

T.C.
NUH NACİ YAZGAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

NAR (*PUNICA GRANATUM*) EKSTRESİNİN
MDA-MB-231 HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Rabia Nur CEYHAN

Danışman
Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

Yüksek Lisans Tezi

Şubat 2022

KAYSERİ

T.C.
NUH NACİ YAZGAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

NAR (*PUNICA GRANATUM*) EKSTRESİNİN
MDA-MB-231 HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Rabia Nur CEYHAN

Danışman
Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

Yüksek Lisans Tezi

Şubat 2022

KAYSERİ

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Doç. Dr. Mustafa NİSARİ danışmanlığında tarafımdan retilildiğini ve Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan

Rabia Nur CEYHAN

İmza

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

İmza

KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Mustafa NİSARİ danışmanlığında **Rabia Nur CEYHAN** tarafından hazırlanan “**Nar (*Punica Granatum*) Ekstresinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerine Etkisi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.... / / 2022

JÜRİ:

İmza

Danışman : Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

.....

Üye : Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Neşe KAYA

.....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Kurulunun / / tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.... / / 2022

Prof. Dr. Hülya UÇAR

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimlerim boyunca bana yol gösteren, bilimsel katkılarını, desteğini, anlayışını ve güler yüzünü benden esirgemeyen, tez danışmanlığımı üstlenerek tezimin her aşamasında bana inanan, güç veren ve yolumu aydınlatan kıymetli tez danışmanım sayın Doç. Dr. Mustafa NİSARİ'ye,

Lisans eğitimimden bu yana her türlü konuda bilgi ve deneyimlerini samimiyetle aktaran sayın hocalarım Prof. Dr. Neriman İNANÇ, Prof. Dr. Mualla AYKUT ve Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerine,

Tez dönemi boyunca bana her hususta yardımcı olan, her zaman sabır ve hoşgörüyle yaklaşan, beni kendi laboratuvarlarında misafir ederek değerli rehberliklerini esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı, çok değerli hocam Doç. Dr. Mehtap NİSARİ'ye,

Deneyisel çalışmalar esnasında her aşamada yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen ve bu süreçte büyük katkıları olan Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Arş. Gör. Sümeyye UÇAR'a

Ekstre hazırlama sürecinde yardımlarını esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Mustafa ÇAM ve İrem Tuğçe ÖZCANLI'ya

Her zaman fikir ve yardımları ile yanımda olan sevgili arkadaşım, meslektaşım Dyt. Meryem GENÇ'e

Hayatımın her döneminde yanımda olan, her türlü desteği sonsuz sevgileri ile veren, bugünlere gelmemde en büyük katkıyı sağlayan annem Sibel CEYHAN, babam Özgen CEYHAN ve kardeşim Berat Yiğit CEYHAN'a

En içten duygularıyla, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması; Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-001 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Rabia Nur CEYHAN

Kayseri, Şubat 2022

İÇİNDEKİLER

NAR (*PUNICA GRANATUM*) EKSTRESİNİN

MDA-MB-231 HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİ

ETİK BEYAN	i
KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Kanserin Tanımı	3
2.1.2. Kanser Türleri.....	4
2.2. Meme Kanseri	6
2.2.1. Meme Kanseri Tanımı.....	6
2.2.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi.....	6
2.2.3. Meme Kanseri Etiyolojisi.....	7
2.2.4. Meme Kanseri Risk Faktörleri	7
2.3. Kanser ve Beslenme	10
2.3.1. Besin Öğeleri ve Kanser	11
2.4. Nar (<i>Punica Granatum</i>)	13
2.4.1. Nar Kabuğu	15

2.5. Hücre Kültürü ve Hücre Hattı	15
2.5.1. Hücre Kültürü.....	15
2.5.2. Hücre Hattı	17
2.6. Hücre Döngüsü.....	18
2.7. Apoptoz.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Kullanılan Demirbaş ve Sarf Malzemeler.....	21
3.1.1. Demirbaş Malzemeler	21
3.1.2. Sarf Malzemeler	22
3.2. Nar (<i>Punica Granatum</i>) Kabuğu Ekstresinin Hazırlanması	23
3.3. HPLC Yöntemi İle Fenolik Bileşiklerin Analizi.....	24
3.4. Kullanılan Hücre Hatları	24
3.5. Hücre Kültür Besiyeri Hazırlanması	25
3.6. Hücrelerin Çözdürülmesi	26
3.7. Hücrelerin Canlılığı ve Sayımı.....	26
3.8. Hücrelerin Pasajlanması.....	28
3.9. Hücrelerin Dondurulması.....	28
3.10. Hücre Hattı Üzerinde Dozun ve Deney Gruplarının Belirlenmesi	29
3.11. Annexin V ve Ölü Hücre Testi.....	30
3.12. Hücre Döngüsü Testi.....	32
3.13. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Toplam Fenolik Madde ve Punicalagin Miktarı	34
4.2. Annexin V ve Ölü Hücre Testi Sonuçları	34
4.2.1. Canlı Hücre.....	37
4.2.2. Erken Apoptotik Hücre.....	37
4.2.3. Geç Apoptotik Hücre.....	38

4.2.4. Toplam Apoptotik Hücre.....	39
4.3. Hücre Döngüsü Testi Sonuçları	40
4.3.1. G0/G1 Evresi	42
4.3.2. S Evresi.....	42
4.3.3. G2/M Evresi	43
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
7. KAYNAKLAR	50
8. EKLER	58
8.1. Tez İntihal Raporu.....	58

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Kanser Türleri	4
Tablo 2.2. Kanser Riskini Artırıcı ve Kansere Karşı Koruyucu Diyet Faktörleri.....	10
Tablo 2.3. Kansere Neden Olan ve Kanserden Koruyucu Mineraller	12
Tablo 2.4. Nar Meyvesinin Kısımları ve Fitokimyasal İçerikleri	14
Tablo 3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Marka İsimleri	21
Tablo 3.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler ve Firma İsimleri	22
Tablo 3.3. HPLC Sistemi ve Çalışma Koşulları	24
Tablo 3.4. Fenolik Bileşikler İçin HPLC’de Uygulanan Dereceli Elüsyon Program ...	24
Tablo 3.5. Çalışmada Kullanılan Hücrelerin Hattı ve Özellikleri.....	25
Tablo 3.6. Annexin V ve Ölü Hücre Testi Deney Grupları	29
Tablo 3.7. Hücre Döngüsü Testi Deney Grupları	30
Tablo 4.1. Çalışmada Kullanılan Ekstre Miktarlarının İçerdiği Toplam Fenolik Madde ve Punicalagin Miktarı.....	34
Tablo 4.2. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Canlı MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler	37
Tablo 4.3. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Erken Apoptotik MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler.....	38
Tablo 4.4. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Geç Apoptotik MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler.....	39
Tablo 4.5. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Toplam Apoptotik MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler.....	39
Tablo 4.6. 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda G0/G1 Evresindeki MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler	42
Tablo 4.7. 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda S Evresindeki MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler	43
Tablo 4.8. 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda G2/M Evresindeki MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. 2020 Yılı Kanser Vaka Sayı ve Oranları.....	5
Şekil 2.2. 2020 Yılı Kanser Mortalite Sayı ve Oranları	5
Şekil 2.3. Kadınlarda Meme Kanserinin Yaşa Özel Hızları.....	8
Şekil 2.4. Nar (Punica Granatum) Meyvesinin Anatomik Kısımları ve Yüzdeleri.....	13
Şekil 2.5. 100 Gram Nar Meyvesinin Enerji ve Besin Ögesi İçeriği.....	14
Şekil 2.6. İnsan Kanser Hücre Hattı Çeşitleri.....	18
Şekil 2.7. Hücre Döngüsü Fazları.....	19
Şekil 3.1. A. Meyveden Ayrıştırılan Nar Kabuğu B. Kurutulup Ufaltılan Nar Kabuğu C. Öğütölüp Toz Hale Getirilmiş Nar Kabuğu D. Nar Kabuğu Ekstresi E. Besiyerinde Çözdürülmüş Nar Kabuğu Ekstresi	23
Şekil 3.2. A. Besiyerini Oluşturan; DMEM, FBS ve Penisilin-Streptomisin Maddeleri B. Biyogüvenlik Kabini İçerisinde Besiyerini Oluşturan Maddelerin 0,22 µm’lik Steril Enjektör Ucu Filtreden Geçirilmesi C. Kullanıma Hazır Besiyerleri.....	25
Şekil 3.3. Mikroskop Altında Thoma Lamında Hücre Sayımı.....	27
Şekil 3.4. Muse Cell Analyzer Cihazı	31
Şekil 4.1. 24 Saatlik İnkübasyon Süresi Sonunda Gruplara Göre MDA-MB-231 Hücrelerinin Apoptoz Oranlarını Gösteren, Muse Cell Analyzer Cihazından Elde Edilen Veri Grafikleri A. Kontrol Grubu, B. 25 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu, C. 50 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu	35
Şekil 4.2. 48 Saatlik İnkübasyon Süresi Sonunda Gruplara Göre MDA-MB-231 Hücrelerinin Apoptoz Oranlarını Gösteren, Muse Cell Analyzer Cihazından Elde Edilen Veri Grafikleri A. Kontrol grubu, B. 25 µg/ml Nar (Punica Granatum) grubu, C. 50 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu.....	36
Şekil 4.3. 24 Saatlik Kültür Sonunda Gruplara Göre Muse Analyzer Cihazı Hücre Döngüsü Testi Ham Veri Grafikleri A. Kontrol Grubu, B. 25 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu, C. 50 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu.....	40
Şekil 4.4. 48 Saatlik Kültür Sonunda Gruplara Göre Muse Analyzer Cihazı Hücre Döngüsü Testi Ham Veri Grafikleri A. Kontrol Grubu, B. 25 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu, C. 50 µg/ml Nar (Punica Granatum) Grubu.....	41

KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

ATCC	: American Type Culture Collection
ATP	: Adenozin Trifosfat
BRCA	: Breast Cancer
cm	: Santimetre
cm²	: Santimetrekare
CO₂	: Karbon Dioksit
dk	: Dakika
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimetil Sulfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ER	: Östrojen Reseptörü
FBS	: Fetal Bovine Serum
g	: Gravite (Santrifüj kuvveti)
GENKÖK	: Betül-Ziya EREN Genom ve Kök Hücre Merkezi
GLOBOCAN	: Küresel Kanser İnsidansı, Mortalite ve Prevalans
gr	: Gram
HER2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptör 2
HES	: Hidroksietil Starch
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
ICD-O	: Uluslararası Onkoloji Hastalıkları Sınıflandırma Sistemi
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
mm	: Milimetre

mm²	: Milimetrekaare
mm³	: Milimetreküp
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
p	: İstatistiksel Anlamlılık Değeri
PBS	: Phosphate Buffered Saline
pH	: Potansiyel Hidrojen
RNA	: Ribo Nükleik Asit
rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikada Dönme Hızı)
U	: Ünite
v/v	: Hacim/Hacim
%	: Yüzde
°C	: Santigrad Derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre

ÖZET

Ceyhan, R.N., Nar (*Punica Granatum*) Ekstresinin MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerine Etkisi, Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 2022. Kanser, tüm dünyada morbidite ve mortaliteyi etkileyen multifaktöriyel bir hastalıktır. Meme kanseri, kadınlar arasında en sık görülen kanser türü iken, dünya genelinde akciğer kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanser türüdür. Besinlerde bulunan biyoaktif ajanların kanserden koruyucu etkileri epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmiştir. Bunun meme kanseri için de geçerli olduğu kanıtlanırsa toksik olmayan doğal koruyucu bileşenlerin meme kanserini önleme ve tedavisinde kullanılması sağlanacaktır. Nar (*Punica Granatum*), fitokimyasal maddeler içeren ve insan sağlığının geliştirilmesi, çeşitli kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan değerli bir meyvedir. Bu çalışmada Nar (*Punica Granatum*) kabuğundan elde edilen ekstrenin, MDA-MB-231 hücreleri üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmada MDA-MB-231 hücreleri kontrol, 25 µg/ml, 50 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) kabuğu gruplarına ayrıldı. MDA-MB-231 hücreleri 37°C’de %5 CO₂’li ortamda 24 ve 48 saatlik inkübasyonlara bırakıldı. İnkübasyon süreleri sonunda Muse Cell Analyzer cihazında MDA-MB-231 hücrelerinin hücre canlılığı / apoptoz ve hücre döngüsü durumları incelendi. Sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre nar kabuğu ekstresi uygulanan gruplarda hücre canlılığının azaldığı görüldü. Apoptozun en yüksek değerde gözlemlendiği grup 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi grubuydu (p<0,05). Hücre döngüsü testinde ise, G0/G1 evresinde bulunan hücre sayısı 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kontrol ve 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi gruplarına göre 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi grubunda anlamlı olarak yüksek değerdeydi (p<0,05). Literatürdeki diğer çalışma sonuçlarında ve bu çalışmanın sonucunda, nar kabuğu tüketiminin yaygınlaşmasının kanserlerin oluşumunun önlenmesinde ve ilerlemesinin yavaşlatılmasında etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: MDA-MB-231, Nar, *Punica Granatum*

ABSTRACT

Ceyhan, R.N., Effect Of Pomegranate (*Punica Granatum*) Extract On MDA- MB-231 Cell Line, Nuh Naci Yazgan University Institute of Health Sciences Department of Nutrition and Dietetics Master of Science Thesis, Kayseri, 2022. Cancer is a multifactorial disease that affects morbidity and mortality worldwide. While breast cancer is the most common type of cancer among women, it is the second most common type of cancer worldwide after lung cancer. The cancer-protective effects of bioactive agents in foods have been supported by epidemiological studies. If this is proven to be valid for breast cancer as well, it will be ensured that non-toxic natural preservatives are used in the prevention and treatment of breast cancer. Pomegranate (*Punica Granatum*) is a valuable fruit that contains phytochemicals and is used in promoting human health, preventing and treating various chronic diseases. In this study, the effect of the extract obtained from the pomegranate (*Punica Granatum*) bark on MDA-MB-231 cells was investigated. In the study, MDA-MB-231 cells were divided into control, 25 µg/ml, 50 µg/ml Pomegranate (*Punica Granatum*) peel groups. MDA-MB-231 cells were incubated for 24 and 48 hours at 37°C with 5% CO₂. At the end of the incubation periods, cell viability / apoptosis and cell cycle status of MDA-MB-231 cells were examined in the Muse Cell Analyzer device. When the results were evaluated, it was observed that cell viability decreased in the groups treated with pomegranate peel extract compared to the control group. The group in which apoptosis was observed with the highest value was 50 µg/ml pomegranate peel extract group ($p<0.05$). In the cell cycle test, the number of cells in the G₀/G₁ stage was significantly higher in the 25 µg/ml pomegranate peel extract group compared to the control and 50 µg/ml pomegranate peel extract groups at the end of the 24-hour incubation period ($p<0.05$). The results of other studies in the literature and the result of this study reveal that the widespread consumption of pomegranate peel may be effective in preventing the formation of cancers and slowing their progression.

Keywords: MDA-MB-231, Pomegranate, *Punica Granatum*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, dünyada ve ülkemizde ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan kronik bir hastalıktır (Wu ve ark., 2017). Büyük bir halk sağlığı problemi olan kanser (Siegel, Miller ve Jemal, 2018), hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünüp çoğalması sonucu ortaya çıkmaktadır. 100'den fazla kanser türü bulunmaktadır (Baykara, 2016). Dünya genelinde en çok tanı alan kanser türü akciğer kanseri iken ikinci sırada en çok görülen kanser türü meme kanseridir (GLOBOCAN, 2020).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)'nın yayınladığı GLOBOCAN (Küresel Kanser İnsidansı, Mortalite ve Prevalans) 2020 verilerine göre meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Kanser tanısı konulan her 4 kadından 1'i meme kanseridir (GLOBOCAN, 2020). Meme kanseri genetik, çevresel, hormonal, beslenme gibi faktörlerin hastalığın başlama, gelişme ve yayılmasında kritik rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır (Gallagher ve LeRoith, 2015).

Kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi kanser tedavi yöntemleri olarak bilinmektedir (Arslan, Tatlı ve Üyetürk, 2013). Bu tedavilerin yanında son zamanlarda tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemleri de kullanılmaktadır (Yavuz, İlçe, Kaymakçı, Bildik ve Dıramalı, 2007).

İnsan sağlığı üzerinde olumlu etkiler sağlayan, oluşabilecek hastalıklardan korunmada veya var olan kronik hastalıkların ilerleyişini yavaşlatmada rol oynayan besinlere fonksiyonel besin adı verilmektedir (Viuda-Martos ve ark., 2010). Nar meyvesi, içerdiği fenolik bileşikler ile antimikrobiyal, antitümör, antienflamatuar ve antioksidan aktiviteler gösterdiği için fonksiyonel gıda olarak kabul edilmektedir (Viuda-Martos, Fernández-López ve Pérez-Álvarez, 2010). Nar, taze meyve olarak tüketilmekle birlikte ekşisi, konsantresi, pekmezi, meyve suyu, şurup, reçel, şarap ve likör gibi ürünlere de dönüşebilmektedir (Mansour ve ark., 2018). Bu ürünlerin dışında narın kabuğu üzerinde yapılan araştırmalar da artmaktadır. Yapılan çalışmalarda nar kabuğunun antioksidan kapasitesinin çekirdeklerine göre iki kat, meyvenin yenilebilir etli kısmına göre yaklaşık

10 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Singh, Chidambara Murthy ve Jayaprakasha, 2002; Ardekani ve ark., 2011).

Yapılması planlanan bu tez çalışmasının amacı, meme kanseri hücre hatlarından biri olan MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde Nar (*Punica Granatum*) kabuğu ekstresinin doza (25 ve 50 µg/ml) ve zamana (24 ve 48 saat) bağlı in vitro etkisini incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

2.1.1. Kanserin Tanımı

İnsan vücudunda canlılık özelliği taşıyan en küçük temel yapı birimine hücre denir. Hücreler belli bir düzen içerisinde bir araya gelerek doku ve organları oluşturur. Sağlıklı hücreler kontrollü bir şekilde çoğalır. Yaşlanan hücreler ise kontrollü bir şekilde yıkılıp yerini yeni hücrelere bırakır. Hücrelerin çoğalması ve yıkılması işlemleri DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) kontrolünde gerçekleşmektedir. Fakat bazı çevresel ve/veya genetik nedenlerden kaynaklı DNA hasara uğrar. Bunun sonucu hücrelerin işleyiş mekanizmaları bozulur ve hücreler kontrolsüz şekilde çoğalır (Kumar, Cotran ve Robbins, 2013). Bir organ veya dokuda ki hücreler kontrol dışı, düzensiz ve aşırı şekilde bölünüp birikerek tümör adı verilen bir kitle oluşturur (Baykara, 2016). Tümörler kötü huylu (*malign*) ve iyi huylu (*benign*) olmak üzere 2 şekilde sınıflandırılır. İyi huylu tümörler olduğu bölgede kalır, çevre dokulara sızamaz ve ölümcül değildir. Kötü huylu tümörler ise olduğu bölgenin dışında çevre dokulara sızar ve genellikle ölümcüldür. Kötü huylu tümörlere kanser denir (Kumar, Cotran ve Robbins, 2013).

Kelime anlamı olarak kanser, bir organ veya dokudaki hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi, çoğalması ve birikmesi olarak tanımlanır (Baykara, 2016). Genel anlamda ise kanser, vücudun farklı bölgelerindeki hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucu oluşan 100'den fazla hastalık grubu olarak tanımlanmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2017).

Kanser terimi, tıbbın babası olarak bilinen Hipokrat tarafından yengece benzettiği görünümü sebebiyle Latince yengeç anlamına gelen '*canker*' veya '*carcinos*' kelimelerinden türetilmiştir. Diğer bir yoruma göre bu adlandırma Yunan doktor Galen tarafından şişme anlamına gelen '*oncos*' kelimesinden türetilmiştir (Baykara, 2016).

2.1.2. Kanser Türleri

Kanser türleri, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından Uluslararası Onkoloji Hastalıkları Sınıflandırma Sistemi (International Classification of Diseases for Oncology, ICD-O) kullanılarak sınıflandırılmaktadır (Akbulut, 2018). Kanser türleri isimlerini genellikle tümörün olduğu organ veya dokudan almaktadır (Paşalak ve Seven, 2017).

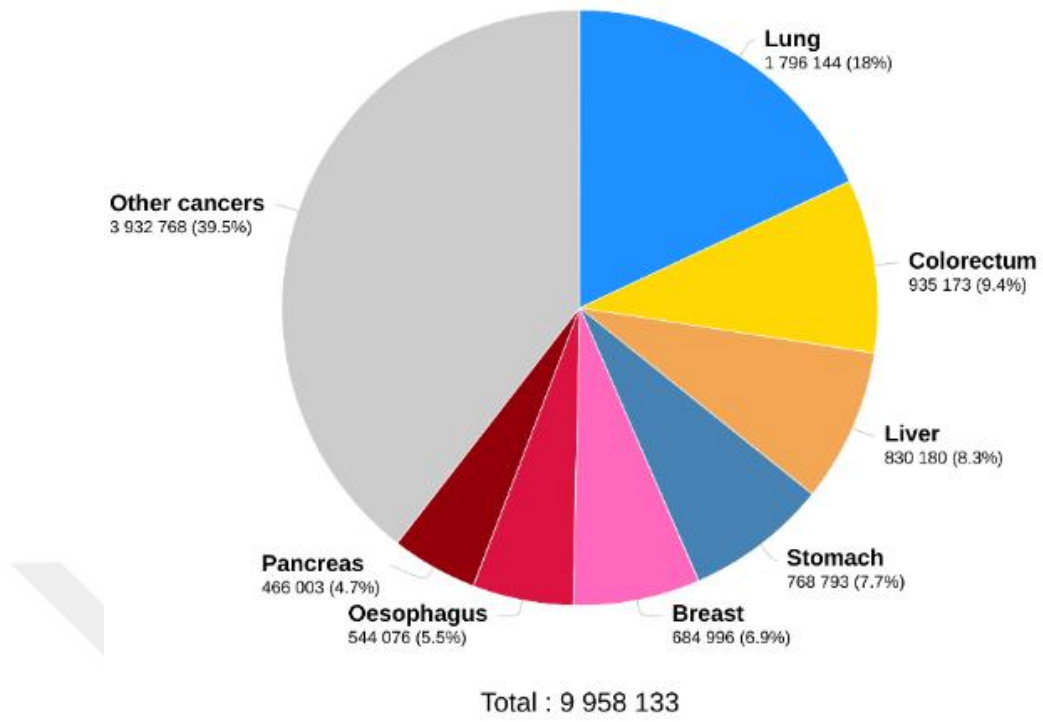
100’den fazla kanser türü bulunmakta olup başlıca en sık görülen kanser türleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (Türkiye Kansere Savaş Vakfı, 2021).

Tablo 2.1. Kanser Türleri (Türkiye Kansere Savaş Vakfı, 2021)

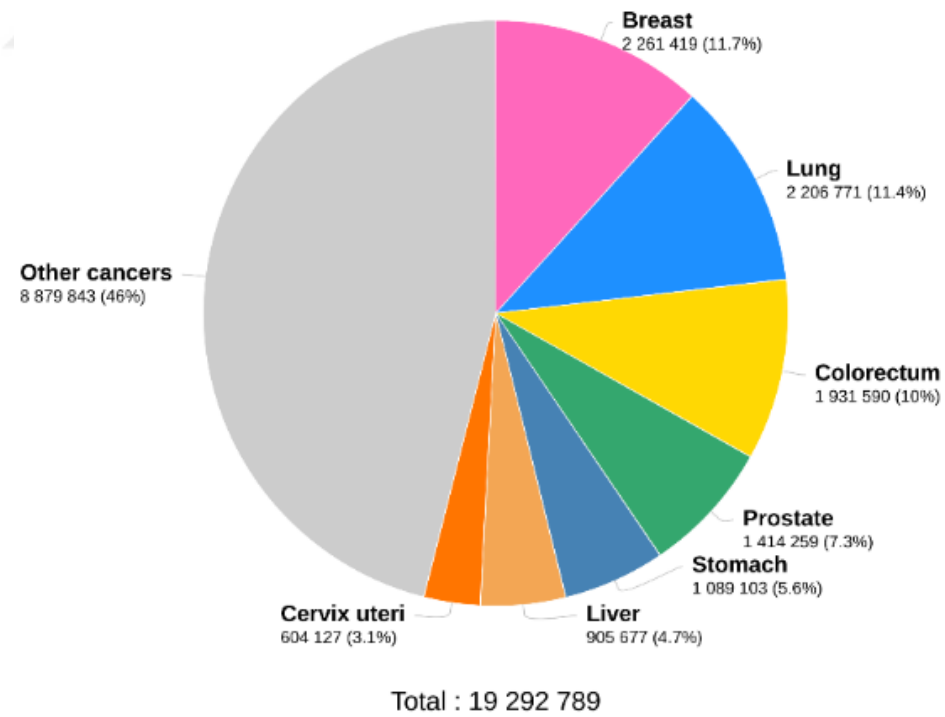
Meme Kanseri	Prostat Kanseri	Akciğer Kanseri	Böbrek Kanseri
Mide Kanseri	Kolon Kanseri	Tiroid Kanseri	Karaciğer Kanseri
Pankreas Kanseri	Dudak Kanseri	Göz Kanseri	Beyin Tümörleri
Safra Kesesi Kanseri	Safra Yolu Kanseri	Anal Kanal Kanseri	Baş-Boyun Kanseri
İnce Bağırsak Kanseri	Kan Kanseri (Lösemi)	Larenk (Gırtlak) Kanseri	Cilt (Deri) Kanseri
Tükürük Bezi Kanseri	Yumurtalık (Over) Kanseri	Rahim (Uterus) Kanseri	Rahim Ağzı (Serviks) Kanseri
Özefagus (Yemek Borusu) Kanseri	Kalın Bağırsak (Kolorektal) Kanseri	Hipofarinks (Yutak) Kanseri	Osteosarkom (Kemik) Kanseri

T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu’nun 2015’te yayınladığı Türkiye Kanser İstatistikleri sonuçlarına göre; erkeklerde en çok görülen kanser akciğer kanseri iken kadınlarda en çok görülen kanserin meme kanseri olduğu ortaya konulmuştur (Gültekin ve Boztaş, 2014).

DSÖ’nün yayınlanan son GLOBOCAN 2020 verilerine göre dünya çapında her iki cinsiyette ve her yaşta en sık görülen kanserler meme, akciğer, kolorektal, prostat, mide olarak sıralanmıştır. Kanser türlerine bağlı ölüm oranlarına bakıldığında ise en sık akciğer, kolorektal, karaciğer, mide ve meme kanseri olarak sıralanmaktadır. GLOBOCAN 2020 verileri incelendiğinde dünyada her iki cinsiyette ve her yaşta yaklaşık 19,3 milyon yeni kanser vakasına rastlanırken yine her iki cinsiyette ve her yaşta yaklaşık 10 milyon kişinin kansere bağlı hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2) (GLOBOCAN, 2020).



Şekil 2.1. 2020 Yılı Kanser Vaka Sayı ve Oranları (GLOBOCAN, 2020)



Şekil 2.2. 2020 Yılı Kanser Mortalite Sayı ve Oranları (GLOBOCAN, 2020)

2.2. Meme Kanseri

2.2.1. Meme Kanseri Tanımı

Meme dokusu, kadınlarda süt üretiminden sorumlu tübüloalveolar bir bezdir. Meme dokusu, lobüllerden, kanallardan, sinirlerden, yağlı dokudan ve lenfatik dokudan oluşur (Winters, Martin, Murphy ve Shokar, 2017).

Meme kanseri, memenin herhangi bir bileşeninde bulunan hücrelerin kontrol dışı aşırı çoğalması sonucu ortaya çıkan kanser türüdür (Winters, Martin, Murphy ve Shokar, 2017). Meme dokusundaki hücrelerin işleyişinden sorumlu genlerdeki mutasyonlar ile hücrelerde meydana gelen anormal değişimler sonucu ortaya çıkar (Street, 2019).

Her kanser türünde olduğu gibi meme kanserinde de tedaviyi kolaylaştırmak ve yaşam süresini uzatmak için erken tanı büyük önem taşımaktadır (Cardoso ve ark., 2019). Erken tanı uygulamalarının mortalitedeki azalmada etkili olduğu bilinmektedir (Kozan ve Tokgöz, 2016). Meme kanserinin en erken dönemde belirlenmesi için yapılan ve dünyaca kabul görmüş tarama yöntemleri vardır. Bu tarama yöntemleri içerisinde; kendi kendisine meme muayenesi, klinikte uygulanan muayene ve mamografi çekirme yer almaktadır (Sohbet ve Karasu, 2017). Tarama yöntemleri birbirini tamamlamaktadır, birbirlerinden ayırmaksızın her birinin düzenli yapılması önerilmektedir (Cardoso ve ark., 2019).

2.2.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri hem ülkemizde hem de dünyada sık rastlanılan kanser türlerinden biridir. Meme kanseri, dünya çapında akciğer kanserinden sonra ikinci sırada en sık görülen kanser türüdür (Açıkgöz ve Yıldız, 2017). Meme kanseri dünya genelinde kadınlarda görülen kanser türleri arasında birinci sırada yer alır (World Cancer Research Fund, 2018). Daha az yaygın olmakla birlikte erkeklerde de görülebilmektedir (Winters ve ark., 2017). Tüm meme kanserlerinin sadece %1'i erkeklerde görülmektedir (Kim ve Sung, 2012).

Ülkemizdeki oranlar için GLOBOCAN 2020 verilerine bakıldığında; kadınlarda en çok yeni tanı alan ve en çok ölüme neden olan kanser türü meme kanseridir. Her iki cinsiyette görülen yeni kanser vakalarının %10,3'ünü ve iki cinsiyette görülen kansere bağlı ölümlerin %5,7'sini meme kanserinin oluşturduğu bildirilmiştir. Kadınlarda

görülen kanserlerin %24'ünü, kansere bağlı ölümlerin ise %15'ini meme kanserinin oluşturduğu bildirilmiştir (GLOBOCAN, 2020).

2.2.3. Meme Kanseri Etiyolojisi

Meme kanserinin bu kadar yaygın olması, etiyolojiye yönelik çalışmaları da beraberinde getirmiştir (Turhan, Yılmaz ve Yeşilyurt, 2021). Meme kanserinin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Etiyolojisi çok faktörlüdür yani tek bir etkenden söz etmek mümkün değildir (Almendro ve Fuster, 2011). Çevresel, hormonal, genetik, biyolojik ve psikolojik faktörlerin önemli olduğu bilinmektedir (American Cancer Society, 2018a).

2.2.4. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Ailesel Meme Kanseri Öyküsü

Ailede meme kanseri öyküsünün olması, meme kanseri için güçlü bir risk faktörüdür (Barnard, Boeke ve Tamimi, 2015). Ailesinde meme kanseri öyküsü olan kişilerin meme kanserine yakalanma riski %15-30 oranında daha fazladır. Bireyin birinci dereceden akrabalarında (annesi, kız kardeşi veya kız çocuğu) menopoza öncesi dönemde kanser öyküsünün olması, kişinin hayatı boyunca meme kanseri olma riskini neredeyse 2 katına çıkardığı bildirilmiştir. İki veya daha fazla birinci derece akrabasında meme kanseri olan kişilerde ise riskin 3 katına çıktığı bildirilmiştir (Brewer, Jones, Schoemaker, Ashworth ve Swerdlow, 2017).

BRCA (Breast Cancer) 1 ve 2 Genleri Mutasyonu

BRCA (Breast Cancer) 1 ve 2 genleri hücrelerin anormal şekilde büyümelerini engelleyerek tümör oluşumunu önleyen genlerdir (Olgun, 2018).

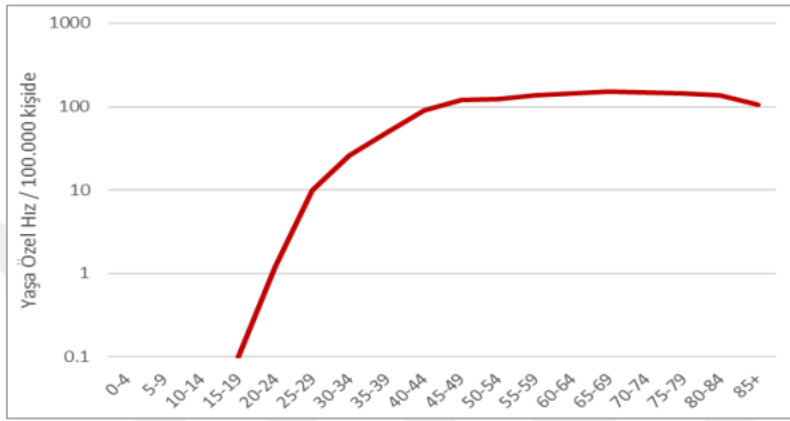
Meme kanseri tanısı alan bireylerin %5-10'un da genetik faktörlerin etkili olduğu belirtilmektedir. Kalıtsal meme kanseri tanısı alan kişilerin ise %50-60'ının da BRCA-1 ve BRCA-2 genlerindeki mutasyondan kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Olgun, 2021).

Kişisel Meme Kanseri Öyküsü

Meme kanseri geçmişi olan bir kadının diğer memesinde veya aynı memenin farklı bölgesinde tekrar kanser gelişme riskinin olduğu bildirilmiştir (American Cancer Society, 2018b).

Yaş

Artan yaşla beraber meme kanseri görülme riski de artmaktadır (Sun ve ark., 2017). Özellikle 50 yaş ve üstü kadınlarda meme kanseri vakaları daha sık görülmektedir (Kamińska, Ciszewski, Łopacka-Szatan, Miotła ve Starosławska, 2015). 20 yaş altı kadınlarda meme kanseri vakaları daha az sıklıkta görülmektedir (Sun ve ark., 2017). Şekil 2.3'te kadınlarda meme kanserinin yaşa bağlı görülme sıklığı verilmiştir (Türkyılmaz ve ark., 2019).



Şekil 2.3. Kadınlarda Meme Kanserinin Yaşa Özel Hızları (Türkyılmaz ve ark., 2019)

Cinsiyet

Kadın olmak meme kanserinin ortaya çıkmasında en önemli risk faktördür. Erkekler de meme kanserine yakalanabilir fakat kadınlarda bu risk erkeklerden 100 kat daha fazladır (Siegel ve ark., 2018).

İrk

Meme kanseri gelişme riski ırk açısından değerlendirildiğinde; beyaz ırkta diğer ırklara göre risk daha fazladır. Yani meme kanseri beyaz ırkta daha çok görülmektedir. Fakat meme kanserinin seyri siyah ırkta daha agresiftir (American Cancer Society, 2018b).

Erken Menarş Geç Menapoz

İlk adetini 12 yaşından önce gören kadınların ve menapoz 55 yaşından sonra giren kadınların meme kanserine yakalanma riskinin arttığı görülmüştür. Riskteki artışın

nedeni; östrojen ve progeteron hormonlarına fazla maruz kalınmasıdır (Khalis ve ark., 2018).

Sigara Kullanımı

Yapılan çalışmalarda hem sigara içenlerin hem de pasif içicilerin meme kanseri riskinin orta düzeyde arttığı bulunmuştur. Risk; sigaraya başlama yaşı, kullanım süresi ve günlük içilen miktara göre değişmektedir (Baglia ve ark., 2018).

Alkol Kullanımı

Alkol tüketimi, meme kanseri gelişme riskinin artmasıyla doğrudan ilişkilidir. Tüketilen alkol miktarı ile doğru orantılı olarak kanser gelişme riski de artmaktadır (American Cancer Society, 2018c).

Sosyoekonomik Düzey

Yapılan çalışmalarda sosyoekonomik düzey arttıkça meme kanserine gelişme riskinin arttığı saptanmıştır. Fakat bu durum bağımsız bir risk faktörü olmaktan ziyade; reproduktif alışkanlıklardaki değişiklik nedeniyle meme kanserine yakalanma riskini arttırdığı düşünülmektedir (Koçak ve ark., 2011).

Obezite

Obezite ve meme kanseri arasındaki ilişki sitokinleri içeren adipoz doku düzeyindeki artışa bağlıdır. Adipoz dokuda üretilen sitokinler (adipokinler) insülin direncine sebep olmaktadır. Bu durum da hiperinsülinemiye, endojen cinsiyet hormonlarının düzeyinde artışa, kronik inflamasyona, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (insülin like growth factor-1: IGF-1) düzeylerinin artışına sebep olarak kanser gelişiminde rol aldıkları bildirilmiştir (Yıldırım, 2018).

Radyasyon

Radyasyon, DNA yapısını bozarak kanser oluşum riskini artıran faktörlerden biridir. Radyasyona maruz kalınan yaş ne kadar küçük ise meme kanserine yakalanma olasılığının o kadar fazla olabileceği belirtilmiştir (Land ve ark., 2003). Radyografi, mamografi gibi radyasyon kaynaklarına maruziyetin meme kanserine yakalanma

olasılığının arttırdığı ve bu uygulamalara karar verilirken dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Golubicic, Borojevic ve Pavlovic, 2008).

2.3. Kanser ve Beslenme

Beslenme, klinikte genellikle üzerinde durulmayan fakat vücudun tüm fonksiyonlarını etkileyebilen, yaşamda ve tıpta önemli bir role sahip olan önemli bir faktördür (Bayır, Yıldız, Erkuran ve Koçoğlu, 2015). Beslenme, kanser gibi kronik hastalıkların etiolojisinde yer almaktadır. Doğru beslenme ile kanserden korunmak ve/veya kanser oluşumunu geciktirmek mümkün olabilir (Çelik ve Manisalı, 2020). Kanser tanısı aldıktan sonraki aşamada ise tıbbi beslenme tedavisi ile;

- Enfeksiyon riskini azaltmak
- Sağ kalım ve yaşam kalitesini arttırmak
- Tedaviye bağlı yan etkileri azaltmak
- Komplikasyonları önlemek
- Malnütrisyonu önlemek
- Sıvı ve elektrolit dengesini sağlamak amaçlanmaktadır (Çağlar ve ark., 2013).

Beslenme ve kanser ilişkisini; kanser oluşmadan önce koruyuculuk içeren diyet faktörleri ve kanser oluşumuna neden olan veya ilerleten diyet faktörleri olarak 2 kısımda inceleyebiliriz (Çevik ve Pirinçci, 2017). Kansere karşı koruyucu olan ve kanser oluşumuna katkıda bulunan diyet faktörleri Tablo 2.2’de gösterilmiştir (Yıldız, 2008; Alphan ve ark., 2013).

Tablo 2.2. Kanser Riskini Artırıcı ve Kansere Karşı Koruyucu Diyet Faktörleri (Yıldız, 2008; Alphan ve ark., 2013)

Kanser Riskini Artırıcı Diyet Faktörleri	Kansere Karşı Koruyucu Diyet Faktörleri
Tuzlanmış, tütülenmiş besinler	Kepekli tahıllar
Aşırı alkol tüketimi	C vitamini
Nitrit ve nitrat eklenmiş besinler	E vitamini
Tereyağı, içyağı	Omega-3 yağ asitleri
Yağlı ve yaşlı koyun, sığır, keçi ve tavuk etleri	Meyveler ve sebzeler
Domuz eti, domuz pastırması	Kükürtlü besinler (soğan, sarımsak, pırasa)
Yağda kızartılmış besinler	Selenyum,kalsiyum gibi mineraller

2.3.1. Besin Öğeleri ve Kanser

Protein ve Kanser

Diyette fazla miktarda et, dolayısıyla fazla miktarda hayvansal protein tüketiminin meme, rahim, prostat, kolorektal, pankreas ve böbrek kanseri için bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda yağsız hayvansal protein tüketiminin kanser riskini artırmadığı, riski artıran faktörün ise yağ kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Alphan ve ark., 2013).

Başka bir çalışmada ise kırmızı etten ziyade pişirme yöntemlerinin kanser oluşum riskini arttırdığı öne sürülmüştür (De Cicco ve ark., 2019). Etler doğrudan ateşle pişirildiğinde, kızartıldığında veya çok pişirildiği zaman ortaya çıkan zararlı bileşikler kanser riskini arttırmaktadır (Marian ve Roberts, 2010).

Yağ ve Kanser

Yapılan çalışmalar yağ tüketimi ve kanser riski arasındaki ilişkinin toplam yağ alımından ziyade tüketilen yağ türünden kaynaklı olabileceğini öne sürmektedir (Greenwald, 1999). Yağ asitleri, bitkisel ve hayvansal yağ asitleri olarak ikiye ayrılmaktadır ve kanser üzerine farklı etkileri bulunmaktadır. Bitkisel yağlardan omega-6 çoklu doymamış yağ asitlerinin ve hayvansal kaynaklı doymuş yağların kolon, rektum, endometrium ve prostat kanseri risklerini arttırdığı belirtilmektedir (Aksoy, 2012). Buna karşın omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin ise kanser riskini azalttığı belirtilmiştir (Onat ve Demir, 2007).

Karbonhidrat ve Kanser

Karbonhidratlar ve kanser arasındaki ilişkide daha çok glisemik indeks ve glisemik yük kavramları üzerinde durulmuştur. 50 gr karbonhidrat içeren bir besinin yine 50 gr karbonhidrat içeren referans bir besine (genelde glikoz veya beyaz ekmek) göre kan şekeri düzeyinde ne kadar hızlı bir artışa neden olduğu gösteren karbohidrat gıda indeksine glisemik indeks adı verilmektedir. Glisemik yük ise besinin tüketilen miktarının kan şekeri üzerine etkisi olarak tanımlanmaktadır (Dayı ve Hoca, 2021). Glisemik indeksi ve glisemik yükü yüksek besinlerin uzun süre tüketilmesi vücutta insülin salınımını arttırarak hiperinsülinemiye neden olmaktadır. Bu durum ise hücre

proliferasyonunu uyarak kanser oluşumunu destekleyen IGF-1 düzeyini artırmaktadır (Renehan ve ark., 2004).

Mineraller ve Kanser

Çoğunluğu yiyecek ve içeceklerden alınan minerallerin bazıları kanser oluşumunu önlerken bazıları da kansere neden olur. Bu mineraller Tablo 2.3'te gösterilmiştir (Yıldız, 2008).

Tablo 2.3. Kansere Neden Olan ve Kanserden Koruyucu Mineraller (Yıldız, 2008)

Kanser Neden Olan Mineraller	Kanserden Koruyucu Mineraller
Nikel	Selenyum
Kadmiyum	Çinko
Kurşun	İyot
Arsenik	Kalsiyum
Asbest	Molibden

Sebze, Meyve ve Kanser

Akdeniz diyetinde olduğu gibi sebze ve meyve açısından zengin beslenmenin kansere karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir (De Cicco ve ark., 2019). Meyve ve sebzelerin kansere karşı koruyucu etkilerinin içerdikleri karotenoidler, C ve E vitaminleri, diyet posası, selenyum, glukozinolatlar ve indoller, izotiyosiyanatlar, flavonoidler, fenoller, proteaz inhibitörü ve bitki steroller gibi çok sayıda antikarsinojenik ajanların varlığından kaynaklandığı bildirilmiştir (La Vecchia, Altieri ve Tavani, 2001).

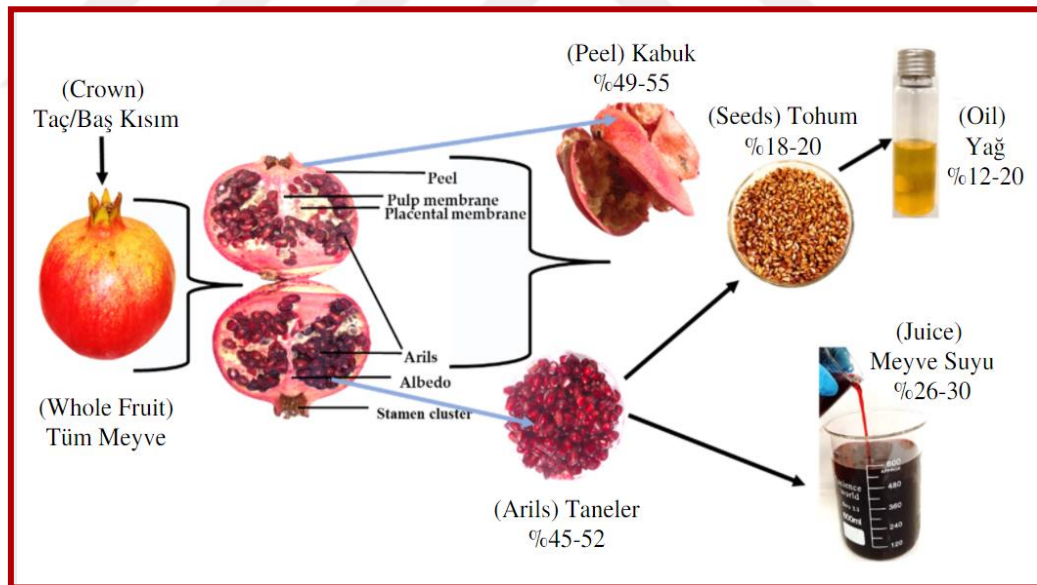
Posa ve Kanser

Diyet posası, sindirim enzimlerine karşı dayanıklı olan bitki kısımlarıdır. Suda çözünürlüklerine göre; çözünür ve çözünmez posa olarak iki kategoride gruplandırılmaktadır (Alim ve Göküstün, 2018). Posa içeriği bakımından iyi bir kaynak olan meyve, sebze ve tam tahıllı besinlerin bazı kanser türlerine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir (Bradbury, Appleby ve Key, 2014).

2.4. Nar (*Punica Granatum*)

Nar, *Lythraceae* familyasının *Punica* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir (Ashton, 2006). Latince ismi *Punica Granatum*'dur. Nar meyvesinin ana vatanı İran, Hindistan ve Pakistan olmakla birlikte Türkiye'de de yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemiz nar yetiştiriciliğinde 4. sıradadır (Karaca, 2011). Nar taze meyve olarak tüketilmesinin yanı sıra meyve suyu, şurup, nar ekşisi, nar pekmezi, reçel, şarap ve likör gibi ürünlere de dönüşebilmekte, renk verici ve tatlandırıcı olarakta kullanılabilmektedir (Mansour ve ark., 2018). Nar, 5-14 cm çapında, küresel, üstten hafif basık, içi tohumla dolu ve kabuğu derimsi yapıda olan bir meyvedir. Meyvenin yenen kısmı nar tanelerinden (arillerden) oluşur. Ariller mezokarp adı verilen beyaz süngerimsi loküller ile çevrelenmiştir (Magangana, Makunga, Fawole ve Opara, 2020).

Meyvenin ağırlıkça %45-52'si arillerden, %49-55'i epikarbi yani kabuğundan, %18-20'si yağ içeren çok sayıda tohumdan oluşturmaktadır. Nar (*Punica Granatum*) meyvesinin anatomik kısımları ve yüzdeleri Şekil 2.4'te gösterilmiştir (Magangana ve ark., 2020).



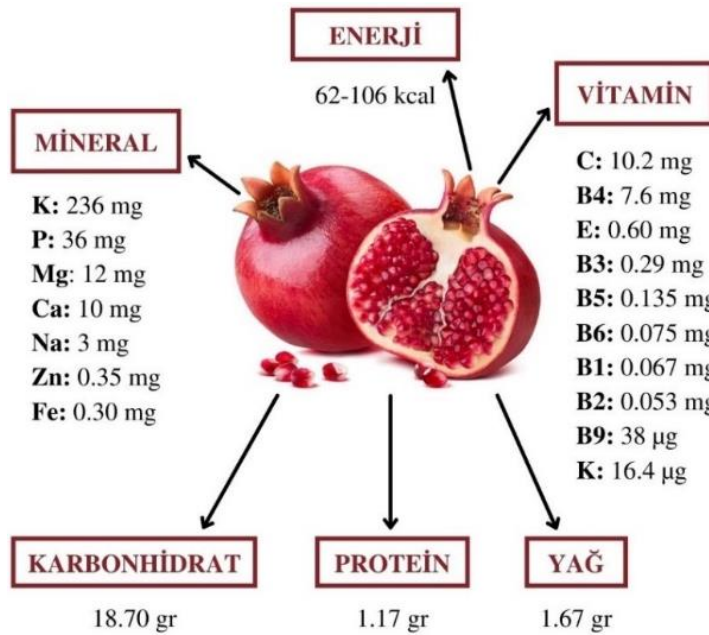
Şekil 2.4. Nar (*Punica Granatum*) Meyvesinin Anatomik Kısımları ve Yüzdeleri (Magangana ve ark., 2020)

Nar meyvesinin kısımları ve fitokimyasal içerikleri Tablo 2.4'te verilmiştir (Yılmaz ve Usta, 2010; Okumuş, Yıldız ve Bayizid, 2015).

Tablo 2.4. Nar Meyvesinin Kısımları ve Fitokimyasal İçerikleri (Yılmaz ve Usta, 2010; Okumuş, Yıldız ve Bayızid, 2015)

Nar Meyvesinin Kısımları	Fitokimyasal İçerik
Nar Suyu	Antosiyanin, Askorbik Asit, Elajik Asit, Kateşin, Flavonoller, Gallik Asit, Kuinik Asit
Nar Kabuğu	Punikalaginler, Gallik Asit, Kateşinler, Flavonoller, Antosiyanidinler, Elajitanenler, Elajik Asit, Kaffeik Asit
Nar Çekirdeği	Punikik Asit, Konjuge Linoleik Asit, Linolenik Asit, Oleik Asit, Elajik Asit, Tokoferoller, Steroller, Steroidler
Nar Çiçeği	Gallik Asit, Ursolik Asit, Triterpenler, Yağ Asitleri
Nar Yaprığı	Tanenler, Flavonlar, Glikozitler, Steroller, Saponinler, Flavonoidler, Piperidin Alkaloidleri
Nar Yağı	Punisik Asit, Elajik Asit, Steroller, Yağ Asitleri
Nar Ağacı Kökü ve Kabuğu	Elajitanninler, Piperidin Alkaloidler, Peletrin Alkaloidler

100 gr nara ait enerji ve besin ögesi içeriği Şekil 2.5'te gösterilmiştir (Şimşek ve İkinci, 2017).



Şekil 2.5. 100 Gram Nar Meyvesinin Enerji ve Besin Ögesi İçeriği (Şimşek ve İkinci, 2017)

Nar, insan sağlığının geliştirilmesinde ve başta kanser olmak üzere, insülin direnci, hipertansiyon, hiperlipidemi, oksidatif stres, hiperglisemi, bağırsak iltihabı, obezite, kardiyovasküler bozukluklar gibi çeşitli kronik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Stowe, 2011).

2.4.1. Nar Kabuğu

Sert ve derimsi görünüme sahip olan nar kabuğu, 1-5 mm kalınlığında türüne bağlı olarak sarı, pembe, kırmızı renklidir. Nar kabuğu, toplam meyve ağırlığının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır (Heber, Schulman ve Seeram, 2006).

Narın kırmızı renkte olan dış kabuğunun ve iç kısımda beyaz renkte olan membran kısmı yüksek oranda polifenolik bileşikleri içermektedir. Bu polifenolik bileşiklerin büyük çoğunluğunu tanen ve flavonoidler oluşturmaktadır (Bele, Jadhav, Nikam ve Kadam, 2009). Tanenler ve flavonoidler narın meyve kısmına kıyasla nar kabuğunda daha fazla bulunmaktadır (Tunç, Konca ve Hoş, 2013). Narda bulunan temel fitokimyasallara polifenol adı verilmektedir (Ismail, Sestili ve Akhtar, 2012). Nar kabuğu içerdıği zengin polifenolik bileşiklerden kaynaklı güçlü antioksidan özellik göstermektedir. Araştırmalar sonucu, nar kabuğunun nar çekirdeğine göre 114 kat, elma kabuğuna göre 5 kat, kırmızı şarap ve yeşil çaya göre 3 kat yüksek oranda antioksidan bileşikler bulundurduğu rapor edilmiştir (Gil, Tomás-Barberán, Hess-Pierce, Holcroft ve Kader, 2000).

Nar kabuğu aşağıdaki etkiler ile nutrasötik özelliktedir (Okumuş, 2016).

- Antimikrobiyal
- Antikarsinojenik
- Hepatoprotektif
- Antifungal
- Antineoplastik
- Antilipidemik
- Antiviral
- Antihiperglisemik
- Yaşlanma karşıtı
- Antidermal

2.5. Hücre Kültürü ve Hücre Hattı

2.5.1. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, farklı test koşulları altında belirli bir biyolojik mekanizmayı veya süreci araştırmak için insan vücudu koşulları taklit edilerek hücrelerin laboratuvar ortamında çoğaltılması sürecine verilen isimdir (Polat, 2020). Hücrelerin canlı kalması ve sağlıklı bir şekilde büyümesini sağlamak için uyulması gereken bazı koşullar vardır.

Bu koşullar; aminoasit, karbonhidrat, mineral ve vitaminlerin yanı sıra hormon, karbondioksit, oksijen ve antibiyotik gereksinimlerinin karşılanması ve ortamın optimum pH, nem ve sıcak değerlerinin sağlanmasını kapsamaktadır (Duruel, Çağan, Işık ve Kayhan, 2021).

Hücre kültürü yöntemi, bilimsel çalışmalara sunduğu avantaj ve in vivo çalışmalara sağladığı alt yapı açısından önemli bir yöntemdir. Hücre kültürü yöntemi genel olarak temel hücre biyolojisi, hücreler üzerindeki ilaç etkileşimlerinin araştırılması, ilaç toksisitelerinin belirlenmesi, çeşitli kimyasalların ve/veya bitkisel ajanların hem sağlıklı hücreler hem de kanser hücreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gibi araştırmalarda kullanılmaktadır (İplik ve Çakmakoglu, 2020).

Hücre Kültürü Besiyeri ve İçerikleri

Hücre kültüründe kullanılan besiyerleri, hücrelerin metabolik işlevlerini normal bir şekilde yerine getirebilmesi için gerekli mikroçevreyi sağlayan solüsyonlardır. Bu solüsyonların ortak özelliği tuz, aminoasit, glikoz, lipit, vitamin, mineral, antibiyotik, hormon ve eser element içermeleridir (Deveci, 2012).

Dengeli tuz solüsyonu, kültür ortamının temeli olarak kabul edilmektedir. İçeriğinde; ana katyonları, anyonları ve istenilen pH (potansiyel hidrojen) ayarlaması için tamponları bulundurur (Duruel, Çağan, Işık ve Kayhan, 2021).

Vitaminler, hücre fonksiyonları için gerekli organik bileşiklerdir (Duruel, Çağan, Işık ve Kayhan, 2021).

Lipitler, hücreler arası sinyal iletiminde ve madde taşınmasında görev alır. Hücrelerin membranlarında bulunurlar ve enerji kaynağı olarak kullanılır (Price, 2017).

Serum, gerekli olan hormonları, enzimleri, büyüme faktörlerini, yayılma ve bağlanma faktörlerini içeren zengin bir protein çözeltilisidir. Fetal sığır, dana, at, domuz ve insanlardan elde edilen serum çeşitleri vardır. Bunlar arasında hücre kültüründe yaygın olarak kullanılan serum türü fetal sığır serumu (Fetal Bovine Serum: FBS)'dur (İplik ve Çakmakoglu, 2020). Serumlar ışık görmeyecek şekilde ve dondurulmuş olarak saklanmalıdır. Çok sayıda dondurma ve çözündürme işlemi gerçekleştirilmemelidir (Duruel, Çağan, Işık ve Kayhan, 2021). Serumların hücreler üzerinde farklı etkiler gösterebileceğinden dolayı bazı laboratuvarlar serum kullanmayı tercih etmemektedir

(İplik ve Çakmakoglu, 2020). Serumsuz besiyerleri aminoasitler, vitaminler ve inorganik tuzlar ve büyüme faktörleri ile zenginleştirilmiştir (Duruel, Çağan, Işık ve Kayhan, 2021).

Antibiyotikler, oluşabilecek kontaminasyonu engellemek amacıyla kullanılmaktadır. American Type Culture Collection (ATCC) tarafından yayınlanan protokole göre hücre kültüründe en çok kullanılan antibiyotiğin penisilin (100U/ml) ve streptomisin (100 µg/ml) (%1 v/v) kombinasyonu olduğu bildirilmiştir (Hassan ve Ahmad, 2020).

Hücre kültürleri; primer (birincil) hücre kültürleri, sekonder (diploid) hücre kültürleri ve sürekli (heteroploid) hücre kültürleri olmak üzere 3 kısımda incelenmektedir. Primer (birincil) hücre kültürleri, doğrudan dokudan elde edilmektedir. Birkaç kez pasajları yapılabilir daha sonra üreme yeteneklerini kaybederler. Sekonder (diploid) hücre kültürleri, kromozom sayısı normal olan diploid hücrelerden elde edilmektedir. En fazla 50 defa pasajları yapılabilir. Sürekli (heteroploid) hücre kültürleri diğer adıyla hücre hatları, sonsuz pasajları yapılabilen ve genelde habis tümörlerden (kötü huylu tümörlerden) elde edilen kültürlere denir (Çiçek ve Bilgiç, 2006).

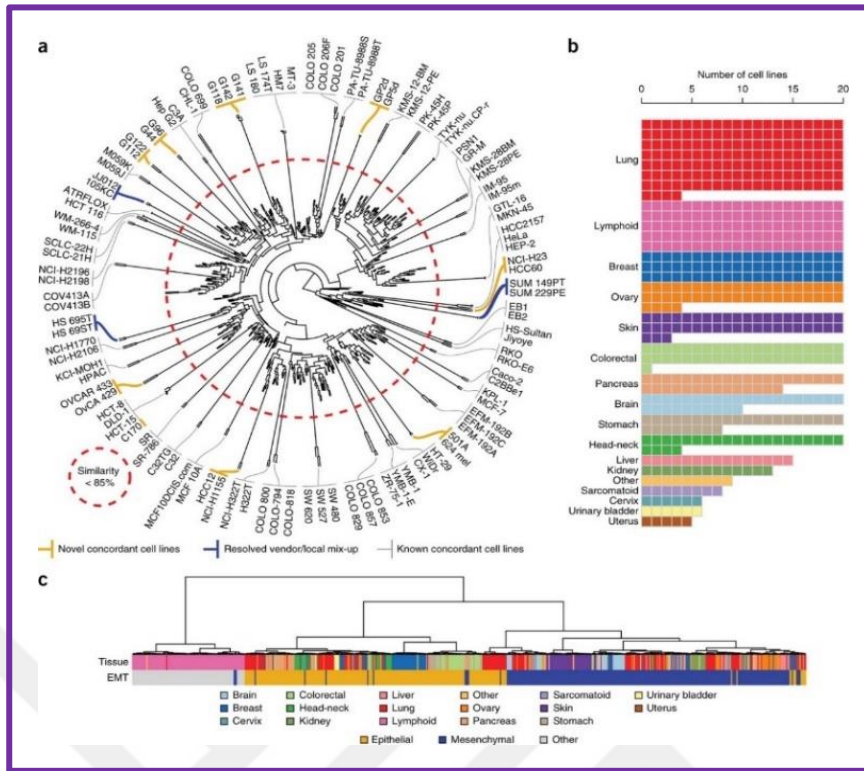
2.5.2. Hücre Hattı

Sonsuz pasajları yapılabilen ve genelde habis tümörlerden (kötü huylu tümörlerden) elde edilen kültürlere hücre hattı denilmektedir (Çiçek ve Bilgiç, 2006).

Hücre hattında kullanılacak hücreler sınırsız çoğalma yeteneğine sahip olan tek tip hücrelerden oluşmaktadır. Sınırsız çoğalma özelliğine rağmen hücrelerin çok uzun süre kullanımı ve/veya çok fazla pasajlandığında farklılaştığı görülmüştür. Bu yüzden hücre hatlarının en fazla 45-50 pasaja kadar kullanılması tavsiye edilir. Sonsuz çoğalma kavramı, doğrudan organizmadan elde edilen kanserli hücrelerde bulunmaktadır ve hat olarak kullanılabilir (Karakuş, 2019).

Hücre Hattı Çeşitleri

Hücre hatları elde edildikleri doku tipi, hücre tipi, hastalık modeli (kanser hücre hatları, gibi kriterler göz önüne alındığında çok çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. 80 farklı türe ait 4000'den fazla hücre hattı vardır. Başlıca kanser hücre hattı çeşitleri Şekil 2.6'da gösterilmiştir (Klijn ve ark., 2015).



Şekil 2.6. İnsan Kanser Hücre Hattı Çeşitleri (Klijn ve ark., 2015)

MDA-MB-231 Hücre Hattı

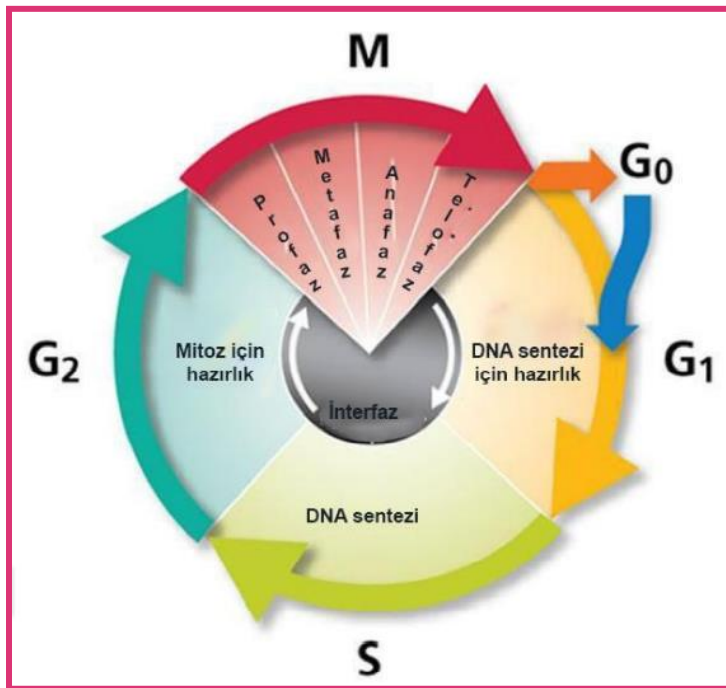
MDA-MB-231 hücre hattı ilk kez 51 yaşında beyaz etnik kökene sahip bir kadının plevral efüzyonlu metastatik bölgesinden izole edilmiştir. Adını ilk izole edildiği merkez olan MD Anderson Kanser Merkezi'nden almıştır (Cailleau, Olive ve Cruciger, 1978). MDA-MB-231, insanda en çok kullanılan meme kanseri hücre hattıdır. Epitelyal morfolojiye sahiptir (Söyler, 2020). Östrojen reseptörü (ER) ve insan epidermal büyüme faktör reseptör 2 (HER2) negatif meme kanseri hücre hattıdır (Holliday ve Speirs, 2011). Yapışkan ve metastatik epitel hücreler olmasının yanı sıra agresif ve invaziv özelliktedir (Yin, 2011).

2.6. Hücre Döngüsü

Organizmada meydana gelen; büyüme, gelişme ve çoğalma olayları hücre döngüsü sayesinde sağlanır (Mens ve Ghanbari, 2018). Hücre döngüsü interfaz ve mitoz olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. İnterfaz aşaması; G1, S ve G2 olmak üzere 3 fazdan oluşur ve mitozun hazırlık evresi olarak kabul edilir (Aktuğ, 2014). Hücre döngüsünde bir aşama tamamlanmadan diğer aşamaya geçilmez (Mens ve Ghanbari, 2018).

- G0 fazı: Dinlenme evresi olarakta adlandırılan G0 evresi normal hücre döngüsü içinde yer alamamaktadır. Hücreler bölünme emri almadıkları sürece bu fazda beklemektedirler (Canpolat, 2016).
- G1 fazı: Hücre döngüsünün ilk aşaması olan G1 faz, fazlarının en uzunudur (Aktuğ, 2014). DNA sentezi için gerekli hazırlıkların yapıldığı bu fazda hücrenin ihtiyaç duyacağı proteinler ve RNA (Ribo Nükleik Asit) sentezlenir, (Adenozin Trifosfat) ATP sentezi hızlanır, hücre içindeki yapıların sayısı artar. Bu fazda bölünme için gerekli koşullar uygunsa hücre S evresine geçer, uygun değilse dinlenme evresi olan G0 evresine geçer (Aktuğ, 2014; Canpolat, 2016).
- S fazı: Bu aşamada RNA sentezi devam eder, protein sentezi artar, DNA sayısı iki katına çıkar (Aktuğ, 2014; Canpolat, 2016).
- G2 fazı: Mitoza hazırlık aşaması olan bu fazda RNA ve protein sentezine devam edilir, DNA sentezi olmaz (Aktuğ, 2014; Canpolat, 2016).
- M fazı: Hazırlık evrelerinin tamamlanıp, bu fazın evreleri olan profaz, prometafaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçtikten sonra sitoplazmanın da bölünmesiyle ana hücre kendisinin genetik kopyası olan iki yeni hücreyi oluşturduğu fazdır (Esposito ve ark., 2004).

Hücre döngüsünün aşamaları Şekil 2.7’de gösterilmiştir (Al, 2019).



Şekil 2.7. Hücre Döngüsü Fazları (Al, 2019)

Hücre döngüsünün farklı aşamaları arasında kontrol noktaları bulunmaktadır. Bu noktalarından gelen cevaba göre hücre döngüsü ya devam eder ya da durur. G1-S, G2-M ve M olmak üzere 3 kontrol noktası mevcuttur (Cabadak, 2008).

- G1-S kontrol noktası: Bu noktada DNA hasarının olup olmadığı kontrol edilir. Hasar var ise döngü durdur ve DNA hasarının giderilmesine olanak sağlanır. Hasar giderilmezse apoptoz yani programlı hücre ölümü mekanizmaları devreye girer (Aktuğ, 2014).
- G2-M kontrol noktası: DNA replikasyonunaun kontrol edildiği evredir. Hasarlı ya da replike olmamış DNA varsa döngü durdurulur (Aktuğ, 2014).
- M kontrol noktası: M fazı içindeki metafaz-anafaz geçişinde bulunan kontrol noktası olup yeni meydana gelen hücreye kromozomların geçişini ve dizilimini kontrol etmektedir (Cabadak, 2008; Akman, 2019).

2.7. Apoptoz

Yunancada yaprak dökümü anlamına gelen apoptoz ilk olarak 1972 yılında kullanılmıştır (Onal, Ovet ve Onal, 2016). Hasara uğramış veya fizyolojik yaşam sürelerini doldurmuş hücrelerin planlı bir şekilde kendini yok etme, öldürme programıdır (Pistritto, Trisciuglio, Ceci, Garufi ve D'Orazi, 2016). Apoptoz kanser gibi hastalıkların patogenizde yer alır ve karsinogenezin önemli noktalarından biridir. Bu olay genler kontrolünde gerçekleşir (Hanahan ve Weinberg, 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Tez çalışmamızda yapılan hücre kültürü basamakları steril biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Demirbaş ve Sarf Malzemeler

3.1.1. Demirbaş Malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Marka İsimleri

Demirbaş Malzeme Adı	Marka Adı
Biyogüvenlik Kabini	Nüve MN 120
CO2 İnkübatör	Sanyo, MCO-19 A/C(UV)
İnvert Mikroskop	Nikon Eclipse TS100
Soğutmalı Santrifüj	Gyrozen 1580
Buzdolabı +4 °C	Beko
Derin Dondurucu -20 °C	Arçelik
Hassas Terazî	Radwag
Pipet Tabancası	Thermo Scientific
Mikropipet Seti	Thermo Scientific
Vortex	IKA MS1 Minishaker
Muse™ Analyzer Cihazı	Guava
Rotary Evaporatör	Heidolph
HPLC Cihazı	Shimadzu Corporation FRC-10A

3.1.2. Sarf Malzemeler

Tez kapsamında kullanılan sarf malzemeler ve firma isimleri Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler ve Firma İsimleri

Sarf Malzeme Adı	Firma Adı
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	Capricorn Scientific, CP21-4310
Trypsin-EDTA (%0.5)	Sigma Life Science, SLCH8830
L-Glutamin (200 mM) Thermo	Capricorn Scientific, CP21-4183
Fetal Sığır Serum (FBS)	Biowest, S181G-500
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Biowest
Dimetilsülfoksit (DMSO)	BioChemica
Penisilin-Streptomisin	Sigma Life Science, 046M4846V
Steril 6'lı Kuyucuklu Plaklar	Corning Costar, 3524
Pipet Ucu 0,1-10, 5-200 ve 200-1000 µl	Isolab
Hücre Kültür Plakları 25 cm ²	Grenier Bio-One
Hücre Kültür Plakları 75 cm ²	BD Falcon
Santrifüj (Falkon) Tüpleri	Cytotest
Cryo Tüp Steril	Isolab
Thoma Lamı	Marienfeld-Superior
Fosfat Tuz Tamponu (PBS)	Gibco
Parafilm	Bemis, PM-996
Cerrahi Eldiven	Beybi, 1944275
5, 10 ve 20 ml Enjektör	Ayset
0,22 ve 0,45 µm Enjektör Ucu Filtre	Isolab, 000H02092
Annexin V and Dead Cell Assay Kit	Muse® MCH100105
Cell Cycle Assay Kit	Muse® MCH100106
Metanol	Merck
Asetonitril	Merck
Trifloroasetik	Merck

3.2. Nar (*Punica Granatum*) Kabuğu Ekstresinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan narlar (*Punica Granatum*), Türkiye’de Kayseri ilinde bir pazardan temin edildi. Nar kabukları meyveden ayrıştırıldı. Ayrıştırılan nar kabukları gölgede hava sirkülasyonu olacak şekilde kurumaya bırakıldı. Nar kabuğu dışındaki diğer maddeler, bozulmuş, çürümüş, kusurlu kabuklar ayıklandı ve büyük parçalar el ile ufaltıldı. Nar kabukları 2-3 hafta boyunca sürekli karıştırılarak etkili bir şekilde kuruması sağlandı. Kurutulan nar kabukları homojen kıvama gelene kadar öğütücü ile toz forma getirilip elekten geçirildi. Sonrasında ekstre alma işlemine geçildi. Ekstre alma işlemi Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarında gerçekleştirildi. Ekstre elde etme aşamaları şu şekildedir:

- Toz forma getirilen nar kabuğundan 50 gram tartıldı.
- 250 ml metanol eklendi.
- 30 dakika 250 rpm’de karıştırıldı.
- 5000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi.
- Filtre kağıdından geçirildi.
- Bir miktarı HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)’ne enjekte edilirken kalan kısmı 40°C’de Rotary evaporaterde uçuruldu.

Nar (*Punica Granatum*) ekstresi elde etme aşamaları Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. A. Meyveden Ayrıştırılan Nar Kabuğu B. Kurutulup Ufaltılan Nar Kabuğu C. Öğütölüp Toz Hale Getirilmiş Nar Kabuğu D. Nar Kabuğu Ekstresi E. Besiyyerinde Çözdürölmüş Nar Kabuğu Ekstresi

3.3. HPLC Yöntemi İle Fenolik Bileşiklerin Analizi

Fenolik maddelerin belirlenmesinde HPLC yöntemi kullanıldı. HPLC yöntemi olarak Çam ve Hışıl'ın belirlemiş olduğu metot kullanıldı (Çam ve Hışıl, 2010). Analizler Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarında gerçekleştirildi. Nar kabuğu ekstresi 10 kat seyreltilerek ve 0,45 µm'lik filtrelerden geçirilerek HPLC cihazına enjekte edildi. HPLC'nin çalışma koşulları Tablo 3.3'te, fenolik bileşiklerin analizinde kullanılan gradient program Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3. HPLC Sistemi ve Çalışma Koşulları

HPLC Sistemi	Shimadzu UFLC
Dedektör	SPDM20A PDA
Kolon	GL Sciences C18 zıt faz kolonu (10 mm x 250 mm, 5 µm)
Kolon Sıcaklığı	40 °C
Akış Hızı	1 ml/dk
Mobil Faz A	Su (%0,05 Trifloroasetik asit)
Mobil Faz B	%70 Asetonitrilli Su (%0,045 Trifloroasetik asit)

Tablo 3.4. Fenolik Bileşikler İçin HPLC'de Uygulanan Dereceli Elüsyon Program

Süre (dakika)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0	100	0
15	50	50
17.5	0	100
20	0	100
20.01	100	0
25	100	0

3.4. Kullanılan Hücre Hatları

Bu çalışmada Nar (*Punica Granatum*) ekstresinin meme kanseri üzerine olası etkileri analiz edilirken, meme kanseri hücre hattı olarak MDA-MB-231 hücresi kullanıldı. Çalışmada kullanılan hücreler Erciyes Üniversitesi Betül-Ziya EREN Genom ve Kök hücre Merkezi (GENKÖK) Laboratuvar stoklarından temin edildi. Çalışmada kullanılan hücrelerin tipi ve bu hücrelerin özellikleri Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.5. Çalışmada Kullanılan Hücrelerin Hattı ve Özellikleri

Hücre İsmi		MDA-MB-231
Büyüme Özelliği		Adherent (Yapışabilen)
Organizma		<i>Homo Sapiens</i> (İnsan)
Östrojen Reseptörü (ER)		Negatif
HER2 Reseptörü		Negatif
Morfolojisi		Epitelyal
Kaynağı	Organ	Meme
	Hücre Tipi	Meme Adenokarsinoma

3.5. Hücre Kültür Besiyeri Hazırlanması

Besiyeri hazırlama işlemi kontaminasyonların önlenmesi amacıyla steril biyogüvenlik kabini içerisinde yapıldı. Besiyerinin saklanacağı tüpler 50 ml'lik falkonlar olarak belirlendi. 100 ml'lik kültür besiyeri için %84 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), %15 Fetal Bovine Serum (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin kombinasyonu kullanıldı. Besiyerini oluşturan tüm maddeler ayrı ayrı 0,22 µm'lik steril enjektör filtreden geçirilerek steril falkonlara aktarıldı (Şekil 3.2). Oluşturulan besiyeri +4°C'de muhafaza edildi. Hazırlanan steril besiyerleri azami bir hafta içinde kullanıldı.



Şekil 3.2. A. Besiyerini Oluşturan; DMEM, FBS ve Penisilin-Streptomisin Maddeleri B. Biyogüvenlik Kabini İçerisinde Besiyerini Oluşturan Maddelerin 0,22 µm'lik Steril Enjektör Ucu Filtreden Geçirilmesi C. Kullanıma Hazır Besiyerleri

3.6. Hücrelerin Çözdürülmesi

Laboratuvar ortamında dondurulan veya ticari olarak dondurulmuş şekilde alınan hücrelerin deneylerde kullanılabilmesi için önce çözdürülmeleri ve daha sonra ekimlerinin yapılması gerekmektedir. Hücrelerin sağlıklı bir şekilde çoğalabilmesi için çözdürme işleminde hızlı ve hassas olunması gerekmektedir. Çözdürme işleminin aşamaları şu şekildedir:

- Su banyosu sıcaklığı 37°C'ye getirildi.
- Komplet hücre kültür ortamı su banyosunda 37 °C'de ısıtıldı.
- Sıvı azot tankında saklı hücreler tanktan çıkarıldı ve 37 °C'lik su banyosunda hızlıca çözdürüldü.
- Hücreler 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktarıldı ve üzerine 10 ml taze besiyeri yavaş ve dikkatlice eklendi.
- Tüplerin ağzı sıkıca kapatılıp santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı.
- Geriye kalan çökmüş hücre pelleti üzerine 5 ml taze besiyeri eklendi ve hücreler dikkatlice süspanse edildi.
- Süspanse edilen hücreler uygun büyüklükteki kültür flaskına aktarıldı.
- Bu aşamada hücrelerin homojen dağılması önemlidir bunun için hücrelerin mikroskop altında homojenitesi incelendi.
- 37 °C'de %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakıldı.
- Bir sonraki gün mikroskop altında hücrelerin canlılığı incelendi ve iki günde bir flask içerisindeki eski besiyeri uzaklaştırılarak taze besiyeri ilave edildi.

3.7. Hücrelerin Canlılığı ve Sayımı

Hücre kültürü çalışmalarında kültüre edilen hücre sayısının tahmini olarak da olsa bilinmesi gerekmektedir. Hücre sayımı, hücre süspansiyonunun ml'sindeki hücre sayısını belirlemek amacıyla yapılır. Çalışmamızda bu amaçla Trypan Blue hücre sayım yöntemi kullanıldı. Trypan Blue canlı hücrelerin mikroskop altında parlak görünmesini, canlı olmayan hücrelerin ise mavi görünmesini sağlayan bir boyadır. Bu nedenle sayım yapılacak lama uygulanan ve Trypan blue ile boyanmış hücreler canlı hücre ise, boya hücre içine girmez ve mikroskop altında parlak görünürler. Canlı olmayan hücrelerde ise boya membran içine girer, hücre boyayı absorbe eder ve mikroskop altında

incelediğimizde bu hücreler mavi renkte görünürler. Hücre sayımının aşamaları şu şekildedir:

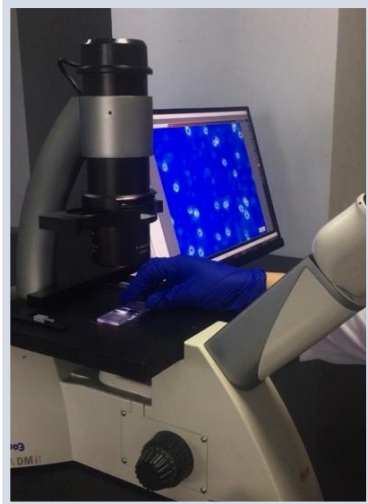
- Hücre sayımı için hücre süspansiyonundan ependorf tüpüne bir miktar alındı ve hücreden alınan miktar ile aynı oranda Trypan Blue solüsyonu eklendi.
- 5 dakika inkübe ettikten sonra lamel kapatılmış Thoma lamının her iki tarafına aktarıldı.
- Mikroskop ile sayım yapıldı (Şekil 3.3). Önce 5'lik daha sonra 10'luk objektifte incelenerek boyanmış ve boyanmamış hücreler sayılarak not edildi. (Sayım yapılırken parlayan hücreler canlı kabul edilirken maviye boyanmış hücreler cansız kabul edildi.)
- Sayım alanı içindeki hücre sayısının ortalaması alındı.
- Canlı hücre sayısı (hücre/ml) = Ortalama hücre sayısı x 2 x 10^4 formüle göre hesaplandı.

Ortalama hücre sayısı: Her iki alandaki 1 mm²'lik 16 kare sayıldıktan sonra, toplam hücre sayısının 2'e bölünmesiyle elde edilir.

10⁴: Her 1 mm² alan hacim olarak 0,1 mm³'e, bu da 10⁻⁴ ml'ye eşit olduğu için, ml'deki hücre sayısını bulmak için 10⁴ ile çarpılır.

2: Alınan örnek hacmine eşit miktarda tripan mavisi konulduğu için 2 kat seyrelir, bu yüzden 2 ile çarpılır.

Alınan örnekte seyreltme işlemi yapıldıysa bulunan sonuç en son seyreltme faktörü ile çarpılır.



Şekil 3.3. Mikroskop Altında Thoma Lamında Hücre Sayımı

3.8. Hücrelerin Pasajlanması

Kültürde çoğalan hücreler besi ortamındaki besleyici ajanları büyük ölçüde tüketip flask içerisindeki hücre yoğunlukları %70'e ulaştıktan sonra çoğalma hızları düşmekte ve bir süre sonra durmaktadır. Bu dönemde hücrelere zarar verilmeden başka bir flaska transfer edilmeleri gerekmektedir. Bu işleme pasajlama denir. Pasajlama işleminin aşamaları şu şekildedir:

- RPMI Komplet Medyum hücre kültür ortamı, FBS ve tripsin-EDTA su banyosunda 37°C' de ısıtıldı. (PBS oda sıcaklığında)
- Üremeleri için uygun koşulların sağlandığı (37 °C' ve %5'lik CO₂) inkübatörde bekletilen hücre flaskları inkübatörden alındı ve mikroskopta incelendi.
- Flask içerisindeki eski besiyeri uzaklaştırılıp flaska ilave edilen PBS (Phosphate Buffered Saline) ile yüzey yıkandı ve PBS yavaşça çekildi.
- Hücreler flask dibine yapışık olduğu için, kaldırılması amacı ile tripsin-EDTA solüsyonu eklendi ardından 37 °C'de %5 CO₂'li etüvde 3-4 dk (hücre tipine göre değişir) inkübasyona bırakıldı. (Sıcaklık tripsinin etkinliğini artırır.)
- İnkübasyon işlemi sonrası mikroskop altında hücrelerin kalktığından emin olmak için inceleme yapıldı.
- Hücrelerin kalktığından emin olduktan sonra, flaska konulan tripsin miktarının 2 katı kadar taze besiyeri ilave edildi (içindeki FBS tripsini bloke eder) ve hücreler santrifüj tüpüne (falkon) aktarıldı. Tüplerin ağzı sıkıca kapatılıp santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süpernatant kısmı atıldı.
- Dipte kalan hücre pelletini çözmek için yaklaşık 10 ml taze besiyeri eklendi ve yavaşça pipetaj yapılarak çözündürüldü.
- Hücre sayımı Thoma lamına 10 µl hücre solüsyonundan eklenerek çalışılan hücre hattı için uygun ekim yoğunluğunda pasajlandı.
- Flask üzerine hücre hattı ismi, pasaj numarası ve pasaj tarihi yazıldı.
- Hücreler mikroskop altında incelendi.
- Flasklar 37 °C'de %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakıldı.

3.9. Hücrelerin Dondurulması

Hücreler dondurma işlemi, kullanılmayan hücrelerin saklanması için yapılan bir işlemdir. Dondurma işleminin aşamaları şu şekildedir:

- Hücre dondurma işlemi Cryoprotectan ile gerçekleştirildi. Cryoprotectan hazırlanışı; 3 Birim HES (Hidroksietil Starch) + 2 Birim DMSO enjektör ile alınıp filitreden geçirildi = 5 Birim Cryoprotectant hazırlandı.
- Hücre içeren besi yeri $\frac{3}{4}$ oranında cryo tüpüne eklendi.
- Hazırlanan Cryoprotectan $\frac{1}{4}$ oranında cryo tüpüne eklendi.
- Her bir cryo tüpüne 150 μ l Cryoprotectant + 100 μ l DMSO + 750 μ l medyum içeren hücre = 1 ml (1000000 hücre için) kullanıldı.
- Hücreler 24 saat -80 °C’de bekletildi.
- Daha sonra -196 °C olan sıvı azot tankına kaldırıldı.
- Bu işlem ile 1 ml dondurma çözeltisi içinde 1000000 hücre saklandı.

3.10. Hücre Hattı Üzerinde Dozun ve Deney Gruplarının Belirlenmesi

Bu çalışmada MDA-MB-231 hücreleri üzerinde nar kabuğu ekstresinin 25 ve 50 μ g/ml dozları farklı zaman sürelerinde (24 ve 48 saat) kültüre edilerek denendi. 24 ve 48 saatlik inkübasyonlar için annexin V ve ölü hücre testi deney grupları Tablo 3.6’da, hücre döngüsü testi deney grupları Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.6. Annexin V ve Ölü Hücre Testi Deney Grupları

Annexin V ve Ölü Hücre Testi Deney Grupları	
24 Saatlik Süre İçin:	
1.	Kontrol Grubu: 1×10^4 MDA-MB-231 hücresi + Besiyeri
2.	25 μ g/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^4 MDA-MB-231 hücresi + 25 μ g/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri
3.	50 μ g/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^4 MDA-MB-231 hücresi + 50 μ g/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri
48 Saatlik Süre İçin:	
1.	Kontrol Grubu: 1×10^4 MDA-MB-231 hücresi + Besiyeri
2.	25 μ g/ml Nar Kabuğu Grubu: $1 \times 1 \times 10^4$ MDA-MB-231 hücresi + 25 μ g/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri
3.	50 μ g/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^4 MDA-MB-231 hücresi + 50 μ g/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri

Tablo 3.7. Hücre Döngüsü Testi Deney Grupları

Hücre Döngüsü Testi Deney Grupları
24 Saatlik Süre İçin:
1. Kontrol Grubu: 1×10^6 MDA-MB-231 hücresi + Besiyeri
2. 25 µg/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^6 MDA-MB-231 hücresi + 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri
3. 50 µg/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^6 MDA-MB-231 hücresi + 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri
48 Saatlik Süre İçin:
1. Kontrol Grubu: 1×10^6 MDA-MB-231 hücresi + Besiyeri
2. 25 µg/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^6 MDA-MB-231 hücresi + 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri
3. 50 µg/ml Nar Kabuğu Grubu: 1×10^6 MDA-MB-231 hücresi + 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi + Besiyeri

Steril biyogüvenlik kabininde 24 kuyucuklu kültür kaplarına (well plate'lere) MDA-MB-231 hücreleri ekildi, ardından nar ekstraktları ve besi yerleri yukarıda belirtilen deney dizaynına uygun olarak kuyucuklara eklendi. Kuyucuklara eklenen maddelerin ve hücrelerin homojen bir şekilde dağılımını sağlamak amacıyla pipetaj yapıldı. Ardından kültür kapları 24 ve 48 saatlik sürelerde, 37°C'de, içerisinde %95 oranında nem ve %5 oranında CO2 bulunan inkübatöre alındı.

3.11. Annexin V ve Ölü Hücre Testi

Annexin V ve Ölü Hücre Testi, MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde Nar (*Punica Granatum*) ekstresi kullanılarak canlı, erken apoptotik, geç apoptotik, ölü ve toplam apoptotik hücrelerin konsantrasyonunu (hücre/ml) yüzde olarak belirlemek amacıyla yapıldı. Testin yapılışı:

- İnkübasyon işleminin sonrasında kültür kaplarının kuyucukları pipet ve steril pipet uçları vasıtasıyla kendi grubunun adının yazılı olduğu ependorf tüplere aktarıldı. Kuyucuklar boşaltılırken kültür kabı yaklaşık 45 derecelik bir açıyla tutuldu ve kuyucuk içerisinde ki hücrelerin çökmesini engellemek amacıyla pipetaj uygulandı.

- İçerisinde hücrelerin bulunduğu ependorf tüpler 300 g'de 5 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj işlemi sonrasında ortaya çıkan süpernatant, mikropipet yardımıyla ependorf tüpten ayrıldı.
- Ependorf tüpteki pellet üzerine 100 ml PBS eklendi ve vorteks cihazı ile iyice karıştırıldı.
- Vortekslenen tüpler yeniden 300 g'de 5 dk santrifüj edildi. Tüplerin zerindeki supernatant uzaklaştırıldı.
- Ependorf tüplerin herbirine 100 μ l %1'lik FBS eklendi.
- 20 $^{\circ}$ C'de muhafaza edilen Annexin V kiti, deney öncesinde oda sıcaklığına gelecek şekilde dolaptan çıkarıldı. Daha önce %1'lik FBS eklenen tüplere bu kit sıvısından da 100 μ l eklendi.
- Ependorf tüpler içindeki karışımın tam olarak homojenleşmesi amacıyla tüpler vortekslendi.
- Tüpler 20 dakika oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda inkübasyona bırakıldı.
- Bu bekleme süresinde Muse Cell Analyzer cihazının standart solüsyonlarla n yıkaması yapılarak cihaz örnek okumaya hazır hale getirildi (şekil 3.4).
- 20 dakikalık süre sonunda tüpler birer birer cihazın örnek haznesine yerleştirildi.
- Okuma işlemine kontrol grubundan başlandı.
- Okuma işlemi esnasında, gruplar arası geçişte kısa süreli olarak cihaz yıkandı.
- Cihaz tarafından otomatik olarak kaydedilen okuma sonuçları taşınabilir hafıza kartlarına aktarıldı.



şekil 3.4. Muse Cell Analyzer Cihazı

3.12. Hücre Döngüsü Testi

Hücre döngüsünün düzenlenmesi, hücre canlılığı için kritiktir. Ayrıca hücre döngüsü genetik hasarın onarımı ve kontrolsüz hücre bölünmesinin önlenmesi için önem taşımaktadır. Hücre döngüsündeki bozukluklar, tümör hücrelerinin karakteristik bir özelliğidir ve hücre döngüsünün kontrolünde genlerdeki mutasyonlar kanserde son derece yaygındır. Hücre döngüsü analizi, anti-kanser bileşiklerinin etkilerini anlamak veya hücre bölünmesi mekanizmalarını incelemeye giderek önem kazanmaktadır. Bu test hücre döngüsünün G0/G1, S ve G2/M evrelerindeki hücrelerin yüzdesinin hızlı ve niceliksel ölçümlerini sağlar. Bu test hücre döngüsünün her bir evresinde bulunan total hücrelerin yüzdesini verecektir. Testin yapılışı:

- İnkübasyon işleminin sonrasında kültür kaplarının kuyucukları pipet ve steril pipet uçları vasıtasıyla kendi grubunun adının yazılı olduğu ependorf tüplere aktarıldı. Kuyucuklar boşaltılırken kültür kabı yaklaşık 45 derecelik bir açıyla tutuldu ve kuyucuk içerisinde ki hücrelerin çökmesini engellemek amacıyla pipetaj uygulandı.
- İçerisinde hücrelerin bulunduğu ependorf tüpler 300 g'de 5 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj işlemi sonrasında ortaya çıkan süpernatant, mikropipet yardımıyla ependorf tüpten ayrıldı.
- Süpernatantın uzaklaştırıldığı ependorf tüplere birer ml PBS eklendi ve vorteks cihazı ile orta hızda karıştırıldı.
- Vortekslenen tüpler yeniden 300 g'de 5 dk santrifüj edildi. Tüplerin üzerindeki supernatant uzaklaştırıldı.
- Süpernatantın uzaklaştırıldığı ependorf tüplerin her birine 50 µl PBS ilave edildi.
- Daha sonra -20°C'den çıkarılan %70'lik etanolden 1 ml eklendi ve tüplerin kapakları kapatılarak vortekslendi.
- Tüplerin hepsi spora dizilerek -20°C'de bir gece bekletildi.
- Bir gecenin sonunda dondurucudan çıkarılan tüpler vortekslendikten sonra her bir tüpten 200 µl alındı. Alınan bu karışımlar kendi grubunun adının yazılı olduğu steril ependorf tüplere aktarıldı.
- Ependorf tüpler 300 g'de 5 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant mikropipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
- Tüplerin her birine 250 µl PBS elenerek vorteks yapıldı.

- Daha sonra tüpler yeniden 300 g'de 5 dk santrifüj edildi, tüplerin üzerindeki supernatant mikropipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
- Bu işlemi takiben her tüpe 200 µl Muse Cell Cycle kiti ilave edildi ve orta hızda 3-5 saniye vortekslendi.
- Bu işlemden sonra ependorf tüpler 30 dk boyunca, oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi.
- Bu bekleme süresinde Muse Cell Analyzer cihazı açıldı ve cihazın standart solüsyonlarla ön yıkaması yapılarak cihaz örnek okumaya hazır hale getirildi.
- Otuzuncu dakikanın sonunda tüpler birer birer cihazın örnek haznesine yerleştirilerek cihazın hücre döngüsü ile ilgili sonuçları okuması sağlandı. İlk olarak kontrol grubu okutuldu
- Her bir grup bitiminde cihaza hızlı yıkama yaptırıldı.
- Tüm sonuçlar cihazın hafızasına kaydedildikten sonra taşınabilir disk yardımıyla alındı.
- İşlemlerin sonrasında Muse Cell Analyzer cihazı gerekli yıkamalar yapıldıktan sonra kapatıldı.

3.13. İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk, histogram, q-q grafikleri ile değerlendirildi. Gruplar arası parametrelerin istatistiksel karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Verilerin varyanslarının homojenliği Levene testi aracılığı ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmalarda Tukey testi kullanıldı. Her bir grup için, 24 ve 48 saatlik ölçümler arasındaki farklılıklar paired t testi ile değerlendirildi. Verilerin analizi Turcosa (Turcosa Analytics Ltd Co, Turkey, www.turcosa.com.tr) istatistik yazılımında gerçekleştirildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Toplam Fenolik Madde ve Punicalagin Miktarı

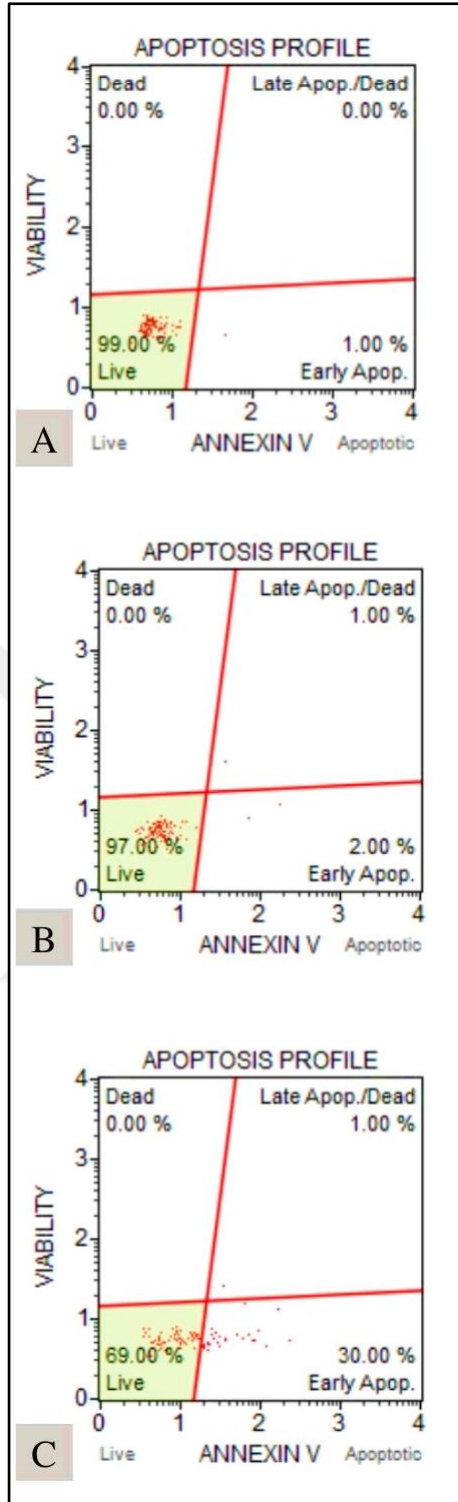
HPLC yöntemi ile yapılan analiz sonucu 50 gr (250 ml) nar kabuğu ekstresinde 1235,93 mg fenolik bileşen bulundu. Nar kabuğunda en fazla bulunan fenolik maddenin ise %70 oran ile punicalagin olduğu belirlendi. Tablo 4.1’de çalışmamızda kullanılan ekstre miktarlarının içerdiği toplam fenolik madde ve punicalagin miktarı gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmada Kullanılan Ekstre Miktarlarının İçerdiği Toplam Fenolik Madde ve Punicalagin Miktarı

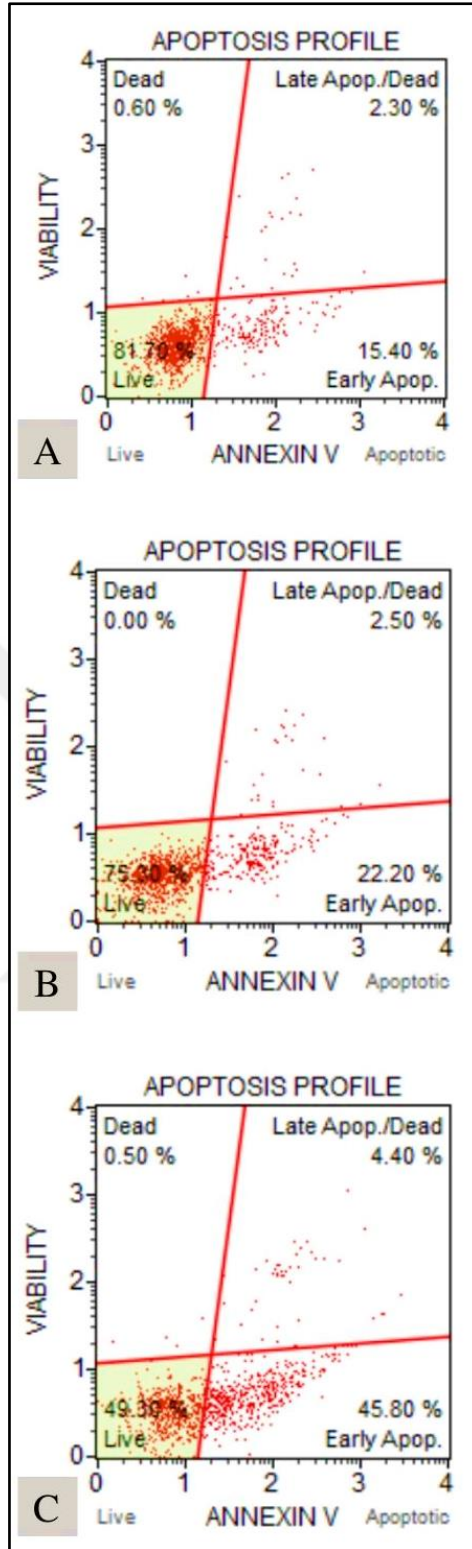
Nar Kabuğu Ekstre Miktarı	Toplam Fenolik Madde Miktarı	Punicalagin Miktarı
25 µg	0,0006175 mg	0,00043225 mg
50 µg	0,001235 mg	0,0008645 mg

4.2. Annexin V ve Ölü Hücre Testi Sonuçları

Bu test hücre örneklerindeki canlı, erken apoptoz, geç apoptoz ve toplam apoptozdaki hücrelerin yüzdelik oranlarını belirlemektedir. Bu oranlar 24 ve 48 saat için gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve sonuçlar not edildi. Sonuçların oluşturulmasında Muse Cell Analyzer cihazından alınan ham veri grafikleri esas alındı. Cihazın oluşturduğu grafiklerde yatay ve dikey eksenlerin kesişmesiyle oluşan dört bölme izlendi. Testin içeriğindeki işaretleyicilerin oluşturduğu hücre popülasyonları bu bölmelerde gözlemlendi. Ölü hücreler sol üst kadranda, canlı hücreler sol alt kadranda, geç apoptoza giren hücreler sağ üst kadranda, erken apoptoza giren hücreler sağ alt kadranda toplandı. 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonunda Muse Cell Analyzer cihazından elde edilen veri grafikleri Şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. 24 Saatlik İnkübasyon Süresi Sonunda Gruplara Göre MDA-MB-231 Hücrelerinin Apoptoz Oranlarını Gösteren, Muse Cell Analyzer Cihazından Elde Edilen Veri Grafikleri **A.** Kontrol Grubu, **B.** 25 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu, **C.** 50 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu



Şekil 4.2. 48 Saatlik İnkübasyon Süresi Sonunda Gruplara Göre MDA-MB-231 Hücrelerinin Apoptoz Oranlarını Gösteren, Muse Cell Analyzer Cihazından Elde Edilen Veri Grafikleri **A.** Kontrol grubu, **B.** 25 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) grubu, **C.** 50 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu

4.2.1. Canlı Hücre

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak, canlı hücre sayısı yönünden değerlendirildiğinde, kontrol grubunun 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülürken ($p<0,05$), diğer grupların kendi içerisinde 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.2).

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, kontrole göre hem 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi hem 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi gruplarında canlı hücre sayısındaki azalma bakımından anlamlı bir düşüş olduğu belirlendi ($p<0,001$). 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde ise kontrole göre hem 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi hem 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi gruplarında canlı hücre sayısındaki azalma bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi ($p=0,001$) (Tablo 4.2).

Hem süreye hem doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, 48 saatlik inkübasyon süresi 50 µg nar kabuğu ekstresi grubunun canlı hücre yüzdesinin, diğer grupların canlı hücre yüzdelерinden anlamlı olarak daha düşük ($p<0,05$) olduğu gözlemlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Canlı MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

Canlı Hücre	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 µg Nar Kabuğu Ekstresi	50 µg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	99,00±0,20 ^a	97,00±1,30 ^a	69,00±4,30 ^b	<0,001
48 saat	81,70±2,3 ^a	75,30±7,70 ^a	49,30±4,70 ^b	0,001
p^*	0,007	0,053	0,063	

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlı olduğunu ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

4.2.2. Erken Apoptotik Hücre

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak, erken apoptotik hücre yüzdesi yönünden değerlendirildiğinde, her grubun 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu kaydedildi ($p<0,05$) (Tablo 4.3).

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, kontrole göre hem 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi hem 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi gruplarında artan bir erken apoptoz değeri görülürken ($p<0,001$), 48 saatlik sonuçlarda ise erken apoptoz değerlerinde kontrole göre tüm gruplarda anlamlı bir artışın olduğu görüldü ($p<0,001$) (Tablo 4.3).

Hem süreye hem doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, 48 saatlik inkübasyon süresi 50 µg nar kabuğu ekstresi grubunun erken apoptotik hücre yüzdesinin, diğer grupların erken apoptotik hücre yüzdelерinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3.Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Erken Apoptotik MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

Erken Apoptotik Hücre	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 µg Nar Kabuğu Ekstresi	50 µg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	1,00±0,20 ^{ab}	2,00±1,60 ^b	30,00±5,40 ^c	<0,001
48 saat	15,40±3,10 ^{ab}	22,27±4,00 ^b	45,8±1,80 ^c	<0,001
p^*	0,017	0,025	0,017	

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlılığını ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

4.2.3. Geç Apoptotik Hücre

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak, geç apoptotik hücre yüzdesi yönünden değerlendirildiğinde, her grubun 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu kaydedildi ($p<0,05$) (Tablo 4.4).

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, kontrole göre hem 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi hem 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi gruplarında artan bir geç apoptoz değeri görülürken ($p<0,05$), 48 saatlik sonuçlarda ise geç apoptoz değerlerinde kontrole göre tüm gruplarda anlamlı bir artışın olduğu görüldü ($p<0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Geç Apoptotik MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

Geç Apoptotik Hücre	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 μg Nar Kabuğu Ekstresi	50 μg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	1,00 $\pm$ 0,50 ^b	1,00 $\pm$ 0,50 ^b	0,037
48 saat	2,3 $\pm$ 0,70 ^a	2,5 $\pm$ 0,90 ^{ab}	4,40 $\pm$ 0,90 ^b	0,041
p^*	0,030	0,023	0,005	

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi.

Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlılığını ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

4.2.4. Toplam Apoptotik Hücre

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak, toplam apoptotik hücre yüzdesi yönünden değerlendirildiğinde, her grubun 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri arasında anlamlı farkın olduğu kaydedildi ($p<0,05$) (Tablo 4.5).

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda doza bağlı olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, kontrole göre hem 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nar kabuğu ekstresi hem 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nar kabuğu ekstresi gruplarında artan bir toplam apoptoz değeri görülürken ($p<0,001$), 48 saatlik sonuçların toplam apoptoz değerlerinde kontrole göre tüm gruplarda anlamlı bir artışın olduğu görüldü ($p<0,001$) (Tablo 4.5)

Tablo 4.5. Annexin V Testinde 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda Toplam Apoptotik MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

Toplam Apoptotik Hücre	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 μg Nar Kabuğu Ekstresi	50 μg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	1,00 $\pm$ 0,50 ^a	3,00 $\pm$ 0,20 ^a	31,00 $\pm$ 2,20 ^b	<0,001
48 saat	17,70 $\pm$ 1,00 ^a	24,70 $\pm$ 1,70 ^b	50,20 $\pm$ 0,90 ^c	<0,001
p^*	<0,001	0,020	0,009	

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi.

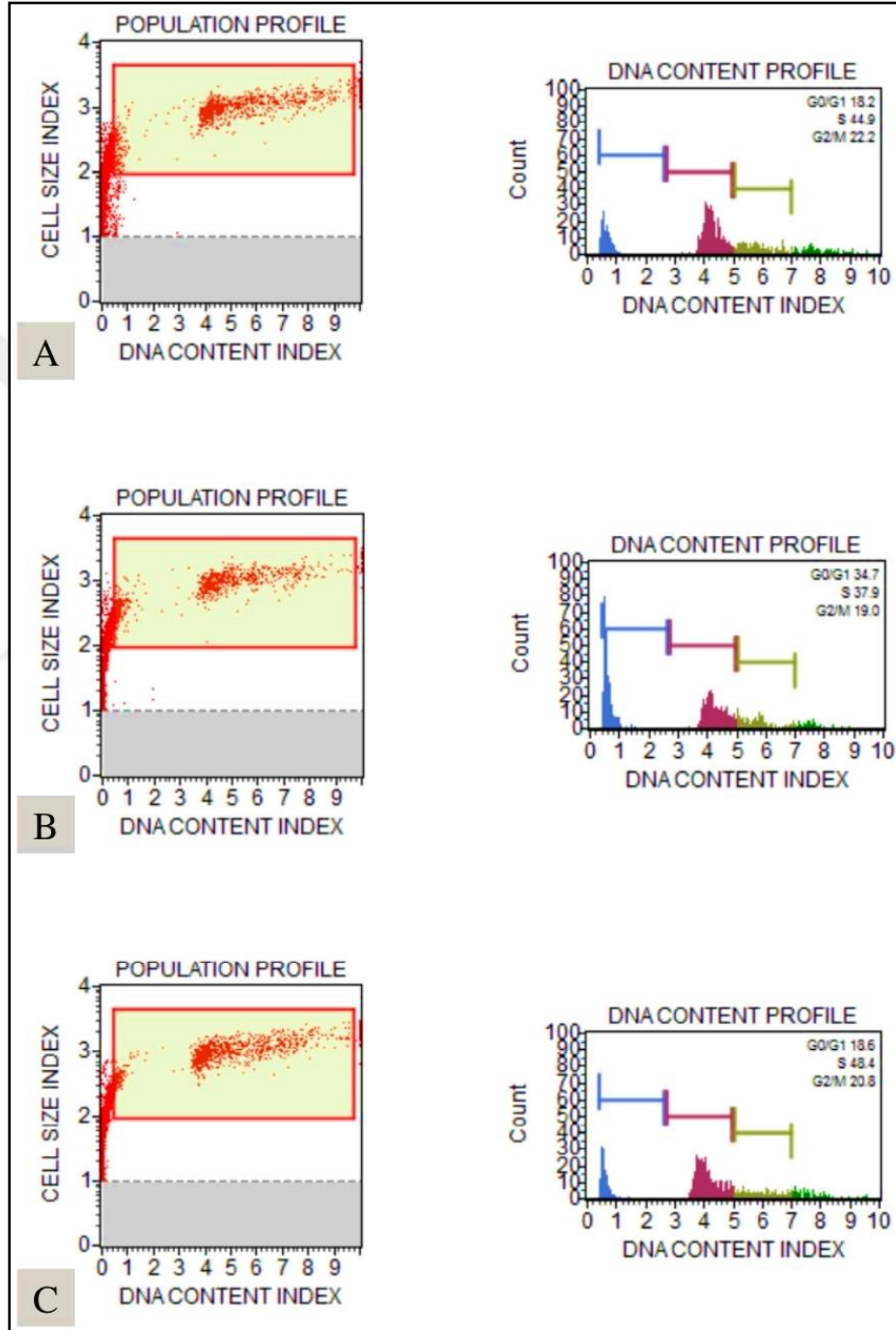
Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlılığını ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

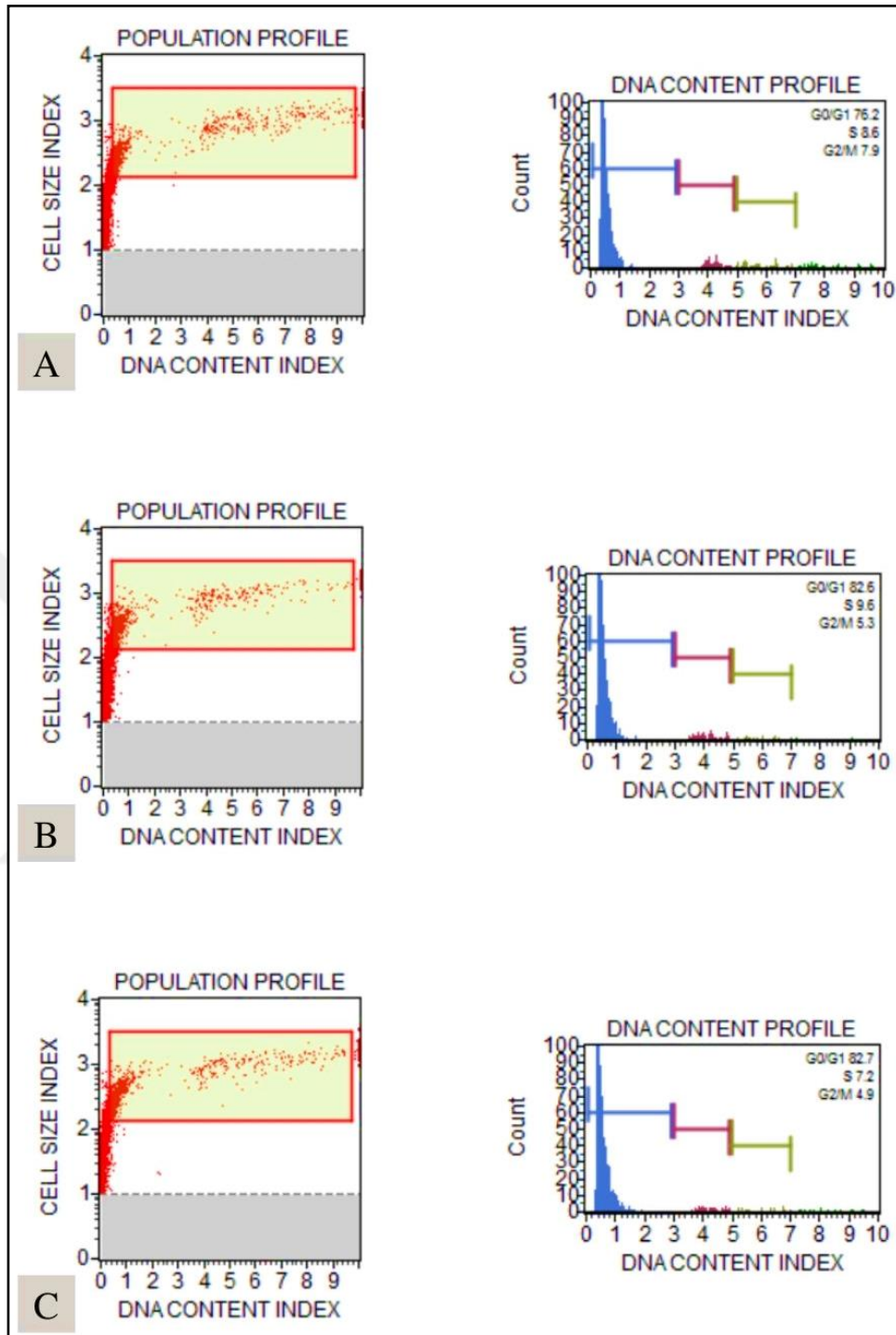
$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

4.3. Hücre Döngüsü Testi Sonuçları

Bu test ile 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda gruplar arası G0/G1, S, ve G2/M total fazındaki hücrelerin yüzdesel (%) oranları değerlendirildi. Sonuçlar Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.3. 24 Saatlik Kültür Sonunda Gruplara Göre Muse Analyzer Cihazı Hücre Döngüsü Testi Ham Veri Grafikleri **A.** Kontrol Grubu, **B.** 25 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu, **C.** 50 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu



Şekil 4.4. 48 Saatlik Kültür Sonunda Gruplara Göre Muse Analyzer Cihazı Hücre Döngüsü Testi Ham Veri Grafikleri **A.** Kontrol Grubu, **B.** 25 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu, **C.** 50 µg/ml Nar (*Punica Granatum*) Grubu

4.3.1. G0/G1 Evresi

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak değerlendirildiğinde, her gruba ait G0/G1 evresi hücre oranlarının 24 ve 48 saatlik kültür sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4.6).

G0/G1 evresi 24 saatlik inkübasyon sonuçları değerlendirildiğinde 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi grubunun G0/G1 evresinde bulunan hücre oranının, 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi grubu ve kontrol grubu G0/G1 evresi hücre oranlarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda G0/G1 Evresindeki MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

G0/G1 Evresi	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 µg Nar Kabuğu Ekstresi	50 µg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	18,20±3,20 ^a	34,70±1,70 ^b	18,60±4,80 ^a	0,002
48 saat	76,20±11,40	82,60±8,80	82,70±4,0	0,599
p^*	0,020	0,007	<0,001	

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlı olduğunu ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

4.3.2. S Evresi

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak paired t testine göre değerlendirildiğinde, her gruba ait S evresi hücre oranlarının 24 ve 48 saatlik kültür sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4.7).

Gruplar doza bağlı olarak değerlendirildiğinde S evresi hücre oranlarının kontrol grubuna göre diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$) (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda S Evresindeki MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

S Evresi	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 µg Nar Kabuğu Ekstresi	50 µg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	44,90±1,10	37,90±2,70	48,40±12,80	0,298
48 saat	8,60±0,70	9,60±2,10	7,20±2,10	0,316
p^*	0,011	<0,001	0,022	

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlılığını ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

4.3.3. G2/M Evresi

Gruplar kendi içerisinde inkübasyon sürelerine bağlı olarak değerlendirildiğinde, her gruba ait G2/M evresi verilerinin 24 ve 48 saatlik kültür sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4.8).

Kontrol, 25 µg/ml nar kabuğu ekstresi, 50 µg/ml nar kabuğu ekstresi gruplarının G2/M evresi verilerinin 24 saatlik kültür sonuçları değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaz iken ($p>0,05$), 48 saatlik kültür sonuçları değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p=0,012$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Süreleri Sonunda G2/M Evresindeki MDA-MB-231 Hücrelerine Ait Veriler

G2/M Evresi	Gruplar			$p^{\#}$
	Kontrol	25 µg Nar Kabuğu Ekstresi	50 µg Nar Kabuğu Ekstresi	
24 saat	22,20±1,20	19,00±2,00	20,80±0,60	0,719
48 saat	7,90±1,40 ^a	5,30±0,50 ^b	4,90±0,40 ^b	0,012
p^*	0,011	0,004	0,011	

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

Alfabetik üst simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arası farkın anlamlı olmadığını ifade ederken, harflerin farklı olması gruplar arası farkın anlamlılığını ifade etmektedir.

p^* = Paired t testi

$p^{\#}$ = Tek yönlü varyans analizi

5. TARTIŞMA

Dünya çapında ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer alan kanser, ölümcül bir hastalıktır (Sudhakar, 2009). Meme kanseri, kadınlarda en sık teşhis edilen kanser türü olmakla birlikte kadınlarda kansere bağlı ölüm nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır (Fahad Ullah, 2019).

Nar meyvesi, yüksek biyoyararlanıma sahip olan iyi bir polifenol kaynağıdır. Yan etkilerin olmaması, kolay bulunabilirlik ve düşük maliyetinden kaynaklı dünya çapında insanlar tarafından çeşitli tıbbi uygulamalar için kullanılan bir bitkidir (Moga ve ark., 2021). Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin farklı kanser türleri üzerine etkileri birçok in vitro çalışma (Dikmen, Öztürk ve Öztürk, 2008; Dikmen, Öztürk ve Öztürk, 2011; Modaeinama, Abasi, Abbasi ve Jahanban-Esfahlan, 2015; Orgil, Spector, Holland, Mahajna ve Amir, 2016; Ahmadiankia, Bagheri ve Fazli, 2018; Bagheri, Fazli, Saeednia, Kor ve Ahmadiankia, 2018; Keta ve ark., 2020) ile araştırılmıştır.

Bagheri ve ark. tarafından yapılan çalışmada MDA-MB-231 hücreleri, 24, 48 ve 72 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda nar kabuğu ekstresine ile işleme tabi tutulmuştur. İnkübasyon süreleri sonunda nar kabuğu ekstresinin 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarda hücrelerin göçünü ve istilasını belirgin şekilde inhibe ettiği ve nispeten yüksek konsantrasyonlarda (500, 1000 µg/ml) apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Bagheri, Fazli, Saeednia, Kor ve Ahmadiankia, 2018).

Eddebbagh ve ark. tarafından Fas narının (kabuğu, yaprakları, dalları, çiçekleri ve korolla) sitotoksitesini ve antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, Nar (*Punica Granatum*)'ın farklı kısımlarından elde edilen metanolik ekstraktın, iki insan kanseri (meme ve kolon) hücre hattı (MBA-MD 231 ve HT 29) üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre; nar kısımlarının antioksidan içerikleri şu şekilde bulunmuştur: kabuk > yaprak > çiçek > korolla > dallar. Ayrıca *Punica Granatum*'un metanolik özütünün, MBA-MD 231'de ve HT-29 hücreleri üzerinde en yüksek antiproliferatif aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir (Eddebbaghve ark., 2016).

Ahmadiankia ve ark. tarafından MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerine Nar (*Punica Granatum*) kabuğu ekstresinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmada nar kabuğu ekstresine maruziyetin meme kanseri hücrelerini öldürdüğü rapor edilmiştir. Nar kabuğu ekstresinin dirençli hücre göçünü belirgin şekilde inhibe ettiği, hücre yapışması için gerekli bir protein olan ICAM-1'in ekspresyonunu yukarı regüle ettiği, kanser hücresi göçüne katkıda bulunan MMP9, fibronektin ve VEGF'nin ekspresyonunu aşağı regüle ettiği bulunmuştur (Ahmadiankia, Bagheri ve Fazli, 2018).

Modaeinama ve ark. tarafından yapılan çalışmada 4 farklı kanser hücre hattında [A549 (akciğer küçük hücreli olmayan kanser), MCF-7 (meme adenokarsinomu), SKOV3 (yumurtalık kanseri) ve PC-3 (prostat adenokarsinomu)] Nar (*Punica Granatum*) kabuğu ekstresi 5, 20, 100, 250, 500, 1000 µg/ml dozlarda denenmiştir. Çalışılan tüm kanser hücrelerinde Nar (*Punica Granatum*) kabuğu ekstresinin en düşük dozlarda bile hücre canlılığını %40'ın altındaki değerlere indirdiği bulunmuştur (Modaeinama, Abasi, Abbasi ve Jahanban-Esfahlan, 2015).

Joseph ve ark. nar kabuğundan izole edilen polisakkarit PSP001'in antioksidan ve antikanser özelliklerini belirlemeyi amaçladıkları bir çalışma yapmışlardır. MCF-7 (meme kanseri), KB (nazofaringeal karsinom) ve K562 (lösemi) hücreleri üzerinde 0-1000 µg/ml arasındaki dozlarda ekstreler uygulayarak 72 saatlik inkübasyon sonucu in vitro büyüme uyarıcı etki gösterdiği, en yüksek aktivitenin 200 µg/ml'de elde edildiği, 10 ile 1000 µg/ml arasındaki konsantrasyonları kullanarak aktivitede doza bağlı bir artış sergilendiği rapor edilmiştir (Joseph, Aravind, Varghese, Mini ve Sreelekha, 2012).

Keta ve ark. farklı insan kanser hücre hatları (HTB140, HTB177, MCF7, HCT116) ve MRC-5 normal fibroblastları üzerine nar kabuğu ekstresinin etkisini araştırdığı çalışmada sonuçlar; nar kabuğu ekstresinin, normal hücre hattına kıyasla kanser hücreleri için seçici sitotoksikite ifade ettiğini ve kullanılan kanser hücre dizileri üzerinde iyi inhibitör etkiler sergilediğini göstermiştir (Keta ve ark., 2020).

Dikmen ve ark. tarafından yapılan çalışmada nar meyve kabuğu metanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarının (25, 50, 100, 200 ve 300 µg/ml), MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerine sitotoksik ve apoptotik etkileri araştırılmıştır. Nar kabuğu ekstresinin, konsantrasyon ve zamana bağlı olarak MCF-7 hücre proliferasyonu üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Apoptotik aktivite de, sitotoksik

aktiviteye paralel olarak 48. saatte nar kabuğu ekstresinin 100, 200 ve 300 µg/ml dozlarında önemli artış gösterdiği rapor edilmiştir (Dikmen, Öztürk ve Öztürk, 2008).

Dikmen ve ark. tarafından metanolik bir nar meyvesi kabuğu ekstresinin antioksidan gücünü ve MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki antiproliferatif ve apoptotik etkileri ile ilişkisinin incelendiği diğer bir çalışmada MCF-7 hücre proliferasyonunun, nar kabuğu ekstresinin konsantrasyonuna (25, 50, 100, 200 ve 300 µg/mL) ve inkübasyon sürelerine (24, 48 ve 72 saat) bağlı olarak azaldığı rapor edilmiştir. 48 ve 72 saatlik sürelerde, apoptotik hücre sayılarının 100, 200 ve 300 µg/mL nar kabuğu ekstresi konsantrasyonlarında önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Dikmen, Öztürk ve Öztürk, 2011).

Manasathien ve Indrapichate tarafından yapılan çalışmada nar meyve kabuğu etanolik ekstresinin doza ve zamana bağlı MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını engelleyebileceği bildirilmiştir (Manasathien ve Indrapichate, 2017).

Orgil ve ark. nar kabuğu ekstresinin meme (MCF7 ve MDA-MB-453) ve prostat (LNCaP ve PC-3) kanser hücre hatlarına karşı anti-proliferatif aktivitesini incelediği çalışma sonucunda nar kabuğunun MCF7, MDA-MB-453 ve LNCaP hücre hatlarına karşı yüksek anti-proliferatif etkisi gözlenirken, PC-3 hücre hattında nispeten yüksek direnç gösterdiği bildirilmiştir (Orgil, Spector, Holland, Mahajna ve Amir, 2016).

Li ve ark. tarafından BCPAP ve TPC-1 tiroid kanseri hücre hatları üzerine Nar (*Punica Granatum*) kabuğu ekstresinin antikanser etkisinin araştırıldığı çalışmada ekstrelerin iki tür tiroid kanseri hücre hattında proliferasyonu güçlü bir şekilde bastırdığı ve kanser hücresi apoptozunu indüklediği rapor edilmiştir (Li ve ark., 2016).

Ma ve ark. tarafından insan prostat kanseri hücreleri (PC-3) üzerinde Nar kabuğu polifenollerinin in vivo antiproliferatif ve apoptotik etkilerini gözlemlemek amacıyla yaptığı çalışmada nar kabuğunun, tümör taşıyan çıplak farelerde tümör hacmini ve ağırlığını azalttığı ve apoptoz oranını önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir (Ma, Wang, Li, Ding ve Gao, 2015).

Chaves ve ark. prostat kanseri DU-145 ve PC-3 hücre hatları üzerinde nar meyve suyu ve kabuğu ekstrelerinin etkisini karşılaştırmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda her iki ekstrenin de bu hücrelerin çoğalmasını, göçünü ve koloni oluşumunu engellediğini, ancak kabuk ekstresinin meyve suyuna kıyasla daha güçlü etkiler gösterdiğini rapor edilmiştir (Chaves ve ark., 2020).

Tamborlin ve ark. tarafından yapılan çalışmada, farklı çözücüler kullanılarak elde edilen nar kabuğu ekstrelerinin THP-1 lösemi hücreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Sulu ekstrakt en yüksek punikalagin içeriğini sunmuş ve nar kabuğu ekstrelerinin fenolik bileşik profili ve biyolojik aktiviteleri için solvent seçiminin kritik olduğu sonucuna varılmıştır (Tamborlin ve ark., 2020).

Asmaa ve ark. tarafından nar kabuğunun miyeloid lösemi hücre hattı (K562) üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada 72 saatlik kültür sonrasında yapılan hücre döngüsü testinde nar kabuğu ekstresinin hücre döngüsünü G2/M fazında durdurduğu ve K562 hücre proliferasyonunda bir inhibisyona neden olduğu rapor edilmiştir (Asmaa, Ali, Farid ve Azman, 2015).

Zhou ve ark. tarafından yapılan çalışmada EJ mesane kanseri hücre hattında nar kabuğu ekstresinin 100 µg /ml dozu denenmiş 48 saatlik inkübasyon sonunda hücre proliferasyonunun baskılandığı bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2015).

Song ve ark. tarafından nar kabuğu ekstresinin HepG2 hücreleri (bir tür insan hepatom hücresi) üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, nar kabuğu polifenollerinin hücre döngüsünü bloke ederek ve doza bağlı bir şekilde mitokondriyal apoptotik yolu indükleyerek HepG2 hücrelerinin büyümesini engelleyebileceği sonucuna varılmıştır (Song, Li ve Li, 2016).

Chen ve ark. tarafından yapılan çalışma sonucu, nar kabuklarında bulunan en güçlü antioksidan bileşiklerin granatin B ve punikalagin olduğu bildirilmiştir. Granatin B ve punikalagin'in, HT-29 insan kolorektal kanser hücrelerinde hücre döngüsünü S-fazında durdurduğu ve apoptozu indüklediği sonucuna ulaşılmıştır (Chen, Khyeam, Zhang ve Zhang, 2022).

Yukarıda verdiğimiz çalışmalarda nar kabuğunun akciğer, yumurtalık, prostat, tiroid, böbrek ve meme hücre hatlarında kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe ederek kanserli dokuların gelişmesini önleyecek genel antikanserojen bir madde olmaya aday besin olduğu görülmektedir.

Yapmış olduğumuz tez çalışmasında nar meyve kabuğu ekstresinin doza (25 ve 50 µg/ml) ve zamana (24 ve 48 saat) bağlı insan MDA-MB-231 meme kanser hücrelerinde hücre canlılığına ve apoptoza etkisi araştırıldı. Annexin V ve ölü hücre testinden elde edilen verilerde nar kabuğu ekstresi ile MDA-MB-231 hücrelerinin apoptozu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, nar kabuğu ekstrelerinin zamana ve doza

bağlı olarak MDA-MB-231 hücreleri üzerinde apoptozu arttıarak hücre proliferasyonu üzerinde inhibitör etkisinin olduğu bulundu. Canlı hücre oranında en fazla düşüşün ve apoptotik etkideki en fazla artışın, 48. saatte 50  g/ml nar kabuğu ekstresi grubunda olduğu görüldü. Hücre döngüsü testinden elde edilen verilerde G0/G1 evresinde grupların 24 saatlik sonuçları arasında ve G2/M evresinde grupların 48 saatlik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu tez çalışmasında, nar meyve kabuğu ekstresinin MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerinde apoptotik etkisi araştırıldı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; nar kabuğunun kanser hücreleri üzerinde apoptozu çeşitli mekanizmalarla artırdığı, hücre canlılığı/hücre büyümesini inhibe ettiği ve bu etkilerin en belirgin 50 µg/ml nar kabuğu grubunda olduğu bulundu.

Bu sonuçlar doğrultusunda nar meyvesi kabuğu tüketiminin yaygınlaşmasının günümüzün en büyük sağlık problemlerinden biri olan kansere yakalanma riskini azaltmada, kanser tedavisinde tamamlayıcı tedavi olarak kullanılıp hastalığın ilerlemesini yavaşlatmada ve geleneksel tedavi yöntemlerine bağlı oluşan yan etkileri azaltarak hastaların yaşam kalitesini yükseltmede etkin rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Bunun yanı sıra nar meyvesi kabuğunun antikanser aktivitesi ile hem gıda hem de gıda dışı (ilaç endüstrisi gibi) alanlarda kullanım potansiyeline sahip olabileceği kanaatindeyiz. Sonuçlarımızı destekleyecek, nar meyve kabuğu ekstresi ve içermiş olduğu fenolik bileşenler ile ilgili olarak, kanser üzerinde nar meyve kabuğunun etkilerini açıklayacak ilave çalışmalara gerek vardır.

7. KAYNAKLAR

- Açıkgöz, A., & Yıldız, E. A. (2017). Meme kanseri etiyolojisi ve risk faktörleri. *Ergoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi*, 5(1), 45-56.
- Ahmadiankia, N., Bagheri, M., & Fazli, M. (2018). Gene expression changes in pomegranate peel extract-treated triple-negative breast cancer cells. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 7(1), 102.
- Akbulut G. (Çev. Ed.). (2018). Onkolojik Hastalıklarda Tıbbi Beslenme. *Tıbbi Beslenme Tedavisinde Güncel Uygulamalar* (s. 536-641). Ankara Nobel Tıp Kitabevleri.
- Akman G. (2019). Kimyasal Ajanların Hücre Siklusuna Etkisi ve Moleküler Mekanizmalarının Araştırılması, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul.
- Aksoy, M. (2012). Kanser ve yağ asitleri. 2. *Ulusal Sağlıklı Yaşam Sempozyumu*, (s. 56-57). Ankara.
- Aktuğ H. (2014). Apoptozis ve hücre döngüsü. *Ege Tıp Dergisi/Ege Journal of Medicine*, 53(1), 60-64.
- Al, Ö. (2019). *Farelerde deneysel olarak oluşturulan kanser üzerine gilaburu (viburnum opulus) meyve suyunun farklı fraksiyonlarının etkileri*. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Anatomi Anabilim Dalı Doktora Tezi, 2019. Kayseri.
- Alim, N. E., & Göküstün, K. K. (2018). Diyet Posası ve Kanser. *SETSCI Conference Indexing System*, Volume 3, 317-321.
- Almendro, V., & Fuster, G. (2011). Heterogeneity of breast cancer: etiology and clinical relevance. *Clinical and Translational Oncology*, 13(11), 767-773.
- Alphan, E., Baş, M., Baysal, A., Kutluay, T. M., Kızıltan, G., & Pekcan, G. (2013). *Hastalıklarda Beslenme Tedavisi*. Ankara. Hatiboğlu Yayınları.
- American Cancer Society. (2018a). *Breast Cancer Facts and Figures*. <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2018.html> adresinden 26.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- American Cancer Society. (2018b) Breast Cancer. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-and-prevention/breast-cancer-risk-factors-you-cannot-change.html> adresinden 26.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- American Cancer Society. (2018c) Breast Cancer. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-and-prevention/lifestyle-related-breast-cancer-risk-factors.html> adresinden 26.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- Ardekani, M. R. S., Hajimahmoodi, M., Oveisi, M. R., Sadeghi, N., Jannat, B., Ranjbar, A. M., . . . Moridi, T. (2011). Comparative antioxidant activity and total flavonoid content of Persian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(3), 519.

- Arslan, D., Tatlı, A. M., & Üyetürk, Ü. (2013). Kansere bağlı ağrı ve tedavisi. *Abant Tıp Dergisi*, 2(3), 256-260.
- Ashton, R. (2006). Ashton, R., Baer, B., Silverstein, D. (Ed.). Meet the pomegranate: Incredible pomegranate: plant and fruit. Third Millennium Publishing.
- Asmaa, M. J. S., Ali, A. J. H., Farid, J. M., & Azman, S. (2015). Growth inhibitory effects of crude pomegranate peel extract on chronic myeloid leukemia, K562 cells. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 5(2), 100.
- Bagheri, M., Fazli, M., Saeednia, S., Kor, A., & Ahmadiankia, N. (2018). Pomegranate peel extract inhibits expression of β -catenin, epithelial mesenchymal transition, and metastasis in triple negative breast cancer cells. *Cellular and Molecular Biology*, 64(7), 86-91.
- Baglia, M. L., Cook, L. S., Mei-Tzu, C., Wiggins, C., Hill, D., Porter, P., & Li, C. I. (2018). Alcohol, smoking, and risk of Her2-overexpressing and triple-negative breast cancer relative to estrogen receptor-positive breast cancer. *International journal of cancer*, 143(8), 1849-1857.
- Barnard, M. E., Boeke, C. E., & Tamimi, R. M. (2015). Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1856(1), 73-85.
- Bayır, H., Yıldız, İ., Erkurun, M. K., & Koçoğlu, H. (2015). Yoğun bakım hastalarında malnütrisyon. *Abant Tıp Dergisi*, 4(4), 420-427.
- Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
- Bele, A. A., Jadhav, V. M., Nikam, S. R., & Kadam, V. J. (2009). Antibacterial potential of herbal formulation. *Research Journal of Microbiology*, 4(4), 164-167.
- Bradbury, K. E., Appleby, P. N., & Key, T. J. (2014). Fruit, vegetable, and fiber intake in relation to cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *The American journal of clinical nutrition*, 394-398.
- Brewer, H. R., Jones, M. E., Schoemaker, M. J., Ashworth, A., & Swerdlow, A. J. (2017). Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast cancer research and treatment*, 165(1), 193-200.
- Cabadak, H. (2008). Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*; 9(3):51-61.
- Cailleau, R., Olive, M., & Cruciger, Q. V. (1978). Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In vitro*, 14(11), 911-915.
- Canpolat, F. (2016). Hücre Siklusu ve Apoptoz. *Güncel Dermatoloji Dergisi*, 1(1), 11-17.
- Cardoso, F., Kyriakides, S., Ohno, S., Penault-Llorca, F., Poortmans, P., Rubio, I. T., . . . Senkus, E. (2019). Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 30(8), 1194-1220.
- Chaves, F. M., Pavan, I. C. B., da Silva, L. G. S., de Freitas, L. B., Rostagno, M. A., Antunes, A. E. C., . . . Simabuco, F. M. (2020). Pomegranate juice and peel extracts are able to inhibit proliferation, migration and colony formation of prostate cancer cell lines and modulate the Akt/mTOR/S6K signaling pathway. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(1), 54-62.

- Chen, X. X., Khyeam, S., Zhang, Z. J., & Zhang, K. Y. B. (2022). Granatin B and punicalagin from Chinese herbal medicine pomegranate peels elicit reactive oxygen species-mediated apoptosis and cell cycle arrest in colorectal cancer cells. *Phytomedicine*, 153923.
- Çağlar, M., Yavuzcan, A., Yenicesu, O., Başer, E., Ayhan, A., Dursun, P., & Güngör, T. (2013). Kanseri hastalar ve beslenme. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 16(4Ek).
- Çam, M., & Hışıl, Y. (2010). Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. *Food chemistry*, 123(3), 878-885.
- Çelik, F., & Manisalı, E. (2020). Beslenme ve Kronik Hastalıklar. *Türkiye Klinikleri*, 69-74.
- Çevik, B. A., & Pirinçci, E. (2017). Beslenme ve Kanseri. *Fırat Tıp Dergisi*, 22(1), 1-7.
- Çiçek, C., & Bilgiç, A. (2006). Klinik Viroloji laboratuvarında uzmanlık öğrencisine verilen hücre kültürü eğitim programı: Bir model. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 20(3), 231-241.
- Dayı T., & Hoca, M. (2021). Glisemik İndeks Ve Glisemik Yük Kanseri Gelişiminde Etkili Midir?. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 30(1), 87-91.
- De Cicco, P., Catani, M. V., Gasperi, V., Sibillano, M., Quaglietta, M., & Savini, I. (2019). Nutrition and breast cancer: a literature review on prevention, treatment and recurrence. *Nutrients*, 11(7), 1514.
- Deveci, E. (2012). Hücre Kültürü ve Teknolojisi. Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sur.
- Dikmen, M., Ozturk, N., & Ozturk, Y. (2011). The antioxidant potency of Punica granatum L. Fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer. *Journal of Medicinal Food*, 14(12), 1638-1646.
- Dikmen, M., Öztürk, N., & Öztürk, Y. (2008). Nar meyve kabuğu ekstrelerinin MCF-7 hücre proliferasyonu üzerine sitotoksik ve inhibitör etkileri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 37(3), 179-190.
- Duruel, H. E. E., Çağan, N. S., Işık, S., & Kayhan, F. E. (2021). Hücre Kültürlerine Genel Bakış. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 47(2), 136-149.
- Eddebbagh, M., Messaoudi, M., Abourriche, A., Berrada, M., Attaleb, M., Benbacer, L., & Bennamara, A. (2016). Correlation of the cytotoxic and antioxidant activities of moroccan pomegranate (Punica granatum) with phenolic and flavonoid contents. *J. Pharm. Pharmacol*, 4(9), 511-519.
- Esposito, V., Baldi, A., Tonini, G., Vincenzi, B., Santini, M., Ambrogio, V., . . . Montesarchio, V. (2004). Analysis of cell cycle regulator proteins in non-small cell lung cancer. *Journal of clinical pathology*, 57(1), 58-63.
- Fahad Ullah, M. (2019). Breast cancer: current perspectives on the disease status. *Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance*, 51-64.
- Gallagher, E. J., & LeRoith, D. (2015). Obesity and diabetes: the increased risk of cancer and cancer-related mortality. *Physiological Reviews*, 95(3), 727-748.
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with

- phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48(10), 4581-4589.
- GLOBOCAN. (2020). WHO International Agency for Research on Cancer. <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie> adresinden 25.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- Golubicic, I., Borojevic, N., & Pavlovic, T. (2008). Risk factors for breast cancer: is ionizing radiation among them. *J BUON*, 13(4), 487-494.
- Greenwald, P. (1999). Role of dietary fat in the causation of breast cancer: point. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 8(1), 3-7.
- Gültekin, M., & Boztaş, G. (2014). Türkiye kanser istatistikleri. *Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu*, 43, 12-32.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.
- Hassan, S. N., & Ahmad, F. (2020). The relevance of antibiotic supplements in mammalian cell cultures: Towards a paradigm shift. *Gülhane Tıp Dergisi*, 62(4), 224.
- Heber, D., Schulman, R. N., & Seeram, N. P. (Ed.). (2006). *Pomegranates: ancient roots to modern medicine*. CRC press.
- Holliday, D. L., & Speirs, V. (2011). Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast cancer research*, 13(4), 1-7.
- Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 397-405.
- İplik, E. S., & Çakmakoglu, B. (2020). Hücre Kültürü Temel Teknikleri. *Üroloji Cerrahi Derneği Güncelleme Serileri, Moleküler Tıp Özel Sayısı, Cilt 9, Sayı 2*, 21-24.
- Joseph, M. M., Aravind, S. R., Varghese, S., Mini, S., & Sreelekha, T. T. (2012). Evaluation of antioxidant, antitumor and immunomodulatory properties of polysaccharide isolated from fruit rind of Punica granatum. *Molecular medicine reports*, 5(2), 489-496.
- Kamińska, M., Ciszewski, T., Łopacka-Szatan, K., Miotła, P., & Starosławska, E. (2015). Breast cancer risk factors. *Przegląd menopauzalny= Menopause review*, 14(3), 196.
- Karaca, E. (2011). Nar suyu konsantresi üretiminde uygulanan bazı işlemlerin fenolik bileşenler üzerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana*.
- Karakuş, E. (2019). Hücre Kültürü Teknikleri. *ResearchGate*, 133-178.
- Keta, O. D., Deljanin, M., Petković, V., Zdunić, G., Janković, T., Živković, J., . . . Šavikin, K. (2020). Pomegranate (Punica granatum L.) Peel Extract: Potential cytotoxic agent against different cancer cell lines. *Records of Natural Products*, 14(5), 326-339.
- Khalis, M., Charbotel, B., Chajès, V., Rinaldi, S., Moskal, A., Biessy, C., . . . El Rhazi, K. (2018). Menstrual and reproductive factors and risk of breast cancer: A case-control study in the Fez region, Morocco. *PloS one*, 13(1), e0191333.

- Kim, B. S., & Sung, S. H. (2012). Usefulness of 18F-FDG uptake with clinicopathologic and immunohistochemical prognostic factors in breast cancer. *Annals of nuclear medicine*, 26(2), 175-183.
- Klijn, C., Durinck, S., Stawiski, E. W., Haverty, P. M., Jiang, Z., Liu, H., . . . Zhang, Z. (2015). A comprehensive transcriptional portrait of human cancer cell lines. *Nature biotechnology*, 33(3), 306-312.
- Koçak, Ş., Çelik, L., Özbaş, S., Saka, D. S., Tükün, A., & Yalçın, B. (2011). Meme kanserinde risk faktörleri, riskin değerlendirilmesi ve prevansiyon: İstanbul 2010 konsensus raporu. *Meme Sağlığı Dergisi*, 7(2), 47-67.
- Kozan, R., & Tokgöz, V. Y. (2016). Türkiye’de meme kanseri farkındalığı ve tarama programı. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, (4), 185-188.
- Kumar, V., Cotran, R., & Robbins, S. (2013). Çevikbaş, U. (Çev. Ed.). *Robins Temel Patoloji*, 161-162. Nobel Tıp Kitabevi.
- La Vecchia, C., Altieri, A., & Tavani, A. (2001). Vegetables, fruit, antioxidants and cancer: a review of Italian studies. *European Journal of Nutrition*, 40(6), 261-267.
- Land, C., Tokunag, M., Koyam, K., Soda, M., Presto, D., Nishimori, I., & Tokuo, S. (2003). Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950-1980. *Radiation Research*, 707-717.
- Li, Y., Ye, T., Yang, F., Hu, M., Liang, L., He, H., . . . Li, S. (2016). Punica granatum (pomegranate) peel extract exerts potent antitumor and anti-metastasis activity in thyroid cancer. *RSC advances*, 6(87), 84523-84535.
- Ma, G. Z., Wang, C. M., Li, L., Ding, N., & Gao, X. L. (2015). Effect of pomegranate peel polyphenols on human prostate cancer PC-3 cells in vivo. *Food science and biotechnology*, 24(5), 1887-1892.
- Magangana, T. P., Makunga, N. P., Fawole, O. A., & Opara, U. L. (2020). Processing factors affecting the phytochemical and nutritional properties of pomegranate (Punica granatum L.) peel waste: A review. *Molecules*, 25(20), 4690.
- Manasathien, J., & Indrapichate, K. (2017). Apoptosis Of MCF-7 Cancer Cell Induced By Pomegranate (Punica Granatum L.) Peel Extract. *Suranaree Journal of Science & Technology*, 24(1).
- Mansour, E., Khaled, A. B., Lachiheb, B., Abid, M., Bachar, K., & Ferchichi, A. (2018). Phenolic Compounds, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Peel Extract from Tunisian Pomegranate.
- Marian, M., & Roberts, S. (2010). *Clinical nutrition for oncology patients*. Jones & Bartlett Publishers. 137-164.
- Mens, M. M., & Ghanbari, M. (2018). Cell cycle regulation of stem cells by microRNAs. *Stem Cell Reviews and Reports*, 14(3), 309-322.
- Modaeinama, S., Abasi, M., Abbasi, M. M., & Jahanban-Esfahlan, R. (2015). Anti tumoral properties of Punica granatum (Pomegranate) peel extract on different human cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(14), 5697-5701.

- Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Bălan, A., Dima, L., Toma, S. I., Bîgiu, N. F., & Blidaru, A. (2021). Pharmacological and therapeutic properties of *Punica granatum* phytochemicals: possible roles in breast cancer. *Molecules*, 26(4), 1054.
- Okumuş, G. (2016). *Nar (Punica Granatum L.) Kabuk ve çekirdeklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi*. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Bursa.
- Okumuş, G., Yıldız, E., & Bayizid, A. A. (2015). Doğal antioksidan bileşikler: Nar yan ürünlerinin antioksidan olarak değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2).
- Olgun, Ş. (2018). Meme Kanseri Önlemede İhmal Edilen Bir Grup: Birinci Derece Yakın Akrabalar. *Journal of Awareness (JoA)*, 3(Special), 209-216.
- Olgun, Ş. (2021). Meme Kanseri Genetik Risk Faktörleri: Brca1 Ve Brca2 Genleri. *ERÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 8(1), 23-25.
- Onal, M., Ovet, G., & Onal, O. (2016). Review of apoptosis. *MOJ Immunol*, 3(1), 00073.
- Onat, H., & Demir, Ç. (2007). *Sağlıkta ve Kanserde Doğru Beslenme*. İstanbul: Say Yayınları
- Orgil, O., Spector, L., Holland, D., Mahajna, J., & Amir, R. (2016). The anti-proliferative and anti-androgenic activity of different pomegranate accessions. *Journal of Functional Foods*, 26, 517-528.
- Paşalak, Ş. İ., & Seven, M. (2017). Onkolojide genetik gelişmeler ve hemşirenin rollerine etkisi. *Hem Eğt ve Arş Derg*, 14(3), 212-17.
- Pistritto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A., & D'Orazi, G. (2016). Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*, 8(4), 603.
- Polat, E. (2020). Üç Boyutlu Hücre Kültürü Sistemlerine Güncel Yaklaşımlar. *Namık Kemal Tıp Dergisi*, 8(1), 84-92.
- Price, P. J. (2017). Best practices for media selection for mammalian cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 53(8), 673-681.
- Renehan, A. G., Zwahlen, M., Minder, C., T O'Dwyer, S., Shalet, S. M., & Egger, M. (2004). Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *The Lancet*, 363(9418), 1346-1353.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(1), 7-30.
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 81-86.
- Sohbet, R., & Karasu, F. (2017). Kadınların meme kanserine yönelik bilgi, davranış ve uygulamalarının incelenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(4), 113-121.
- Song, B., Li, J., & Li, J. (2016). Pomegranate peel extract polyphenols induced apoptosis in human hepatoma cells by mitochondrial pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 93, 158-166.

- Söyler, D. (2020). *MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında juglon ve kurkumin uygulamasının fabp proteinleri (fatty acid binding protein) üzerine etkilerinin moleküler yöntemler ile belirlenmesi*. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Stowe, C. B. (2011). The effects of pomegranate juice consumption on blood pressure and cardiovascular health. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 17(2), 113-115.
- Street, W. (2019). Breast cancer facts & figures 2019–2020. *Am. Cancer Soc*, 1-38.
- Sudhakar, A. (2009). History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of cancer science & therapy*, 1(2), 1.
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., . . . Zhu, H. P. (2017). Risk factors and preventions of breast cancer. *International journal of biological sciences*, 13(11), 1387.
- Şimşek, M., & İkinci, A. (2017). Narın (*Punica granatum L.*) insan sağlığına etkileri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(4), 494-506.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. (2017). T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Kanser Dairesi Başkanlığı. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-nedir-belirtileri> adresinden 25.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- Tamborlin, L., Sumere, B. R., de Souza, M. C., Pestana, N. F., Aguiar, A. C., Eberlin, M. N., . . . Luchessi, A. D. (2020). Characterization of pomegranate peel extracts obtained using different solvents and their effects on cell cycle and apoptosis in leukemia cells. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5483-5496.
- Tunç, K., Konca, T., & Hoş, A. (2013). *Punica granatum Linn.(nar)* bitkisinin antibakteriyel etkisinin araştırılması. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 17(2), 173-179.
- Turhan, N., Yılmaz, D., & Yeşilyurt, L. (2021). Meme kanseri olan Türk kadın hastalarda meme dansitesinin klinik ve patolojik bulgularla ilişkileri. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 15(2 ve 3), 2-2.
- Türkiye Kanserle Savaş Vakfı. (2021). <https://kanservakfi.com/kanser-turleri/> adresinden 25.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- Türkyılmaz, M., Baran Debiz, E., Dünder, S., Kavak Ergün, A., Sevinç, A., Tütüncü, S., & Seymen, E. (2019). Kara, F., & Keskinçilic B. (Ed.) T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. *Türkiye Kanser İstatistikleri-2016*, 1-46. Ankara.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(6), 635-654.
- Viuda-Martos, M., López-Marcos, M. C., Fernández-López, J., Sendra, E., López-Vargas, J. H., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Role of fiber in cardiovascular diseases: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(2), 240-258.
- Winters, S., Martin, C., Murphy, D., & Shokar, N. K. (2017). Breast cancer epidemiology, prevention, and screening. *Progress in molecular biology and translational science*, 151, 1-32.

- World Cancer Research Fund (2018). World Cancer Research Fund: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/worldwide-cancer-data/> adresinden 26.12.2021 tarihinde edinilmiştir.
- Wu, G., Ma, Z., Hu, W., Wang, D., Gong, B., Fan, C., . . . Yang, Y. (2017). Molecular insights of Gas6/TAM in cancer development and therapy. *Cell Death & Disease*, 8(3), e2700-e2700.
- Yavuz, M., İlçe, A. Ö., Kaymakçı, Ş., Bildik, G., & Dıramalı, A. (2007). Meme kanserli hastaların tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerini kullanma durumlarının incelenmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 27(5), 680-686.
- Yıldırım, N. (2018). Obezite ve Kanser. *Fırat Tıp Dergisi*, 61-67.
- Yıldız, E. (2008). T.C. Sağlık Bakanlığı. *Kanser ve Beslenme*, 7-15.
- Yılmaz, B., & Usta, C. (2010). Nar'ın (*Punica granatum*) terapötik etkileri. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 14(3), 146-153.
- Yin, K. B. (2011). The mesenchymal-like phenotype of the MDA-MB-231 cell line. *Breast Cancer-Focusing Tumor Microenvironment, Stem cells and Metastasis*, 385-402.
- Zhou, B., Yi, H., Tan, J., Wu, Y., Liu, G., & Qiu, Z. (2015). Anti-proliferative effects of polyphenols from pomegranate rind (*Punica granatum* L.) on EJ bladder cancer cells via regulation of p53/miR-34a Axis. *Phytotherapy research*, 29(3), 415-422.

8. EKLER

8.1. Tez İntihal Raporu

NAR (PUNİCA GRANATUM) EKSTRESİNİN MDA-MB-231 HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 17	% 16	% 4	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%6
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
3	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	9lib.net İnternet Kaynağı	%1
5	besinler.net İnternet Kaynağı	%1
6	www.acarindex.com İnternet Kaynağı	<%1
7	acikerisim.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	acikerisim.istinye.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
9	www.urolojicerrahidernegi.org İnternet Kaynağı	<%1

