül olarak rol almaktadırlar. LCFA'ların aşırı tüketimi sinyal iletim mekanizmasında aktif Peroksizom proliferatif ile aktive olan reseptörleri modifiye ederek tümör gelişimine sebep olmaktadır (Xue ve ark., 2017). Daha çok bağırsak bakterilerinin diyet liflerinin fermantasyonunu gerçekleştirerek oluşturduğu kısa zincirli yağ asitlerine (SCFA) bakıldığında ise hücre proliferasyonunu modifiye eden ROS (reaktif oksijen türleri)'u indükleyerek kemotaksiyi değişikliğe uğrattığı analizine ulaşılmıştır. Bunlara ek olarak anti-tümör, anti-mikrobiyal, anti-inflamatuvar aktiviteleri de mevcuttur (Roopashree ve ark. 2021; Tan ve ark., 2014; Xiang ve ark., 2019).

2016 yılında OZYA'ların diğer yağ asitlerine kıyasla kalp fonksiyonları üzerindeki olumlu ve olumsuz aktivitesini analiz etmek için yapılan bir çalışmada, OZYA içeriği yüksek olan beslenmeye bağlı olarak açıl karnitin, plazma sfingolipid ve seramid seviyelerinin azaldığı, steatoza sebep olmadığı, bunlara ek olarak tip-2 diyabet hastalarının açlığa bağlı insülin seviyelerinde de olumlu sonuçlara sebep olacağı düşünülmektedir. Hecker ve ark. gerçekleştirmiş olduğu bir diğer çalışmada, OZYA'ların hücrede meydana gelen inflamasyon koşullarında dejenerasyona uğramış mitokondriyal solunum sisteminin yeniden onarımında ve işlevselliğinin kazandırılmasında kullanılabilecek bir enerji kaynağı olduğunu analiz etmişlerdir. Damar yolu (parenteral yöntem) ile alınan OZT 'lerin organizmanın lökosit miktarında artışa neden olduğu ve buna bağlı olarak bağışıklık sistemi üzerinde olumlu yönde etkili olduğu tespit edilmiştir. Miristik, palmitik ve laurik gibi uzun zincirli yağ asitleri düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) yada toplam kan kolesterolü seviyelerini arttırırken bunun aksine kaproik, kaprilik gibi orta zincirli doymuş yağ asitleri, bütirik, stearik ve kaprik asit nötr bir etki göstermekte yada kan kolesterol seviyelerini 220'ye kadar düşürmektedir (Katan ve ark., 1995). Bunlar dışında sıklıkla tüketilen gıdalarda peynirin küflenme ve olgunlaşmasında süt yağının belirli bir oranda hidrolize uğraması bütirik, kaprilik, kaproik ve daha yüksek karbon zincirli uçucu yağ asitlerinin serbest kalmasına sebep olmakla beraber peynir lezzetinin oluşmasına katkı sağlamaktadır (Çağlar ve ark., 2017). Süt yağında kısa zincirli yağ asitleri seviyeleri daha yüksek olup 400'den fazla yağ asiti tespit edilmiş ve miktarları baz alındığında bunlar arasında 10 tanesinin daha önemli olduğu saptanmıştır. Karakteristik bütirik asitle beraber %70 oranında doymuş yağ asitleri, %40 düzeyinde ise doymamış yağ asitleri bulunmaktadır (Anonim, Süt Yağı).

Gerçekleştirilmiş olan birçok hayvan ve insan hücre hattı ile yapılan in-vitro çalışma sonucu, bütirik asitin (bütirat) kanser tedavisinde (kolon, adenoma, vb.) spesifik kanser hücrelerine etki gösterdiği, programlanmış hücre ölümüne olan direnci yok ettiği , hücre

farklılaşmasına ek olarak proliferasyon ve diferansiyasyon (hücre farklılaşması) gibi önemli mekanizmaların düzenlenmesinde etkin role sahip olduğu ispatlanmıştır (Çağlar ve ark., 2017). Hücreler arasında bilgi transferini sağlayan ve herhangi bir modifikasyonunun hastalık patogeneğinde rol aldığı hücreler arası sinyal mekanizması, başta genler olmak üzere reseptör ve nükleer faktörlerden etkilenebilmektedir. Organizmada gen transkripsiyon modülatörü işlevine sahip yağ asitlerinin hücreler arası sinyalizasyon üzerinde kayda değer seviyede etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu kapsamda 20-22 karbon(C) atomu sayısına sahip uzun zincirli doymamış yağ asitleri (UZYA-LCFA) ve metabolitlerinin, transkripsiyon faktör elemanlarının nükleer reseptörlerinin aktif ligand molekülleri olarak belirlenmiştir. LXR (karaciğer X reseptörleri, α/β tipi), sterol düzenleyici element bağlayıcı protein (SREBP, -1/-2), PPAR(peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör, γ_1/γ_2 , $-\alpha$ ve $-\beta/\delta$) bunun bazı örnekleridir (Kremmyda, 2011; Kou ve ark., 2020).

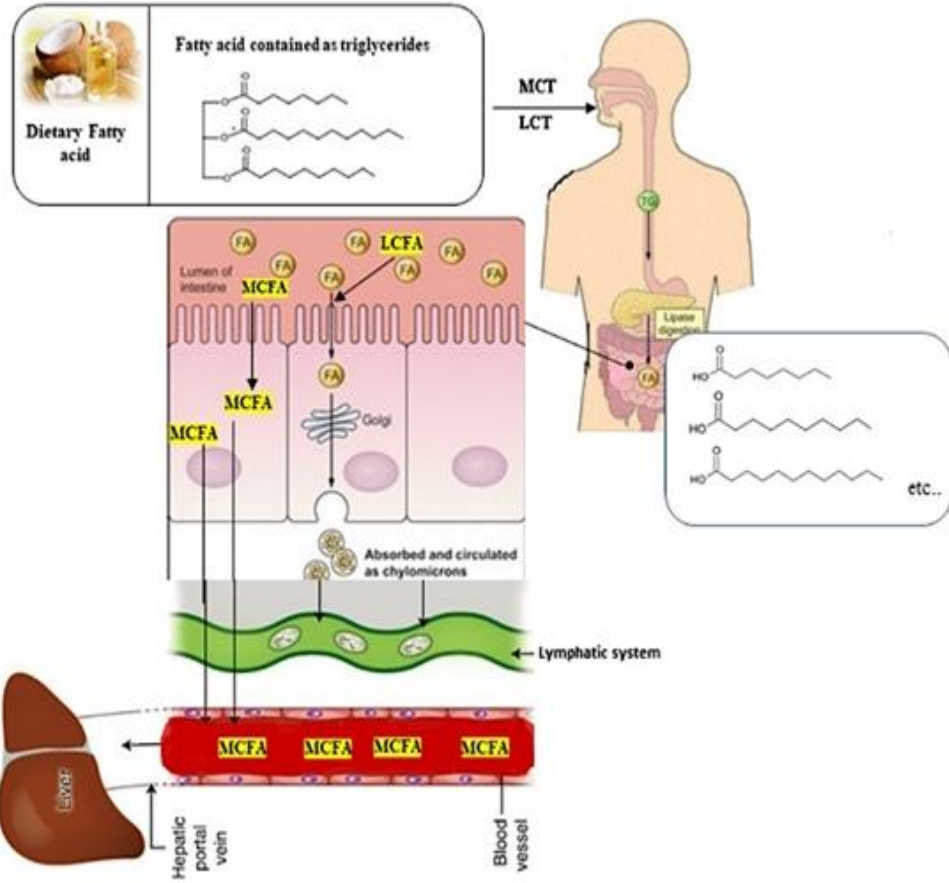
İnsan sağlığı için büyük öneme sahip yağ asitleri sadece yüksek enerji kaynağı olmayıp proteinlerle birleşerek lipoproteinleri oluşturmaları nedeniyle de oldukça önemlidir. Yağ asitlerinin fiziksel, kimyasal ve beslenme özellikleri; molekülde yer alan karbon atomu sayısı doymuşluk derecesi, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısı ve karbon atomlarına bağlı hidrojenlerin pozisyonları ile belirlenmektedir. Ehrlich asit adı verilen bir bileşiğin enjekte edilmesi ile tümör oluşturulan farelere düzenli olarak 10 gün süre içerisinde verilen palmitoleik (16:1) yağ asidinin yine tümör taşıyan fareler arasında %50 oranında bir gerilemeye sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Böyle bir sonuca varılmasına rağmen palmitoleik yağ asidinin bu aktivite mekanizması açıklığa kavuşturulamamıştır (Ito ve ark., 1982). Değerli bir kaynak olarak dikkat çekmekte olan PAO(palmitoleik asit) kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi hastalıkları önlemesinin yanı sıra cilt hasarlarına karşı korumada fayda sağlayabilecek antibakteriyel ve anti-oksidan etki mekanizmalarına da sahiptir (Kamisaka ve ark., 2014).

Hücre proliferasyon, büyüme, metabolizma gibi fonksiyonlarda büyük bir öneme sahip, katabolik ve anabolik metabolizma işlevleri arasında kilit rol oynayan mTOR yolağı, kanserde rol alan üç ana sinyalizasyon yollarından (PI3K)/AKT kinaz zinciri, protein kinaz C ailesi (PKC), protein kinaz (MAPK)/Ras biri olan (PI3K)/AKT kinaz zincir yolağının aşağı regülasyonunda görevli serin/treonin kinaz molekülüdür. Kanser hücre yapısında hücre döngü kontrol evrelerinde bulunan genlerdeki modifikasyonlarda olduğu gibi mTOR sinyal yolağıda önemli bir anti-tümör hedef olarak çalışmalarda ele alınmaktadır. P53 tümör baskılayıcı gen aktivasyonu ile ters orantılı olarak çalışmakta olduğu ve yapılan birçok çalışma sonucunda mTOR aktivasyonunun p53 geni tarafından baskılandığı analiz edilmiştir. mTOR sinyal yolağındaki düzensizliklerin metabolik hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanser, vb. hastalıklarla yakından ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Küçüköner ve Işıkdogan, 2013). İn-vitro ve in-vivo birçok biyo-fonksiyona sahip omega-7 yağ grubuna ait tekli doymamış yağ asiti palmitoleik asit (16:1) seviyesi mTOR sinyal yolağı tarafından de novo lipogenez sentezinin kontrol edilmesi ile düzenlenmektedir. mTOR aktivasyonunun yağ asitleri ile özellikle

palmitoleik asit seviyesi ile doğru orantılı olduğu ileri sürülmekte, fakat hastalıklar üzerindeki aktivitelerine dair veri kayıtları bulunmamaktadır (Yin ve ark., 2017).

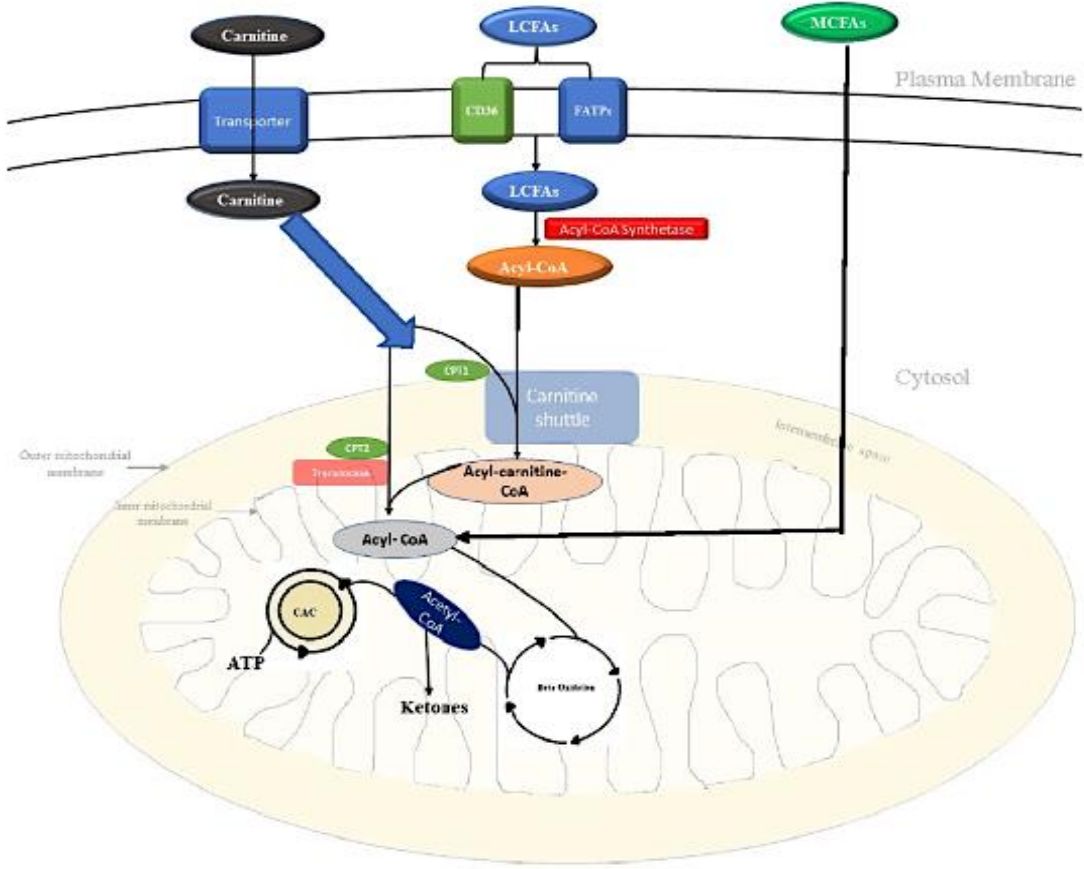
ABD (Amerika Birleşik Devleti)' de kolorektal kanser diğer kanser türlerine nazaran daha büyük etkiye sahiptir ve diyetin etkilediği güçlü ve ciddi bir sağlık sorununu oluşturmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar gösteriyor ki diyet faktörleri arasında da yer almakta olan n-3(omega 3) PUFA (çoklu doymamış yağ asiti- balık yağı içermektedir) DHA (22:6, dokosaheksaenoik asit)'nın vücuda alımının klinik deneyler ile de desteklenerek kolon kanserinde ve AD (Alzheimer hastalığı) üzerinde inhibe edici etkisi olduğu ispatlanmıştır. Bitkisel yağlarda bulunan zengin diyet lipidleri baz alınarak n-3'lere kıyasla n-6 PUFA lardan LA(linoleik asit)/ AA(araşidonik asit) kolon kanseri hücre hattı gelişimini indüklemektedir (Lim ve ark., 2005; Chapkin ve ark., 2007).

Orta zincirli yağ asitlerinin ve trigliseritlerinin transport, oksidasyon, gen düzeyinde sentez gibi bazı hücre metabolizması basamaklarındaki etkileri ve uzun zincirli yağ asitleri ile kıyaslandığında daha düşük enerjiye sahip olmasına bağlı olarak günümüz yaygın hastalıklarından kalp-damar, obezite, vb. lipid kökenli rahatsızlıkların önlem ve tedavi aşamasında bir alternatif olarak ileri sürülmektedir (Demirci, 2018). Dekanoik asit olarakta bilinen 10 karbonlu (C10) bir omurgaya sahip kaprik asit düz doymuş orta zincirli, beyaz kristal yapıda bir yağ asididir. Çoğu memelinin sütünde , hurma ve hindistan cevizi yağında bulunmakta ve gıda konservelerinde, şarap, dondurma, meyve suyu vs. paketli gıdalarda katkı maddesi olarakta kullanımı mevcuttur (Traul ve ark., 2000). Birçok organik çözücüde, seyreltilmiş nitrik asitte çözünen ve erime noktası 31,5 C olan insan/ bitki /alg metaboliti, anti-inflamatuar / anti-bakteriyel/ antiviral ajan, uçucu yağ bileşeni vs. gibi rolleri vardır. Başta kaprik asit ve diğer orta zincirli yağ asitleri insan hücrelerinde çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir. Cilt, meme ve kolorektal kanser hücre hatları üzerinde anti-tümör aktiviteye sahip olduğu 2015 yılında Narayanan ve ark. yapmış olduğu bir çalışma ile ispatlanmıştır. Göstermiş oldukları aktiviteleri, kontrollü hücre ölüm mekanizması olan apoptozis genlerinin ekspresyonunu arttırıcı şekilde düzenlediğine yada hücre siklusunu, sinyal iletim yollarını modüle etmesine dayandırılmaktadır (Yang ve ark., 2018). Zincir uzunluğu 6-12C (karbon) atomu arasında değişim gösteren MCFA'lar (orta zincirli yağ asitleri), kan ve beyin bariyerlerini geçerek mitokondriyal beta-oksidasyon yolağı ile beyinde oksit edilebilmektedir. Başta kozmetik, gıda ve bazı terapötik ilaçlarda, ek besin alımına ihtiyaç duyan bireylerde kullanımı yaygın olan MCT'ler (Orta zincirli trigliseritler) daha çok kaprik(C10), kaprilik (C8) asit, az oranda ise 6 karbonlu (C6- kaproik) ve 12 karbonlu (C12- laurik) yağ asitlerinden oluşmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda Alzheimer hastalığı, kilo kaybı, diyabet, kolesterol seviyesinin korunması, travmatik beyin hasarı, kanser, karaciğer toksisitesi ve ilaca dirençli epilepsi, vb. beyin hastalıklarının tedavisinde MCFA'lar olumlu anti-oksidan aktiviteler sergilemiştir (Zakaria ve ark., 2011; Wang ve ark., 2006; Roopashree ve ark., 2021). Alternatif enerji substratları MCFA'lar, beynin metabolik yakıtlar olarak kullanabileceği laktat ve keton cisimlerinin oluşturulmasıyla astrositler ve nöronlar için yakıt kaynağı olarak kullanılmaktadır (Damiano ve ark., 2020).



Şekil 2.8. Orta zincirli yağ asitlerinin emilim mekanizmasının şematik gösterimi (Roopashree ve ark. 2021)

Mitokondride aktif form kazanan MCFA'lar, Şekil 2.9.'da gösterildiği gibi iç mitokondriyal membran boyunca yayılarak mitokondriyal matriste asetil-CoA'ya aktarılmakta ve bu aktifliği ile LCFA'lerden (uzun zincirli yağ asitleri) ayrılmakta olup aynı zamanda sitrik asit döngüsünde ve beta oksidasyonunda substrat işlevi görmektedir (Damiano ve ark., 2020). Uzun zincirli yağ asitlerinin aksine yapılan çalışmalarda daha çok ön plana çıkmış olan C8 ve C10 yağ asitleri ile beraber tüm orta zincirli yağ asitleri üzerinde, nörolojik hastalıklar vb. hastalıkların tedavisinde mitokondriyal membrana girebilmesi için aktiflik kazandıracak kartinin mekiğine ihtiyaç duymadan beta oksidasyonları gerçekleşmektedir (Roopashree ve ark., 2021; Miyagawa ve ark., 2018). Metabolizmaları ile keton cisimciklerinin oluşumunu sağlayan MCFA'ların hızlı emilimi ve beta-oksidasyonu bu yağ gruplarının kayda değer oranda fizyolojik aktivitelerinin olduğunu düşündürmektedir (Ebert ve ark., 2003). Yağ asitlerinin emilim mekanizması Şekil 2.8.'de gösterilmiştir. Fakat farklı kaynaklarda orta zincirli yağ asitlerinden C8'in aksine C10'un sitozolde mitokondriye girmek için kartinin mekiğine ihtiyaç duyduğu ileri sürülmüştür (Damiano ve ark., 2020). MCFA'ların organizmada göstermiş olduğu aktiviteler direkt reseptör aracılı yollar aracılığıyla gerçekleşse, metabolik düzenleyici olarak dolaşımda görevli ilgili metabolit ve hormon seviyelerini düzenlemekte rol oynamaktadır.



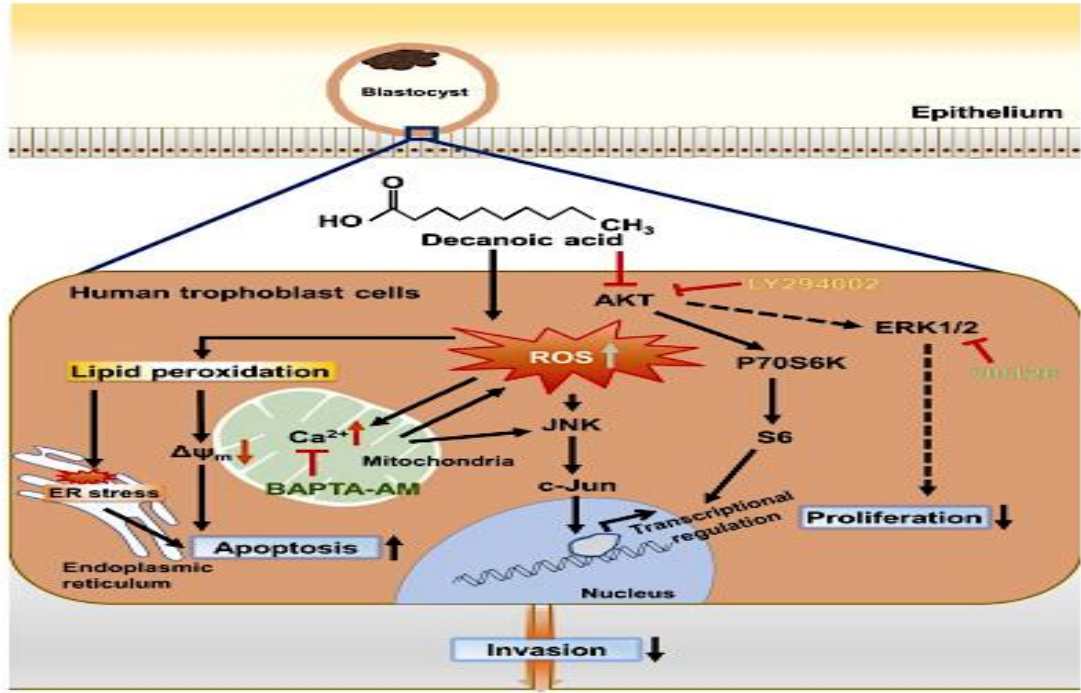
Şekil 2.9. MCFA (Ota Zincirli Yağ Asitleri)'ların Beta-oksidasyonu (Roopashree ve ark. 2021)

OZYA grubunda yer alan C12'li laurik asitin meme kanseri üzerine olan etki mekanizması araştırılmış ve elde edilen verilerde hücre döngüsünü G0/G1 fazında durdurarak yada apoptozu indükleyen tümör baskılayıcı bir gen olan p53'ün ekspresyonunda değişikliğe neden olmazken siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinden p21 ekspresyonunu arttırarak hücre bölünmesini regüle etmiştir. Normal seviyede oksidatif stres kanser hücrelerinin üzerinde olumsuz bir etki oluşturmak yerine ekspresyonunu arttırırken, oksidatif stresteki artışa bağlı olarak prooksidan moleküllerin aşırı ROS üretmesi ile beraber kontrollü hücre ölüm mekanizmasının (apoptoz) devreye girmesi ile sonuçlanmıştır. Daha birçok farklı kanser türleri (endometrial, epidermoid, insan kolorektal ve hepatoselüler, vb.) çalışmasında doymuş OZYA arasında laurik asitin aktivitesinin çok yüksek olduğu üzerine raporlar bulunmaktadır. Lappano ve ark. 2017 yılında yapmış oldukları bir çalışma 100mM laurik asit tedavi konsantrasyonunun EGFR (epidermal büyüme faktörü) fosforilasyonu ve ROS seviyesini arttırdığı, kinaz reseptörlerine bağlı apoptozun indüklediği göğüs kanseri hücre hattı olan Skbr3 üzerinde analiz edilmiştir (Lappano ve ark., 2017; Roopashree ve ark. 2021).

Bazı FA'lar hücre içi (diacilgliserol, trombosit aktive edici faktörler, seramidler vs.) ve hücreler arası sinyal moleküllerinin güçlü bileşenleri olan lökotrienler, prostaglandinler vb. etkileşimde rol alan hücre aracılarının üretiminde rol almaktadır. Bağışıklık fonksiyonunda önemli aktiviteye sahip lökositlerin metabolik aktivitesinde, fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve kontrolünde de yağ asitleriyle karşılaşmaktadır. Düşük konsantrasyona sahip FA'ların varlığında lökosit fonksiyonunu, adezyon molekülleri ve sitokinlerin üretimi ve proliferasyonu kontrol altına alarak modüle etmektedir. Bunlara ek olarak hücre yapışması, vasküler kasılma, diyapedez, kemotaksis vb. iltihaplanmanın çoğu basamağında yer almaktadırlar. Finstad ve ark. (1998), Mainou-Fowler ve ark. (2001) yapmış olduğu çalışmalarda çoklu doymuş yağ asitlerinden bazılarının ve uçucu yağ asitlerinin konsantrasyonlarının fazla olduğu durumlarda kontrollü hücre ölümüne (apoptoz), daha yüksek kontrasyonlarda ise bir diğer hücre ölüm mekanizması, hücre şişmesi olarak da bilinen nekroze sebep olduğu rapor edilmiştir (Lima ve ark., 2002). Yapılan çalışmalardan bazıları SCFA' lardan (kısa zincirli yağ asitleri) bütirat yağ asitinin yüksek konsantrasyonlarının bağırsakta bulunan epiteller tarafından interlökin-8(IL-8) salgılanması üzerine doza bağımlı olarak aşağı regüle etmesine sebep olduğu ispatlanmıştır (Hoshimoto ve ark., 2002).

Kaprik asit (DA) bilinen transkripsiyonel aktiviteyi modüle etme özelliği dışında hormon salgılanması ve işlevinin düzenlenmesinde de rol almaktadır. Antiviral, anti-bakteriyel, pro-apoptotik, anti-proliferatif ve diğer orta zincirli yağ asitlerinin de ortak özelliklerinden biri olan antitümör aktivitesi de mevcuttur. Antitümör aktivitesi üzerine 2015 yılında yapılan çalışmada orta zincirli yağ asitlerinin hücre döngüsü evrelerini modüle ettiği veya kontrollü hücre ölüm mekanizmasını indükleyerek görevli gen gruplarının, hormonların salgılanmasında ve işlevlerinin düzenlenmesinde de aktif görev almaktadır. Bunlara ek olarak hamilelik sürecinde orta zincirli doymuş yağ asitleri ile diyet takviyesinin bebeklerde obeziteyi önleyici yönde etki göstermekte olduğu fakat alınan DA 'ların hangi hormonlar üzerinde olumlu veya olumsuz nasıl etki gösterdiğine dair veri bulunmamaktadır. Ökaryotik hücre mekanizmasında DNA polimeraz enziminin işlem faktör elemanı olarak görevli ve replikasyonda gerekli DNA klempisi olarak bilinen çoğalan hücre nükleer antijeni (PCNA)'nın belirteç olarak kullanıldığı çalışmada DA ile muamele edilmiş HTR8/SVneo hücre hattında tedavi edilmeyenlere kıyasen çekirdeklerinde yaklaşık %43'lük bir oranda daha az eksprese edildiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmanın diğer sonuçlarına da bakıldığında hücre döngüsü G2/M evresindeki hücrelerin ekspresyonunda azalmasına bağlı olarak DA 'nın hücre proliferasyonunu inhibe edici yönde etki gösterdiği yönünde yorumlanmıştır. Oksidatif stresle doğru orantılı olarak artış gösteren reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini hücrede DA'nın varlığı doza bağlı olarak tetiklediği Şekil 2.10.'da gösterilmiştir. Buna bağlı olarak hücre mitokondrisinde Ca^{+} artışı ile birlikte membran bozulmasına ve apoptozun aktivasyonuna neden olmaktadır (Yang ve ark. , 2018).

Reaktif oksijen türleri gibi serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif hasarlara karşı anti-oksidan aktivite içeren doğal veya bitkisel kaynaklar insanların savunma mekanizmasına destek sağlamaktadır. Bu bileşenleri daha çok içeriğinde barındıran bitkisel kökenli fitokimyasal antioksidanlar, serbest radikalleri bağlayarak, indirgeyici molekülleri indükleyerek, vb. aktif mekanizmalar ile serbest radikalleri nötralize ederek hücre hasarını engelleyerek yenilenmelerine olanak sağlamaktadır (Güleşçi ve Aygöl, 2016).



Şekil 2.10. Dekanoik asitin insan trofoblast hücreleri üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada şematik gösterimi (Yang ve ark. , 2018)

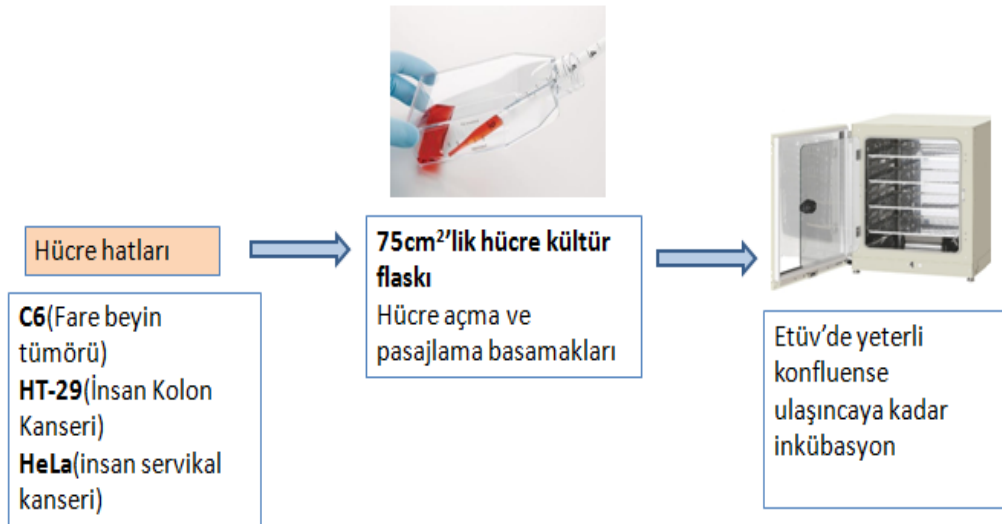
2008 yılında MO Leyva ve ark. tarafından yapılan çalışmada monokarboksilik bir asit olan hekzanoik asitin(HA) domateste bulunan *Botrytis cinerea* mantar gelişimi üzerine olan inhibe edici aktivitesi altında yatmakta olan mekanizması in-vitro ve in-vivo araştırmalar ile rapor edilmiştir. İn-vitro sonuçlarda *B. Cinerea* aşılması yapıldıktan sonra belirli zaman aralığında (72 s.) ve farklı konsantrasyonlarda uygulanmış olan HA 'in antifungal aktivitesi, germ-tüp adı verilmekte olan çimlenmenin ilk aşamalarını etkileyerek gerçekleştirdiği analiz edilmiştir. HA ile beraber bitkilerde meydana gelen misel büyümesi, spor gelişimi gibi olayların inaktif edilmesinde , yiyecek ve içeceklerin muhafaza edilmesinde diğer bazı yağ asitlerinin az bir kısmının kullanılabilmesine izin verilebilmektedir. Temelde bu yağ asitlerinin etki mekanizmaları metabolik fonksiyonların inhibisyonuna neden olan sitoplazmik asitleşmeye dayandırılmaktadır. Aynı zamanda bu çalışmada HA'in antimikrobiyal aktivitesi de, mantar zarı geçirgenliğini ve poliamin içeriğini değiştirdiği de gözlemlenmiştir (Leyva ve ark., 2008).

3. MATERYAL ve YÖNTEM:

3.1. Kanser Hücre Hatları ve Hücre Kültürü

3.1.1. Bütün hücre kültürü büyütme, pasajlama, ekim, ilaçların ayrı ayrı ve kombinasyonlarının uygulanması

%70'lik etanol ile sterilize edilmiş olan laminar kabinde , otoklav ile de sterilizasyonu sağlanan sarf çalışma ekipmanlarıyla hassas bir şekilde gerçekleştirildi. Uygulamalar öncesi laboratuvar ortamının kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak, minimize etmek için güvenlik kabinine girmeden önce ve deney sonrası UV uygulaması gerçekleştirildi. Çalışmada BAU MBG bölümünden C6 (Sıçan Beyin Tümörü) ,Acıbadem Genetik Tanı merkezinden HT-29 (Kolorektal kanser hücreleri) ve Yeditepe üniversitesi MBG bölümünden HeLa (İnsan Servikal Kanser Hücresi) temin edilen olmak üzere üç farklı kanser hücre hattı kullanıldı. Hücre kültürleme için %10 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %2 PenStrep (Penisilin- Streptomisin) solüsyonu içeren katkılı DMEM (Sigma, Germany) besi yeri kullanıldı. Azot tankından çıkarılan hücreler 15 ml'lik falkon tüplerde besiyeri yardımıyla çözündürülerek 5000 RPMI'da 3-5 dk santrifüj edilerek pelet kısmına çöktürüldü. Pelet kısımdan besiyeri aspire edilerek 15 ml kadar taze besiyeri yeri ile süspanse hal kazandırılarak steril T75'lik hücre kültür flasklarına aktarıldı ve 37 C⁰ de %5'lik CO₂ içeren %80-90'lık nem oranına sahip etüv ortamında yaklaşık olarak 4-5 gün adherent forma geçerek % 85-90'lık konfluens ulaşınca kadar inkübe edildi. Tüm bu aşamalar Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Hücre açma, pasajlama uygulamalarının şematik gösterimi

Uygulama aşamasına geçebilmek için yeterli konfluense (%90'lık) ulaşmış olan hücre hatlarının pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Hücreler sağlıklı bir şekilde büyüyüp

beklenen konfluense ulaşıncaya kadar 2-3 gibi belirli aralıklar ile ortam besiyeri değiştirildi. Flasklardaki besiyeri aspire edilerek, ortamda bulunan besiyeri kalıntılarını tamamen elimine edebilmek için kültür flaskı 5 ml 1X'lik soğuk dPBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ile dikkatli bir şekilde yıkama işlemine tabi tutuldu. DPBS solüsyonunda ortamdan aspire edildikten sonra adherent olan yani kültür kabına yapışık olarak büyüme gösteren hücrelerin zeminden ayrıştırılması, süspanse bir hal kazanabilmesi için 4-5 ml tripsin-EDTA solüsyonu eklenerek maksimum 3-4 dakika kadar 37 °C'de %5'lik CO₂ ortamında inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında flaskda oluşan hücre süspansiyonu üzerine 10 ml taze besiyeri (DMEM) eklenerek tripsin nötralize edildi ve 15 ml steril falkon tüpe aktarıldı. Hücreler 5000 RPMI'da 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrası pelet kısmındaki hücrelere temas etmeden hassas bir şekilde süpernatant kısım aspire edilerek hücre pelleti 5 ml taze besiyeri ilavesiyle steril pastör pipetle süspanse hale getirildi. Hücre sayımı için süspansiyonundan 20 µL hücre ve 20 µl tripan mavisi solüsyonu karıştırılarak homojenize edilen bu karışımın 20 µL'si hemositometre (Thoma lamin) de bulunan hücre sayım karlerine pipetlendi. Hücreler mikroskop altında sayılarak hücre konsantrasyonu belirlenmiştir. Sayım işleminden sonra yeni bir steril 15 mL lik falkon tüp içerisinde çalışılacak hücre stok süspansiyonu hazırlandı. Hücre süspansiyonundan mikropalak (96'lık hücre kültür plağı) her bir kuyucuğuna 4000 hücre/ 100-200 µl besiyeri pipetlendi. Protein ve büyüme faktörlerinin yeniden sentezlenebilmesi ve hücrelerin uygulama öncesi adherent form kazanması için yaklaşık 24 saat beklenmektedir. Bu inkübasyon sürecinde ayrıca besiyeri içerisinde terapötik ajan konsantrasyonları ile muamele edilmeden önce metabolik aktiviteleri kazandırılmış olmaktadır (Huang ve ark., 2010). Ekim sonrasında adherent hücrelerin konfluensleri (%70-80) kontrol edilerek muamele aşamalarına geçildi.

Seri olarak dilüsyonları sağlanan terapötik ajanlar seriler halinde ayrılan hücre besiyeri gruplarına eklendi (terapötik ajanlarla beraber son volümü 100µl olacak şekilde ayarlandı). Mikropalakların ilk sütunu besiyeri kontrolü, ikinci sütun hücre kontrolü, üçüncü sütun çözücümüz DMSO ve diğer kuyucuklar her bir terapötik ajanın altı konsantrasyonu ve üç tekrarı olacak şekilde sıralı satırlara gelecek şekilde ayarlandı. Elde edilen IC₅₀ değer grafiğinden elde edilen verilere bağlı ayrı ayrı ve ikili kombinasyonları oluşturularak hücre hattı ile tekrar muamele edilerek 37°C⁰ etüvde 24, 48 ve 72 saat olacak şekilde tekrarı olan üç farklı mikropalakta inkübasyona bırakıldı.

3.2. Yağ Asitlerinin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Üretici firmalardan temin edilmiş kristal formdaki yağ asitleri (heksanoik (C₆), oktanoik (C₈), dekanıik(C₁₀), palmitoleik (C_{16:0})) hepsinin katalog numarası ile ulaşılan bilgiler ve yapılan birçok çalışmada ortak çözücüsü olarak belirtilen %98'lik DMSO içerisinde 1000mM (1M) heksanoik asit (kaproik asit, 2.5gr, CAS:153745, %99'luk, Sigma-Aldrich), 1000 mM(1M), oktanoik asit (kaprilik asit, PHR1202- 1gr, CAS: 124-07-2, Sigma-Aldrich), 3000 mM(3M), dekanıik asit (kaprik asit, 25gr, CAS RN: 334-48-5, %98'lik, TCI-America), 100mM palmitoleik asit (100mg, CAS:1-800-364-9897, item: 10009871, Cayman Chemical Company) stok çözeltileri hazırlandı. Dekanoik asit ve palmitoleik asit -20 °C'de , heksanoik asit ve oktanoik asit ise +4°C⁰ 'de muhafaza edildi. Uygulama öncesi hazırlanan stoklar DMSO'nun hücre hatları üzerindeki toksik etkisi düşünülerek minimize etmek amacıyla konsantrasyonları

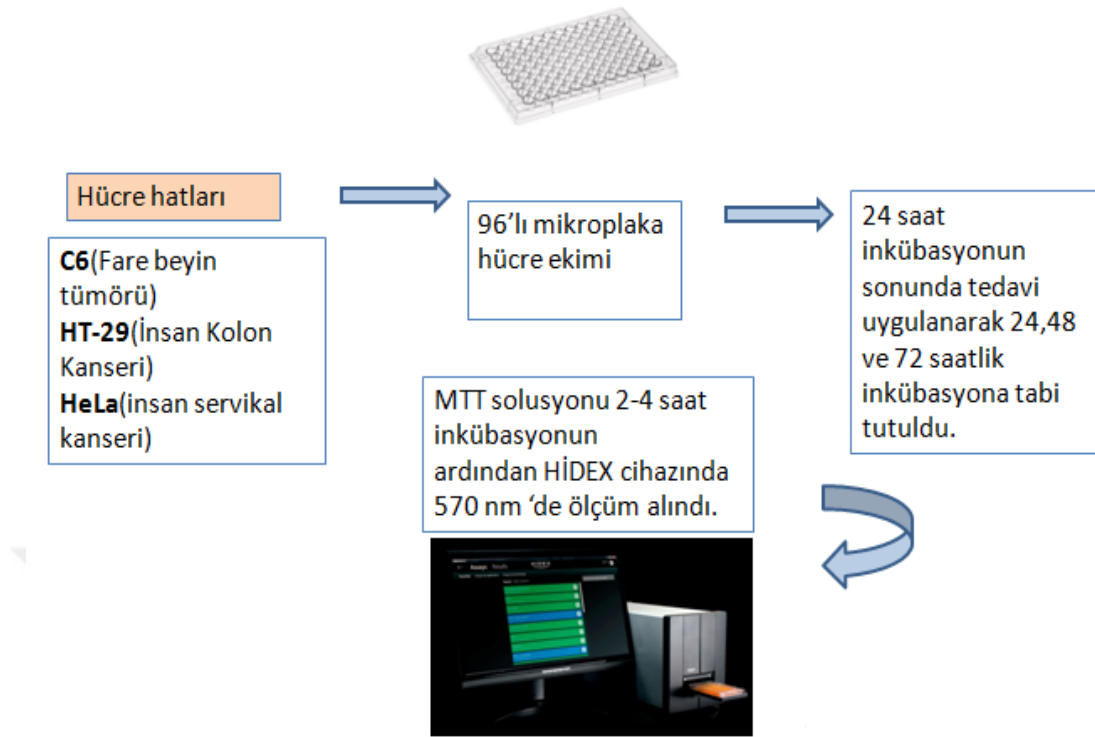
besiyeri ile yeni stok konsantrasyonlara düşürülerek amacıyla seyreltilerek kullanıldı. DMSO kontrolü de aynı şekilde dilüe edilerek uygulandı.(100:1 (besiyeri: DMSO)). Hazırlanan yağ asit stokları 30 dakika kadar güvenlik kabininde UV'ye maruz bırakılmasının ardından dolaba kaldırıldı. Yağ asitlerinin hesaplamalar doğrultusunda kullanılan çözücü miktarları ve saklama koşullarına dair bilgiler Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Ticari olarak alınmış olan yağ asitlerinin uygun solüsyon içerisinde çözündürülerek stoğunun hazırlanması ve saklanma koşulları (C-6: heksanoik asit, C8: oktanoik asit, C10: dekanoik asit, C-16:1: palmitoleik asit)

Yağ Asiti	Net Ağırlığı	Çözücü Mik./ Stok konsantrasyonu	Saklama Koşulu
C-6	2.5 gr	21,5 ml / 1000 mM	+4 C ⁰
C-8	1 gr	7 ml / 1000 mM	+4 C ⁰
C-10	25 gr	48 ml / 3000 mM	-20 C ⁰
C 16:1	100 mg	4 ml / 100 mM	-20 C ⁰

3.3. HeLa, HT-29 ve C6 Hücre Hatlarının Kaprik, Kaproik, Kaprilik ve Palmitoleik Yağ Asitleri ile Muamelesi için Uygun Konsantrasyonların, IC50 Değerlerinin Belirlenmesi

Yağ asitlerinin muamelesi için uygun sayıda hücre öncelikle besiyeri içerisinde deneylere uygun plakalara ekildi. Yaklaşık 24 saat sonra adherent form kazanan hücreler blank, kontrol, %1'lik DMSO kontrolü ve hücre kültür besiyeri ile dilüe edilen değişik konsantrasyonlardaki yağ asitlerinin eklenmesinden sonra antitümör, sitotoksik etkisini analiz etmek için 24-48-72 saatlik inkübasyon ile muameleye bırakıldı.



Şekil 3.2. MTT analizleri için hücre ekim ve uygulamalarının şematik gösterimi

3.3.1. MTT testi ile IC50 (inhibisyon konsantrasyon değeri) aralığının belirlenmesi

Tablo 3.2. IC50 değeri aralığını belirlemek için uygulanan konsantrasyonlar

Yağ Asidi Adı	Terapötik Konsantrasyonlar
Heksanoik asit 10mM	100µM, 500µM, 1mM, 5mM, 7,5mM,
Oktanoik asit 10mM	100µM, 500µM, 1mM, 3mM, 7mM,
Dekanoik asit 1mM	10µM, 50µM, 100µM, 500µM, 750µM,
Palmitoleik asit 1mM	10µM, 75µM, 100µM, 250µM, 500µM,

3.3.2. Hücre hatlarına göre belirlenen IC50 değerlerine göre oluşturulan ikili kombinasyon uygulamaları

Tablo 3.3. IC50 değer aralıklarına göre hücre hatlarına uygulanan ikili kombinasyonlar

Yağ Asitlerinin Kombinasyonları	C6	HT-29	HeLa
C-6 + C-8	3600-3350 µM	2650-3500/ 3900-3500 µM	3800- 3250 µM
C-6 + C-10	3600-3200 µM	2650-2500/ 3900-2500 µM	3800-2000 µM
C-6 + C-16:1	3600-2200 µM	2650-2700/ 3900-2700 µM	3800-2500 µM
C-8 + C-10	3350- 3200 µM	3500-2500 µM	3250- 2000 µM
C-8 + C-16:1	3350- 2200 µM	3500- 2700 µM	3250- 2500 µM
C-10 + C-16:1	3200-2200 µM	2500-2700 µM	2000- 2500 µM

3.4. Hücre Canlılık Analizleri - MTT (Metiltiazoldifenil-tetrazolium bromid)

Kanser hücre hatları üzerinde ilgili yağ asitlerinin farklı konsantrasyonları ele alınarak kültür ortamındaki hücrelere hücresel proliferasyon denemeleri uygulanacaktır. Bu test için her bir hücre hattından 96 kuyucuklu pleytlere uygulanacak konsantrasyon ve kombinasyonlar uygun sayıda kuyucuktan her birine yaklaşık 5×10^3 hücre ekimi yapılarak ilaçlarla muamele edilecektir. İnkübasyon sonrasında hücre canlılığını analiz etmek için MTT protokolü uygulanacaktır. MTT yöntemi kullanılmasıyla canlı hücrelerin kantitatif olarak saptanması gerçekleştirilmektedir. MTT boyası canlı hücrelerde mitokondrinin tetrazolium halkasını mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi ile parçalamaktadır. Sonuçta MTT boyası hücre içi mor formazan kristallerine dönüşmektedir. Basit, güvenilir ve özellikle radyoizotoplara gereksinim duyulmadan gerçekleştirilmesi yöntemin avantajları arasındadır. MTT yöntemi hücrelerin MTT solüsyonu ile inkübasyonu, reaksiyon ürününün çözünür hale gelmesi ile kolorimetrik ölçümü basamaklarından oluşmaktadır. İşlemin sonucunda mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renge boyanıp, mitokondri fonksiyonu bozulmuş canlılığını yitirmiş olan hücreler ise boyanmamaktadır (Terzioğlu ve ark., 2013). Hücre canlılığını analiz etmek için ekimi ve yağ asitlerinin muamelesi gerçekleştirilmiş olan her bir kuyucuğa 1X PBS ile çözündürülmüş MTT solüsyonundan mümkün olduğunca ışığın olmadığı veya minimize edildiği ortamda 10µl yüklemenin ardından üzeri ışığa karşı duyarlı bir yapısı olduğu için mikropalak alüminyum folyo ile kaplanarak protokolde belirtildiği gibi 2-4 saat aralığı kadar 37°C'lik sıcaklık içeren %5'lik CO2 inkübatöründe inkübasyonu sağlandı. İnkübasyonun ardından kuyucuklarda bulunan MTT solüsyonu ve besiyeri üzerine hücrelerin süspanse hal alması ve formazan yapılarının kaldırılması için MTT preparing solubilization buffer'den her kuyucuğa 100µl eklenerek pipetaj uygulandı ve 15 dakika etüvde inkübasyona bırakıldı. Son

olarak mikropalak okuyucu HİDEX ELISA'da 570nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek absorbanlarına göre canlılık grafikleri analiz edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, Microsoft Excel ve GraphPad Prism 9.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar Microsoft Excel de uygulanan konsantrasyonları ve % hücre canlılık eği grafiği için hesaplaması yapılarak GraphPad Prism aktarıldı. Belirli komutlar kullanılarak IC50 değer aralığının logaritmik eğim grafiği hesaplamalar sonucunda oluşturuldu. İkili kombinasyon denemeleri için bar grafiği oluşturuldu. Hesaplama basamakları Şekil 3.3.'de gösterilmiştir. MTT testi için varyans (ANOVA)1 analiz yolu kullanılarak belirlendi. Değerlendirme $P < 0.05$ değerine göre gerçekleştirildi. P değeri 0.05 veya altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ve yıldız simgesiyle (****: $P \leq 0.0001$; ***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$) belirtildi. Verilerin ortalaması $\pm$ SEM olarak ifade edildi. HİDEX'te çıkan absorban değerlerinin Excell'de hesaplaması aşağıdaki gibi yapıldı. Yapılan tüm deneylerin en az üçer defa tekrarı gerçekleştirilmiştir.

Sonuç: !Kontrol besiyeri (blank) absorban aritmetik ortalamaları

! Tüm absorban - kontrol besiyeri ortalaması

! Kontrol hücre ve kontrol DMSO ortalamaları

! (Kontrol hücre ortalaması *100) / kontrol hücre ortalaması (DMSO ve üç tekrarlı tüm absorban değerleri için uygulandı)

Şekil 3.3. Kullanılan bütün hücre hatları için IC50 değer aralığı ve %'lik canlılık oran hesaplamaları. (Hesaplamalar Mikrossoft Excel programında yapılarak Graphpad prism programı ile grafikleri oluşturuldu)

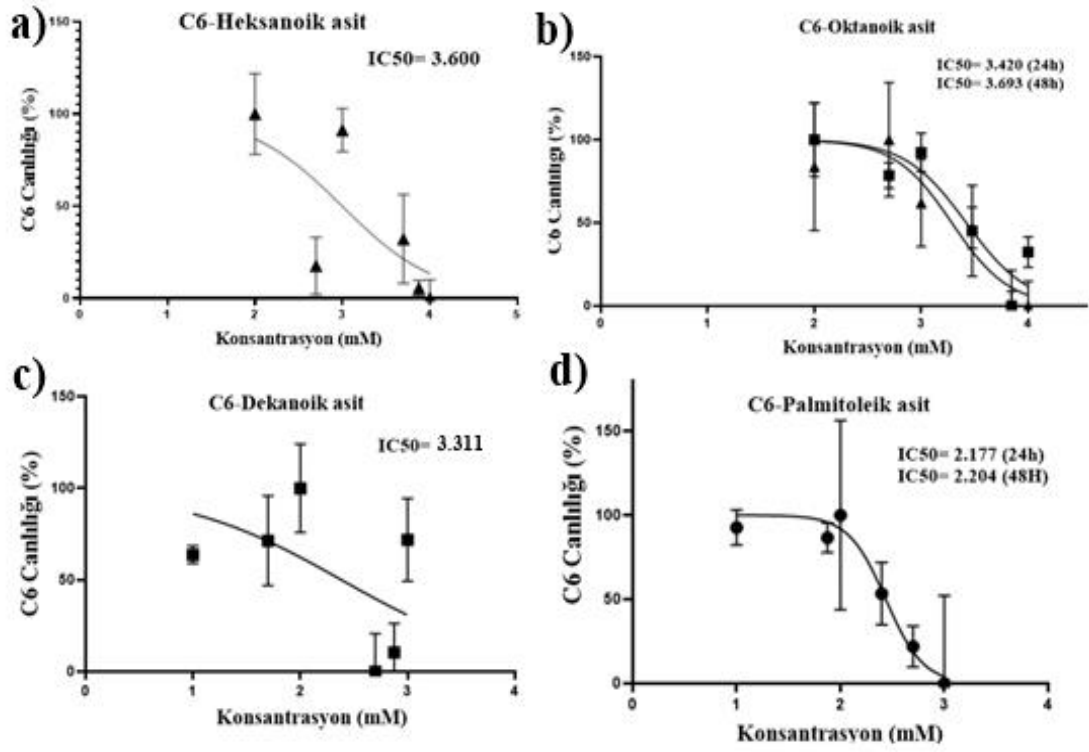
4. BULGULAR

4.1. Her Hücre Hattı için IC50 Aralığının Belirlenmesi

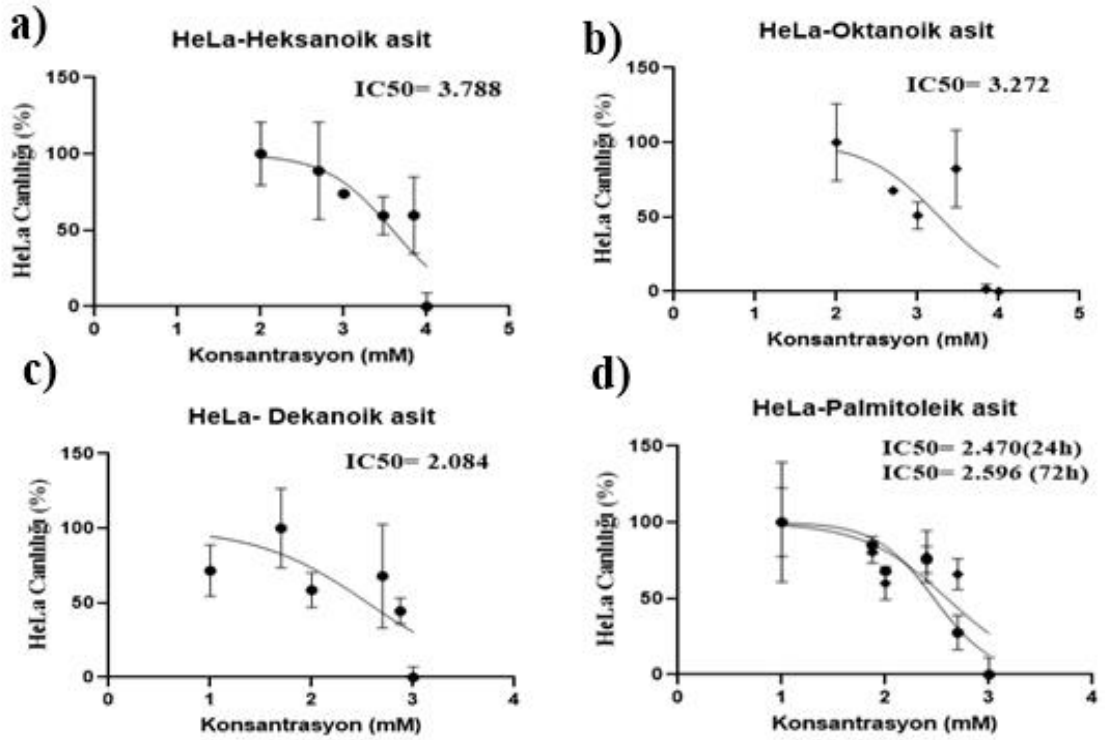
Kaprilik, kaproik, kaprik ve palmitoleik yağ asitlerinin kanser hücreleri üzerine olan inhibe edici aktivitesini araştırdığımız çalışmada, literatür taramalarında ve datashittede yer alan çözücü olarak DMSO içerisinde hazırlandı. Kullanılan çözücünün yağ asitlerinin hücre hatları üzerindeki aktivasyonunu etkileyip etkilemediği kontrol grubu olarak uygulanarak incelendi. Farklı konsantrasyon aralıklarında uygulanan yağ asitlerinin ic50 değer aralığı ve devamında oluşturulan ikili kombinasyonuna bağlı canlılık seviye analizi MTT assay ile değerlendirildi. IC50 konsantrasyonları (hücre canlılığının %50 inhibe edildiği aralık) Graphpad prism programında regresyon analizi hazırlanmıştır ve veriler Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Yağ asiti uygulanmış HeLa, HT-29 ve C6 hücre hatları canlılık %'lik seviyeleri ilaç uygulaması yapılmamış (besiyeri+hücre ve %99'luk DMSO+hücre) hücre hatlarının MTT sonrası elde edilen absorbans değerlerinin kıyaslanması ile sonuçlar hesaplanmıştır. Elde edilen veriler hesaplamalar sonrasında bar grafik çizelgesinde gösterilmiştir. IC50 değer aralığını belirlemek için heksanoik asit (100µM,500µM,1mM, 5mM, 7,5mM, 10mM), oktanoik asit (100µM, 500µM,1mM, 3mM, 7mM, 10mM) , dekanoik asit (10µM, 50µM, 100µM, 500µM, 750µM, 1 mM) ve palmitoleik asit (10µM, 75µM, 100µM, 250µM, 500µM, 1mM) konsantrasyonları uygulanmıştır. Uygulama sonrası elde edilen kayda değer en iyi sonuçlar Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Hücre canlılığının %50 inhibe edildiği MTT sonrası elde edilen verilerin IC50 değer aralığı çizelgesi

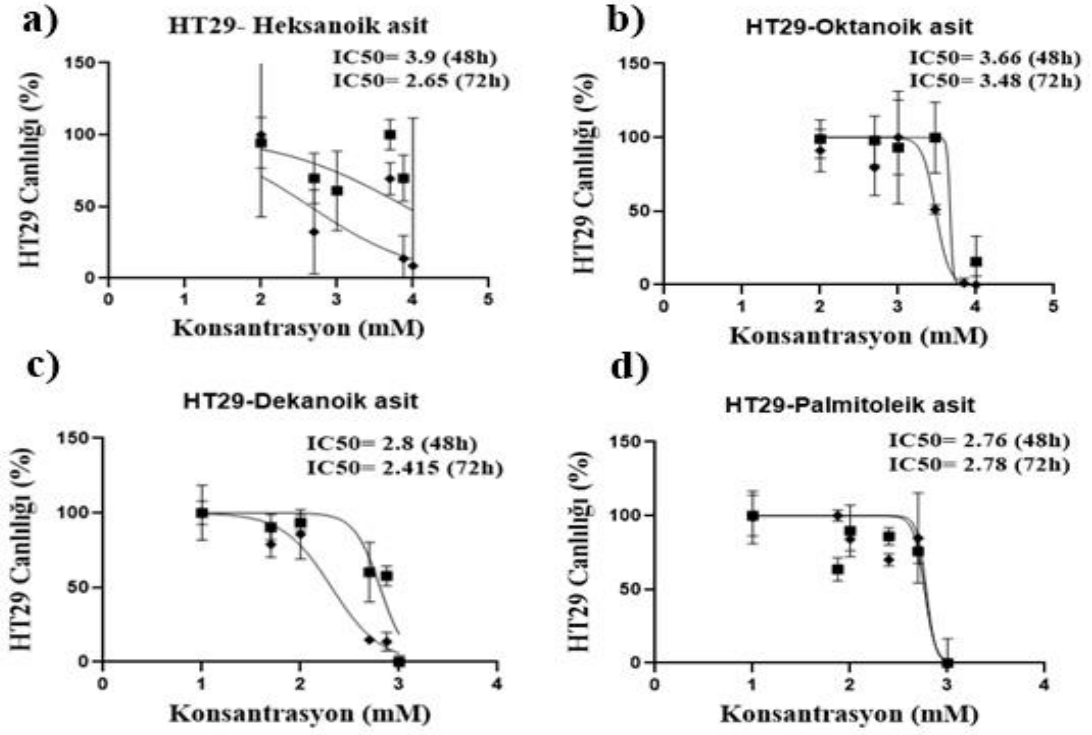
Yağ Asiti	HeLa- IC50	HT-29- IC50	C6- IC50
Hekzanoik Asit	3.788 mM (48h)	3.9 mM (48h) 2.65 mM (72h)	3.600 mM(72h)
Oktanoik Asit	3.272 mM (72h)	3.66 mM (48h) 3.48 mM (72h)	3.420 mM (24h) 3.693 mM (48h)
Dekanoik Asit	2.084 mM (48h)	2.8 mM (48h) 2.415 mM (72h)	3.311 mM (24h) 3.190 mM (72h)
Palmitoleik Asit	2.470 mM (24h) 2.596 mM (72h)	2.76 mM (48h) 2.78 mM (72h)	2.177 mM (24h) 2.204 mM (48h)



Şekil 4.1. C6 glioma kanser hücre hattının yağ asitleri muamelesi ile elde edilen MTT deneyi sonucu IC₅₀ doz-yanıt eğri grafikleri. a) 72 saatlik heksanoik asit muamelesi sonucu, b) 24-48 saatlik oktanoik asit muamelesi, c) 24 saatlik dekanoik asit uygulaması, d) 24 ve 48 saatlik palmitoleik asit uygulaması (Tablo 4.1'de verilen değerlerin C6 hücre hattı için IC₅₀ grafikleri)

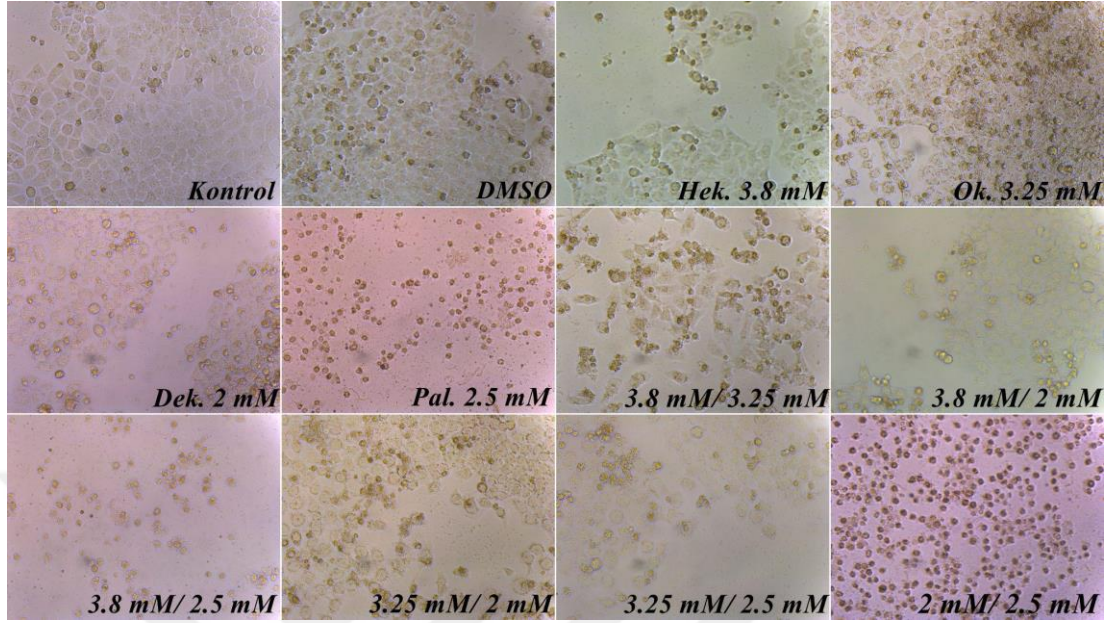


Şekil 4.2. HeLa servikal kanser hücre hattının yağ asitleri muamelesi ile elde edilen IC₅₀ doz-yanıt eğri grafikleri. a) 48 saatlik heksanoik asit muamelesi, b) 72 saatlik oktanoik asit muamelesi, c) 48 saatlik dekanoik asit uygulaması, d) 24 ve 72 saatlik palmitoleik asit uygulaması (Tablo 4.1'de verilen değerlerin HeLa hücre hattı için IC₅₀ grafikleri)

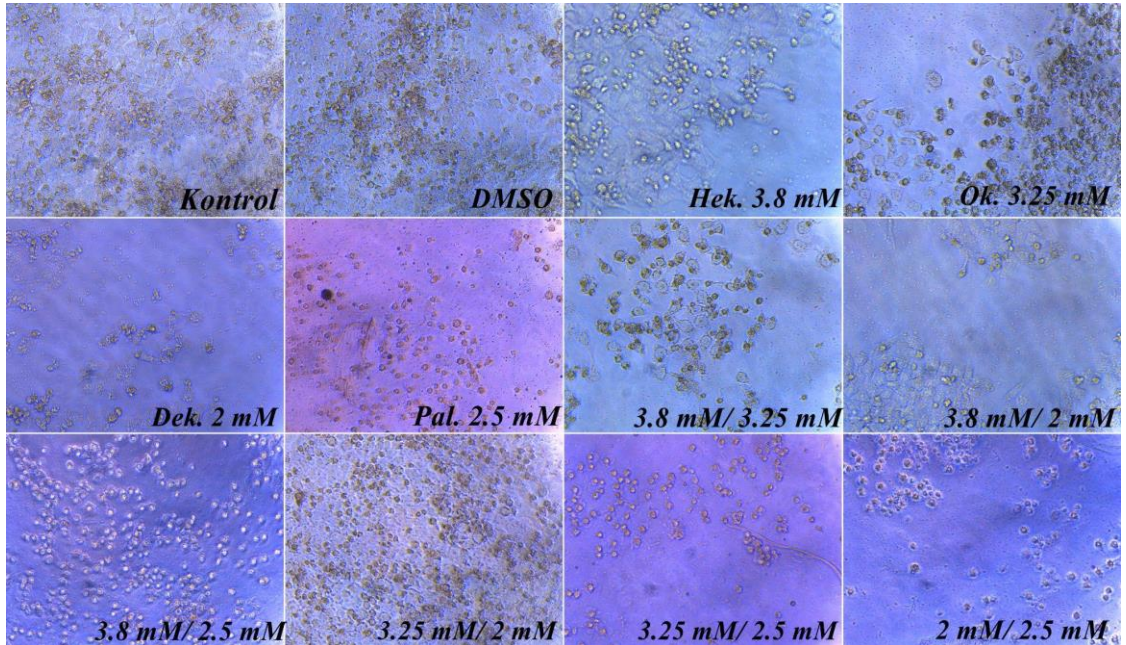


Şekil 4.3. HT-29 kolon kanser hücre hattının yağ asitleri muamelesi ile elde edilen IC₅₀ doz-yanıt eğri grafikleri. Sırasıyla heksanoik (a), oktanoik (b), dekanoik (c) ve palmitoleik (d) asitin 48 ve 72 saatlik inkübasyon muamelesi (Tablo 4.1'de verilen değerlerin HT-29 hücre hattı için IC₅₀ grafikleri)

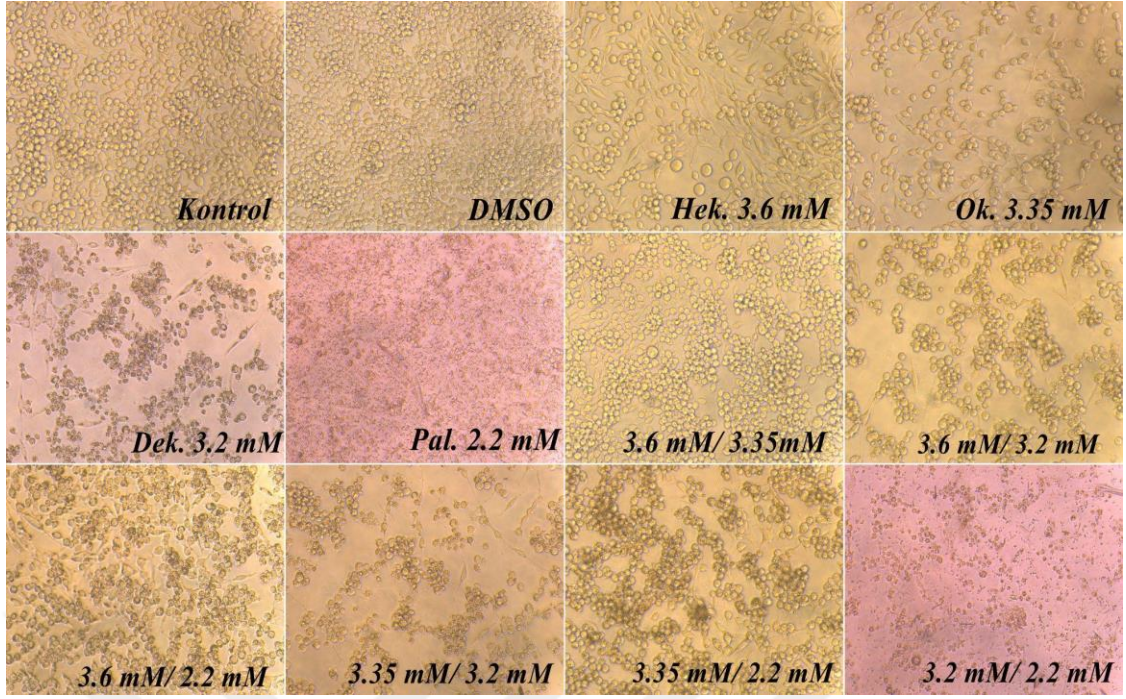
4.2. Hücre Hatlarında Oluşturulan İkili Kombinasyon Uygulamalarının MTT Analizi Öncesi Mikroskop Görüntüsü (20X'lik objektif, 200µm)



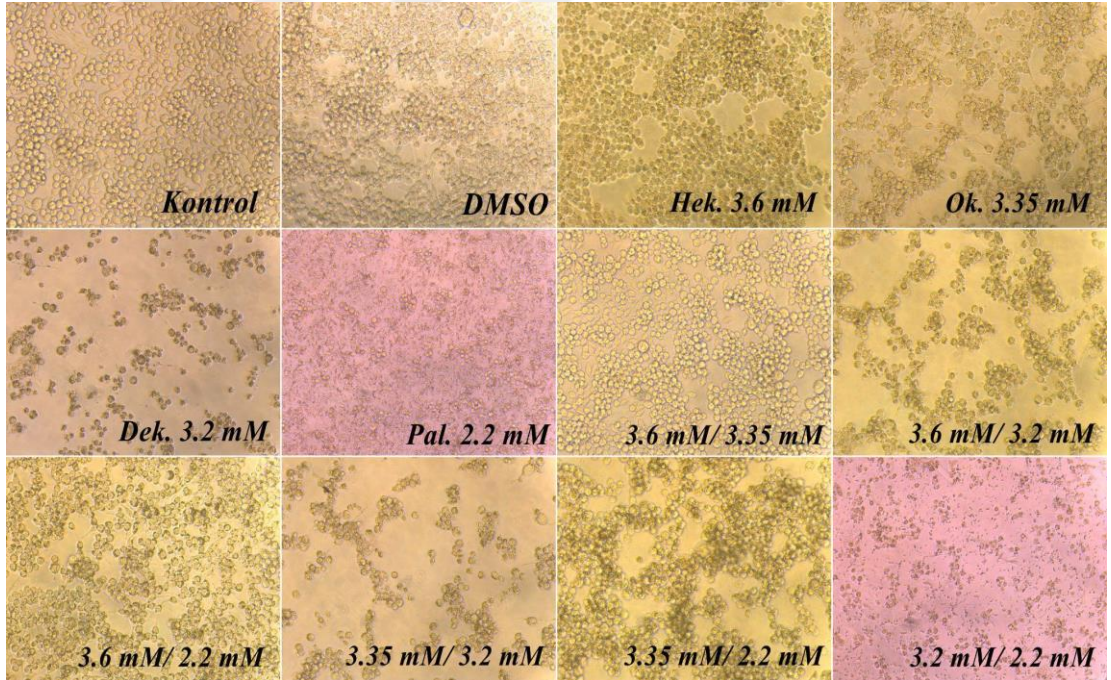
Şekil 4.4. HeLa Hücre hattının 48 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar



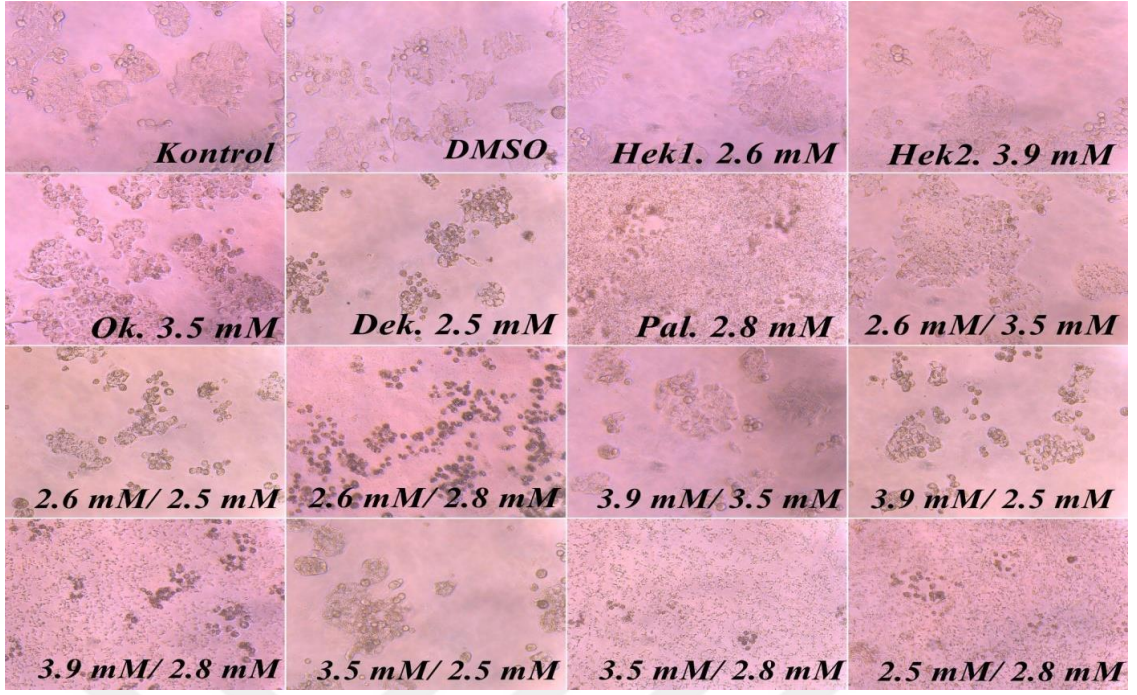
Şekil 4.5. HeLa Hücre hattının 72 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar



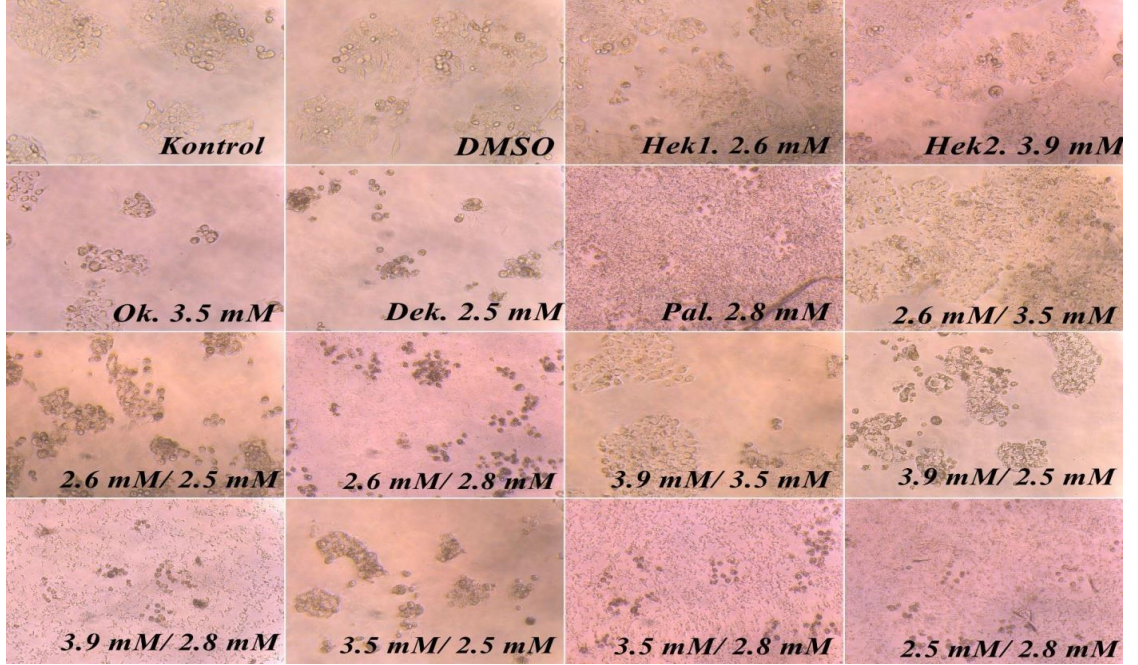
Şekil 4.6. C6 hücre hattının 48 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar



Şekil 4.7. C6 hücre hattının 72 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar



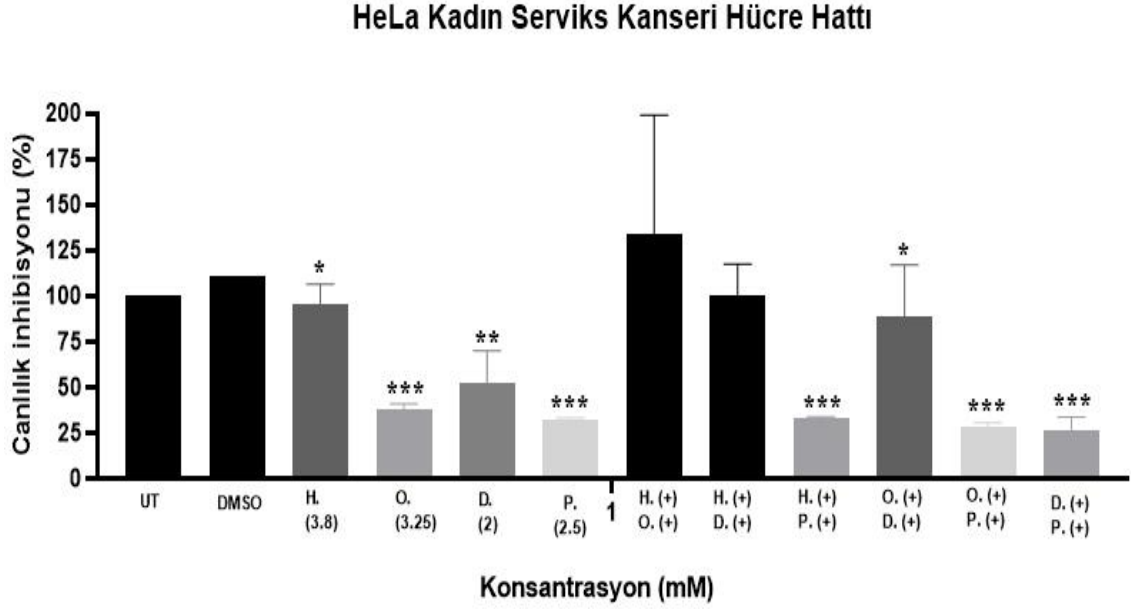
Şekil 4.8. HT-29 hücre hattının 48 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar



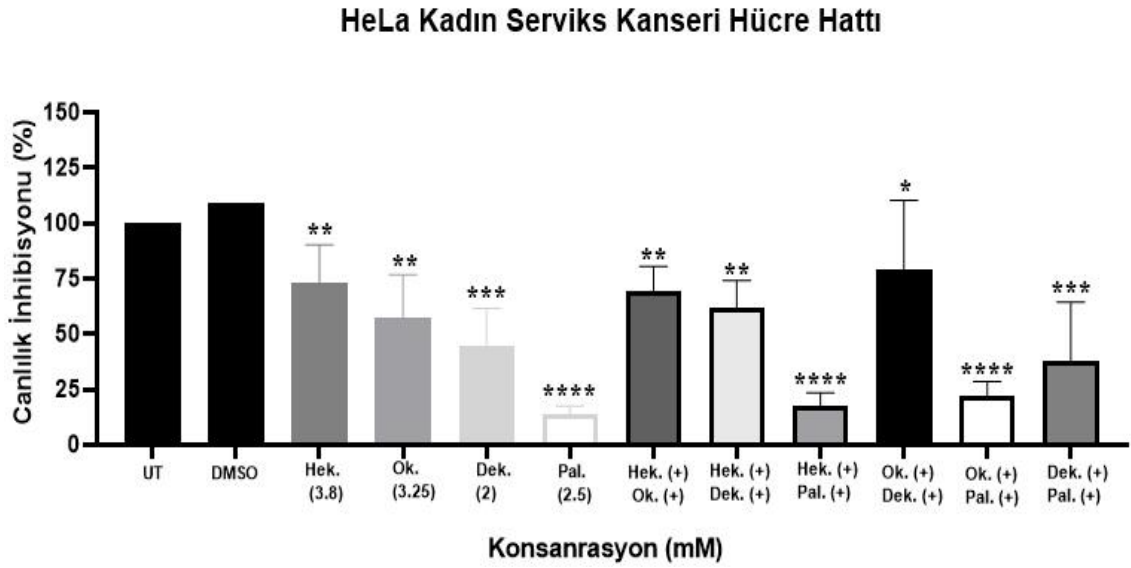
Şekil 4.9. HT-29 hücre hattının 72 saatlik ikili kombinasyon uygulamalarının ters ışık mikroskop görüntüleri. Kombinasyonda kullanılan tekli denemeleri ve kombinasyonlar

4.3. Yağ Asitlerinin İkili Kombinasyonlarının 48 ve 72 Saatlik İnkübasyon Sonrası MTT Analiz Sonuçları

A)

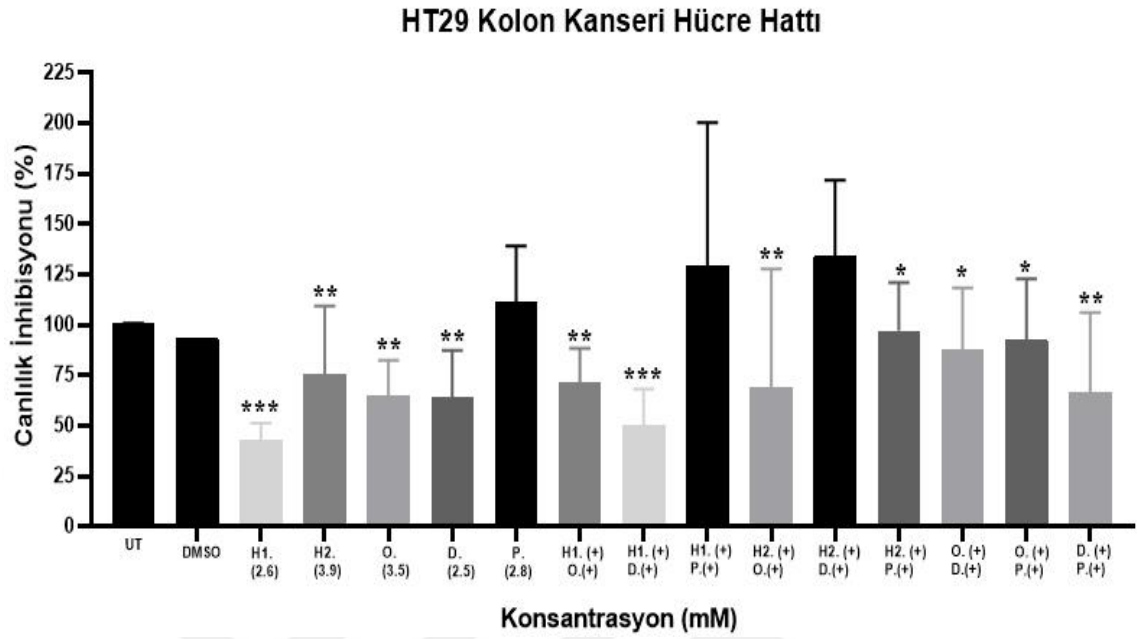


B)

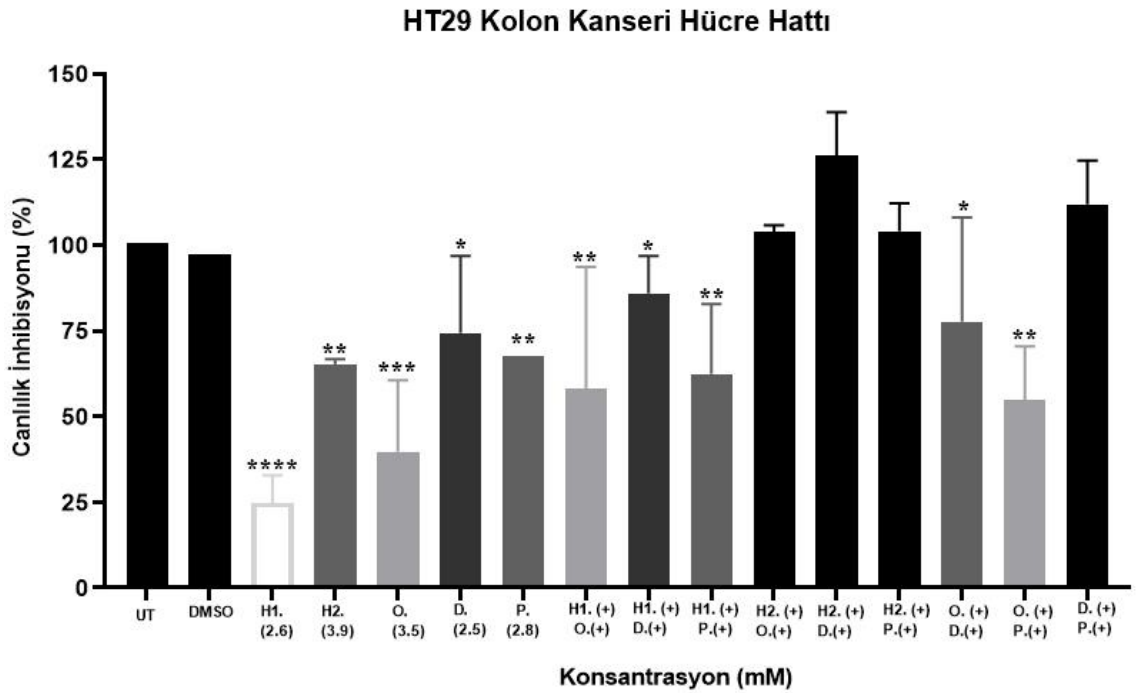


Şekil 4.10. HeLa kadın serviks kanseri hücre hattının muamele sonrası proliferasyonuna bağlı MTT sonuçları ile oluşturulan canlılık bar grafikleri. **A)** 48 saatlik inkübasyon canlılık verileri. **B)** 72 saatlik inkübasyon canlılık verileri. İstatistiksel veriler kontrol gruna kıyasla gerçekleştirildi (****: $P \leq 0.0001$; ***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$)

A)

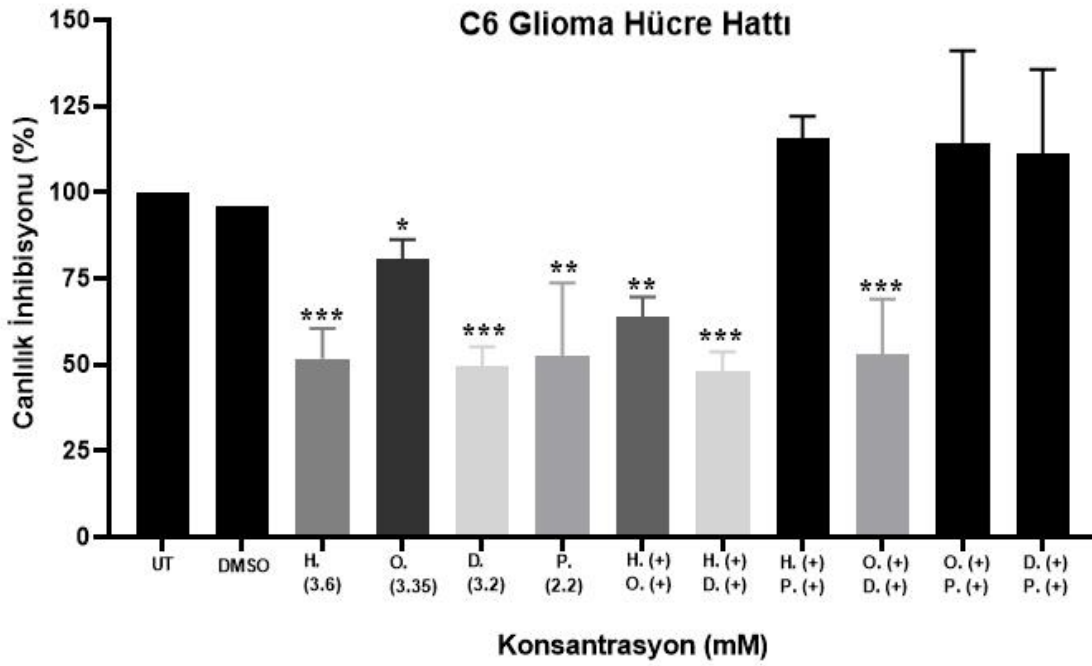


B)

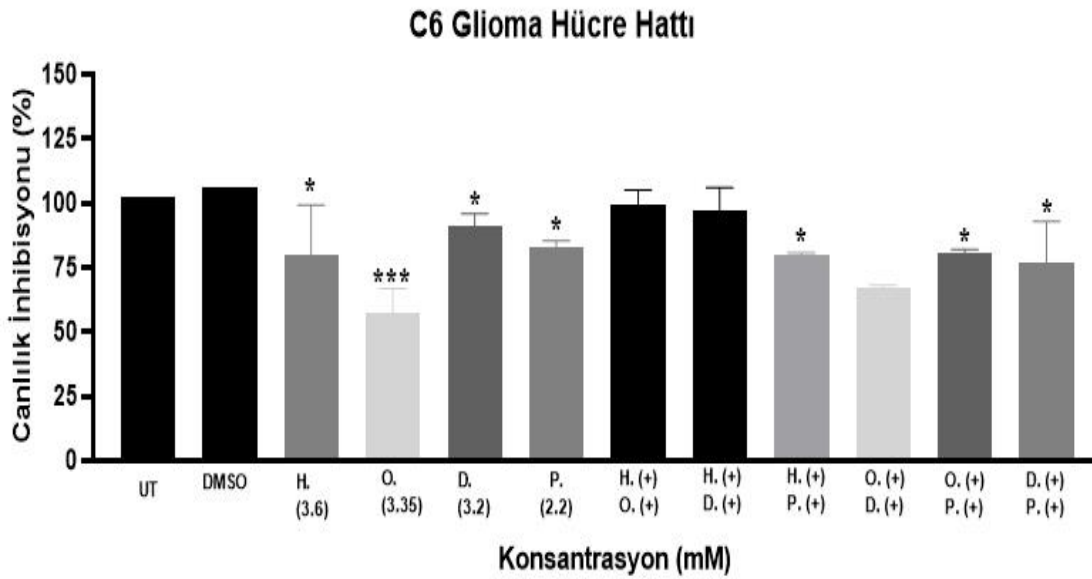


Şekil 4.11. HT-29 kolon kanseri hücre hattının muamele sonrası proliferasyonuna bağlı MTT sonuçları ile oluşturulan canlılık bar grafikleri. **A)** 48 saatlik inkübasyon canlılık verileri. **B)** 72 saatlik inkübasyon canlılık verileri. İstatistiksel veriler kontrol gruna kıyasla gerçekleştirildi (****: $P \leq 0.0001$; ***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$)

A)



B)



Şekil 4.12. C6 fare Glioma kanser hücre hattının muamele sonrası proliferasyonuna bağlı MTT sonuçları ile oluşturulan canlılık bar grafikleri. **A)** 48 saatlik inkübasyon canlılık verileri. **B)** 72 saatlik inkübasyon canlılık verileri. İstatistiksel veriler kontrol gruna kıyasla gerçekleştirildi (***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$)

5. TARTIŞMA-SONUÇ

Bu tez projesinde üç kanser hücre hattının 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarına dayalı IC50 eğim grafikleri farklı doz aralıklarında yağ asitleri ile muamele edilerek doz duyarlılıkları analiz edildi. Yağ asitlerinin tekli uygulamalarıyla proliferasyonlarının inhibisyonu üzerindeki etkin aralıkları belirlenerek hücre çoğalmasının azaldığı konsantrasyonlarda, kombinasyonlarının kontrol gruplarına kıyasla aktivite gösterip göstermeyeceği araştırıldı. Heksanoik asit, oktanoik asit, dekanoik asit ve palmitoleik asit dozları her hücre hattı üzerine uygulandı. Her hücre hattının (C6, HT-29, HeLa) proliferasyon süreci ve ilaç etkin mekanizmasının farklılığı göz önüne alınarak her biri ayrı ayrı dozlara tabi tutularak farklı veriler kaydedildi. Her hücre hattı için elde edilen IC50 grafik eğrisinde canlılıklarında %50 inhibisyon oluşturan yağ asiti dozları; C6; hekzanoik asit 3601, oktanoik asit 3420, 3693, dekanoik asit 3311/ 3190, palmitoleik asit 2177/ 2204, HT-29; hekzanoik asit 3900/ 2650, oktanoik asit 3667/ 3481, dekanoik asit 2807/ 2315, palmitoleik asit 2763/ 2781, HeLa; hekzanoik asit 3788, oktanoik asit 3272, dekanoik asit 2084, /palmitoleik asit 2470/ 2596 olarak analiz edildi. IC50 değer aralıklarının belirlenmesinin ardından en düşük ve eğim grafiği en belirgin olan IC50 değerleri baz alınarak ikili kombinasyonları oluşturuldu. Tüm deney aşamalarında olduğu gibi yine üç ayrı zaman aralığında (24, 48 ve 72 saatlik) inkübasyonlara tabi tutuldu.

Genetik bazı etkin değişiklikler sonucu malign özellik kazanan tümör hücrelerine karşı birçok yöntem denenmekte olup tedaviye başlangıçta olumlu sonuç alınabilme olasılığı ile beraber devamında hücre hatlarının uygulanan tekniğe veya moleküle karşı direnç kazanma ihtimali de beraberinde gelmektedir. Günlük yaşamımızda da tüketilen gıdalar ile vücuda alımı gerçekleşmekte olan yağ asitlerinin bu bağlamda daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Anti-mikrobiyal, anti-tümör, anti-oksidan gibi literatürde yer alan analiz edilmiş birçok önemli özelliği göz önünde bulundurulduğunda denenmemiş, analizi yapılmamış hücre hatlarında ve farklı uygulamalar sonucunda kayda değer sonuçlar alınabileceği hipotezini oluşturdu. Buna bağlı olarak üç hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin varlığı ve seviyesi analiz edildi.

Hücre proliferasyonunun ilerlemesi için önem arz etmekte olan hücre siklusu evrelerinin devam ederek bölünmenin gerçekleşebilmesi kontrol noktalarında yer alan ve spesifik görevleri olan gen yada genlerin ekspresyonu ile doğrudan ilişkilidir. Süreç genelinde hücre uyarımına bağlı olarak kontrol noktalarında bulunan genlerin ekspresyonu ile hücre bölünmesi gerçekleşmektedir. Kontrol altında tutulan evreler hücre homeostazisi, proliferasyonu, büyüme ve bölünme inhibisyonu ve apoptozis aşamaları ile devam ettirilmektedir. Büyüme kontrolünü sağlamakta olan protoonkogen ve onkogen protein ailesi sağlıklı hücrelerin bölünmelerinin düzenlenmesinde görev almaktadır. Bunun aksine hücre ilerlemesinde rol alan protoonkogen ailesinin onkogenlere dönüşümü kontrol mekanizmasını bozarak kanser hücre oluşumuna ve bölünerek çoğalmasına neden olmaktadır (Yokuş ve Çakır, 2012). Yağ asitleri üzerine gerçekleştirilmiş olan in-vitro çalışmalar sınırlı olmakla beraber, uygulanan hastalıkların üzerinde nasıl bir aktivasyon mekanizmasıyla etki ettiği tam olarak aydınlatılmamıştır. Fakat bütün yağ asitleri aktivasyonlarının artan karbon sayısı ve diğer yağ asitlerine kıyasla farklı bir şekilde metabolize edilerek taşınmalarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Orta zincirli

yağ asitlerinden laurik asitin ve dekanolik asitin terapötik ajan olarak kullanıldığı çalışmalarda ROS seviyesindeki artışa bağlı kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayarak apoptozisin gerçekleştiği analiz edilmiştir. Aynı zamanda mitokondriyal oksidatif stres oluşumunu engelleyerek kanser oluşumunu engellemektedir (Roopashree ve ark., 2021). ROS sinyali fosfatazlar, protein kinazlar ve daha birçok enzim tarafından katalizlenmekte olup başta kanser olmak üzere sayısız birçok işlemin aktivasyon ve inhibisyonundan sorumludur. ROS normal koşullarda metabolik yollarda oluşan fizyolojik bir durum olup hücrede fazla miktarda bulunduğu durumlarda lipid, protein yapılarında hasar ve DNA'nın yapısında mutasyonların varlığı görülmektedir (Saha ve ark., 2017). Tüm bu kaynakların doğrultusunda hücre hatlarına uygulanan yağ asitlerinin doza, zamana ve karbon atomu sayısına göre hücre canlılığını farklı oranlarda anlamlı bir biçimde azalttığı analiz edildi. Bu aktivasyonu spesifik protein ekspresyonları analiz edilmediği için ROS türlerine bağlı olarak apoptozis ile gerçekleştirdiğini ileri sürmek verilen kaynaklar doğrultusunda desteklenmektedir. Hücrelerin mitoz kontrol noktalarından G1/S veya G2/M fazında durdurulma yüzde oranları, hücre hatlarının her birinin kendi bölünme mekanizmasının farklı olması ile doğru orantılı olduğu bilgisine dayanılarak MTT analizi yöntemiyle canlılık grafikleri oluşturularak uygulanan ilaçların konsantrasyonları tekli yada kombinasyonları şeklinde kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Oluşturulan ikili kombinasyonların MTT canlılık sonuçlarına bakıldığında en anlamlı, inhibisyonun daha yüksek verimlilikle HeLa ve HT-29 hücre hatlarının inkübasyon sürelerinde gerçekleştiği analiz edildi. Sağkalım %'lik oranları kombinasyonu oluşturulan yağ asitlerinin tekli uygulamalarıyla kıyaslandığında ikili kombinasyonlarında inhibisyonun arttığı veya azaldığı farklı proliferasyon seviyeleri gözlemlendi. Bunlar arasında en yüksek oranda inhibisyonun gözlemlendiği HeLa hücre hattında 48 saatlik veri analizinde sırasıyla palmitoleik-dekanoik (%74), oktanoik- palmitoleik (%72) ve heksanoik- palmitoleik (%67) asit kombinasyon konsantrasyonlarında en anlamlı sitotoksititeyi oluştururken, tekli uygulamalarının aksine heksanoik- oktanoik ve heksanoik- dekanoik asit kombinasyonunda kontrol grubuna kıyasla toksik etki oluşturduğu tespit edilmiştir. 72 saatlik inhibisyon verilerinde ise tüm ikili kombinasyonların canlılık oranlarında %20-80 oranında azalma gözlemlenirken en iyi % 83 oranında heksanoik- palmitoleik, %78 oranında oktanoik- palmitoleik asit kombinasyonlarının inhibisyonu kaydedildi. HeLa hücre hattında diğer hücre hatlarına kıyasla denenmiş olan tekli yağ asitleri en yüksek inhibisyonu sergilemiştir. HT-29 hücre hattının 48 saatlik muamele sürecinde %30-50 aralığında gözlemlenen inhibisyonlar arasında heksanoik- palmitoleik asit kombinasyonu %50 azalma göstermiş olup, kontrol grubuna kıyasla toksik etkinin olduğu verilerde grafikte yer almaktadır. 72 saatlik inkübasyon verilerinde ise %35-45 oranında gerçekleştirilmiş iki kombinasyonda inhibisyon gözlemlenirken diğer verilerde toksik etki olduğu, hücre hattının uygulanan konsantrasyon aralıklarını tolere ettiği analiz edildi. C6 fare glioma hücre hattı verilerinde ise 48 saatlik inkübasyonda 72 saatlik inkübasyona kıyasla kombinasyonlarda %'lik olarak daha fazla inhibisyona ulaşılmıştır. Her iki süreç içinde %33-47 azalma varken, en iyi inhibisyon oktanoik-dekanoik asit ikili kombinasyonunda kaydedilmiştir. İki konsantrasyon aralığı denenmiş olan yağ asitlerinden düşük konsantrasyonlu olanların daha etkili olduğu görülmüştür.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde hücre hatlarının tolere edebildiği kombinasyon ve konsantrasyonlar mevcut olup farklılık gösterdiği analizine ulaşılmıştır. Tüm sonuçlar incelendiğinde hücre proliferasyonunda azalmanın gözlemlendiği kombinasyonlar için gen aktivasyon analizine dair veriler bulunmamakta olup, uygulanan yağ asitlerinin DNA parçalanmasına neden olması ile beraber hücre siklusunun G1 kontrol evresinde inhibe edilerek bölünme ve çoğalmanın durdurulması sonucu kayda değer biçimde apoptozun pozitif yönde aktivasyonunu sağladığını söylemek mümkündür.

Daha önceki çalışmalarda kombinasyonlar şeklide denemeler gerçekleştirilmemiş olup buna bağlı proliferasyonda görevli genlerin ekspres seviyelerinin ölçümü ileride yapılabilecek çalışmalar arasında yer alabilmektedir. Bu kapsamda elde edilen tüm MTT deney sonuçları değerlendirildiğinde özellikle HeLa hücre hattı üzerinde karbon sayısı ile olan aktivasyon ilişkisi kanser hücre proliferasyonunu baskıladığı ispatlanmış olup %78-81 'lik bir inhibisyonla vücudumuzda yaşla doğru orantılı olarak üretilen palmitoleik asit kombinasyonlarında kaydedilmiştir. C6 hücre hattı üzerine uygulanan kombinasyonlarda ise kurulan karbon sayısı ilişkisinin aksine düşük karbon sayısına sahip heksanoik ve dekanoik asittir. Analiz edilen sonuçlarda diğer çalışma sonuçları baz alındığında beklenen sitotoksik etkinin aksine proliferasyonun artmış olduğu özellikle HT-29 hücre hattında yüksek konsantrasyonda uygulanmış heksanoik asit kombinasyonlarında hücrelerin yağ asitlerine karşı direnç genlerindeki artışın yoğun stres şartlarında hayatta kalabilme mekanizmalarının aktivasyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Aktivasyonlarının temeli daha kolay sindirilmesi, safra asitlerine ihtiyaç duymamasına dayandırılmakta olup tedavilerde olumlu etkilerin olduğu birçok çalışma ile desteklenmektedir. Aynı zamanda orta zincirli yağ asitlerinin hücre zarı akışkanlığını diğer yağ asitlerine nazaran dahada arttırdığı ve madde alışverişini kolaylaştırıyor olması da kayda değer sonuçlar alınmasında analizleri desteklemektedir (Gümüş ve Yardımcı, 2018).

Yağ asitleri ile muamele edilen tüm hücre hatlarının proliferasyonu ve canlılığındaki inhibisyonun analiz edildiği verilerde %'lik inhibisyonun fazla olduğu durumlarda hücre bölünmesinin mitoz bölünme kontrol noktalarından biri olan G2/M evresinde durdurularak hücrelerin kontrollü hücre ölüm mekanizması olan apoptozuna sebep olmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında özellikle palmitoleik ve dekanoik asit ile oluşturulmuş olan kombinasyonların tekli deneme inhibisyonlarında desteklemekte olup antikanser ajan potansiyelinin diğer iki yağ asidine nazaran daha yüksek olduğu veriler doğrultusunda rapor edilmiştir. Antikanserojen ilaç denemelerinde spesifik hedefin tümör hücreleri olması amaçlanmakta ve beklenmektedir. Fakat çalışmaların temelinde sağlıklı normal hücreler üzerinde toksik etki göstermemesi istense de in-vitro hücre kültür çalışmalarında bunun aksi gözlemlenebilmektedir (Desai ve ark., 2008). Antikanser ajanların hücreler üzerindeki proliferasyon seviyesini yüzdelik olarak ölçmek için kullanılan MTT analizi gerçekleştirilmiştir. Geniş çapta ve sıklıkla kullanılmasına rağmen hücreler üzerinde proliferasyonu inhibe edici yada indükleyici yönde gerçekleşmekte olan mekanizmaların hangi gen lokalizasyonunda olduğu bilinmemekte ve spesifik olarak analizi gerçekleştirilememektedir.

Yağ asitlerinin çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun insan sağlıklı hücre hattında toksik etki oluşturacağı düşünülerek stoktaki ilaçlar besiyeri ile seyreltilerek uygulamaya geçildi. İnsanların diyet dönemlerinde tükettikleri antioksidan aktiviteye sahip bitki, bitki özütleri ve bu çalışmada da ele alınmış olan yağ asiti içeriğince zengin besinlerin tümör gelişim ve ilerlemesini inhibe ettiği, kalp ve damar rahatsızlıklarının tedavisinde başarılı sonuçlarla karşılaştığı çalışmalarla desteklemekte olup araştırmalara devam edilmesi gereken konular arasındadır.

Literatürde yer alan farklı hücre hatları üzerinde değişik konsantrasyonlarda ve tekli olarak yağ asitlerinin denenmiş olduğu çalışmalar mevcuttur. Orta zincirli yağ asitlerinin tekli olarak denenmiş olduğu kolorektal, meme ve deri kanseri hücre hatları üzerinde hücre proliferasyonunu % 70-90 aralığında azalttığı MTT canlılık testi ile rapor edilmiş olup RT-qPCR analiziyle spesifik bazı gen aktivasyonlarıyla desteklenmiştir (İto ve ark., 1982). Bu çalışmalar yaptığımız bu çalışmada alınan tekli deneme sonuçlarını destekler niteliktedir. İn-vitro hücre kültürü çalışmalarında uygulanan ilaç tedavi dozlarının hücreler üzerinde oluşturduğu sitotoksik etki, proliferasyon ve canlılık seviyesinin belirlenmesinde çoğunlukla MTT analizi kullanılmaktadır. MTT solüsyonunun kültürde bulunan terapötik ajanlara tabi tutulmuş hücreler tarafından mor formaza dönüştürülmesi zamana bağlı olarak gerçekleştiği için inkübasyon süresine protokolda bildirildiği gibi uzun ve uygun olmasına dikkat edildi. Aynı zamanda canlılık saptama reaktiflerinin yapısı gereği oluşturabileceği sitotoksik etki göz önünde bulundurularak kuluçka süresi olabildiğince hassas gerçekleştirildi.

Gerçekleştirilmiş olan bu çalışmada moleküler yağ asit ajanlarının ele alınan farklı hücre hatlarında ikili kombinasyon şeklinde oluşturmuş olduğu sitotoksik etkiye bağlı apoptoz veya otofajik hücre ölüm mekanizmalarına yönlendirilmesi beklenmektedir. Spesifik olarak pro-apoptotik, apoptotik ve otofajik yolaklarda rol alan gen analizi yapılmadığı için net bir veri sunulamamıştır. Fakat MTT hücre canlılık analiz sonuçlarıyla hücre hatlarının oluşturduğu %'lik azalma oranlarına bağlı olarak apoptoza yönlendirmiş olduğunu söylemek mümkündür.

Sonuçlar göz önüne alındığında mikroskop görüntüleri ile de desteklenmekte olan MTT sonuçlarında, konsantrasyonlara ve hücre hattına bağlı olarak hem pozitif hem negatif inhibisyonun gözlemlendiği kombinasyonların hücre hatları üzerinde hangi oranda anti-tümör aktivite gösterdiği bu çalışmayla saptanmış oldu. Çözücü ve konsantrasyonlara bağlı olarak yapılacak olan yağ asiti kombinasyon uygulamalarının gerçekleştirilmesi ile kayda değer sonuçların elde edilebileceğini söylemek mümkündür. Herbir kombinasyon uygulamasının enaz üçer tekrarlı olacak şekilde uygulanmasına rağmen farklı düşük doz aralıklarının tekrar denemesinin yapılması yapılabilecek ileri dönük çalışmalar arasında yer almaktadır. Buna ek olarak yağ asitlerinin antitümör mekanizmasını aydınlatmak için hücre döngüsü kontrol noktalarında rol olan spesifik genlerin ekspresyon seviyeleri üzerine Real Time PCR, western blot (p53, kaspaz aktivasyonları, Bcl-2 gen ailesi), ROS assay, vb. teknikler uygulanarak hücre sinyal mekanizmaları ile ilişkisi analiz edilerek birçok deneme için zemin oluşturmakta olup

in-vivo deneylerle de desteklenebilmektedir. Gelecekte yapılabilecek in-sliko ve in - vivo modellerde antikanser aktivasyonları doğrulanacaktır.

.



6. KAYNAKLAR

- Aissous, I., Benrebai, M., Cacan, E., Caglar, B., Erenler, R., Ameddah, S., Benayache, S., Benayache, F. & Bensouici, C. (2021). Antioxidant and antiproliferative activities of the n-butanol extract of *Centaurea maroccana* Ball aerial parts. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 34(1) 5-11.
- Ali, M. W., Cacan, E., Liu, Y., Pierce, J. Y., Creasman, W. T., Murph, M. M., ... & Hooks, S. B. (2013). Transcriptional suppression, DNA methylation, and histone deacetylation of the regulator of G-protein signaling 10 (RGS10) gene in ovarian cancer cells. *PloS one*, 8(3), e60185.
- Aliustaoğlu, M., 2009. Temel kanser fizyopatolojisi. *Klinik Gelişim Dergisi* ; 22(3): 46-49.
- Al-Janabi, A. S., Alheety, M. A., Osama'a, A. Y., Shaaban, S., Kibar, B., & Cacan, E. (2020). Anti-cancer and anti-fungal evaluation of novel palladium (II) 1-phenyl-1H-tetrazol-5-thiol complexes. *Inorganic Chemistry Communications*, 121, 108193.
- Altıntaş, A., 2013. Lipid Metabolizması. Bykmya II-Ders Notları, https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1026/mod_resource/content/1/8.%20Lipid-metabol.pdf (23.11.21).
- Anonim, Kolorektal Kanser Taramaları. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/yayinlar/raporlar/kolorektal.pdf>, (05.12.2021)
- Anonim, Süt Yağı. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/105270/mod_resource/content/1/3.%20S%C3%BCt%C3%BCn%20Nitelikleri-II.pdf, (05.12.2021)
- Anonim, 2018. <https://www.saglik.gov.tr/TR,11587/kanser-istatistikleri-2003-2004-2005.html> (18.09.2021).
- Aslan, G., 2010. Tümör İmmünolojisi. *Türk. J. Immunol.*, 15(1), 7-13.
- Bach, A. C., Babayan, V. K., 1982. Medium-chain triglycerides: an update. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 36, 5, 950–962.
- Başpınar, M., 2015. Kanserli kolon hücre dizisinde seranib-2 maddesinin apoptoz oluşumuna ve hücre yaşamına olası etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, 1-56.
- Bath, A. C., Ingenbleek, Y., Frey, A., 1996. The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy?. *Journal of Lipid Research*, 37.
- Baykara, O., 2016. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balikesir Sağlık Bil Derg*, 5, 3.
- Belfiore, Cappello, A. R., Maggolini, M., 2017. The lauric acid-activated signaling prompts apoptosis in cancer cells. *Cell Death Discovery*, 3, 17063.

- Berkel, C., & Cacan, E. (2021-a). Estrogen- and estrogen receptor (ER)-mediated cisplatin chemoresistance in cancer. *Life sciences*, 286, 120029.
- Berkel, C., & Cacan, E. (2021-b). Metastases from metastases: comparative metastatic potential of human cancer cell lines originated from primary tumors or metastases in various tissues. *Journal of cell communication and signaling*, 15(3), 461–464.
- Cabadak, H., 2008. Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* ; 9(3) : 51 - 61.
- Cacan, E., Ali, M. W., Boyd, N. H., Hooks, S. B., & Greer, S. F. (2014). Inhibition of HDAC1 and DNMT1 modulate RGS10 expression and decrease ovarian cancer chemoresistance. *PloS one*, 9(1), e87455.
- Cacan, E., Spring, A. M., Kumari, A., Greer, S. F., & Garnett-Benson, C. (2015). Combination Treatment with Sublethal Ionizing Radiation and the Proteasome Inhibitor, Bortezomib, Enhances Death-Receptor Mediated Apoptosis and Anti-Tumor Immune Attack. *International journal of molecular sciences*, 16(12), 30405–30421.
- Çağlar, A., Tomar, O., Ekiz, T., 2017. Bütirik Asit: Yapısı, Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Kocatepe Vet J*; 10(3): 213-225.
- Calder, P. C., 2013. Long chain fatty acids and gene expression in inflammation and immunity. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*: 16; 4;425-433.
- Calviello, G., Serisi, S., Piccioni E., 2007. n-3 polyunsaturated fatty acids and the prevention of colorectal cancer: molecular mechanisms involved. *Current Medicinal Chemistry*, 14, 3059-3069.
- Chanmugam, P., Boudreau, M., Boutte, T., Park, R. S., Hebert, J., Berrio, L., Hwang, D. W. 1992. Incorporation of different types of omega-3 fatty acids into tissue lipids of poultry. *Poultry Science* 71: 516-521.
- Chapkin, R. S., McMurray, D. N., Lupton, J. R., 2007. Colon cancer, fatty acids and anti-inflammatory compounds. *Current Opinion in Gastroenterology*, 23:48–54.
- Damiano, F., De Benedetto, G. E., Longo, S., Giannotti, L., Fico, D., Siculella, I., Giudetti, A. M., 2020. Decanoic Acid and Not Octanoic Acid Stimulates Fatty Acid Synthesis in U87MG Glioblastoma Cells: A Metabolomics Study. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 783.
- Demirci, M., 2018. Broyler Rasyonlarına Orta Zincirli Yağ Asitleri İlavesinin Performans Ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri, Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- Demirdöğen, E., 2013. Meme Kanserinde Hoxb13 Ve Il17br Genlerinin Ve Bu Genler İle İlişkili Mirna'ların Prognostik Ve Prediktif Önemi. Yüksek Lisans Tezi.
- Desai, A. G., Ghulam, N. Q., Ramesh, K. G., 2008. "Medicinal plants and cancer chemoprevention. *Curr Drug Metab*" 9: 581-591.

- Dinçel, G. Ç., Kul, O., 2016. Patolojik Apoptozis Ve Tanı Yöntemleri. Gümüşhane University Journal Of Health Sciences, 5(1).
- Ebert, D., Haller, R. G., Walton, M. E., 2003. Energy Contribution of Octanoate to Intact Rat Brain Metabolism Measured by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Journal of Neuroscience; 23 (13) ;5928-5935.
- Fetterman, Zdanowicz, 2009, Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists 66(13):1169-79.
- Fielding, Frayn, B. A., Keith, N., 2003. Lipid metabolism. Current Opinion in Lipidology;14;4, 389-391.
- Gasser, S., Orsulic, S., Brown, E.J. ve Raulet, D.H., 2005. The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D receptor. Nature; 436 (7054): 1186-90.
- Gazi, C., Tapul, L., 2006. C6 Sıçan Glioma Hücreleri Üzerine Aloe Emodin Ve Cisplatinin Etkilerinin İki Ve Üç Boyutlu Hücre Kültür Modellerinde İncelenmesi. İst Tıp Fak Derg ; 69:110-116.
- Gheythanchi, E., Naseri, M., Karimi-Busheri, F., Atyabi, F., Mirsharif, E. S., Bozorgmehr, M., Ghods, R., Madjd, Z., 2021. Morphological and molecular characteristics of spheroid formation in HT-29 and Caco-2 colorectal cancer cell lines. *Cancer Cell International*, 21, 204, 2773; 7.
- Ghodrati, F., 2019. Celastrol'ün Yağ Asiti Sentaz Yolağı Üzerindeki Etkilerinin Hela Servikal Kanser Hücrelerinde Tanımlanması. Moleküler Biyoloji Ve Genetik Yüksek Lisans Programı, Yüksek Lisans Tezi.
- Güleşci, N., Aygöl, İ., 2016. Beslenmede Yer Alan Antioksidan ve Fenolik Madde İçerikli Çerezler. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 5(1): 109-129.
- Gültekin, N., Karaoğlu, K., Küçükateş, E., 2008. Hücrede Apoptoz ve Sağkalım Mekanizmalarının Keşfedilmesi ve Yeni Potansiyel Tedavi Stratejileri. Türk Kardiyol Dern Arş;36(2): 120-130.
- Gümüş, A. B., Yardımcı, H., 2018. Bazı Kronik Hastalıklarda Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Kullanımı. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi; 3(3): 25-29.
- Hadjira, S., Mansour, A., Berkel, C., Seghiri, R., Menad, A., Benayache, F., ... & Ameddah, S. (2021). Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxic Properties of *Centaurea africana* Lamk var.[Bonnet] M. Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents), 20(1), 89-100.
- Hoshimoto, A., Suzuki, Y., Katsuno, T., Nakajima, H., Saito Y., 2002. Caprylic acid and medium-chain triglycerides inhibit IL-8 gene transcription in Caco-2 cells: comparison with the potent histone deacetylase inhibitor trichostatin A. British Journal of Pharmacology, 136, 280 ± 286.

- Huang, HL., Hsing, HW., Lai, TC., Chen, YW., Lee, TR., Chan, HT., Lyu, PC., Wu, CL., Lu, YC., Lin, ST., Lin, CW., Lai, CH., Chang, HT., Chou, HC., Chan, HL., 2010. Trypsininduced proteome alteration during cell subculture in mammalian cells. *Journal of Biomedical Science*, 17: 36.
- İçli, F., Akbulut, H., 2005. Onkolojiye Giriş. İniliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G ve ark. eds. İç Hastalıkları. Güneş Kitapevi, 2007-2014.
- Ito, H., Kasama, K., Nasure, S., Shimura, K., 1982. Antitumor effect of palmitoleic acid on Ehrlich ascites tumor. *Cancer Letters*, 17;2, 197-203.
- Kamisaka, Y., Kimura, K., Uemura, H., Yamaoka, M., 2014. Addition of methionine and low cultivation temperatures increase palmitoleic acid production by engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 99:201-210.
- Karagöz, I. D., 2004. Hücre Siklusu. <https://akbis.gantep.edu.tr/yonetim/upload/files/40503-6729.pdf>, (23.12.2021).
- Katan, M. B., Zock, P. L., Mensink, R. P., 1995. Dietary oils, serum lipoproteins, and coronary heart disease. *Am J Clin Nutr*;61:1368;73.
- Kendall, A. C., Pilkington, S.M., Massey, K. A., Sassano, G., Rhodes, L. E., Nicolaou, A., 2015. Distribution of Bioactive Lipid Mediators in Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 135, 1510–1520.
- Kirtikar, K. R., Basu, B.D.,1975. Indian medicinal plants. India, Dehradun.
- Kou, L., He, Z., Sun, J., 2020. Special topic: Emerging role of transporters in drug interaction and delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*; 15 (2);145-157.
- Kou, L., Jiang, X., Huang, H., Lin, X., Zhang, Y., Yao, Q., Ruijie, C., 2020. The role of transporters in cancer redox homeostasis and cross-talk with nanomedicines. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*; 15;2, 145-157.
- Kucuk, B., Kibar, B., & Cacan, E. (2021). A broad analysis in clinical and in vitro models on regulator of G-protein signalling 10 regulation that is associated with ovarian cancer progression and chemoresistance. *Cell biochemistry and function*, 39(3), 413–422.
- Küçükersan, S., 2020. Lipitler ve Metabolizması. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/74553/mod_resource/content/0/LIPI_DLER-SEHER-KUCUKERSAN.pdf, (25.10.2021).
- Küçüköner, M., Işıkdogan, A., 2013. mTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in the treatment of cancer. *Dicle Medical Journal*, 40 (1): 156-160.
- Kremmyda, L-S., Tvrzicka, E., Stankova, B., Zak, A., 2011. Fatty Acids As Biocompounds: Their Role In Human Metabolism, Health And Disease – A Review. Part 2: Fatty Acid Physiological Roles And Applications In Human Health And Disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 155(3):195-218.

- Lappano, R., Sebastiani, A., Cirillo, F., Rigiracciolo, D. C., Galli, G. R., Curcio, R., Malaguarnera, R., Belfiore, A., Capello, A. R., Maggiolini, M., 2017. The lauric acid-activated signaling prompts apoptosis in cancer cells. *Cell Death Discovery*, 3, 17063.
- Leyva, M. O., Vicedo, B., Finiti, I., Flors, V., Del Amo, G., Real, M. D., García-Agustín, P., González-Bosch, C., 2008. Preventive and post-infection control of *Botrytis cinerea* in tomato plants by hexanoic acid. *Plant Pathology*, 57; 1038–1046.
- Lim, G. P., Calon, F., Morihara, T., Yang, F., Teter, B., Ubeda, O., Salem Jr, N., Frautschy, S. A., Cole, G. M., 2005. A Diet Enriched with the Omega-3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid Reduces Amyloid Burden in an Aged Alzheimer Mouse Model. *The Journal of Neuroscience*, 25(12):3032–3040.
- Lima, T.M., Kanunfre, C.C., Pompeia, C., Verlengia, R., Curi R., 2002. Ranking the toxicity of fatty acids on Jurkat and Raji cells by flow cytometric analysis. *Toxicology in Vitro*, 16, 741–747.
- Liu, J. J., Green, P., Mann J. J., Rapoport, S. I., Sublette, M. E., 2015. Pathways of polyunsaturated fatty acid utilization: Implications for brain function in neuropsychiatric health and disease. *Brain research* 1597, 220-246.
- Marten, B., Pfeuffer, M., Schrezenmeir, J., 2006. Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16, 11, 1374-1382.
- McGettigan, P., Henry, D., 2006. Cardiovascular risk and inhibition of cyclooxygenase: a systematic review of the observational studies of selective and nonselective inhibitors of cyclooxygenase 2. *Jama*, 296(13): 1633-1644.
- Meer, G., Voelker, D. R., Feigenson, G. W., 2008. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*; 9;112–124.
- Miyagawa, Y., Mori, T., Goto, K., Kawahara, I., Fujiwara-Tani, R., Kishi, S., Sasaki, T., Fujii, K., Ohmori, H., Kuniyasu, H., 2018. Intake of medium-chain fatty acids induces myocardial oxidative stress and atrophy. *Lipids in Health and Disease*; 17:258.
- Narayanan, A., Baskaran, S. A., Amalaradjou, M.A.R., Venkitanarayanan, K., 2015. Anticarcinogenic Properties of Medium Chain Fatty Acids on Human Colorectal, Skin and Breast Cancer Cells in Vitro. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 5014-5027.
- Nigg, E. A., 1995. "Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle.". *Bioessays*, 17.6: 471-480.
- Oktay, Z., 2011. E Vitamininin Sıçan C6 Glioma Hücreleri Üzerindeki Apoptoz İndükleyici Etkisi. Yüksek Lisans Tezi.
- Özgül, N., 2019. Dünya ve Türkiye’de Kanser. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı.

- Passos, M. E. P., Alves, H. H. O., Momesso, C. M., Faria, F. G., Murata, G., Cury-Boaventura, M. F., Hatanaka, E., Massao-Hirabara, S., Gorjão, R., 2016. *Lipids in Health and Disease*,15, 217, 2173:21.
- Philippoussis, F., Przybytkowski, E., Fortin, M., Arguin, C., Pande, SV., Steff, A-M., Hugo, P., 2001. Derivatives of monoglycerides as apoptotic agents in T-cells. *Cell Death & Differentiation*;8, 1103–1112.
- Pinar, R., 2003. Assesment of Quality of life in Turkish patients with cancer. *Turkish Journal Of Cancer* ; 33(2): 96-101.
- Pourgholami, M. H., Akhter, J., Wang, L., Lu, Y., Morris, D. L., 2005. Antitumor activity of albendazole against the human colorectal cancer cell line HT-29: in vitro and in a xenograft model of peritoneal carcinomatosis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* volume 55, 425–432, 1163;74.
- Reed, SÍ., 2008. Cell Cycle. In: DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA; eds. *Cancer*. 8 th Ed. Philadelphia: Lippicott - Williams & Wilkins, 79-92.
- Ringer, D. P., Schnipper, L. E., 2001. Principles of Cancer Biology. In: Lenhard RE, Osteen RT, Gansler T;eds. *Clinical Oncology* Atlanta: American Cancer Society; 21-35.
- Roopashree, P.G., Shetty, S. S.,Kumari, N. S., 2021. Effect of medium chain fatty acid in human health and disease. *Journal of Functional Foods*, Volume 87, 104724.
- Rustan, A. C., Dreven, C. A., 2005. Fatty Acids: Structures and Properties. *Encyclopedia Of Life Sciences*.
- Saha, S.K., Lee, S.B., Won, J., Choi, H.Y., Kim, K., Yang, G.M., Dayem, A.A. ve Cho, S. G., 2017. Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1544.
- Saygi, K. O., & Cacan, E. (2021). Antioxidant and cytotoxic activities of silver nanoparticles synthesized using *Tilia cordata* flowers extract. *Materials Today Communications*, 27, 102316.
- Sharma, R., 2020. An examination of colorectal cancer burden by socioeconomic status: evidence from GLOBOCAN. *EPMA Journal* 11(1): 95-117.
- Smith, J.A., Martin, L., 1973. Do cells cycle?, Departments of Hormone Biochemistry and Hormone Physiology (Endocrine Group), Imperial Cancer Research Fund, Lincoln's Inn Fields, London WC2A 3PX England. *Proc Natl Acad Sci U S A*;70:1263-7.
- St-Onge, M., Jones, P. J. H., 2002. Physiological Effects of Medium-Chain Triglycerides: Potential Agents in the Prevention of Obesity. *The Journal of Nutrition*, 132,3,329–332.
- Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., Macia, L., 2014. Chapter Three - The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease. *Advances in Immunology*, 121; 91-119.

- Tepe, B., Biyoloji, Campbell & Reece, <http://bektastepe.net/course-slides/12-hucre-dongusu.pdf>, (04.12.2021).
- Terzioğlu, G., Keskin, A. Ü., Demirel, G. Y., 2013. Hücre Proliferasyonu Ölçüm Yöntemleri ve Çeşitli Ticari Proliferasyon Kitlerinin Karşılaştırılması. *Türk J Immunol*;1(3):74-89.
- Traul, K.A., Driedger, A., Lingle, D., Nakhasi, D., 2000. Review of the toxicologic properties of medium-chain triglycerides. *Food and Chemical Toxicology*;38(1): 79-98.
- Wang, J., Wu, X., Simonavicius, N., Tian, H., Ling, L., 2006. Medium-Chain Fatty Acids As Ligands For Orphan G Protein-Coupled Receptor GPR84. *The Journal Of Biological Chemistry*;281:45;34457–34464.
- Winawer, S.J., Sherlock, P., 2007. Best practice and research clinical gastroenterology. *Colorectal cancer screening*, 21, 6: 1031.
- Xiang, M. SW., Tan, J. K., Macia, L., 2019. Fatty Acids, Gut Bacteria, and Immune Cell Function. *The Molecular Nutrition of Fats*,151-164.
- Xue, M., Ge, Y., Yu, C., Zheng, Z., He, X., Zhao, J., 2017. Apoptosis is induced by docosahexaenoic acid in breast cancer cells via death receptor and mitochondria-mediated pathways. *MOLECULAR MEDICINE REPORTS* 16: 978-982.
- Yılmaz, L., Yılsay, T. Ö., Kurdal, E., 2006. Keçi Sütü ve Terapötik Özellikleri. *Akademik Gıda Dergisi*, 4, 3, 19 - 20.
- Yang, C., Lim, W., Bazer, F. W., Song, G., 2018. Decanoic acid suppresses proliferation and invasiveness of human trophoblast cells by disrupting mitochondrial function. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 339, 121-132.
- Yin, G., Wang, Y., Cen, X., Yang, Y., Yang, M., Xie, Q., 2017. Identification of Palmitoleic Acid Controlled by mTOR Signaling as a Biomarker of Polymyositis. *Journal of Immunology Research*.
- Yokuş, B., Çakır, D. Ü., 2012. Kanser Biyokimyası. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 1(2): 7-18.
- Yu, Z., Li, W., 2006. Induction of apoptosis by puerarin in colon cancer HT-29 cells. *Cancer Letters*, 238,1, 53-60.
- Zakaria, Z. A., Rofiee, M. S., Somchit, M. N., Zuraini, A., Sulaiman, M. R., Teh, L. K., Salleh, M. Z., Long, K., 2011. Hepatoprotective Activity of Dried- and Fermented-Processed Virgin Coconut Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, ID 142739, 8.