

TC.
NUH NACİ YAZGAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

YABAN MERSİNİ (*VACCINIUM MYRTILLUS*)
EKSTRAKTLARININ MDA-MB-231 HÜCRE HATTINA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Kevser BEŞTEPE

Danışman
Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

Şubat, 2022
Kayseri

TC.
NUH NACİ YAZGAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

YABAN MERSİNİ (*VACCINIUM MYRTILLUS*)
EKSTRAKTLARININ MDA-MB-231 HÜCRE HATTINA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Kevser BEŞTEPE

Danışman
Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

Bu çalışma; Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimtarafından desteklenmiştir.

Şubat, 2022
Kayseri

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 özgün olduğunu, Doç. Dr. Mustafa Nisari danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Kevser BEŞTEPE

KABUL VE ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Mustafa Nisari danışmanlığında Kevser Beştepe tarafından hazırlanan “Yaban Mersini (*Vaccinium Myrtillus*) Ekstraktlarının MDA-MB-231 Hücre Hattına Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / /

JÜRİ:

Danışman : Doç Dr. Mustafa NİSARİ

Üye : Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Eda BAŞMISIRLI

ONAY :

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

...../...../2022

Prof. Dr. Hülya UÇAR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

Hazırladığım bu yüksek lisans tezinin her adımında beni yönlendiren ve destek olan saygı değer danışman hocam sayın Doç. Dr. Mustafa NİSARİ' ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini samimiyetle aktaran sayın hocalarım Prof. Dr. Neriman İNANÇ ve Prof. Dr. Mualla AYKUT' a,

Araştırmalarımın uygulama aşamasında ve sonrasında bilgisini, deneyimlerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mehtap NİSARİ' ye,

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan Arş.Gör Sümeyye UÇAR' a,

Tez projeme maddi destek veren Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Son olarak emeğini manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen aileme çok teşekkür ediyorum.

Kayseri, 21/02/2022

Kevser BEŞTEPE

**YABAN MERSİNİ (VACCINIUM MYRTILLUS)
EKSTRAKTLARININ MDA-MB-231 HÜCRE HATTINA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kevser BEŞTEPE

Nuh Naci Yazgan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2022

Danışman: Doç. Dr. Mustafa NİSARİ

ÖZET

Günümüzde yaygın bir hastalık haline gelen kanser, en önemli kronik sağlık sorunlarından birisidir. Dünya Sağlık Örgütü raporlarına göre yılda 18.1 milyon insana kanser teşhisi koyulmuş, 2018 yılında 9.6 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Günümüzde kansere karşı mevcut tedavilerde; kemoterapi, radyoterapi, cerrahi ve kimyasal olarak üretilmiş ilaçlar bulunmaktadır. Tanı yöntemleri ve tedavilerindeki hızlı gelişmelere rağmen uygulanan ilaçlara direnç ve metastaz başarılı tedavinin önündeki başlıca engellerdir. Bu nedenle, kansere karşı alternatif tedavilere ve terapilerin kullanılmasına odaklanılmaktadır. Bu çalışmada Artvin ilinden temin edilen yaban mersin meyvesinden elde edilen ekstraktların MDA-MB-231 hücreleri üzerine etkileri araştırıldı. Yaban mersini ekstraktları 40, 80, 100, 200 µl dozları kullanılarak pilot çalışmalar yapıldı. Sonuç olarak 40 ve 80 µl dozları etkili doz olarak belirlendi. Belirlenen dozlarının MDA-MB231 hücreleri üzerindeki in vitro etkisini incelemek için 24 ve 48 saatlik kültür periyodu sonrasında hücreler, Annexin V ve hücre döngüsü olmak üzere iki farklı analize tabi tutuldu. Çalışmamızda yaban mersini ekstraktlarının MDA-MB-231 hücreleri üzerinde 24 ve 48 saatlik kültür sonunda 40 µl ve 80 µl apoptozu artırdığı, sitotoksik etkisinin olduğu ve hücre proliferasyonunu azalttığı sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamıza göre yaban mersini meyvesinin kansere karşı uygun bir tedavi edici ajan adayı olabilir ve yapılan bu araştırmanın kanser araştırmalarına katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: MDA-MB-231, Yaban mersini, Apoptoz, in vitro

**INVESTIGATION OF THE EFFECT OF BLUEBERRY
(*VACCINIUM MYRTILLUS*) EXTRACT ON
MDA-MB-231 CELL LINE**

Kevser BEŞTEPE

**Nuh Naci Yazgan University, Institute of Health Sciences
Master of Nutrition and Dietetics with Thesis , February 2022
Supervisor: Doç. Dr. Mustafa NİSARİ**

ABSTRACT

Cancer, which has become a common disease today, is one of the most important chronic health problems. According to the World Health Organization reports, 18.1 million people were diagnosed with cancer annually, and 9.6 million people died due to cancer in 2018. Today, in the current treatments against cancer; There are chemotherapy, radiotherapy, surgery and chemically produced drugs. Despite the rapid developments in diagnostic methods and treatments, resistance to drugs and metastasis are the main obstacles to successful treatment. Therefore, the focus is on the use of alternative treatments and therapies against cancer. In this study, the effects of extracts obtained from blueberry fruit obtained from Artvin province on MDA-MB-231 cells were investigated. Pilot studies were carried out using 40, 80, 100, 200 µl doses of blueberry extracts. As a result, doses of 40 and 80 µl were determined as effective doses. In order to examine the effect of determined doses on MDA-MB231 cells in vitro, cells were subjected to two different assays, Annexin V and cell cycle, after 24 and 48 hours of culture period. In our study, it was concluded that blueberry extracts increased apoptosis in 40 µl and 80 µl at the end of 24 and 48 hours of culture on MDA-MB-231 cells, had a cytotoxic (cell-killing) effect and reduced cell proliferation.

These results are similar to the results of other studies on blueberry.

According to our study, we think that blueberry fruit may be a suitable therapeutic agent candidate against cancer and this research will contribute to cancer research.

Keywords: MDA-MB-231, Blueberry, Apoptosis, in vitro

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kanserin Tanımı.....	2
2.2. Kansere Çeşitleri	3
2.3. Meme Kanseri	7
2.4. Hücre Kültürü.....	10
2.5. Hücre Kültürü Çeşitleri	11
2.5.1. Birincil Hücreler	11
2.5.2. Sürekli Hücreler.....	11
2.5.3. Kendini Yenileyen Hücreler.....	11
2.6. Hücre Hattı	12
2.7. Hücre Hattı Çeşitleri	12
2.7.1. MCF-7 Hücre Hattı.....	13
2.7.2. MDA-MB-231 Hücre Hattı	13
2.8. Kansere ile Beslenme Arasındaki İlişki	14

2.9.	Yaban Mersini (<i>Vaccinium myrtillus L.</i>).....	15
2.9.1.	<i>Vaccinium Myrtillus L.</i> 'nin Fitokimyasal Bileşimi	17
3.	MATERYAL VE METOT	20
3.1.	Hücre İnkübasyon Koşulları	20
3.2.	Hücrelerin Pasajlanması (Subculturing)	21
3.3.	Hücre Sayılarının Hesaplanması	22
3.4.	Trypan Blue (TB) Kullanarak Hücre Sayımı.....	22
3.5.	Yaban Mersini Ekstrelerinin Elde Edilmesi.....	23
3.6.	Yaban Mersini Toz Ekstrelerinin Çözünmesi ve Sterilizasyonu	24
3.7.	Hücre Hatlarına Verilecek Yaban Mersini Dozunun Belirlenmesi.....	24
3.8.	In Vitro Çalışma.....	25
3.9.	Annexin V Testi ve Ölü Hücre Testi.....	26
3.10.	Hücre Döngüsü Testi	28
3.11.	İstatistiksel değerlendirme.....	29
4.	BULGULAR.....	30
4.1.	Annexin V Testi	30
4.1.1.	Erken Apoptoz.....	30
4.1.2.	Geç Apoptoz	31
4.1.3.	Toplam Apoptoz	32
4.1.4.	Canlı Hücre.....	33
4.2.	Hücre Döngüsü.....	34
4.2.1.	G0/G1 Ölçümü	34
4.2.2.	S ölçümü.....	35
4.2.3.	G2/M ölçümü.....	36
5.	TARTIŞMA	38
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
7.	KAYNAKLAR	44

8. EKLER.....	55
8.1. Tez İntihal Raporu.....	55



KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

°C :	Santigrad derece
µl :	Mikro litre
µm:	Mikro metre
ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
BKİ :	Beden kitle indeksi
CO₂:	Karbon dioksit
DMEM:	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA :	Etilendiamin tetraasetik asit
ER :	Östrojen reseptörü
HeLa :	İnsan servikal kanser hücreleri
HER2 :	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü
HT-29:	Kolon kanser hücre hattı
L.:	Lycium
MCF-7 :	İnsan meme kanseri hücre hattı
MDA-MB 231:	İnsan meme kanseri hücre hattı
ml :	Mililitre
O₂:	Oksijen
pH:	Potansiyel hidrojen
PR :	Progesteron reseptörü
Rpm:	Dakikadaki devir sayısı
TNBC :	Üçlü negatif meme kanseri
TURCOSA:	İstatistik yazılımı
UV:	Ultraviyole ışık
Ve ark:	Ve arkadaşları

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Histolojik meme kanseri tipleri	9
Tablo 2. Yaban mersininin fitokimyasal profili.....	19
Tablo 3. Annexin V& Dead Cell testinde erken apoptoz	31
Tablo 4. Annexin V& Dead Cell testinde geç apoptoz.....	32
Tablo 5. Annexin V& Dead Cell testinde toplam apoptoz	33
Tablo 6. Annexin V& Dead Cell testinde canlı hücre	34
Tablo 7. Hücre döngüsü testinde G0/G1 ölçümü.....	35
Tablo 8. Hücre döngüsü testinde S ölçümü	36
Tablo 9. Hücre döngüsü testinde G2/M ölçümü	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Tümör gelişiminin aşamaları	3
Şekil 2. 2019'da <70 Yaşında ölüm nedeni olarak ulusal kanser sıralaması	4
Şekil 3. 2020 yılında Türkiye'de görülen yeni kanser vaka sayısı	5
Şekil 4. 2020 yılında Türkiye'de erkeklerde en sık görülen ilk 5 kanser tipi	6
Şekil 5. 2020 yılında Türkiye'de kadınlarda en sık görülen ilk 5 kanser	7
Şekil 6. <i>Vaccinium Myrtillus L.</i>	16
Şekil 7. MDA-MB-231 hücrelerinin inkübasyon süreci	20
Şekil 8. TB Kullanılarak canlı hücre sayımı	22
Şekil 9. Yaban Mersini ekstraktlarının Hazırlanması	23
Şekil 10. Yaban mersini ekstresi elde edilmesi	24
Şekil 11. Belirlenen yaban mersini dozlarının uygulanması	25
Şekil 12. Muse Cell Analyzer cihazı ön yıkama yapılma aşaması	27
Şekil 13. Muse Cell Analyzer cihazında izlenen grafikler	30

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, bir organ veya dokudaki hasarlı hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalıp, bulunduğu bölgenin dışına yayılmasından ileri gelen hastalıkların genel adıdır. Beş kişiden bir tanesi hayatının bir döneminde kanser ile karşı karşıya geldiği istatistiklere göre belirlenmiştir. Tıptaki gelişmelere ve tüm yeni tedavi yaklaşımlarına karşın kanser sebepli ölümler hala gelişmiş toplumlarda ikinci sırada yer almaktadır (Gürel, 2007).

Dünyanın hemen her bölgesinde meme kanseri önemli bir sağlık sorunudur. Meme kanseri toplumda akciğer kanserinden sonra %11.9 oranla en sık, kadınlarda ise birinci sırada tanı konulan (%25.2) kanser türüdür (Siegel RL, Cancer statistics, 2019, 2019). Yaşamı boyunca, yaklaşık her 10 kadından birinin bu hastalığa yakalanma riskinin bulunduğu ve meme kanserine yakalanan kadınların üçte birinin de bu hastalık nedeniyle yaşamlarını kaybetme risklerinin bulunduğu bildirilmektedir (Gölbaşı Z, 2010).

Türkiye’de özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yetiştirilen yaban mersini üzüksü bir meyvedir. Yaban mersininde bol miktarda fenolik bileşik bulunur. Ayrıca yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Bu nedenle taze meyve ve sebzeler arasında özel bir öneme sahiptir. Yüksek antioksidan içeriğine bağlı olarak, kardio ve serebrovasküler hastalıklar, damar tıkanıklığı, diyabet ve kanser gibi bazı kronik hastalıklara karşı koruyucu etkisi vardır. Yapılan çalışmalar yaban mersini meyvesinde bulunan aktif bileşenlerin, hem fonksiyonel gıdalar şeklinde hem de besin takviyeleri olarak etkili anti-kanser ajanları olarak umut vaat ettiğini göstermektedir (Johnson, 2013).

Çalışmamız yaban mersininden (*Vaccinium Myrtillus L.*) elde edilen ekstraktların insan meme kanseri hücre hattına (MDA-MB 231) etkisini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanserin Tanımı

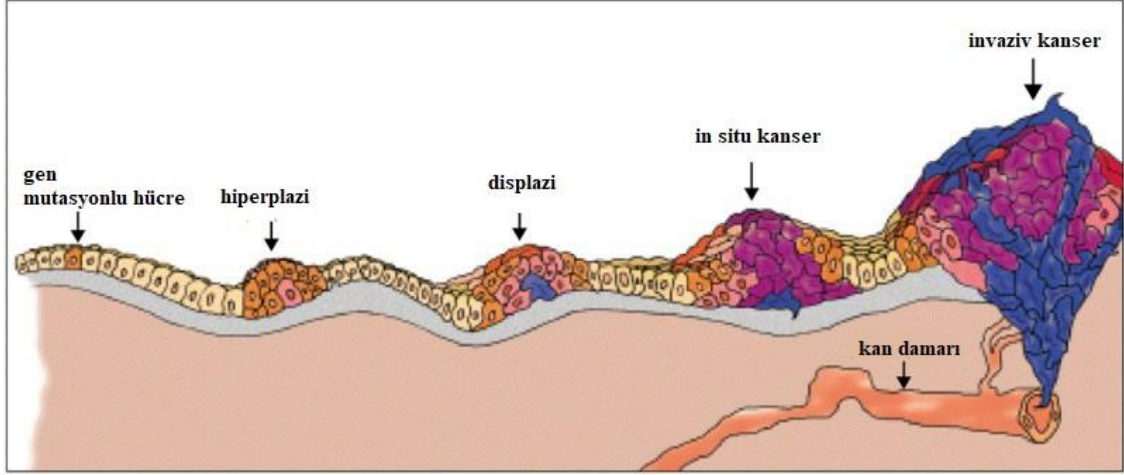
Günümüzde yaygın bir hastalık haline gelen kanser, en önemli kronik sağlık sorunlarından birisidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) raporlarına (2018) göre yılda 18.1 milyon insanda kanser teşhisi koyulmuş, 2018 yılında 9.6 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir (World Health Organization, 2018). Kanser, kalp damar hastalıklarından sonra ülkemizde mortalite oranı en yüksek olan ikinci hastalıktır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2017) .

Kanser gelişimine neden olan temel anormallik, kanser hücrelerinin sürekli olarak düzensiz çoğalmasıdır. Kanser hücreleri, normal hücre davranışını kontrol eden sinyallere uygun şekilde yanıt vermek yerine, kontrolsüz bir şekilde büyür ve bölünür. Normal doku ve organları işgal eder ve sonunda tüm vücuda yayılır. Kanser hücreleri tarafından sergilenen genelleştirilmiş büyüme kontrolü kaybı, çoklu hücre düzenleyici sistemlerde birikmiş anormalliklerin net sonucudur ve kanser hücrelerini normal hücrelerden ayıran hücre davranışının çeşitli yönlerine yansır (Cooper, 2000).

'Tümör' terimi, hücrelerin anormal çoğalmasını tanımlamak için kullanılır ve iyi huylu (benign) veya kötü huylu (malign) olabilir. İyi huylu ve kötü huylu tümörler arasındaki ayrım kanser patolojisindeki en önemli konudur (Cooper, 2000). Malign lezyonları benign lezyonlardan ayıran özellikler; hızlı büyüme, artan hücre döngüsü, istilacı (invaziv) büyüme, metastaz ve lenfatik ve/veya vasküler kanal invazyonu olarak tanımlanmıştır (Idikio, 2011) (Van Raamsdonkvan CD, 2009).

Normal hücre bölünmesi döngüsünden farklı olarak bölünmeye ve çoğalmaya başlayan hücre kansere sebep olur. Bu ilk atasal hücreye "kanser progenitör hücreleri" denilmektedir. Kanser progenitör hücreleri, kanser hücrelerinin en erken formudur. Bu hücreler, apoptotik veya otofajik mekanizmaların engellenmesi yoluyla büyüme düzenleyicilerine karşı duyarsızlık kazanmıştır ve lokal tümör oluşumunu başlatabilir (Sarkar, 2013). Kanser progenitör hücrelerinin bölünmesiyle oluşan hücrelerin tamamı da anormal çoğalma gösterir. Bu anormal hücrelerden oluşan tümör veya hücre kütlesi, kaynaklandığı doku içinde kalabilir (in situ kanser) veya yakın dokuları istila etmeye

başlayabilir (invaziv kanser) (Şekil 1 Evolution of a Cancer, 2011). İnvaziv tümörler maligndir. Malign bir tümörden kan veya lenf içine yayılan hücrelerin vücutta yeni tümörler (metastazlar) oluşturması muhtemeldir (National Institutes of Health, 2007).

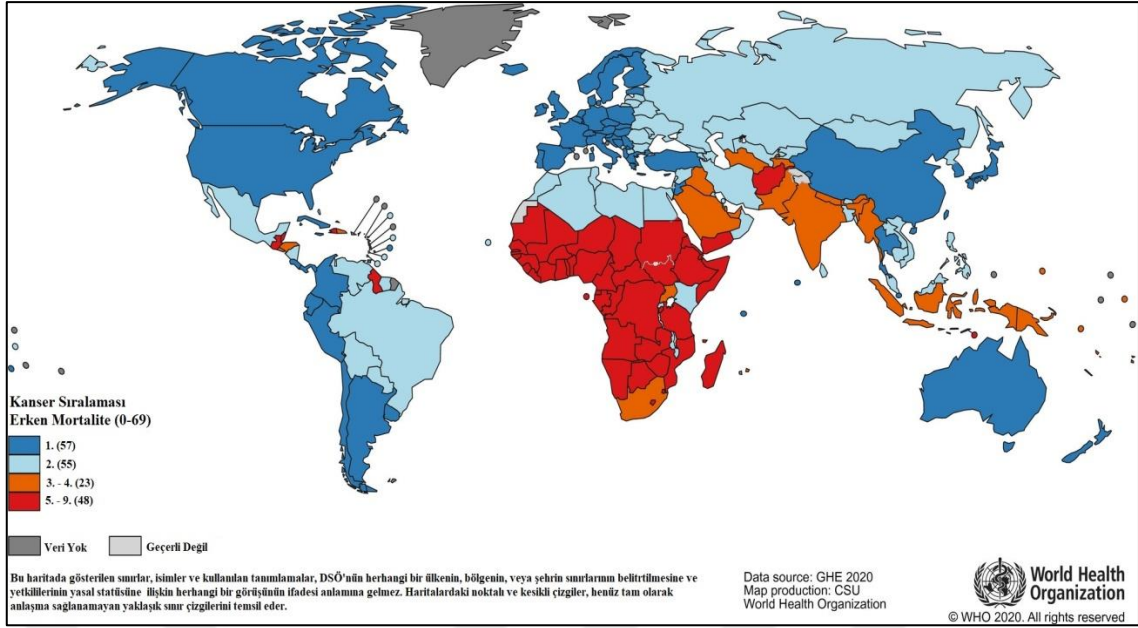


Şekil 1. Tümör gelişiminin aşamaları (Evolution of a Cancer, 2011)

2.2. Kanser Çeşitleri

Günümüzde, 100'den fazla bilinen kanser türü ve kanser ile ilişkili 500'den fazla gen vardır (Pavlopoulou, 2015). Kanserlerin çoğu karsinomlar, sarkomlar ve lösemiler veya lenfomalar olarak sınıflandırılan üç ana gruptan birine girer. Karsinomlar epitel dokulardan kaynaklanan kötü huylu tümörlerdir ve insan kanserlerinin ~%90'ını oluşturur. Sarkomlar, bağ ve iskelet dokularından kaynaklanan nadir görülen katı tümörlerdir (Cooper, 2000) (Hoang NT, 2018). Lösemiler ve lenfomalar sırasıyla kemik iliğindeki kök hücrelerden ve bağışıklık sistemi hücrelerinden kaynaklanır (Davis AS, 2014).

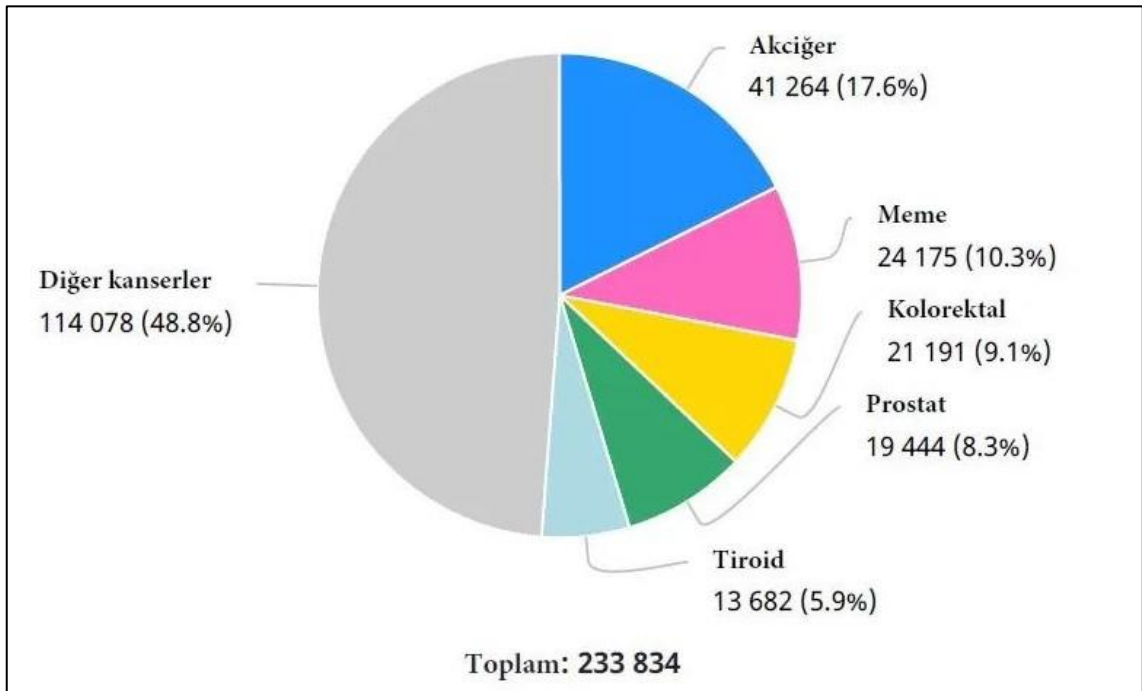
Kanser, dünyanın her ülkesinde önde gelen ölüm nedeni ve artan yaşam beklentisinin önünde önemli bir engel olarak yer almaktadır (Bray, 2021). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2019 (World Health Organization, 2020) yılındaki tahminlerine göre kanser, 183 ülkenin 112'sinde 70 yaş öncesi ölümlerin birinci veya ikinci önde gelen nedenidir ve 23 ülkede üçüncü veya dördüncü sırada yer almaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. 2019'da <70 Yaşında ölüm nedeni olarak ulusal kanser sıralaması (Kaynak: Dünya Sağlık Örgütü)

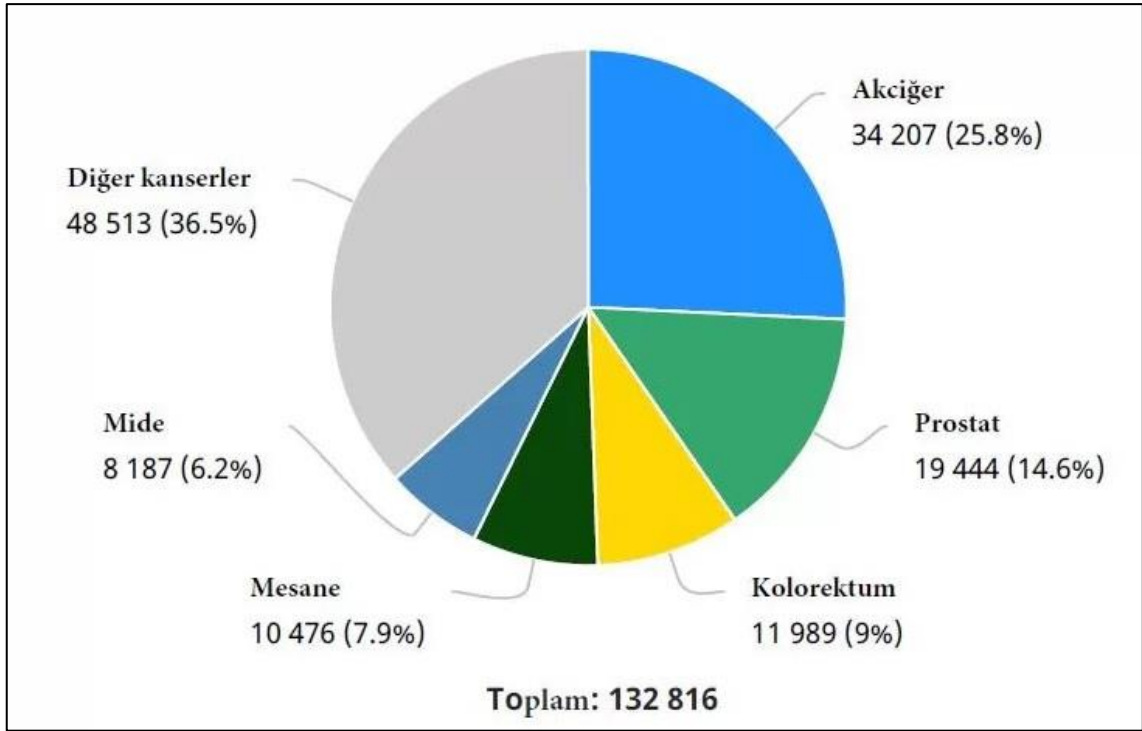
2020'de dünya çapında tahmini 19.3 milyon yeni vaka (bazal hücreli karsinom ve melanom dışı cilt kanseri hariç 18.1 milyon) ve 10 milyon kanser ölümü (bazal hücreli karsinom ve melanom dışı cilt kanseri hariç) rapor edilmiştir (Global Cancer Observatory, 2020). Tüm kanser türleri içerisinde (kadın ve erkek) meme kanseri en sık teşhis edilen kanser tipidir (toplam vakaların %11,7'si), bunu akciğer (%11,4), kolorektal (%10,0), prostat (%7,3) ve mide (%5,6) kanserleri takip etmektedir. Akciğer kanseri, tüm kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir (toplam kanser ölümlerinin %18,0'i), bunu kolorektal (%9,4), karaciğer (%8,3), mide (%7,7) ve meme (%6,9) kanserleri izlemektedir. Akciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanser ve kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir, bunu insidans açısından prostat ve kolorektal kanser ve mortalite açısından karaciğer ve kolorektal kanser izlemektedir. Kadınlarda meme kanseri en sık teşhis edilen kanserdir ve kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir (Global Cancer Observatory, 2020).

Kanser türleri ve görülme sıklıkları cinsiyet, coğrafi bölge ve ırka göre farklılık gösterebilmektedir (Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2017). Türkiye'de 2020 yılında yeni tanı konulan kanser vaka sayısı 233.834 ve kansere bağlı ölüm sayısı 126.335 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde 2020 yılında erkek ve kadınlarda tüm kanser türleri arasında en sık görülen ilk 5 kanser türü, akciğer kanseri, meme kanseri, kolorektal (kalın bağırsak) kanser, prostat kanseri ve tiroid kanseri olarak rapor edilmiştir (Global Cancer Observatory, 2020).



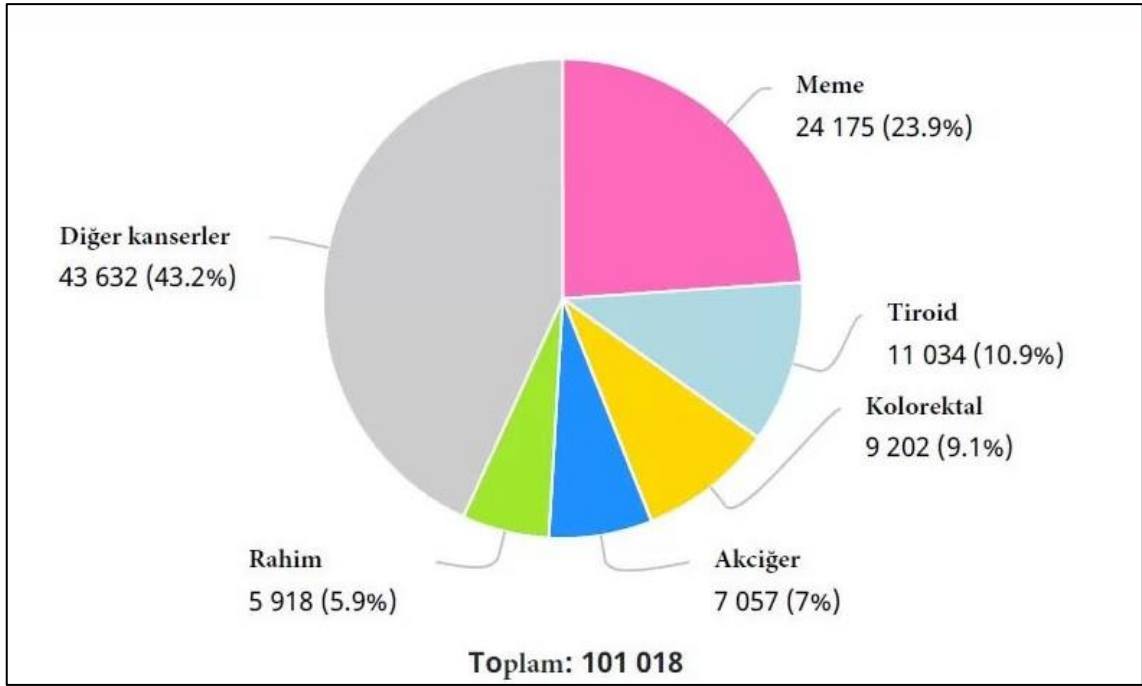
Şekil 3. 2020 yılında Türkiye'de görülen yeni kanser vaka sayısı (her iki cinsiyette ve her yaşta) (Global Cancer Observatory, 2020)

Türkiye’de 2020 yılında erkeklerde en sık görülen ilk 5 kanser tipi; akciğer kanseri, prostat kanseri, kolorektal kanser, mesane kanseri ve mide kanseri olarak bildirilmiştir (Global Cancer Observatory, 2020).



Şekil 4.2020 yılında Türkiye'de erkeklerde en sık görülen ilk 5 kanser tipi (Global Cancer Observatory, 2020)

Ülkemizde 2020 yılında kadınlarda en sık görülen 5 kanser türü ise; meme kanseri, tiroid kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri ve rahim kanseridir. Türkiye Birleşik Veri Tabanı (2017) kayıtlarına göre, Türkiye'deki kadınlarda tüm yaş gruplarında %25.5 oranında meme kanseri ilk sırada yer almaktadır (Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2017, s. 23).



Şekil 5. 2020 yılında Türkiye'de kadınlarda en sık görülen ilk 5 kanser (Global Cancer Observatory, 2020)

2.3. Meme Kanseri

Meme kanseri, dünyada kadınlar arasında en sık teşhis edilen invaziv kanser türüdür ve dünya genelinde kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin bir numaralı nedenidir (Siegel RL, 2018).

Kanser hücreleri, normal hücrelerdeki DNA veya RNA'nın modifikasyonu/mutasyonu ile oluşur. Bu değişiklikler/mutasyonlar, kendiliğinden meydana gelebileceği gibi nükleer radyasyon, elektromanyetik radyasyon (mikrodalgalar, X ışınları, Gama ışınları, Ultraviyole ışınları vb.), virüsler, bakteriler, mantarlar, parazitler, doku iltihabı/tahrişi, hava su ve gıdadaki kimyasallar, serbest radikaller, vb. gibi diğer faktörler tarafından indüklenebilir (Marek Roland-Mieszkowski, 2006). Bağışıklık sistemi düzgün çalışmıyorsa veya hasar gören hücre miktarı bağışıklık sisteminin yok edemeyeceği kadar fazlaysa kanser gelişir (Nemours Kidshealth, 2019).

Kanser genellikle adını ortaya çıktığı vücut kısmından alır; bu nedenle meme kanseri, meme dokusundan kaynaklanan hücrelerin düzensiz büyümesi ve çoğalması anlamına gelir (Khuwaja, 2004).

Meme kanseri, en yaygın olarak meme dokusundaki süt kanallarının iç duvarından veya kanalları sütle besleyen lobüllerden kaynaklanan kanserleri ifade eder (Sharma, 2010). Meme kanseri, biyolojik davranışlarına ve mikroskopik görünümüne göre in situ ve invaziv karsinom olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. İn situ karsinomlarda, tümör hücreleri duktal veya lobüler bölgede sınırlı olup stromal invazyon (tümörün bazal membrandan aşağı doğru yayılımı) görülmez. İnvaziv karsinomlarda ise bazal membranı geçen tümör hücreleri stromal invazyon yaparlar. Bu durum invaziv meme karsinomlarının, lenfovasküler invazyonla bölgesel lenf nodlarına ve uzak organlara metastaz yapmasına neden olmaktadır (Syed A. Hoda, 2020).

Meme kanserleri memenin farklı bölgelerinden de başlayabilir. Lobüllerde (süt bezleri) başlayan kanserlere lobüler kanserler denir. Lobüllerden çıkan ve sütü meme ucuna taşıyan kanallarda başlayan kanserlere duktal kanserler denir. Meme kanserinin başladığı en yaygın yer burasıdır (American Cancer Society). Dünya Sağlık Örgütü tarafından sınıflandırılan histolojik meme kanseri tipleri Tablo 1. de gösterilmiştir (World Health Organization, 1981).

Tablo 1. Histolojik meme kanseri tipleri (World Health Organization, 1981)

Kanser tipi	
Non invaziv	İntraduktal karsinom Lobüler karsinoma in situ
İnvaziv	1- İnvaziv duktal karsinom a) Klasik invaziv duktal karsinom b) Tubüler karsinom c) Kribriform karsinom d) Müsinöz karsinom e) Medüller karsinom f) İnvaziv papiller karsinom g) Apokrin karsinom h) Jüvenil (Sekretuar) karsinom j) Nöroendokrin özellikte karsinom (karsinoid tümör) k) Metaplastik karsinom l) Lipidden zengin karsinom m) Skuamöz hücreli karsinom n) Varyantlar: İnflamatuvar karsinom, Paget hastalığı 2- İnvaziv lobüler karsinom a) Klasik tip b) Histiositoid tip c) Taşlı yüzük hücreli karsinom d) Diğer tipler 3- Mikst duktal ve lobüler karsinom 4- Sınıflandırılmayan karsinom

Meme kanseri ile ilgili günümüzde hala yeni bilgiler ortaya çıkmakta ve gelişmeler yaşanmaktadır. Meme kanserinin neden olduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte; dünya çapında yapılan araştırmalar sonucunda, bazı kadınlarda meme kanseri görülme riskinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu özelliklere “risk faktörleri” adı verilmektedir (Somunoğlu, 2007). Tanımlanmış risk faktörleri; erken menarş, nulliparite, ilk doğumun ileri yaşlarda gerçekleşmesi, kısa süreli emzirme, geç menopoz, obezite olup, meme kanserinin %25’inden sorumludur (Ronco AL, 2010) (Mourouti N, 2013). Bu risk faktörlerine ek olarak, tanımlanmış aile öyküsü de değiştirilemeyen risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (Brennan SF, 2010).

Meme kanserinden şüphelenildiğinde, öncelikle teşhisin doğrulanması gerekir. Daha sonra hastalığın evresinin değerlendirilmesi yapılır ve tedavi yöntemi seçilir (Cancer.Net Editorial Board, 2020). Meme kanserini teşhis etmek için; mamografi, ultrason, klinik olarak endike ise meme manyetik rezonans görüntüleme (MRI), biyopsi gibi testler ve prosedürler kullanılır (PDQ Adult Treatment Editorial Board, 2002).

Meme kanserinde temel tedavi yöntemi cerrahidir. Hormonal tedavi, kemoterapi ve/veya radyasyon tedavisi dahil olmak üzere adjuvan veya neoadjuvan tedaviler genellikle cerrahi tedaviye eşlik eder (Czajka ML, 2021).

2.4. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, ökaryotik veya prokaryotik hücrelerin fizyolojik koşullarda büyümesini sağlayan laboratuvar yöntemlerini ifade eder (Segeritz, Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro, 2017). Harisson tarafından 1907 yılında hayvan hücrelerinin, canlı vücudunun dışında incelenebilmesi amacıyla hücre kültürü ilk defa kullanılmıştır. Vücut dışında hücrenin kültüre edilebilmesi, vücudun olağan homeostazisi nedeniyle ortaya çıkacak sistemik değişiklikler ve bu değişikliklerin deneyler üzerinde oluşturabileceği olumsuz etkilerden bağımsız olarak, hücreyi inceleme olanağı sağlamıştır (Harrison, 1907).

Hücre kültürü genellikle hücrelerin canlı bir organizmanın dışında kontrollü koşullar altında (örn. sıcaklık, pH, besin ve atık seviyeleri) yetiştirildiği bir teknik olarak kabul edilir. Hücre biyolojisi/fizyolojisi, ilaç taraması, toksin testi veya diğer hücre tabanlı testler gibi çeşitli biyolojik uygulamalarda uzun süredir kullanılmaktadır. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan hücre kültürü uygulaması, hücrelerin çok kuyulu mikropalakalar veya petri kapları kullanılarak kültürlenmesidir (Y.-H. Lin, 2011).

Hücrelerin büyümesini sağlamak için farklı koşulları kontrol etmek gerekmektedir. Bu koşullar hücrelerin büyümesini ve canlılığının devamını sağlayan aminoasitler, karbonhidratlar, mineral ve vitaminlerin yanı sıra hormon, karbondioksit, oksijen ve antibiyotik gereksinimleridir. Ayrıca ortamın oksijen (O₂) ve karbondioksit (CO₂) yoğunluğu, osmotik basıncı, pH ve sıcaklığı da fizikokimyasal koşullar olarak kontrol edilmesi gereken diğer şartlardır (States, 2019) .

2.5. Hücre Kültürü Çeşitleri

Laboratuarda kültürlenен hücreler: birincil hücreler, sürekli hücreler ve kendi kendini yenileyen hücreler olarak üç farklı tipte sınıflandırılabilir (Segeritz C. P., 2017).

2.5.1. Birincil Hücreler

Bu hücreler, mekanik veya kimyasal parçalanma veya enzimatik sindirim yoluyla doğrudan doku ve organlardan elde edilir, uygun cam veya plastik kaplarda büyümeye teşvik edilir. Bu kültürler heterojendir ve genellikle düşük bir büyüme oranına sahip olmalarına rağmen türetildikleri dokulardaki hücre tiplerini hücre hatlarına göre daha fazla temsil ettikleri için tercih edilirler (Verma, 2020). Ancak, bu hücre tiplerinin kullanımıyla ilgili katı biyogüvenlik kısıtlamaları vardır. Ayrıca, birincil hücreler genellikle "sonlu" olarak nitelendirilir. Sınırlı miktarda hücre bölünmesinden sonra çoğalmaları durduğundan ve hücre büyümesi çoğu zaman imkansız olduğundan, sürekli bir stok kaynağına gerektirir (Segeritz C. P., 2017).

2.5.2. Sürekli Hücreler

Bu hücreler sonsuz çoğalma özelliği olan, tek tip hücrelerdir. Hücrelerin uzun süre kullanılması veya çok fazla pasajlanması hücrelerde farklılaşmaya yol açabilir. Sonsuz çoğalma özelliği direkt olarak organizmadan elde edilen kanserli hücrelerde (HeLa vb.) vardır. Bu hücreler birincil hücrelere göre daha fazla çoğalabilmeleri, flask yüzeyine yapışmayı arttırıcı kimyasallara ihtiyaç duymamaları ve besi yeri içerisinde daha az serum ve büyüme faktörüne ihtiyaç duyması gibi özelliklere sahiptir (Karakuş, 2016).

2.5.3. Kendini Yenileyen Hücreler

Bu hücrelerin, diğer çeşitli hücre türlerine farklılaşma kapasitesi vardır. Embriyonik kök hücreler, uyarılmış pluripotent kök hücreler, sinir ve bağırsak kök hücreleri bu hücre türlerine örnek verilebilir. Kendi kendini yenileyen hücre türleri sıklıkla in vivo mekanizmaların fizyolojik olarak ilgili örnekleri olarak hareket eder (Segeritz C. P., Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro., 2017).

2.6. Hücre Hattı

Hücre hattı, belirli fenotiplerin ve fonksiyonların stabilitesini koruyarak, kültürde uzun bir süre korunabilen tanımlanmış bir hücre popülasyonu için geçerli olan genel bir terimdir. Hücre hatları genellikle klonaldır, yani tüm popülasyon tek bir ortak ata hücreden izole edilir (Li, 2011). Araştırmalarda genellikle birincil hücreler yerine ölümsüz olan hücre hatları kullanılır. Uygun maliyetli olmaları, kullanımlarının kolay olması, sınırsız hücre temini sağlamaları, hayvan ve insan dokusunun kullanımıyla ilgili etik kaygıları ortadan kaldırmaları gibi çeşitli avantajlar sunar. Hücre hatları aynı zamanda tutarlı bir örnektir ve tekrar üretilebilir dokular sağlar. Hücre hatları bilimsel araştırmalarda devrim yaratmıştır. Aşı üretiminde, ilaç metabolizmasının ve sitotoksitenin test edilmesinde, antikor üretiminde, gen fonksiyonunun incelenmesinde, yapay dokuların (örn. suni deri) üretilmesinde ve terapötik proteinler gibi biyolojik bileşiklerin sentezinde kullanılmaktadır (Go´mez-Lecho´n MJ, 2003) (C, 1990) (Schurr MJ, 2009). Günümüzde hücre hatları özellikle kanser ile ilgili çalışmaların hız kazanması ile kanser ilaçlarının geliştirilmesinde ve tesirlerinin saptanmasında büyük önem kazanmıştır (Lacroix, 2008).

2.7. Hücre Hattı Çeşitleri

Hücre hatları günümüzde birçok hastalıkla ilgili çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Önceden tanımlanmış bir hücre hattından hücreler çoğaltılıp üzerinde çeşitli in-vitro çalışmalar yapılmaktadır. Earle ve ark. (1943) farelerden tümör izole etmeyi başarmış ve tek bir hücreden çoğalmanın mümkün olduğunu ispatlamıştı. 1951 yılında, Baltimore laboratuvarında ilk kanser hücre hattı George Gey tarafından oluşturulmuştur. Gey, rahim ağzı kanseri olan Henrietta Lacks adındaki hastanın dokusundan sonsuz çoğalma özelliğine sahip olan HeLa ismi verilen hücreleri izole etmiştir. Normal dokulardan oluşturulan hücre hatları sınırlı büyüme gösterirken, kanserli dokulardan elde edilen hücre hatlarının sonsuza kadar çoğalmayı başardığını keşfetmiştir (Gey, 1952).

İki boyutlu hücre modelleri araştırmalar artıkça yaygın olarak kullanılmaktadır. İki boyutlu hücre kültürü; flask veya petri kapları kullanılarak yapılmaktadır. Hücreler flask veya petri kabı yüzeyine tek tabaka halinde tutunmuş durumdadır. Bazı çalışmalarda bu yöneme ek olarak üç boyutlu kültür yöntemi de araştırmalarda yer almaya başlamıştır (Harika Duruel, 2020). Üç boyutlu hücre kültürü yöntemi

kullanırken, vericinin dokularından hücreler alınarak çok hücreli ve üç boyutlu yapılarda kültürlenir. Üç boyutlu hücre kültürü doku yapısının taklidini elde etmek için oluşturulan uygun hücre-hücre ve hücre-çevre etkileşimlerin, daha iyi gözlenebilir olmasına imkan sağlar (Kapałczyńska M, 2018)

2.7.1. MCF-7 Hücre Hattı

1973'te Dr. Soule ve Michigan Kanseri Vakfı'ndaki meslektaşları tarafından, adlarından türetilen MCF-7 hücreleri, metastatik hastalığı olan 69 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan izole edilmiştir. İzole edilen MCF-7 hücrelerinde östrojen reseptörleri (ER) tanımlanması ise meme kanseri açısından önemli bir keşiftir (Soule HD, 1973).

MCF-7, yaygın olarak kullanılan bir meme kanseri hücre dizisidir ve birçok araştırmacı tarafından uzun yıllardır çoğaltılmaktadır (Bruce C, 2011). Anti kanser ilaçlarla ilgili olanlar da dahil olmak üzere, dünya çapındaki meme kanseri araştırmaları için uygun bir model hücre dizisi olduğu kanıtlanmıştır (Farshad H. Shirazi, 2011).

MCF-7 hücre hattının karakteristik özellikleri şunlardır; invaziv duktal karsinom (süt bezlerinde), plevral efüzyon, ER pozitif (östrojen reseptörü) , PR pozitif veya negatif (progesteron reseptörü) HER2 negatif (insan epidermal büyüme faktörü), çoğunlukla kemoterapiye duyarlıdır, hormonal tedaviye yanıt verir. Adherent hücre hattı özelliğinde olması sebebiyle in-vitro kültür çalışmalarında kolaylıkla kullanılabilir (Liu Y, 2017); (Lokerse, 2017).

2.7.2. MDA-MB-231 Hücre Hattı

MDA-MB-231 hücre hattı, tıbbi araştırma laboratuvarlarında en sık kullanılan meme kanseri hücre dizilerinden biri olup, metastatik meme adenokarsinomlu 51 yaşındaki beyaz ırk bir kadının plevral efüzyonundan izole edilmiştir (Cailleau, 1978). Anderson-Metastatic Breast kısaltması olarak MDA-MB şeklinde kullanılarak adlandırılmıştır (Dohr O, 1995).

MDA-MB-231, oldukça agresif ve metastastiktir. HER2 amplifikasyonunun yanı sıra östrojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörü ekspresyonundan yoksun olduğu için üçlü negatif (TNBC) meme kanseri hücre dizisidir. MDA-MB-231 hücrelerinin yayılımı diğer invaziv kanser hücre hatlarına benzer şekilde hücre dışı matrisin proteolitik bozunması aracılık eder (Liu H, 2003); (Chavez KJ, 2010). Adherent (yapışma özelliği)

hücre hattı özelliğindedir, bu sebeple in-vitro kültür çalışmalarında kolaylıkla kullanılabilir (Liu Y, 2017); (Lokerse, 2017).

2.8. Kanser ile Beslenme Arasındaki İlişki

Kanser sürecinde beslenme rolünün araştırma alanı çok geniştir. Beslenmenin kanserde önemli bir rol oynadığı araştırmalar devam ettikçe daha da netleşmektedir. Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü ve Dünya Kanser Araştırma Fonu tarafından, tüm kanserlerin % 30-40'ının uygun diyet, fiziksel aktivite ve uygun vücut ağırlığının korunması ile önlenebileceği tahmin edilmektedir (MJ, 1997)

Kansere bağlı ölümlerin nedenlerine bakıldığında 1/3'ünün tütün kullanımı, yüksek beden kütle indeksi (BKİ), alkol kullanımı, düşük meyve ve sebze alımı ve fiziksel aktivite eksikliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (World Health Organization, 2021). 2003 yılında ABD'de yapılan bir çalışmada yetişkin popülasyonun tamamı normal bir vücut ağırlığını ($BKİ < 25.0 \text{ kg/m}^2$) koruduğu takdirde yılda 90.000'den fazla kanser ölümünün önlenebileceğini tahmin edilmiştir (Calle EE, 2003).

Beslenmenin kanserde etiyolojik bir rolü olduğu kabul edilmektedir. Doymuş yağ alımı ile meme, kolon ve prostat kanseri insidansı arasında doğrudan ilişkiler bulunmuştur. Günde 40 gramdan fazla alkol alımının ağız boşluğu, yutak, yemek borusu ve gırtlak kanserleri ile ilişkili olduğu, sigaranın ise alkol ile sinerjistik etkileşimi ile riski artırdığı bildirilmektedir. Tahıl, sebze ve meyve tüketimiyle yüksek miktarda diyet lifi ve diğer diyet bileşenlerinin vücuda alımı, kolon kanseri riskini ve meme kanseri riskini önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Pal, 2012). Bu değerlendirmenin yanı sıra epidemiyolojik ve laboratuvar araştırmaları, yüksek yağlı bir diyetin, özellikle meme ve kolonun daha az ölçüde prostat kanserine karşı artan duyarlılığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir (S, 1985).

Günümüzde beslenme araştırmalarının en önemli mesajlarından biri meyve ve sebzelerden zengin beslenmenin kansere karşı koruyucu olduğudur. Yapılan bilimsel çalışmalar insanların daha fazla meyve ve sebze tüketmesini desteklenmektedir. Kanser ve meyve ve sebze tüketimi ilgili 200 çalışmacının yer aldığı meta analiz çalışmasında (Block G, 1992), 156 çalışmanın 128'inde meyve ve sebzelerin istatistiksel olarak anlamlı bir koruyucu etkisi bulundu. Çoğu kanser için, en az miktarda meyve ve sebze tüketen alt çeyrekteki (nüfusun 1 / 4'ü) insanlar, en fazla meyve ve sebze tüketen üst çeyrektekilere kıyasla yaklaşık iki kat daha fazla kanser riskine sahipti.

Meyve ve sebzelerde koruyucu olan birçok madde vardır, bu nedenle tüm etkinin tek bir besin veya fitokimyasaldan kaynaklanması olası değildir. Steinmetz ve Potter, 206 çalışmacının yer aldığı insan epidemiyolojik meta analiz çalışmasında ve 22 hayvan meta analiz çalışmasında meyveler, sebzeler ve kanser arasındaki ilişkiyi gözden geçirdi. Ditiyoltiyonlar, izotiyosiyanatlar, indol-32-karbinol, allium bileşikler, izoflavonlar, proteaz inhibitörleri, saponinler, fitosteroller, inositol heksafosfat, C vitamini, D-limonen, lutein, folik asit, beta karoten (ve diğer karotenoidler), likopen, selenyum, E vitamini, flavonoidler ve diyet lifini meyve ve sebzelerde bulunan kanser ile ilişkili olası koruyucu unsurlar olarak listelediler (Steinmetz KA, 1996).

2.9. Yaban Mersini (*Vaccinium myrtillus L.*)

Fenolik bileşikler ve özellikle vitaminlerden askorbik asit (C vitamini) üzüksü meyvelerde yoğun olarak bulunmaktadır. Çilek ve kuş üzümü gibi üzüksü meyvelerde C vitamini yüksek oranda bulunurken, diğer üzüksü meyvelerde fenolik bileşikler baskın düzeylerde (Çağlar, 2018). Bitkilerde yoğun olarak bulunan fenolik bileşikler tıbbi çalışmalar açısından önemli bir konu haline gelmiştir. Fenolik bileşiklerin sitotoksik antitümör, antienflamatuar, östrojenik, antimikrobiyal, antialerjik, vasküler ve enzim inhibisyonu aktivitesi gibi pek çok yararlı özelliğe sahip oldukları bildirilmiştir (Cushnie, 2005).

Meyveler genel olarak yüksek antioksidan kapasiteleri ile bilinen fenolik bileşikler açısından zengindir. Spesifik olarak, in vitro, in vivo ve birkaç klinik çalışmadan elde edilen kanıtlar, yaban mersini ve aktif bileşenlerinin, hem fonksiyonel gıdalar şeklinde hem de besin takviyeleri olarak etkili anti-kanser ajanları olarak umut vaat ettiğini göstermektedir (Johnson, 2013).

Yaban mersini (*V. myrtillus L.*) *Ericaceae* familyasının bir üyesidir. Küre veya yarım küre şeklinde, küçük (0,7 ila 1,5 cm çapında), yumuşak ve tatlı lacivert meyvelerdir. Çoğunlukla glikoz ve fruktoz içeren bu meyveler soyulmadan ve kesilmeden tüketilebilir (Brix aralığı 11° ila 12.6°) (Sinha, 2012). Türkiye’de mavi yemiş, likapa, yaban mersini, ayı üzümü, morsivit, Trabzon çayı çalı çileği, gibi isimlerle, yurt dışında ise blueberry olarak tanınmaktadır (Şekil 6 GardenTags).



Şekil 6. *Vaccinium Myrtillus L.* (GardenTags)

Türkiye’de özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yetiştirilen yaban mersini üzüksü bir meyvedir. Yaban mersininde bol miktarda fenolik bileşik bulunur. Ayrıca yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Yüksek antioksidan içeriğine bağlı olarak, kardio ve serebrovasküler hastalıklar, damar tıkanıklığı, diyabet ve kanser gibi bazı kronik hastalıklara karşı koruyucu etkisi vardır (Wu X, 2002). Buna ek olarak yapılan çalışmalarda yaban mersininin hafıza kayıplarını engellediği ve yaşlanma karşıtı özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir (Çelik, 2006).

Yaban mersini, yüksek konsantrasyonda antosiyanin ve diğer fenolik bileşikleri içermesi, ayrıca antioksidan kapasitesi sebebiyle taze meyve ve sebzeler arasında özel bir öneme sahiptir (Prior, 1998). Yaban mersini antioksidant aktiviteye katkı sağlayan klorogenik asit, kuersetin, kamferol, mirisetin, prosiyanidin, kateşin, epikateşin, resveratrol gibi fenolik bileşikler ile vitamin C açısından da iyi bir kaynaktır (Giovanelli, 2009). Bu güne kadar yaban mersini meyvesinde alerjik bir bileşik bildirilmemiştir. Yaban mersini fonksiyonel gıda olarak da önerilmektedir. *V. myrtillus*’ta bulunan, antosiyanidinlerden siyanidinin UV radyasyonuna karşı savunmada önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca *V. myrtillus*’un meyvelerinde antosiyanin içeriğinin yapraklarına oranla daha yüksek seviyede bulunduğu belirtilmiştir (Åkerström, 2010).

2.9.1. *Vaccinium Myrtillus L.*'nin Fitokimyasal Bileşimi

Meyve ve sebzelerdeki mineral içeriği çok önemlidir ve besin değerlerine katkıda bulunur. Bununla birlikte, bu mineral elementlerin diyetle alımını dengelemek gereklidir, çünkü eser elementler önerilen alım miktarlarından daha yüksek miktarda tüketildiğinde toksik olabilir. Yaban mersini de dahil olmak üzere bazı yabani meyveler araştırılmış ve mineral kaynakları olarak tanımlanmıştır (Damascos M.A., 2008). Mineral bileşimi ile ilgili olarak, bu meyveler üç ana makro elemente (Kalsiyum, fosfor ve magnezyum) ve yedi mikro elemente (demir, baryum, sodyum, manganez, bakır, stronsiyum ve çinko) sahiptir (Barizza E., 2013). Yabani ve ticari meyveler arasındaki karşılaştırmalı araştırmalar yabani yaban mersininin ticari meyvelerden daha yüksek mineral konsantrasyonlarına sahip olduğunu göstermiştir. Bu farklılıkların yetiştirme koşulları ve toprak bileşimi ile ilgili olması düşünülmektedir (Kabata-Pendias, 2010).

Yaklaşık bileşim ile ilgili olarak, taze meyveler yaklaşık %84 su, %9.7 karbonhidrat, %0.6 protein, %0.4 yağ ve %3-3.5 lif içerir ve tahmini enerji değeri 45,8 kcal'dir (Michalska A., 2015).

V. myrtillus meyvesi, organik asitler, şekerler (Uleberg E., 2012), vitaminler (Cocetta G., 2012), lifler (Aura A.M., 2015) ve fenolik bileşikler (Ferlemi A.V., 2016) gibi sağlığa faydalı olan zengin mikro besin ve fitokimyasal bileşikler içerir (Mikulic-Petkovsek M., 2012). Ayrıca yaban mersini meyvelerinin C vitamini içeriği önemlidir. Yüz gram yaban mersini meyvesi ortalama olarak 10 mg askorbik asit sağlar, bu da günlük tavsiye edilen C vitamini alımının 1/3'ü anlamına gelmektedir (Michalska A., 2015).

Yaban mersini bileşiminde farklı organik asitler bulunur. Bunlardan başlıcaları; sitrik, malik ve kinik asitlerdir. Fruktöz ve glikoz yaban mersini içindeki en yüksek serbest şeker grubu olarak tanımlanır, ancak sakkarozun varlığı da ilgili bir bileşen olarak rapor edilmiştir (Uleberg E., 2012), (Zorenc Z., 2016), (Mikulic-Petkovsek M., 2012).

Fenolik bileşikler, antioksidan (Fidaleo M., 2015), antiinflamatuvar (Ambriz-Pérez, 2016) antihipertansif (Rodrigo R., 2012), antimikrobiyal (Bouarab-Chibane L., 2019) ve antikanser (Anantharaju P.G., 2016) ajanlar olarak sağlığı koruyucu etkileri ile tanınan bir grup ikincil bitki metabolitidir. *Vaccinium myrtillus L.*, antosiyaninler flavan-3-oller, flavonoller ve fenolik asitler ile polifenoller açısından zengindir (Zorenc

Z., 2016). Flavan-3-oller (kateşinler ve proantosiyandinler), flavonoller (kaempferol, kersetin, mirisetin), fenolik asitler (esas olarak hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitler) ve stilbenlerin türevleri gibi flavonoidler, yaban mersini meyvelerinde bulunan başlıca antosiyanin olmayan polifenollerdir (Ferlemi A.V., 2016). Flavan-3-oller genellikle meyveler, baklagiller, sebzeler ve kabuklu yemişler gibi yaygın olarak tüketilen gıdalarda değişen konsantrasyonlarda bulunur. Bunlar, doymamış yağların oksidasyonu nedeniyle acılaşmayı önlemeye, gıda renklerini stabilize etmeye ve ayrıca çeşitli hastalıklara karşı kimyasal önlemeye (kemoprevensiyon) katkıda bulunan doğal antioksidanlardır (Emily A. Rue, 2018). Yaban mersininin fitokimyasal içeriği Tablo 2.'de gösterilmiştir (The United States Department of Agriculture, 2018).



Tablo 2. Yaban mersininin fitokimyasal profili (USDA ulusal besin veri tabanı)

Besin Öğeleri	100 g
Proksimet Analiz	
Enerji	57 Kcal
Protein	0.74 g
Yağ	0.33 g
Karbonhidrat	14.49 g
Diyet lifi	2.40 g
Mineraller	
Kalsiyum	6.00 mg
Bakır	0.28 mg
Demir	0.06 mg
Magnezyum	6.00mg
Manganez	0.34 mg
Fosfor	12.00 mg
Potasyum	77.00 mg
Selenyum	0.10 µg
Sodyum	1.00 mg
Çinko	0.16 mg
Vitaminler	
Askorbik asit	9.70 mg
Tiamin	0.04 mg
Riboflavin	0.04 mg
Niasin	0.42 mg
Pantotenik asit	0.12 mg
Piridiksin	0.05 mg
Folik asit	6.00 µg
Retinol	54.00 IU
Tokoferol	0.57 mg ATE

*IU=Uluslararası Birimler, *ATE=Alfa tokoferol eşdeğeri.

3. MATERYAL VE METOT

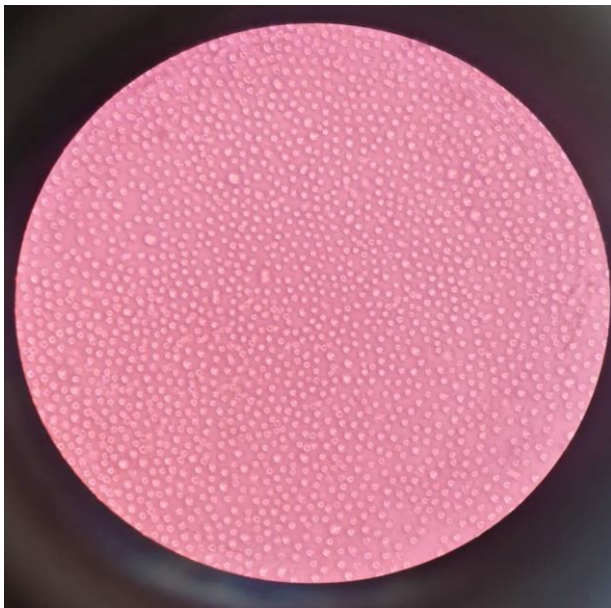
In vitro çalışmaların yapılabilmesi için gerekli standart besi yerleri biyogüvenlik kabininde hazırlandı. Bunun için ;

- ✓ 85 ml Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)
- ✓ 15 ml Fetal Bovine Serum (FBS)
- ✓ 1 ml Penisilin-Streptomisin kombinasyonu

Maddeleri 0,22 µm'lik enjektör ucu filtrelerden geçirilerek kullanıma hazır hücre kültür medyumuna elde edildi. Elde edilen besi yeri azami bir hafta içerisinde kullanılmak üzere +4 °C de saklandı.

3.1. Hücre İnkübasyon Koşulları

MDA-MB231 hücre kültürü Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde (Kayseri) temin edildi. Bu hücreler hücre kültür medyumuna içerisinde, %5 CO₂ ve 37°C sıcaklıktaki etüvde (N- Biotek), 25 cm²' lik flasklar içerisinde steril şartlarda inkübe edildi. Böylece hücrelerin çoğalmaları sağlanmış oldu (Şekil 7).



Şekil 7. MDA-MB-231 hücrelerinin inkübasyon süreci (X1000)

3.2. Hücrelerin Pasajlanması (Subculturing)

İnsan ya da hayvandan alınan dokulardan elde edilmiş kültür, primer kültür hücreleri genelde birden fazla hücre çeşidini içerebilmektedir (heterojen hücre tipi). Pasajlama sonrası alt kültür ile elde edilen hücreler ise alındıkları dokunun farklılaşma özelliğini ve yapısal özelliklerini zamanla kaybetmektedir. Hücreler çoğalarak kültür kabı yüzeyini tamamen kaplayacak yoğunluğa ulaştığında, hücrelerin birbirleriyle olan etkileşimi artar ve metabolik aktiviteleri nedeniyle ortamda atıklar birikir. Bu koşullarda hücrelerin büyümesi ve çoğalması büyük oranda azalır. Kültür hücrelerin yeni kültür kaplarına daha az yoğunlukta hücre içerecek şekilde aktarılması gerekmektedir. Kültür kabı içerisinde hücreler birbirlerine ve kap yüzeyine tutunmuş halde bulunmaktadır. Hücrelerin birbirleri ve kap yüzey ile olan bağlantılarının pasajlama esnasında yıkılması gerekmektedir (Yaylalı, 2007). Mikroskop yardımı ile bağlantıların yıkılan hücrelerin besi yeri içerisinde süspansiyon halinde yüzüyor haldeki görüntüsü incelenebilmektedir. Pasajlama esnasında kullanılan tripsin enzimi yardımıyla hücrelerin yüzeyden kaldırılması işlemi gerçekleştirilmektedir. Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) kullanımı ile de adezyonu sağlayan ve ortamda enzim aktivitesini düşmesine neden olan Mg^{++} ve Ca^{++} iyonlarının ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmaktadır.

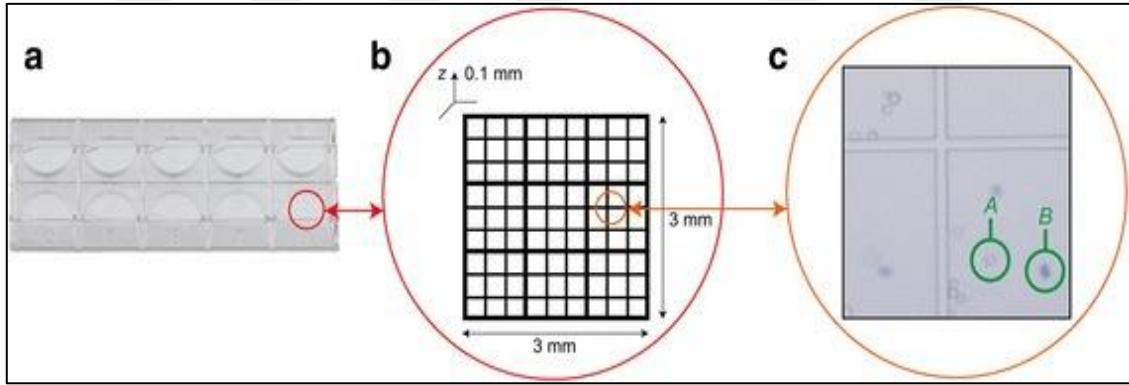
Hücre pasajları %80-90 doygunluğa (confluent) ulaştınca tekrar pasajlandı. Bu amaçla üremekte olan hücreler istenen yoğunluğa ulaştığında;

- ✓ Flaskların içerisindeki besi yeri, pipet yardımıyla uzaklaştırılarak flasklar medyum ile yıkandı.
- ✓ Ardından medyum pipetle çekilerek uzaklaştırıldı ve hücrelerin yapıştıkları alandan kaldırılması için 2 ml tripsin-EDTA solüsyonu ilave edilerek etüvde 4 dk bekletildi.
- ✓ Yüzeye yapışık halde olan hücrelerin yüzdüğü mikroskop yardımıyla görülmesinin ardından süspansiyon halindeki hücre+tripsin-EDTA solüsyonu 15 ml hacimli bir tüp içerisine alındı. Solüsyonun üzerine tripsinin inhibisyonu için tripsin hacminin 2 katı kadar (4ml) medyum eklendi.
- ✓ Tüpe alınan süspansiyon 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi, ardından tripsin-EDTA solüsyonu uzaklaştırıldı ve hücreler taze hücre medyumuna ile süspansiyon edilerek 3 adet 25 cm² 'lik flaska bölünerek yeniden pasajlandı.
- ✓ Yeniden pasajlanan hücreler 37°C'de %5 CO₂ ortamında inkübe edildi.

3.3. Hücre Sayılarının Hesaplanması

Biyoloji çalışmaları sırasında hücre popülasyon yoğunluğunun (kültürdeki toplam canlı hücre sayısı) ve hücre canlılığının (numunedeki canlı hücrelerin yüzdesinin) değerlendirilmesi esastır (Stoddart, 2011). Hücre canlılığını analiz etmek için birçok farklı yöntem (örn. AlamarBlue® ve MMT testi) ve sistemler (örn. Automated Cell Counter, ChemoMetec NucleoCounter®, Bio-Rad TC20™, Beckman Coulter, Vi-CELL™, XR Cell Viability Analyzer) kullanılabilir (Kristine S Louis, 2011). Bununla birlikte, hücre sayımı için literatürde önerilen ilk yöntem olan (M. P. A., 1917) Trypan Blue (TB) tahlili, standart hücre canlılığı ölçüm yöntemi olarak kabul edilir (Chan, 2015). Bu yöntem hala en yaygın olarak kullanılan yaklaşımdır (Pamphilon, 2013).

TB, hücre zarından geçemeyen bir moleküldür ve bu nedenle sadece membranı bozulmuş hücrelere girer. TB ile hücre canlılığı, hücre zarı bütünlüğünün saptanmasıyla dolaylı olarak belirlenir. TB hücreye girdikten sonra hücre içi proteinlere bağlanır ve parlak alanda ölü hücreler mavi görünürken canlı hücrelerin rengi değişmeden kalır. (Şekil 8).



Şekil 8. TB Kullanılarak canlı hücre sayımı

3.4. Trypan Blue (TB) Kullanarak Hücre Sayımı

1 ml kültür medyumunda sulandırılan hücre süspansiyonundan 10 µl alınarak ependorf tüpe konuldu ve üzerine 90 µl tripan blue boyası eklenerek karıştırıldı. Bu karışım Toma lamı üzerine konularak 2 bölmedeki hücreler sayıldı, daha sonra bulunan bu sayı -sulandırma miktarı x 10 000- sayısı ile çarpıldı. Sonuç olarak 1 ml medyumda

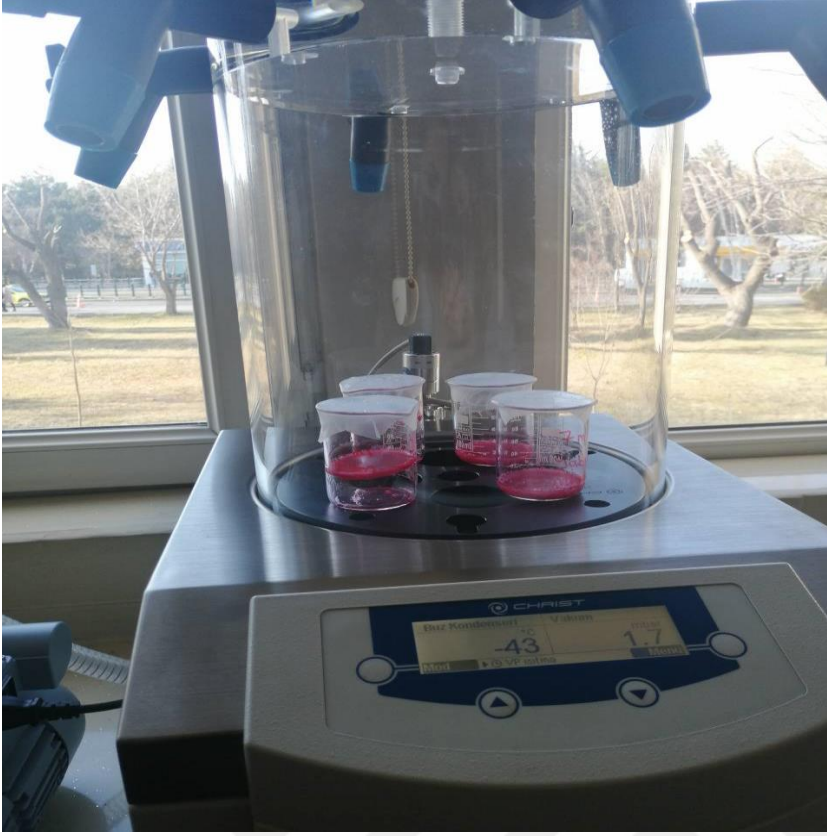
kaç milyon hücre olduğu bulundu. Böylece ekim yapılacak sayı belirlenip 24 kuyucuklu kültür plağının her kuyucuğuna 780 µl hücre transfer edildi.

3.5. Yaban Mersini Ekstrelerinin Elde Edilmesi

Bu çalışmada kullanılan yaban mersini, Artvin ilinden yaban mersini meyvesinin hasat zamanı olan Temmuz ayı içerisinde temin edildi. Meyvelerin katı meyve sıkacağı yardımıyla suyu sıkıldı. Meyve suyu 50 ml'lik santrifüj tüplerine aktarıldı. 5500/dk devirde 15°C'de 30 dakika santrifüj (Selecta, İspanya) edilen meyve suyu önce 0,45 µm sonra da 0,22 µm'lik enjektör ucu filtrelerden geçirildi (Şekil 9) ve 7 ml'lik birimler halinde dondurulduktan sonra liyofilizatör (Christ Freeze Dryer - Alpha 1-2 LD) ile kurutularak toz haline getirildi (Şekil 10). Yaban mersini ekstraktları uygulama gününe kadar -20°C'de muhafaza edildi.



Şekil 9. Yaban mersini ekstraktlarının hazırlanması



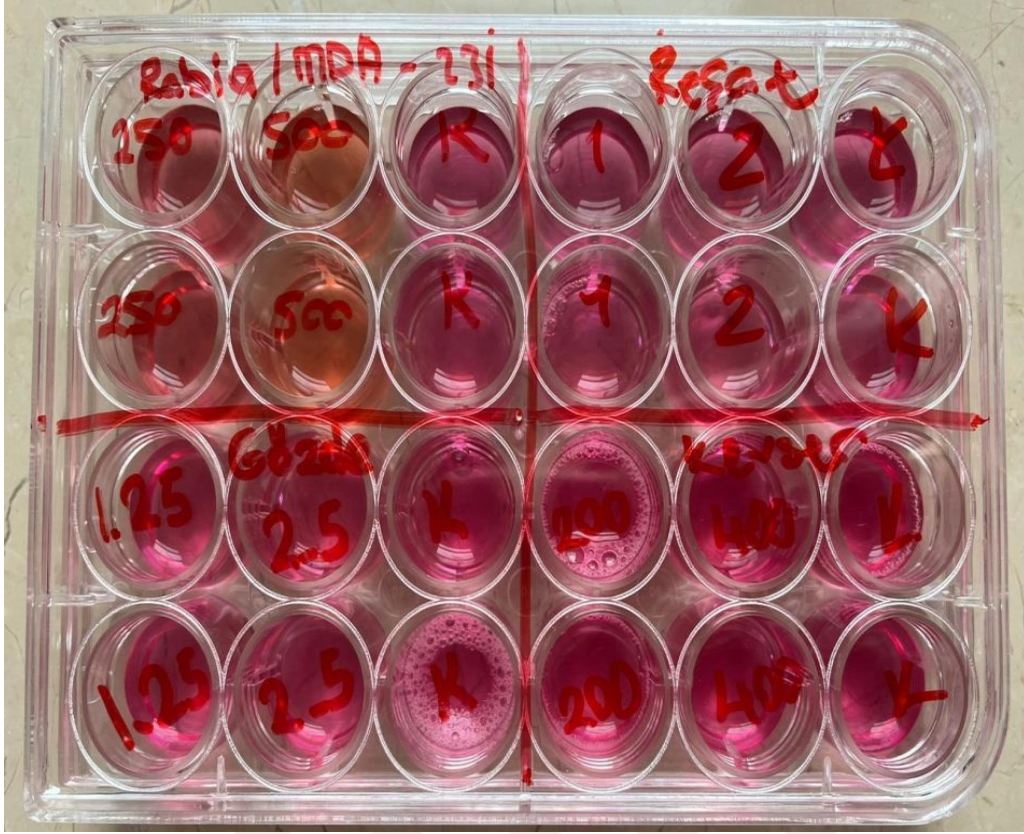
Şekil 10. Yaban mersini suyunun liyofilizatör ile kurutularak ekstre elde edilmesi

3.6. Yaban Mersini Toz Ekstrelerinin Çözünmesi ve Sterilizasyonu

Yaban Mersini toz ekstraktları uygulama gününde 0.01 gr olacak şekilde tartılarak 2ml besi yeri içerisinde çözdürüldü ve vorteksle orta devirde homojenize edildi. Çözdürme işleminden sonra elde edilen sıvılar ilk olarak 0,45 μm 'lık daha sonra 0,22 μm 'lik enjektör ucu filtrelerden geçirilerek steril hale getirildi.

3.7. Hücre Hatlarına Verilecek Yaban Mersini Dozunun Belirlenmesi

Yapılan pilot çalışmalarda kullanılacak yaban mersini dozu 40 μl μl ve 80 μl olarak belirlendi (Şekil 11). Yaban mersini ekstreleri 40, 80, 100, 200 μl dozları kullanılarak pilot çalışmalar yapıldı. Sonuç olarak 40 ve 80 μl dozları etkili doz olarak belirlendi.



Şekil 11. Belirlenen yaban mersini dozlarının uygulanması

24 saatlik süre için:

- 1-MDA-MB231 kontrol grubu: 220 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi
- 2- Düşük Doz grubu 40 µl: 180 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi + 40 µl yaban mersini
- 3- Yüksek Doz grubu 80 µl: 140 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi + 80 µl yaban mersini

48 saatlik süre için:

- 1-MDA-MB231 kontrol grubu: 220 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi
- 2- Düşük Doz grubu 40 µl: 180 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi + 40 µl yaban mersini
- 3- Yüksek Doz grubu 80 µl: 140 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi + 80 µl yaban mersini

3.8. In Vitro Çalışma

Gerekli standart besi yerleri, in vitro çalışmalarda kullanılmak üzere biyogüvenlik kabini içerisinde hazırlandı. Besi yeri, %85 oranında DMEM, %15

oranında FBS ve her 100 ml'lik besi yeri için 1 ml penisilin-streptomisin kombinasyonu kullanılarak hazırlandı. Kullanılan maddelerin tamamı önce ayrı ayrı, besi yeri hazırladıktan sonra karışım halinde 0,22 ve 0,45 µm'lik enjektör ucu steril filtreden geçirildi ve steril tüplere aktarıldı. Hazırlanan besi yeri azami bir haftalık süre içerisinde kullanmak üzere +4°C' de muhafaza edildi.

Daha önce yapılan pilot çalışmalar göz önünde bulundurularak 6 adet deney grubu belirlendi. Bu gruplar; 24 saat için kontrol grubu, 24 saat için 40 µl yaban mersini grubu, 24 saat için 80 µl yaban mersini grubu, 48 saat için kontrol grubu, 48 saat için 40 µl yaban mersini grubu ve 48 saat için 80 µl yaban mersini grubu olarak oluşturuldu.

Uygulama gününde gerekli ekstrakt hazırlanırken 0.01 gr yaban mersini toz ekstresi kapalı kabin hassas terazide tartılarak 2 ml besi yeri içerisinde çözündürüldü ve vorteks yardımıyla homojen hale getirildi.

Her bir ml FBS üzerine 99 ml steril DPBS eklenerek Annexin V analizinde kullanılacak olan %1'lik Fetal Bovine Serum elde edildi. Daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak, kullanılacak olan yaban mersini dozları tayini yapıldı. MDA-MB231 hücreleri üzerine 200, 400, 500, 1000 µg/ml dozlarında yaban mersini ekstreleri pilot çalışmalar yapılarak denendi. Uygulanan dozların etkileri 24 ve 48 saatlik sürelerin sonunda tripan mavisi ile boyanma esasına göre Thoma lamında kontrol edildi. Sonuç olarak 200 ve 80 µl dozlarının etkili olduğu görüldü ve bu dozlar tekrar uygulanmak üzere belirlendi.

Belirlenen 200 ve 80 µl yaban mersini dozlarının MDA-MB231 hücreleri üzerindeki in vitro etkisini incelemek için 24 ve 48 saatlik kültür periyodu sonrasında hücreler, Annexin V ve hücre döngüsü olmak üzere iki farklı analize tabi tutularak değerlendirildi.

3.9. Annexin V Testi ve Ölü Hücre Testi

Belirlenen deney gruplarında, toplam apoptotik, erken apoptotik ve geç apoptotik fazdaki hücrelerin sayısı ve hücrelerin yüzdeleri belirlendi. Bu deneylerin yapılabilmesi için Muse Cell Analyzer (Millipore, ABD) cihazı ve cihazla birlikte çalışabilen Muse Annexin V ve Ölü Hücre kiti kullanıldı.

Kontrol grupları (24 ve 48 saat) için kuyucuklara 220 µl standart besi ve 780 µl MDA-MB-231 hücresi eklenirken düşük doz grubuna 24 ve 48 saat için her bir kuyucuğa 180 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB-231 hücresi + 200 µg/ml yaban mersini

eklendi. Yüksek doz grubuna ise 24 ve 48 saat için 140 µl DMEM+ 780 µl MDA-MB231 hücresi + 400 µg/ml yaban mersini bulunacak şekilde ekim yapıldı. Hücre ve besi yerinin karışmasını sağlamak için pipet ve steril pipet ucu yardımıyla her bir kuyucuğa pipetaj yapıldı. Daha sonra kültür kapları belirlenen süreler doğrultusunda 37°C’ de %5 CO₂’li inkübatörde muhafaza edildi.

24 saat sonra her bir kuyucuk pipet ve steril pipet uçları ile çekilerek ayrı ayrı ependorf tüplerine aktarıldı. Tüpler 5 dk santrifüj edildikten sonra tüplerin üzerindeki supernatant uzaklaştırıldı. Her tüpe birer ml steril DPBS eklendi ve tüpler vortekslendi. Daha sonra tüpler tekrar 5 dk santrifüj edildi. Tüplerin üzerindeki supernatant uzaklaştırıldıktan sonra her birine 100 µl %1’lik Fetal Bovine Serum ve oda sıcaklığına gelmiş bulunan 100 µl Annexin V kit sıvısı eklendi. Tüpler vortekslendikten sonra 20 dk 24°C’de karanlık ortamda inkübe edildi.

Standart solüsyonlarla ön yıkaması yapılan Muse Cell Analyzer cihazı örnek okumaya hazır hale getirildi (Şekil 12). Yirmi dakika sonunda tüpler kontrol grubundan başlanarak tek tek cihazın örnek haznesine yerleştirilerek analiz yapıldı. Her bir deney grubu analiz edildikten sonra cihaza hızlı yıkama yaptırıldı. Cihazın hafızasına kaydedilen sonuçlar tüm grupların analizi tamamlandıktan sonra taşınabilir disk yardımıyla alındı. Aynı işlemler 48 saatlik gruplar için de tekrarlandı ve sonuçlar kaydedildi.



Şekil 12. Muse Cell Analyzer cihazı ön yıkama yapılma aşaması

3.10. Hücre Döngüsü Testi

Muse hücre döngüsü kiti, G0 / G1, S ve G2 / M hücre döngüsü fazlarındaki hücre yüzdesini ayırt etmek ve ölçmek için kullanıldı. Kit kullanılırken DNA içeriğinin propidyum iyodür bazlı boyaması esası uygulandı. Deney öncesinde, kullanılacak olan besi yerleri ve gerekli solüsyonlar hazırlandı. Deneyde kullanılacak olan %70'lik etil alkol, %100'lük absolüt alkol ve distile su ile; 70 ml alkol, 30 ml distile su oranına göre hazırlandıktan sonra ağzı kapatılarak -20°C' lik ortamda muhafaza edildi.

Deney grupları 24 ve 48 saatlik olmak üzere iki farklı periyodu ve 200 ve 80 µl yaban mersini ekstre dozlarını kapsayacak şekilde planlandı. Hücrelerin kültüre edilmesi için 24 kuyucuklu steril tek kullanımlık kültür kapları, grupların isimleri asetatlı kalemle kapak üzerine yazılarak kullanıldı. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra kültür kapları 37°C' de %5 CO₂'li inkübatörde bekletildi. Bu sırada 1,5 ml' lik standart endorf tüpleri ekimi yapılmış her bir kuyucuk için gruplara göre etiketlendi. 24 saat sonunda kültür kapları inkübatörden çıkarılarak kuyucuklar pipet ve steril pipet uçları ile çekilerek kendilerine ait olan endorf tüplerine aktarıldı. Tüplerin kapakları kapatılarak ve 5dk santrifüj edildikten sonra üzerindeki supernatant uzaklaştırıldı. Her tüpe birer ml steril DPBS ilave edildi ve vortekslendi. Daha sonra tüpler yeniden santrifüj edildi. Mikropipet yardımıyla tüplerin üzerindeki supernatant uzaklaştırıldı ve tüplerin her birine 50 µl DPBS eklendi. Tüpler daha sonra vortekse alındı ve karışmaya devam ederken içine -20°C' den çıkarılan 1 ml %70'lik etanol yavaşça ilave edildikten sonra tüplerin kapakları kapatıldı ve vortekslenmeye devam edildi. Tüpler -20°C' de bir gece muhafaza edildi.

Bir gece sonra tüpler alınıp vortekslendi. Daha sonra içlerindeki sıvıdan 200'er µl olacak şekilde alınarak yeni endorf tüplerine aktarıldı. Tüpler 5 dk santrifüj edildi. Üzerindeki supernatant uzaklaştırıldıktan sonra tüplerin her birine 250 µl DPBS eklendi ve 5 saniye vortekslendi. Yeniden 5 dk santrifüj edilen tüplerin üzerindeki supernatant uzaklaştırıldı. Muse hücre döngüsü kiti her bir tüpe 40 µl olacak şekilde ilave edildikten sonra tüpler 5 saniye vortekslendi. Tüpler bir spora alınarak karanlık ortamda ve oda sıcaklığında 20 dk bekletildi. Muse Cell Analyzer cihazının ön yıkaması standart solüsyonlarla yapılarak cihaz örnek okumaya hazır hale getirildi. Tüpler 20 dk sonra kontrol grubundan başlanarak tek tek cihazın örnek okuma haznesine yerleştirilerek sonuçlar kaydedildi. Her tüp okuması sonunda cihaza hızlı yıkama yaptırıldı. Tüm

sonuçlar analiz edildikten sonra taşınabilir bellek yardımıyla alındı. 48 saatlik süre sonunda da aynı işlemler tekrarlandı ve sonuçlar kaydedildi.

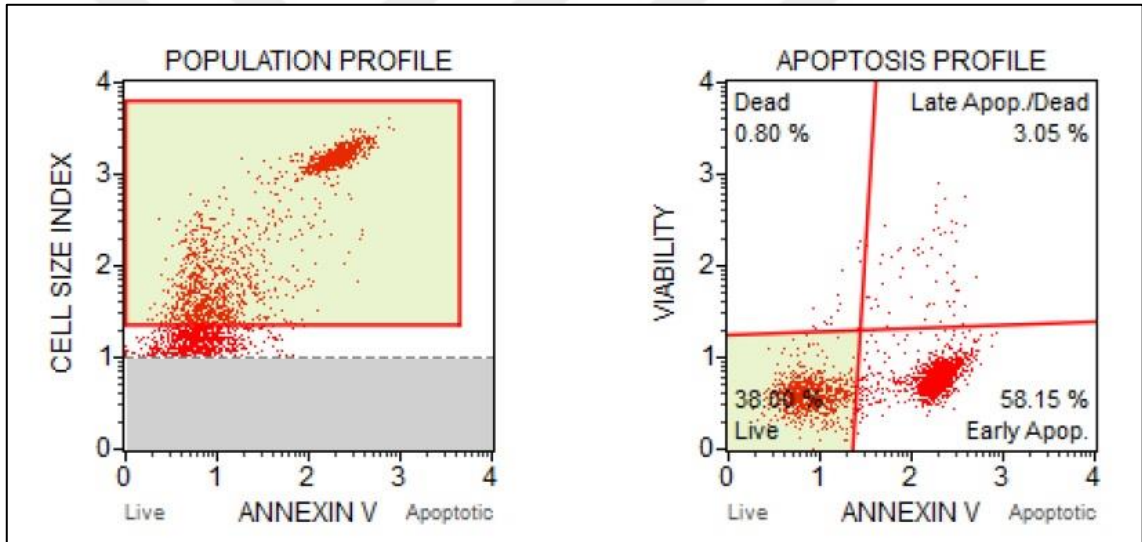
3.11. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmadaki normal dağılımı ShapiroWilk's test istatistiği, histogram, q-q grafiği ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (Anova) kullanılmıştır. Varyans homojenliği Levene testi ile değerlendirilmiştir. Her bir gruba, 24 saat ve 48 saat lmler arasındaki farklılıklar için paired t testi uygulandı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey) alfabetik st simgelerin aynı harfi içermesi gruplar arasında farkın anlamlı olmadığını ifade eder iken farklı olan istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir. Veriler ortalama ile standart sapma olarak ifade edildi. Verilerin analizi TURCOSA (Turcosa Analytics Ltd Co, Turkey, www.turcosa.com.tr) istatistik yazılımında analiz edilmiştir. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Annexin V Testi

Bu test içinde canlı hücre, erken apopitoz, geç apopitoz ve total apopitozdaki hücrelerin yüzdesel oranları kontrol grubu, 40 µl ve 80 µl yaban mersini dozları 24 ve 48 saat için istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve elde edilen sonuçlar kaydedildi. Sonuçlar Muse Cell Analyzer cihazından alınan ham veri grafikleri doğrultusunda değerlendirildi. Muse Cell Analyzer cihazında izlenen grafiklerde yatay ve dikey eksenlerin kesişimiyle oluşan dört bölmede hücre popülasyonları; sağ üstte geç apopitoz, sol üstte ölü hücreler, sağ altta erken apopitoz, sol altta canlı hücreler olarak değerlendirildi (Şekil 13).



Şekil 13. Muse Cell Analyzer cihazında izlenen grafikler

4.1.1. Erken Apopitoz

Kontrol grubu, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarında erken apopitotik hücrelerde, 24 ve 48 saatlik ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.050$) (Tablo 3).

Erken apopitoz değerlendirildiğinde; 24 ve 48 saatlik ölçümlerin her ikisinde de 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi grupları, kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.050$) (Tablo 3).

Hem 24 saat hem de 48 saatlik sonuçlara göre; yüksek (80 µl yaban mersini) ve düşük (40 µl yaban mersini) dozlar arasında anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 3).

Tablo 3. Annexin V& Dead Cell testinde 24 ve 48 saat sonunda erken apoptoz

Gruplar	Erken Apoptoz 24 saat (ort±sd)	Erken Apoptoz 48 saat (ort±sd)	<i>p</i> *
Kontrol	1.15±0.25 ^a	13.92±2.52 ^a	0.015
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	12.0±3.4 ^b	57.15±16.45 ^b	0.027
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	11.6±20 ^b	58.15±15.25 ^b	0.026
<i>p</i> [#]	0.002	0.009	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, *p**; Paired t testi

4.1.2. Geç Apoptoz

24 saatlik sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre, yüksek (80 µl yaban mersini) ve düşük (40 µl yaban mersini) dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.050$) (Tablo 4).

48 saatlik sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre, yüksek (80 µl yaban mersini) ve düşük (40 µl yaban mersini) dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.050$) (Tablo 4).

Tablo 4. Annexin V& Dead Cell testinde 24 ve 48 saat sonunda geç apoptoz

Gruplar	Geç Apoptoz 24 saat (ort±sd)	Geç Apoptoz 48 saat (ort±sd)	<i>p</i> *
Kontrol	0.0±0.0 ^a	1.27±0.08 ^a	0.001
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	2.60±0.3 ^b	3.15±0.55 ^b	0.379
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	2.9±0.10 ^b	3.05±0.15 ^b	0.408
<i>p</i> [#]	<0.001	0.001	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, *p**; Paired t testi

4.1.3. Toplam Apoptoz

Kontrol grubu, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarında toplam apoptotik hücre 24 saat ile 48 saat ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.050$) (Tablo 5).

24 saatlik kültür sonucunda; kontrol grubundaki toplam apoptotik hücre, her iki doz grubundan da 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi) anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.050$) (Tablo 5).

48 saatlik kültür sonucunda; kontrol grubundaki toplam apoptotik hücre, her iki doz grubundan da (40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi) anlamlı olarak düşük bulundu (Tablo 5) ($p<0.050$).

Tablo 5. Annexin V& Dead Cell testinde 24 ve 48 saat sonunda toplam apoptoz

Gruplar	Toplam Apoptoz 24 saat (ort±sd)	Toplam Apoptoz 48 saat (ort±sd)	p*
Kontrol	1.15±0.05 ^a	15.66±1.27 ^a	0.002
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	14.6±1.3 ^b	60.30±2.20 ^b	0.002
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	14.5±0.3 ^b	61.2±0.60 ^b	<0.001
p[#]	<0.001	<0.001	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, p*; Paired t testi

4.1.4. Canlı Hücre

Canlı hücre değerlendirildiğinde, kontrol grubu, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarında, 24 saat ile 48 saat ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p<0.050) (Tablo 6).

24 saatlik kültür sonucunda kontrol grubunda bulunan canlı hücre, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu (p<0.050) (Tablo 6).

48 saatlik kültür sonucunda kontrol grubunda bulunan canlı hücre, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu (p<0.050) (Tablo 6).

Tablo 6. Annexin V& Dead Cell testinde 24 ve 48 saat sonunda canlı hücre

Gruplar	Canlı Hücre 24 saat (ort±sd)	Canlı Hücre 48 saat (ort±sd)	<i>p</i> *
Kontrol	98.62±0.63 ^a	84.81±0.39 ^a	<0.001
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	85.3±2.30 ^b	39.4±1.3 ^b	0.002
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	85.20±2.1 ^b	38.0±1.7 ^b	<0.001
<i>p</i> [#]	<0.001	<0.001	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, *p**; Paired t testi

4.2. Hücre Döngüsü

4.2.1. G0/G1 Ölçümü

G0/G1 ölçümü değerlendirildiğinde, 24 saat ile 48 saatlik ölçüm sonuçlara göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$) (Tablo 7).

24 ve 48 saatlik sonuçlar değerlendirildiğinde, G0/G1 evresindeki hücrelerin oranlarının kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda (40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini) daha yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$) (Tablo 7).

24 ve 48 saatlik sonuçlar değerlendirildiğinde yüksek (80 µl yaban mersini) ve düşük (40 µl yaban mersini) dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. Yüksek doz grubunun (80 µl yaban mersini), düşük doz grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$) (Tablo 7).

Tablo 7. Hücre döngüsü testinde 24 ve 48 saat sonunda G0/G1 ölçümü

Gruplar	G0/G1 24 Saat (ort±sd)	G0/G1 48 Saat (ort±sd)	<i>p</i> *
Kontrol	18.2±0.30 ^a	76.00±1.10 ^a	<0.001
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	21.6±0.4 ^b	91.2±0.3 ^b	<0.001
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	25.9±1.2 ^c	94.1±0.8 ^c	<0.001
<i>p</i> [#]	<0.001	<0.001	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, *p**; Paired t testi

4.2.2. S ölçümü

Kontrol grubu, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarında S ölçümü 24 saat ile 48 saat ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$) (Tablo 8).

S ölçümü 24 ve 48 saat ölçümünde kontrol grubu, 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.001$) (Tablo 8).

Yüksek doz grubu (80 µl yaban mersini) ile düşük doz grubu (40 µl yaban mersini) grupları karşılaştırıldığında ise yüksek doz grubunun düşük doz grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$) (Tablo 8).

48 saat sonunda kontrol grubuna göre 40 µl ve 80 µl yaban mersini gruplarında yine anlamlı bir azalma bulurken 80 µl yaban mersini grubunda bu azalma daha belirgindir ($p<0.001$) (Tablo 8).

Tablo 8. Hücre döngüsü testinde 24 ve 48 saat sonunda S ölçümü

Gruplar	S 24 Saat (ort±sd)	S 48 Saat (ort±sd)	<i>p</i> *
Kontrol	44.90±0.2 ^a	12.3±0.1 ^a	<0.001
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	41.3±0.4 ^b	3.3±0.7 ^b	<0.001
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	39.4±0.30 ^c	1.8±0.20 ^c	<0.001
<i>p</i> [#]	<0.001	<0.001	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, *p**; Paired t testi

4.2.3. G2/M ölçümü

G2/M ölçümü değerlendirildiğinde 24 saatlik kültür sonucunda hem kontrol hem de düşük doz (40 µl yaban mersini) grubuna göre yüksek doz yaban mersini grubunda (80 µl yaban mersini) anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p<0.001$) (Tablo 9).

48 saatlik kültür sonucunda kontrol grubuna göre her iki grupta da (40 µl yaban mersini ekstresi grubu ve 80 µl yaban mersini ekstresi grubu) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulundu ($p<0.001$) (Tablo 9).

48 saatlik sonuçlarda ise 40 ve 80 µl yaban mersini gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülmüş ($p<0.001$) (Tablo 9).

Tablo 9. Hücre döngüsü testinde 24 ve 48 saat sonunda G2/M ölçümü

Gruplar	G2/M 24 Saat (ort±sd)	G2/M 48 Saat (ort±sd)	<i>p</i>[*]
Kontrol	22.2±0.40 ^a	6.0±0.3 ^a	<0.001
40 µl Yaban Mersini Ekstresi	22.5±0.90 ^a	2.4±0.2 ^b	<0.001
80 µl Yaban Mersini Ekstresi	19.2±0.4 ^b	2.8±0.50 ^b	<0.001
<i>p</i>[#]	<0.001	<0.001	

p[#]; Tek yönlü varyans analizi, *p*^{*}; Paired t testi

5. TARTIŞMA

Kanser, insanlarda ikinci önde gelen ölüm nedenidir. Tanı yöntemleri ve tedavilerdeki hızlı gelişmelere rağmen uygulanan ilaçlara direnç ve metastaz başarılı tedavinin önündeki başlıca engellerdir (Kubczak, 2021). Günümüzde kansere karşı mevcut tedavilerde; kemoterapi, radyoterapi ve kimyasal olarak üretilmiş ilaçları içerir (Cancer Research UK, 2022). Kullanımları geleneksel tedavi rejimlerine ait olsa da, bitki kaynaklı bileşikler halen günümüz farmasötik maddelerinin büyük bir bölümünü kapsamaktadır. Tıbbi önemi onkoloji alanında, özellikle geleneksel kemoterapinin sınırlamalarına (çoklu ilaç direncinin ortaya çıkması nedeniyle şiddetli yan etkiler) bir alternatif olarak iyi bilinmektedir (Dehelean, 2021). Bu nedenle, kansere karşı alternatif tedaviler ve terapilerin kullanılmasına odaklanılmaktadır.

Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek oranda bitkisel kaynaklı gıda tüketen popülasyonlarda kanserin düşük insidans oranına sahip olduğunu göstermektedir (WahleKW, 2010). Bitkisel ilaçlar uzun yıllardır tıbbi tedavinin birincil kaynağı olarak kullanılmıştır ve kullanılmaya devam edilmektedir (Greenwell, 2015). Bitki tabanlı anti-kanser ajanlarının geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar 1950'lerden itibaren artmıştır (Cragg GM, 2005). Günümüzde kullanılan antikanser ajanların ise yaklaşık %75'inin bitki kökenli olduğu tahmin edilmektedir (Iwamoto LH, 2015). Biyoaktif fitokimyasallar açısından zengin meyve ve sebzelerin tüketimi, kanser ve diğer bazı kronik hastalıkların görülme sıklığının azalmasıyla ilişkilidir (Liu, 2003). Yapılan çalışmalar bitkilerin, içeriğinde bulunan fenolik bileşikler vasıtasıyla antikanser özellik gösterdiğini belirtmektedir. Bitki temelli besinlerden alınan monofenolik ve polifenolik bileşiklerin, in vivo ve in vitro olarak kanserin oluşmasını, ilerlemesini ve yayılmasını baskıladığı ya da azalttığı gösterilmiştir (WahleKW, 2010).

V. myrtillus'un meyve ve yaprakları fenolik bileşiklerce, özellikle flavanoidlerce oldukça zengindir (Åkerström, 2010). Babova (2016) tarafından yapılan çalışmaya göre yaban mersini meyvesi diğer meyvelerde de doğal olarak bulunan altı antosiyaninden (siyanidin, delphinidin, malvidin, peonidin ve petunidin) beş tanesini içermektedir (Babova, 2016). 2008 yılında Navindra Seeram tarafından yapılan araştırmada, kanserin

önlenmesinde büyük potansiyele sahip biyoaktif gıda bileşenleri belirlenmiş ayrıca üzüksü meyvelerin kanser önleyici yetenekleri çok sayıda klinik öncesi çalışmada gösterilmiştir (Seeram, 2008). Yaban mersini, çilek ve böğürtlen gibi meyveler ve bunların biyoaktif bileşenleri, kanser önleyici aktiviteleri için incelenmiştir (Stoner, et al., 2007) . Üzümsü meyvelerin kanser üzerine etkisi ile ilgili klinik öncesi çalışmaların çoğu, üzüksü meyvelerin ağız (Casto, Kresty, Kraly, Pearl, & Knobloch, 2002), yemek borusu (Wang, et al., 2009) (Stoner, et al., 2010), kolon (Harris, et al., 2001), akciğer (Balansky, et al., 2012) ve cilt kanseri (Duncan, et al., 2009) dahil olmak üzere çok çeşitli kanserlerde tümör oluşumunu inhibe etmedeki etkinliğini göstermektedir. Bununla birlikte, böyle bir etki göstermeyen çalışmalar vardır. Örneğin, Carlton ve ark. (Carlton, Kresty, & Stoner, 2000), farelerin diyetindeki %10 liyofilize çileklerin 4 (metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon- ve benzo[a]piren ile indüklenen akciğer tümör oluşumunu inhibe etmedeki etkisizliğine dikkat çekmiştir.

Yaban mersini, yüksek konsantrasyonda antioksidant, antosiyanin kapasitesi ve diğer fenolik bileşiklerden zengin olması sebebiyle taze meyve ve sebzeler arasında özel bir öneme sahiptir (Prior R. C., 1998). Ayrıca yaban mersini antioksidant aktiviteye katkı sağlayan klorogenik asit, kuersetin, kamferol, mirisetin, prosiyanidin, kateşin, epikateşin, resveratrol gibi fenolik bileşikler ile vitamin C açısından da iyi bir kaynaktır (Giovanelli, 2009).

Yaban mersininin etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olup, antikanser özelliğine, potansiyel antioksidan aktivitesine, antimikrobiyal ve antienflamatuvar aktivitelerine rastlanmış, klinik çalışmalarla hastalıkların tedavisinde kullanılması denenmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, yaban mersininin kanser türlerinde, göz hastalıklarında, nörolojik bozukluklarda ve diyabetteki rolünü destekler niteliktedir. Birçok çalışmada, doğrudan yaban mersini suyunu kullanmak yerine ekstrakte edilmiş antosiyaninleri kullanılmış ve yaban mersini bitkisinin etkinliğinde antosiyaninlerin önemli bir rolü olduğunu sonucuna ulaşılmıştır (Helmstädter, 2010) (Tracy, 2007) (Chu, 2011).

Yaban mersininin kanserin ilerleyişini ve yayılmasını önlediğine dair birçok kanıt vardır. Yapılan çalışmalara göre yaban mersinin kanser üzerindeki olası mekanizmalardan ilki kanser hücrelerinin apoptozisini indükleyip büyümelerini engelledikleri yönündedir. Zhao C. ve ark. (2004) antosiyanince zengin yaban mersini ekstraktlarının kolon kanserine karşı potansiyel antikanser etkilerini araştırmıştır. Ekstraktların HT-29 kanser hücrelerinin büyümesini engellediği ve antitümörojenik etki

gösterdiği sonucuna varılmıştır (Zhao C., 2004). 2008 yılında Aiyer ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada oral yoldan farelere uygulanan bütün haldeki yaban mersini tozunun, kontrol grubundaki hayvanlara kıyasla meme tümörü hacmini %40 oranında azalttığı gösterildi (Aiyer HS, 2008).

Önceki çalışmalar, meyve ve sebze ağırlıklı beslenmenin daha düşük kanser riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Zhao, 2007). Spesifik olarak, yaban mersini, ciddi kronik hastalık riskindeki azalmalarla bağlantılı fitokimyasallar içerir. Yaban mersininden izole edilen bir fitokimyasal olan pterostilben, kanser hücrelerinin büyümesini durdurur, üreme hızını azaltır ve kanserli hücre ölümüne neden olarak, zararlı hücre mutasyon sürecini tersine çevirir. Taipei Tıp Üniversitesi'nde yaban mersini tüketmenin meme kanseri riskini azaltmaya yardımcı olup olmadığını hakkında yapılan bir çalışmada; pterostilbenin kanser kök hücreleri üzerindeki etkileri incelendi. Çalışma sonuçları, pterostilben ile tedavi edilen kanserli hücrelerin 72 saat sonunda üreme aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını gösterdi (Mak KK, 2013).

Yaban mersini ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların antitümöral etkiyi kanıtlayıcı nitelikte olması, bu hipotezi doğrulayacak daha fazla araştırmanın yapılması için bir gerekçe oluşturmaktadır. Ana Faria ve ark. (2010) tarafından, yaban mersinden elde edilen bir antosiyanin ekstresi ve bir antosiyanin-piruvik asit eklentisi ekstresi iki meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231 ve MCF7) üzerinde test edildi. Her iki ekstrenin uygulanmasıyla kaspaz-3 aktivitesi belirlendi. MDA-MB-231 ve MCF7 hücre hatlarında, ekstreler, 24 saatlik hücre inkübasyonundan sonra 250 µg/mL'de hücre proliferasyonunu önemli ölçüde azalttı. Antosiyanin-piruvik asit eklenti özütü, MDA-MB-231'de daha belirgin bir etki göstererek östrojen reseptörlerinden bağımsız bir etki olduğunu düşündürdü. Sonuç olarak, yaban mersini antosiyaninleri ve ilgili antosiyanin-piruvik asit eklentileri, kanser hücresi proliferasyonunu inhibe ederek ve hücre antiinvaziv faktörleri ve kemoinhibitörleri olarak hareket ederek antikanser özellikleri gösterdi (Faria, 2010). Mevcut çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek doz (80 µl) yaban mersini ekstresi ile muamele edilen hücrelerde 48 saatlik süre sonunda DNA sentezinin (S fazı) anlamlı ölçüde azaldığı/durduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca 48 saatlik süre sonunda her iki yaban mersini ekstresi dozunun (80 µl ve 40 µl) da MBA-MB-231 hücrelerinde mitoz bölünmeyi yavaşlattığı/durduğu görülmüştür.

Adams ve ark. (2010) tarafından yaban mersini ekstresinin MDA-MB-231 insan meme kanseri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, 72 saat boyunca yaban mersini ekstresi (12.5 ve 25 µL/mL) ile muamele edilmiş hücrelerde, kontrol grubuna göre

apopitozun 1.5 kat arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan bu çalışmada 24 ve 48 saatlik sonuçlara göre 40 µl ve 80 µl yaban mersini ekstrelerinin apopitozu arttırıcı etkisi olduğu görülmüştür.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada MDA-MB-231 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri incelenecek olan yaban mersini ekstraktlarının dozları, yapılan pilot çalışmaya göre belirlendi. Çalışmada MDA-MB-231 hücrelerinin en üst seviyede invaziv etki göstermelerini sağlamak amacıyla pasaj hücreleri kullanıldı, 24 kuyucuklu kültür kabına ekilen MDA-MB-231 hücreleri 24 ve 48 saat 37 °C’de ve %5 CO₂’li ortamda kültüre edilerek her bir periyot sonunda hücrelerde canlılık oranı (sitotoksosite) yanı sıra hücrelerdeki apoptozu belirlemek için sıklıkla kullanılan Annexin V testi ve hücre döngüsü parametreleri değerlendirildi. Çeşitli bitkisel ekstraktların kanser hücre hatları üzerine etkisini araştıran çalışmalarda Annexin V analizi sonucunda tedavi gruplarının apoptotik hücrelerin miktarını artırdığı rapor edilmiştir (Kim HJ, 2018), (Bognar Z, 2018).

Bizim çalışmamızda yaban mersini ekstraktlarının MDA-MB-231 hücreleri üzerinde 24 ve 48 saatlik kültür sonunda 40 µl ve 80 µl yaban mersini ekstraktlarının apoptozu artırdığı, sitotoksik (hücreleri öldürücü) etkisinin olduğu ve hücre proliferasyonunu azalttığı sonucuna ulaşılmıştır.

Erken apoptoz değerlendirildiğinde; 24 ve 48 saatlik ölçümlerin her ikisinde de 40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi gruplarının erken apoptozu artırdığı görülmüştür.

Bulunan sonuçlar her iki dozda yaban mersinin (40 µl ve 80 µl) 24 ve 48 saat sonunda geç apoptozu artırıcı etkisinin olduğunu göstermektedir.

Ayrıca her iki doz yaban mersini grubunun (40 µl yaban mersini ekstresi ve 80 µl yaban mersini ekstresi) 24 ve 48 saatlik kültür sonucunda toplam apoptozu artırdığı sonucuna ulaşılmıştır.

48 saatlik kültür sonucunda kontrol grubuna göre her iki yaban mersini doz grubunda da canlı hücre miktarında anlamlı bir azalma olması, yaban mersinin MDA-MB-231 hücreleri üzerinde sitotoksik (hücreleri öldürücü) etkisinin olduğunu göstermektedir.

G0/G1 ölçüm sonuçlarına göre yaban mersini gruplarının 24 ve 48 saat sonunda G0/G1 evresinde fazla etkin olmadığını görülmüştür.

S fazı verilere göre 80 µl yaban mersini grubunun 48 saatlik süre sonunda DNA sentezini (S fazı) anlamlı ölçüde azalttığı/durduğu sonucuna ulaşılmıştır.

G2/M evresine ilişkin sonuçlar değerlendirildiğinde, 24 saatlik kültür sonucunda düşük doz grubunun etkili olmadığı, yüksek doz grubunun ise mitoz bölünmeyi yavaşlattığı sonucuna ulaşılmıştır. 48 saatlik sonuçlarda ise 40 ve 80 µl yaban mersini gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülmüş her iki grubun da etkili olarak mitoz bölünmeyi yavaşlattığı/durduğu sonucuna ulaşılmıştır

Bulunan bu sonuçların yaban mersini ile ilgili yapılan diğer çalışmaların sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Yapılan tez çalışması sonucunda yaban mersinin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücreleri üzerinde çeşitli mekanizmalarla apoptozu artırdığını görülmüştür. Yaban mersini meyvesinin kansere karşı uygun bir tedavi edici ajan adayı olabileceğini ve yapılan bu araştırmanın kanser araştırmalarına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.



7. KAYNAKLAR

- Cancer.Net Editorial Board. (2020, Temmuz). *Breast Cancer: Diagnosis*. Cancer.Net: <https://www.cancer.net/cancer-types/breast-cancer/diagnosis> adresinden alınmıştır
- Adams, L. S. (2010). Blueberry phytochemicals inhibit growth and metastatic potential of MDA-MB-231 breast cancer cells through modulation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Cancer research*, 70(9), 3594–3605.
- Aiyer HS, S. C. (2008). Dietary berries and ellagic acid diminish estrogen-mediated mammary tumorigenesis in ACI rats. *Nutrition and cancer*, s. 60:227–34.
- Åkerström, A. (2010). Factors Affecting the Anthocyanidin Concentration in Fruits of *Vaccinium myrtillus* L. (52). *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*.
- Ambriz-Pérez, D. L.-L.-G. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131412.
- American Cancer Society. (tarih yok). *What Is Breast Cancer?* Ocak 22, 2022 tarihinde <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/about/what-is-breast-cancer.html> adresinden alındı
- Anantharaju P.G., G. P. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. . *Nutr. J.*, 15:1–16.
- Aura A.M., H.-M. U. (2015). Bilberry and bilberry press cake as sources of dietary fibre. *Food Nutr. Res.* , s. 59.
- Babova, O. O. (2016). Extraction of Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) Antioxidants Using Supercritical/Subcritical CO₂ and Ethanol as Co-Solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 358-363.
- Balansky, R., Ganchev, G., Ilcheva, M., Kratchanova, M., Denev, P., Kratchanov, C., . . . De Flora, S. (2012). Inhibition of lung tumor development by berry extracts in mice exposed to cigarette smoke. *International Journal of Cancer*, s. 131(9),1991-7.

- Barizza E., G. F. (2013). Nutritional profile and productivity of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in different habitats of a protected area of the Eastern Italian Alps. . *J. Food Sci.*, s. 78(5):C673–C678.
- Block G, P. B. (1992). Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18:1–29.
- Bognar Z, F. K. (2018). Amiodarone's major metabolite, desethylamiodarone induces apoptosis in human cervical cancer cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 96(10): 1004-1011.
- Bouarab-Chibane L., F. V. (2019). Antibacterial properties of polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative structure-activity relationship) models. *Front. Microbiol.*, 10:1–23.
- Bray, F. L. (2021). The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*, 127(16), 3029-3030.
- Brennan SF, C. M. (2010). Dietary patterns and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5):1294-1302.
- Bruce C, B. E. (2011). Breast Cancer - Carcinogenesis, Cell Growth and Signalling Pathways. G. E. Gunduz M içinde, *Breast Cancer - Carcinogenesis, Cell Growth and Signalling Pathways* (s. 245-256). Rijeka: InTech.
- C, M. (1990). Development of new cell lines for animal cell biotechnology. *Crit Rev Biotechnol*, 10:155–78.
- Cailleau, R. O. (1978). Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In vitro*, 14(11), 911–915.
- Calle EE, R. C.-T. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *The New England Journal of Medicine*, 348:1625–1638.
- Cancer Research UK. (2022, Şubat 17). *What is cancer?* 01 13, 2022 tarihinde <https://www.cancerresearchuk.org/>: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer> adresinden alındı
- Carlton, P., Kresty, L., & Stoner, G. (2000). Failure of dietary lyophilized strawberries to inhibit 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-and benzo[a]pyrene-induced lung tumorigenesis in strain A/J mice. *Cancer Letters*, s. 159(2), 113-7.
- Casto, B., Kresty, L., Kraly, C., Pearl, D., & Knobloch, T. (2002). Chemoprevention of oral cancer by black raspberries. *Anticancer Research*, s. 22(6C), 4005-15.

- Chan, L. L. (2015). Morphological observation and analysis using automated image cytometry for the comparison of trypan blue and fluorescence-based viability detection method. *Cytotechnology*, s. 67(3), 461–473.
- Chavez KJ, G. S. (2010). Triple Negative Breast Cancer Cell Lines: One Tool in. *Breast Disease*, 32(1-2):35-48.
- Chu, W. C. (2011). Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. *Bilberry (Vaccinium myrtillus. içinde*
- Cocetta G., K. K. (2012). Ascorbic acid metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit development. *J. Plant Physiol*, s. 169:1059–1065.
- Cooper, G. M. (2000). *The Cell: A Molecular Approach*. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Cragg GM, N. D. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of ethnopharmacology*, 100 (1-2): 72-79.
- Cushnie, T. L. (2005). Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- Czajka ML, P. C. (2021, Eylül 14). Breast Cancer Surgery. Treasure Island (FL): StatPearls [Internet].
- Çağlar, M. Y. (2018). Üzümsü Meyvelerde Bulunan Fenolik Bileşikler ve Beslenmedeki Önemi. *European Journal of Science and Technology*, 7(11), 18-26.
- Çelik, H. (2006). Karadeniz Bölgesindeki asitli topraklar için mükemmel. *Çiftçi Dünyası Of Ziraat Odası*, 2(2): 2-5.
- Damascos M.A., A. M. (2008). Fruit mineral contents of six wild species of the north andean patagonia, Argentina. *Biol. Trace Elem. Res.* , s. 125(1):72–80.
- Davis AS, V. A. (2014). Leukemia: An overview for primary care. *American Family Physician*, s. 89:731–738.
- Dehelean, C. A. (2021). Plant-Derived Anticancer Compounds as New Perspectives in Drug Discovery and Alternative Therapy. *Molecules*, s. 26(4).
- Dohr O, V. C. (1995). Different response of 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin [TCDD]-sensitive genes in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB 231 cells. *Archives of biochemistry and biophysics*, 321: 405–412.
- Duncan, F., Martin, J., Wulff, B., Stoner, G., Tober, K., Oberyszyn, T., . . . Van Buskirk, A. (2009). Topical treatment with black raspberry extract reduces

- cutaneous UVB-induced carcinogenesis and inflammation. *Cancer Prevention Research*, s. 2(7), 665-72.
- Earle WR, S. E. (1943). The mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *Journal of the National Cancer*(4(2)), 165-212.
- Emily A. Rue, M. D. (2018). Procyanidins: a comprehensive review encompassing structure elucidation via mass spectrometry. *Phytochem. Rev.*, 17(1):1–16.
- Evolution of a Cancer.* (2011, Aralık 11). [https://www.ndhealthfacts.org/wiki/Oncology_\(Cancer\)](https://www.ndhealthfacts.org/wiki/Oncology_(Cancer)) adresinden alınmıştır
- Faria, A. P. (2010). Blueberry anthocyanins and pyruvic acid adducts: anticancer properties in breast cancer cell lines. *Phytotherapy research : PTR*, s. 1862–1869.
- Farshad H. Shirazi, A. Z. (2011). Remarks in Successful Cellular Investigations for Fighting Breast Cancer Using Novel Synthetic Compounds. G. E. Gunduz M içinde, *Breast Cancer – Focusing Tumor Microenvironment, Stem Cells and Metastasis* (s. 85-102). Rijeka: InTech.
- Ferlay J, E. M. (2020). *Global Cancer Observatory*. (Lyon: International Agency for Research on Cancer) 11 06, 2021 tarihinde Cancer Today: <https://gco.iarc.fr/today> adresinden alındı
- Ferlemi A.V., L. F. (2016). Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value. *Antioxidants* , s. 5(2), 17.
- Fidaleo M., L. R. (2015). Phenolic extracts from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues as new functional food ingredients. . *Int J App Eng Research.* , 10(16):37125–37128.
- GardenTags. (tarih yok). *VACCINIUM MYRTILLUS*. Şubat 8, 2022 tarihinde Gardentags: <https://www.gardentags.com/plant-encyclopedia/vaccinium-myrtillus/1060> adresinden alındı
- Gey, G. O. (1952). Tissue Culture Studies of the Proliferative Capacity of Cervical Carcinoma and Normal Epithelium. *Cancer Research*, 264–5.
- Giovanelli, G. B. (2009). Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild. *Food Chemistry*, 112, 903–908.
- Global Cancer Observatory. (2020). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. <https://gco.iarc.fr/> adresinden alınmıştır
- Go´mez-Lecho´n MJ, D. M. (2003). Human hepatocytes as a tool for studying toxicity and drug metabolism. *Curr Drug Metab.*, 4:292–312.

- Gölbaşı Z, Ç. R. (2010). Üniversite öğrencisi kızların meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi ile ilgili bilgi ve davranışları. *Eur J Breast Health*(6), 69-73.
- Greenwell, M. &. (2015). Medicinal Plants: Their Use in Anticancer Treatment. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 6(10).
- Gürel, D. K. (2007). *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Erişkin Onkoloji, Hematoloji Kliniklerinde Kemoterapi Uygulanan Hastaların Yaşam Kalitesi Ve Bunu Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi*. Adana: Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hemşirelik Anabilim Dalı.
- Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2017). *Kanserin Nedenleri ve Sık Görülen Kanserler*. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-nedir-belirtileri/kanser-nedir-belirtileri1/kanserin-nedenleri-ve-s%C4%B1k-g%C3%B6r%C3%BClen-kanserler.html> adresinden alınmıştır
- Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2017). *Türkiye kanser istatistikleri*. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2017.pdf adresinden alınmıştır
- Harika Duruel, N. S. (2020). Hücre Kültürlerine Genel Bakış. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 139-139.
- Harris, G., Gupta, A., Nines, R., Kresty, L., Habib, S., Frankel, W., . . . Stoner, G. (2001). Effects of lyophilized black raspberries on azoxymethaneinduced colon cancer and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels inthe Fischer 344 rat. *Nutrition and Cancer*, s. 40(2), 125-33.
- Harrison, R. G. (1907). Observations on the living developing nevre fibers. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 4:140-3.
- Helmstädter, A. a. (2010, Mayıs). Vaccinium myrtillus as an antidiabetic medicinal plant–research through the ages. *Die Pharmazie*, 65(5), 315-321.
- Hoang NT, A. L. (2018). A review of soft-tissue sarcomas: Translation of biological advances into treatment measures. *Cancer Manag Res*, s. 10:1089–1114.
- Idikio, H. A. (2011). Human cancer classification: A systems biology-based model integrating morphology, cancer stem cells, proteomics, and genomics. *J Cancer*, s. 2:107–115.
- Iwamoto LH, V.-C. D. (2015). Anticancer and antiinflammatory activities of a standardized dichloromethane extract from Piperumbellatum L. leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative*, 8.

- Johnson, S. A. (2013). Evidence for anti-cancer properties of blueberries: a mini-review. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 13(8), 1142–1148.
- Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace elements in soils and plants*. CRC Press.
- Kapałczyńska M, K. T. (2018). 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures. *Archives of Medical Science*, 14(4): 910–919.
- Karakuş, E. (2016, 05 19). *Hücre Kültürü Teknikleri*. https://www.researchgate.net/publication/303939393_Hucre_Kulturu_Teknikleri adresinden alınmıştır
- Khuwaja, G. A.-R. (2004). Bimodal breast cancer classification system. *Pattern analysis and applications*, 235–242.
- Kim HJ, Y. M. (2018). Red pepper seed water extract inhibits preadipocyte differentiation and induces mature adipocyte apoptosis in 3T3-L1 cells. *Nutrition Research and Practice*, 12(6): 494-502.
- Koç, İ. E. (2010). *Türkiye'nin Demografik Dönüşümü Raporu*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü Yayını.
- Kristine S Louis, A. C. (2011). Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods. *Methods in molecular biology* (s. 740, 7–12). içinde Clifton, N.J.: Humana Press.
- Kubczak, M. S. (2021). Molecular Targets of Natural Compounds with Anti-Cancer Properties. *International journal of molecular sciences*, 22(24).
- Lacroix, M. (2008). Persistent use of “false” cell lines. *International Journal of Cancer*, 122(1):1-4.
- Li, Z. (2011). 5.43 - In Vitro Micro-Tissue and -Organ Models for Toxicity Testing. *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)* (s. 551-563). içinde Academic Press.
- Liu H, Z. C. (2003). PPARgamma ligands and ATRA inhibit the. *Breast Cancer Research and Treatment*, 79(1):63-74.
- Liu Y, W. R. (2017). The lipid metabolism gene FTO influences breast cancer cell energy metabolism via the PI3K/AKT signaling pathway. *Oncology letters*, 13(6), 4685–4690.
- Liu, R. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive. *The Am. J. Clin.*, 78(Suppl), 517S-20S.
- Lokerse, W. B. (2017). Comparing the therapeutic potential of thermosensitive liposomes and hyperthermia in two distinct subtypes of breast cancer. *Journal of*

- controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 258, 34–42.
- M., P. A. (1917, Mayıs 1). EXPERIMENTAL STUDIES UPON LYMPHOCYTES : I. THE REACTIONS OF LYMPHOCYTES UNDER VARIOUS EXPERIMENTAL CONDITIONS. *The Journal of experimental medicine*, s. 25(5), 633–650.
- Mak KK, W. A. (2013). Pterostilbene, a bioactive component of blueberries, suppresses the generation of breast cancer stem cells within tumor microenvironment and metastasis via modulating NF- κ B/microRNA 448 circuit. *Molecular Nutrition and Food Research*, s. 57(7):1123-1134.
- Marek Roland-Mieszkowski, M. P. (2006). *Cancer - A Biophysicist's Point of View*. <http://www.digital-recordings.com/publ/cancer.html#how> adresinden alınmıştır
- Michalska A., Ł. G. (2015). Bioactive compounds of blueberries: Post-harvest factors influencing the nutritional value of products. *Int. J. Mol. Sci.*, s. 16:18642–18663.
- Mikulic-Petkovsek M., S. V. (2012). Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *J. Food Sci.*, s. 77:1064–1071.
- MJ, G. (1997). Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. *American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research*, 15(6), 523–526.
- Mourouti N, P. C. (2013). Aims, design and methods of a casecontrol study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas*, 74(1):31-6.
- National Institutes of Health (US). (2007). Biological Sciences Curriculum Study. NIH Curriculum Supplement Series [Internet]. *Understanding Cancer*. Bethesda, Maryland, Amerika Birleşik Devletleri.
- Nemours Kidshealth. (2019). *Immune System*. Kids Health: <https://www.kidshealth.org/en/parents/immune.html> adresinden alınmıştır
- Pal, D. B. (2012). Dietary-induced cancer prevention: An expanding research arena of emerging diet related to healthcare system. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 3(1), 16–24.
- Pamphilon, D. S.-P. (2013). Current practices and prospects for standardization of the hematopoietic colony-forming unit assay: a report by the cellular therapy team

- of the Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. *Cytotherapy*, s. 15(3), 255–262.
- Pavlopoulou, A. S. (2015). Human cancer databases (review). *Oncology reports*, 33(1), 3–18.
- PDQ Adult Treatment Editorial Board. (2002). Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®): Health Professional Version. *PDQ Cancer Information Summaries [Internet]*. içinde Bethesda (MD): National Cancer Institute (US). PDQ Cancer Information Summaries. adresinden alınmıştır
- Prior, R. C. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, s. 46: 2686-2693.
- Prior, R. C. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2686-2693.
- Rodrigo R., G. D.-M. (2012). Antihypertensive role of polyphenols. *Adv. Clin. Chem.*, 58:225–254.
- Ronco AL, D. S. (2010). Hormonal and metabolic modulation through nutrition: towards a primary prevention of breast cancer. *The Breast*, 19(5):322-332.
- S, P. (1985). Diet, nutrition, and cancer. *Progress in food & nutrition science*., 9(3-4), 283–341.
- Sarkar, S. H. (2013). Cancer development, progression, and therapy: an epigenetic overview. *International journal of molecular sciences*, s. 14(10), 21087–21113.
- Schurr MJ, F. K. (2009). Phase I/II clinical evaluation of StrataGraft: a consistent, pathogen-free human skin substitute. *J Trauma*., 66:866–73.
- Seeram, N. (2008). Berry fruits for cancer prevention: current status and. *J. Agric. Food Chem.*, 56(3), 630-5.
- Segeritz, C. P. (2017). Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro. *Basic Science Methods for Clinical Researchers* (s. 152-171). içinde
- Segeritz, C. P. (2017). Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*, 151–172.
- Segeritz, C. P. (2017). Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*, 151–172.
- Sharma, G. N. (2010). Various types and management of breast cancer: an overview. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 1(2), 109–126.

- Siegel RL, M. K. (2015). Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.*, 5-29.
- Siegel RL, M. K. (2018). Cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, s. 68(1):7-30.
- Siegel RL, M. K. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, s. 69(1), 7-34.
- Sinha, N. K. (2012). *Handbook of fruits and fruit processing*. John Wiley & Sons.
- Somunoğlu, S. (2007). Meme Kanserinde Risk Faktörleri. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2(5)5: 2-12.
- Soule HD, V. J. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 51: 1409-1416.
- States, B. O. (2019). *The Rhetoric of Dreams*. Ithaca: NY: Cornell University Press.
- Steinmetz KA, P. J. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96:1027–1039.
- Stoddart, M. J. (2011). *Mammalian cell viability*. Clifton: Humana Press.
- Stoner, G., Wang, L., Seguin, C., Rocha, C., Stoner, K., Chiu, S., & Kinghorn, A. (2010). Multiple Berry Types Prevent Nnitrosomethylbenzylamine-Induced Esophageal Cancer in Rats. *Pharmaceutical Research*, s. 27(6), 1138-45.
- Stoner, G., Wang, L., Zikri, N., Chen, T., Hecht, S., & Huang, C. (2007). Cancer prevention with freeze-dried berries and berry components. *Seminars in Cancer Biology*, (s. 17(5), 403-10).
- Syed A. Hoda, P. P. (2020). *Rosen's Breast Pathology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. (2017). *T.C. Sağlık Bakanlığı*. 11 06, 2021 tarihinde Sağlık İstatistikleri Yıllığı: <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/13183,sy2016turkcepdf.pdf?0>. adresinden alındı
- The United States Department of Agriculture. (2018, Nisan). *Blueberries, raw*. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171711/nutrients> adresinden alınmıştır
- Tracy, T. S. (2007). Bilberry. *Herbal Products*, 259-268.
- Uleberg E., R. J. (2012). Effects of temperature and photoperiod on yield and chemical composition of northern and southern clones of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, s. 2012;60:10406–10414.
- Van Raamsdonkvan CD, B. V. (2009). Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature*, s. 457:599–602.

- Verma, A. V. (2020). Chapter 14 - Animal tissue culture principles and applications. *Animal Biotechnology (Second Edition)* (s. 269-293). içinde Academic Press.
- WahleKW, B. I. (2010). Plant phenolics in the prevention and treatment of cancer. *Bio-Farms for Nutraceuticals* (s. 36-51). içinde
- Wang, L., Hecht, S., Carmella, S., Yu, N., Larue, B., & Henry. (2009). Anthocyanins in black raspberries prevent esophageal tumors in rats. *Cancer Prevention Research*, s. 2(1), 84-93.
- World Health Organization. (2018, September). "International agency for Research on Cancer". 1-5. Geneva, Switzerland: WHO.
- World Health Organization. (2018). *Cancer: World Health Organization*. 11 06, 2021 tarihinde World Health Organization: <http://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/cancer> adresinden alındı
- World Health Organization. (2020). *Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019*. WHO: [who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death](http://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death) adresinden alınmıştır
- World Health Organization. (2021, Eylül 21). *Cancer: World Health Organization*. Kasım 2021 tarihinde <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> adresinden alındı
- Wu X, C. G. (2002). Absorption and Metabolism of Anthocyanins in Elderly Women after Consumption of Elderberry or Blueberry. *The Journal of Nutrition*, 132(7): 1865-1871.
- Y.-H. Lin, T.-M. P.-H. (2011). Microfluidic Technology and Its Biological Applications. M. Moo-Young (Dü.) içinde, *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)* (s. 141-157). Academic Press.
- Yaylalı, C. (2007). *Tendon kılıfı fibroblastlarının hücre kültüründe tenositlere farklılaşması ve tenositlerin sentezlediği kollajen tiplerinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi)*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı.
- Zhao C., G. M. (2004, Ekim 6). Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, s. 52(20), 6122-6128.
- Zhao, Y. (2007). *Berry Fruit Value-Added Products for Health Promotion*. Florida: CRC Press Taylor & Francus Group.

Zorenc Z., V. R.-P. (2016). White versus blue: Does the wild “albino” bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) differ in fruit quality compared to the blue one? *Food Chem.*, s. 211:876–882.



8. EKLER

8.1. Tez İntihal Raporu

YABAN MERSİNİ (VACCINIUM MYRTILLUS) EKSTRAKTLARININ MDA-MB-231 HÜCRE HATTINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% **28**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **28**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **2**
YAYINLAR

%
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 11
2	earsiv.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
4	9lib.net İnternet Kaynağı	% 2
5	openaccess.ogu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 2
6	Dergipark.Org.Tr İnternet Kaynağı	% 1
7	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	acikerisim.uludag.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
9	dusge.com İnternet Kaynağı	% 1

