



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**MANGOSTİN MEYVESİNİN YAPISINDA
BULUNAN FARKLI TİP KSANTONLARIN
MESANE KANSERİ HÜCRE HATLARINDA
HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI ÜZERİNDEKİ
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA DEMİR

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 1091



BALIKESİR

2025

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MANGOSTİN MEYVESİNİN YAPISINDA BULUNAN FARKLI
TİP KSANTONLARIN MESANE KANSERİ HÜCRE
HATLARINDA HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA DEMİR

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ AYŞEGÜL DALMIZRAK

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 1091

Proje No: 2023/100 - Balıkesir Üniversitesi BAP

BALIKESİR

2025



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Tıbbi Biyoloji Anabilim Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş
olan

**“MANGOSTİN MEYVESİNİN YAPISINDA BULUNAN FARKLI TİP
KSANTONLARIN MESANE KANSERİ HÜCRE HATLARINDA
HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ”**

başlıklı tez çalışması, Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve
Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/05/2025

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT
Balıkesir Üniversitesi
(Başkan)

Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül DALMIZRAK
Balıkesir Üniversitesi
Üye (Danışman)

Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Zeynep MUTLU
Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi, sınav jüri komisyonu tarafından imzalanarak
18/06/2025 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi **beyan ederim.**

20/05/2025

Esra DEMİR

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca akademik rehberliği, engin bilgisi ve her daim yapıcı yaklaşımıyla yolumu aydınlatan; özverili desteği, yönlendirmeleri ve bilimsel katkılarıyla çalışmama büyük değer katan kıymetli tez danışmanım **Sn. Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül DALMIZRAK'a** en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve tecrübeleriyle akademik gelişimime katkı sağlayan; anlayışlı, destekleyici ve vizyoner tutumlarıyla tez sürecime önemli ölçüde katkı sunan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı **Sn. Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT'a** şükranlarımı sunarım.

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan yüksek lisansımın son senesinde gelmesine rağmen desteklerini esirgemeyen **Sn. Dr. Öğr. Üyesi Çağla KAYABAŐI'na** teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2023/100 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Sunmuş oldukları mali desteklerinden dolayı **Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne** teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca destekleriyle yanımda olan kıymetli **Genetik Hocalarıma** ve kıymetli **Genetik Ekibine** teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini daima hissettiğim canım annem **Fehime DOĞRU'ya** ve canım babam **Ahmet DOĞRU'ya** sonsuz teşekkür ederim.

Zorlandığım anlarda beni cesaretlendiren, bana olan inancını hiçbir zaman kaybetmeyen ve beni her seferinde yüreklendiren, varlığını her zaman yanımda hissettiğim canım eşim **Fatih DEMİR'e** gönülden teşekkür ederim.

Esra DEMİR

BALIKESİR 2025

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mesane Kanseri	2
2.1.1. Mesane Kanserinin Sınıflandırması	5
2.1.2. Mesane Kanserinin Belirtileri ve Tanısı	6
2.1.3. Mesane Kanserinde Tedavi Yöntemleri.....	6
2.1.3.1. Mesane Kanseri Tedavisinde Doğal Bileşenlerin Rolü.....	8
2.2. Programlanmış Hücre Ölümü	10
2.2.1. Apoptozis	10
2.2.1.1. İntrinsik Apoptoz Yolağı	11
2.2.1.2. Ekstrinsik Apoptoz Yolağı.....	12
2.2.2. Otofaji	13
2.2.2.1. Otofajinin Moleküler Mekanizması	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Hücre Hatları	18
3.2. Etken Maddeler	18
3.3. Kimyasal Maddeler	19
3.4. Kitler.....	19
3.5. Sarf Malzemeler	20

3.6. Cihazlar	20
3.7. Hücre Kültürü.....	21
3.7.1. Hücrelerin Çözdürülmesi.....	21
3.7.2. Hücre Canlılığının Günlük Takibi	22
3.7.3. Hücrelerin Pasajlanması	22
3.7.4. Hücrelerin Dondurulması	22
3.8. α - ve γ -mangostininin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi	23
3.9. α - ve γ -mangostininin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatlarında Hücre Ölüm Mekanizmaları Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi.....	24
3.9.1. Apoptoz Üzerindeki Etkisi.....	24
3.9.1.1. JC-1 Mitokondriyal Membran Potansiyelinin Değerlendirilmesi.....	24
3.9.1.2. Kaspaz-3 ve -7 Aktivitelerinin Ölçümü Yoluyla Apoptoz Tayini	25
3.9.2. Otofaji Üzerindeki Etkisi	26
3.10. İstatistiksel Analizler	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. α - ve γ -mangostininin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisi.....	28
4.2. α - ve γ -mangostininin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatlarında Apoptoz Üzerindeki Etkisi.....	29
4.3. α - ve γ -mangostininin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatlarında Otofaji Üzerindeki Etkisi.....	31
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	42

ÖZET

MANGOSTİN MEYVESİNİN YAPISINDA BULUNAN FARKLI TİP KSANTONLARIN MESANE KANSERİ HÜCRE HATLARINDA HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Barındırdığı bileşenler sebebiyle besin değeri oldukça yüksek olan mangostin meyvesi özellikle içerdiği prenillenmiş ksantonlar sebebiyle birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Mangostinin anti-kanser etkisi günümüze kadar yapılmış birçok çalışmada gösterilmiştir. Ancak, mesane kanseri ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu sebeple çalışmamızda, iki farklı ksanton tipi olan α - ve γ -mangostinin mesane kanserine model oluşturan 5637 ve HT-1376 hücre hatlarındaki etkisini hücre ölümü üzerinden değerlendirmeyi amaçladık.

Etken maddelerin hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile belirlendi. Apoptoz hem mitokondriyal membran potansiyelindeki hem de kaspaz-3 ve-7 aktivitelerindeki değişimlere bakılarak değerlendirildi. Ayrıca, otofaji üzerindeki etki de incelendi.

Çalışma sonucunda, 5637 hücre hattında IC_{50} değerleri α - ve γ -mangostin için sırasıyla 9.7 μ M ve 7.5 μ M, HT-1376 hücre hattında ise sırasıyla 10 μ M ve 4 μ M olarak belirlendi. Mitokondriyal membran potansiyeli üzerinden apoptoz artışının her iki hücre hattında her iki etken madde için doza bağlı olduğu saptandı. Kaspaz-3 ve -7 aktivitelerindeki değişimin ise hücre hatları ve etken maddelere göre farklılık gösterdiği belirlendi. Bununla birlikte, 5637 hücre hattında otofajinin tetiklenmesinin etken maddelere göre değişkenlik gösterdiği HT-1376 hücre hattında ise otofajinin tetiklenmediği saptandı.

Sonuç olarak, α - ve γ - mangostinin mesane kanserinde hücre ölümü üzerinde etkili olduğu, verisel farklılıkların hem hücre hatları hem de etken maddelerin özelliklerindeki farklılardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: α -mangostin, γ -mangostin, mesane kanseri, apoptoz, otofaji

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT TYPES OF XANTHONES FOUND IN MANGOSTEEN FRUIT ON CELL DEATH MECHANISMS IN BLADDER CANCER CELL LINES

Due to its rich composition, the mangosteen fruit exhibits a high nutritional value and demonstrates a wide range of biological activities, primarily attributed to its content of prenylated xanthenes. Its anti-cancer effects have been demonstrated in numerous studies to date. However, there is insufficient information regarding its impact on bladder cancer. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of two different xanthone derivatives, α - and γ -mangostin, on cell death in bladder cancer cell lines 5637 and HT-1376.

The cytotoxic effects of these compounds on the cell lines were determined using the MTT assay. Apoptosis was assessed by evaluating changes in mitochondrial membrane potential and the activities of caspase-3 and -7. Additionally, the effects on autophagy were investigated.

The results showed that the IC_{50} values for α - and γ -mangostin were 9.7 μ M and 7.5 μ M, respectively, for the 5637 cell line, and 10 μ M and 4 μ M, respectively, for the HT-1376 cell line. Apoptosis induction via mitochondrial membrane potential disruption was dose-dependent for both compounds in both cell lines. Changes in caspase-3 and -7 activities varied depending on the cell lines and the compounds used. Moreover, autophagy was found to be induced in the 5637 cell line in a compound-specific manner, while no autophagy induction was observed in the HT-1376 cell line.

In conclusion, α - and γ -mangostin were shown to exert effects on cell death in bladder cancer, and the observed differences were thought to be attributable to variations in the characteristics of the cell lines and the specific properties of the compounds.

Keywords: *α - mangostin, γ -mangostin, bladder cancer, apoptosis, autophagy*

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Selsiyus derece
AKT	: Protein kinaz B (PKB)
AMPK	: AMP ile aktive edilen protein kinaz yolağı
ANOVA	: Varyans analizi
Apo1	: Apoptoz antijeni 1
Apo2L/TRAIL	: Tümör nekroz faktörü ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand
ARID1A	: AT zengin etkileşim alanı 1A
ARID2	: AT zengin etkileşim alanı 2
ASH1L	: Eksik, küçük veya homeotik benzeri 1
ATCC	: Amerikan tip kültür koleksiyon
Atg1	: Otofaji ile ilişkili gen 1
Atg101	: Otofaji ile ilişkili gen 101
Atg14L	: Otofaji ile ilişkili 14'e benzer gen
Atg3	: Otofaji ile ilişkili gen 3
ATM	: Ataksi-telenjiektazi mutasyonu
ATP	: Adenozin trifosfat
ATP/AMP	: Adenozin trifosfat / adenozin monofosfat
Bad	: Bcl-2 ile ilişkili ölüm promotörü
Bak	: Bcl-2 antagonisti/öldürücüsü
Bax	: Bcl-2 ile ilişkili X proteini

BCG	: Bacille Calmette-Guérin
Bcl-2	: B hücreli lenfoma 2
Bcl-XL	: B Hücreli lenfoma XL
Beclin1	: Bcl-2 ile etkileşime giren miyozin benzeri sarmal
BH	: Bcl-2 homoloji domaini
Bid	: BH3 etkileşim alanı ölüm agonisti
Bim	: Bcl-2 ile ilişkili hücre ölümü aracısı
Bmf	: Bcl-2 modifiye edici faktör
BRCA2	: Meme kanseri 2
CCND1	: Siklin D1
CCNE1	: Siklin E1
CD95	: Farklılaşma kümesi 95
CDKN1A	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1A
CDKN2A	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A
CREBBP	: CREB bağlanma proteini
DEVD	: Asp-Glu-Val-Asp peptid dizisi
DISC	: Ölüm indükleyici sinyal kompleksi
Dk	: Dakika
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DR4	: Ölüm reseptörü 4

DR5	: Ölüm reseptörü 5
E2F3	: E2F transkripsiyon faktörü 3
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
ELF3	: E74 benzeri ETS transkripsiyon faktörü 3
EMEM	: Eagle's Minimum Essential Medium
EP300	: E1A bağlanan protein p300
ER	: Endoplazmik retikulum
ERBB2	: Eritroblastik lösemi viral onkogen homolog 2
ERBB3	: Eritroblastik lösemi viral onkogen homolog 3
ERCC2	: Eksizyon onarımı kesişme gruplama 2
ERK1/2	: Ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz 1 ve 2
FAK	: Fokal adezyon kinazı
Fas	: Fas reseptörü
FasL	: Fas ligand
FBS	: Fetal bovin serum
FGFR3	: Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3
FIP200	: 200 kDa'lık FAK ailesiyle etkileşimli protein
GST	: Glutasyon S-transferaz enzimi
HDAC	: Histon deasetilaz inkübatörü
HRAS	: Harvey rat sarcoma

HSC70	: 70 kDa'lık şaperon ısı şoku kognat proteini
IAP	: Apoptozis proteinlerinin inhibitörü
IC ₅₀	: Yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu
KDM6A	: Lizin demetilaz 6A
KFERQ	: Lys-Phe-Glu-Arg-Gln amino asit dizisi
KML	: Kronik Mielojenöz Lösemi
KMT2A	: Lizin metiltransferaz 2A
KMT2C	: Lizin metiltransferaz 2C
KMT2D	: Lizin metiltransferaz 2D
KRAS	: Kirsten rat sarcoma
LAMP2A	: Lizozoma bağlı membran proteini 2A
Lc	: Hafif zincir
Lc3	: Hafif zincir 3
Mcl-1	: Miyeloid hücre lösemisi-1
MDM2	: Mouse double minute 2
mg/ml	: Miligram / mililitre
miR-7641	: Mikro RNA 7641
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mTOR	: Rapamisin'in mekanistik hedefi
mTORC1	: Rapamisin mekanistik hedefi kompleksi 1

MTT	: 2-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-3,5-diphenyl-2H-tetrazolium, monobromide
NAD(P)H	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NAMPT/NAD	: Nikotinamid fosforiboziltransferaz / Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-E2	: Nükleer faktör eritrosit 2
NF- κ B	: Aktive B hücrelerinin hafif zincirini artıran nükleer faktör kappa B
NK	: Doğal öldürücü hücre
nm	: Nanometre dalga boyu
Noxa	: Apoptozun negatif regülatörü
NQO1	: Kinon oksidoredüktaz 1 enzimi
Nrf2	: NF-E2 ile ilişkili faktör 2
ns	: İstatistiksel olarak anlamlı olmayan
P53	: Tümör proteini 53
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PE	: Fosfatidiletanolamin
PI3K	: Fosfoinositide 3-kinaz
PI3KC1	: Fosfatidilinositol 3-kinaz kompleksi 1
PI3KC3	: Fosfatidilinositol 3-kinaz kompleksi 3
PI3P	: Fosfatidilinositol 3-fosfat
PIK3CA	: Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz katalitik alt birimi alfa

PPARG	: Peroksizom proliferatörü-activated reseptör gamma
PTEN	: Fosfataz ve tensin homologu
Puma	: p53 Tarafından Yükseltlen Apoptoz Modülatörü
Rab	: Ras ilişkili bağlayıcı protein
RAS-MAPK	: Rat sarcoma – mitogen aktive edilmiş protein kinaz
RB1	: Retinoblastoma 1
RBM10	: RNA bağlanma motifi proteini 10
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute
RXRA	: Retinoid X reseptörü alfa
Smac/DIABLO	: Kaspazların mitokondri kaynaklı ikinci aktivasyonu / düşük izolektrik noktalı direkt IAP bağlayıcı protein
SNARE	: N-etilmaleimid-duyarlı faktör bağlanma proteinleri
STAG2	: Kromozomların yapısal bakım proteini 2
STAT3	: Sinyal iletici ve transkripsiyon aktivasyonu 3
TERT	: Telomeraz ters transkriptaz
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TNFR1	: Tümör nekroz faktörü reseptörü 1

TP53	: Tumor proteini 53
TRAIL	: TNF ile ilgili apoptoz indükleyen ligand
TSC1	: Tüberöz skleroz 1
TURBT	: Mesane tumorünün transüretal rezeksiyonu
ULK	: Unc-51-like kinase
ULK1/ULK2	: Unc-51 benzeri kinaz 1 ve 2
Unc-51	: Uncoordinated-51
Vps15	: Vakuoler protein sıralama 15
Vps34	: Vakuoler protein sıralama 34
WIPI2	: WD tekrarlı bölgesi fosfoinositid etkileşimli protein 2
ZFP36L1	: Çinko parmak proteini 36 benzeri 1
μM	: Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tümörün Mesane Duvarına İnvazyonunun Derinliğine Göre Mesane Kanserinin Sınıflandırılması	5
Şekil 2.2. Mangostin Ağacı Ve Meyvesi	9
Şekil 2.3. Apoptozun Ekstrinsik Ve İntrensik Yolakları Ve Bunların Karşılıklı Düzenlenmesi	13
Şekil 2.4. Otofajinin Morfolojik Ve Mekaniksel Olarak Farklı Tipleri	14
Şekil 2.5. Otofaji Mekanizması	17
Şekil 3.1. α - ve γ -Mangostinin Kimyasal Yapıları	18
Şekil 4.1. 5637 Hücre Hattında α - ve γ -Mangostinin Sitotoksik Etkisi	28
Şekil 4.2. HT-1356 Hücre Hattında α - ve γ -Mangostinin Sitotoksik Etkisi	28
Şekil 4.3. 5637 Hücre Hattında α - ve γ -Mangostinin Apoptoz Üzerine Etkisi	29
Şekil 4.4. HT-1376 Hücre Hattında α - ve γ -Mangostinin Apoptoz Üzerine Etkisi ...	30
Şekil 4.5. 5637 Hücre Hattında α - ve γ -Mangostinin Otofaji Üzerine Etkisi	31
Şekil 4.6. HT-1376 Hücre Hattında α - ve γ -Mangostinin Otofaji Üzerine Etkisi	31

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Mesane kanseri gelişiminde rol oynayan çevresel risk faktörleri	3
Tablo 2.2. Mesane kanseri gelişiminde rol oynayan genetik faktörler	4
Tablo 2.3. Mesane kanserinin sınıflandırılması.....	5
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan hücre hatları	18
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan etken maddeler.....	18
Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.....	19
Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan ticari kitler.....	19
Tablo 3.5. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler.....	20
Tablo 3.6. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	20

1. GİRİŞ

Tropikal bir ağaç olan mangostin (Clusiaceae bitki ailesi, *Garcinia mangostana* L.) Güneydoğu Asya ülkelerine özgüdür (Pedraza-Chaverri vd., 2008). Ağacın meyvesinin besin değeri barındırdığı bileşenler (lif, vitamin, mineral, flavanoid vb.) sebebiyle yüksektir (Jindarat, 2014; Aljunaid vd., 2020). Ayrıca, türde bulunan ana fitokimyasallar birçok biyolojik etkiye sahip oldukları yapılan çalışmalar ile gösterilmiş olan prenilenmiş ksantonlardır (Ovalle-Magallanes vd., 2017; Aljunaid vd., 2020). Biyolojik etkinlikleri sebebiyle, mangostin ve bileşenlerinin birçok hastalık için umut verici bir terapötik ajan olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple son yıllarda, mangostinin fitokimyası ve biyolojik aktivitesinin gösterilmesinin hedeflendiği araştırmalar artış göstermektedir. Mangostinin anti-kanser etkisi ilk olarak lösemi hücre hatlarında belirlenmiştir. Akabinde, birçok farklı kanser tipinde (meme, akciğer, prostat, mide, kolorektal vb.) yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile tümör büyümesini inhibe ettiği veya geciktirdiği saptanmıştır (M.-H. Wang vd., 2017; Aizat vd., 2019). Ksantonların mesane kanserine etkisini gösteren çalışmaların yetersizliği sebebiyle çalışmamızda, farklı tip ksantonların hücre ölümüne etkisinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane Kanseri

İdrar yollarında görülen en yaygın malignitelerden ve dünya genelinde kanser kaynaklı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olan mesane kanseri, hastanın yaşam kalitesi, morbidite, mortalite ve sağlık sistemine olan maliyet üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahip olan bir kanser türüdür (Dobruch & Oszczudłowski, 2021; Lopez-Beltran vd., 2024). GLOBOCAN 2022 verilerine göre, dünya genelinde mesane kanseri, yeni tanı alan vakalar bakımından dokuzuncu, kanser kaynaklı gerçekleşen ölümler bakımından ise on üçüncü sırada yer almaktadır. Yine aynı verilere göre erkeklerdeki görülme sıklığı kadınlara oranla yaklaşık dört kat daha fazladır (Ferlay J vd., 2024).

Dünya Sağlık Örgütü raporlarına göre, mesane kanserinin görülme sıklığı coğrafi bölgelere göre önemli ölçüde değişmektedir (Dobruch & Oszczudłowski, 2021). Mesane kanseri insidansı, Avrupa, Kuzey Amerika ve Batı Asya gibi dünyanın yüksek gelirli bölgelerinde en yüksektir. Ayrıca, Kuzey Afrika gibi *Schistosoma* parazitlerinden etkilenen bölgelerde de artmaktadır. Buna karşılık, Güney Amerika, Doğu Asya, Karayipler ile Orta ve Güney Afrika'da mesane kanseri oranları çok daha düşüktür. Bu bölgeler arasındaki mesane kanseri insidansındaki farklılıklar bireylerin maruz kaldığı risk faktörleri ile ilişkilendirilmiştir (Dyrskjøt vd., 2023).

Mesane kanserinin gelişiminde hem çevresel faktörler hem de genetik faktörler rol oynamaktadır. Risk faktörleri Tablo 2.1 ve Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Mesane kanseri gelişiminde rol oynayan çevresel risk faktörleri.

(Lobo vd., 2022; Dyrskjöt vd., 2023; Jubber vd., 2023)

Risk Faktörleri	
Cinsiyet	Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülür.
Yaş	İleri yaş. Ortalama tanı yaşı 70 ile 84 arasındadır.
Tütün tüketimi	Sigara ve elektronik sigara tüketimi
Çevresel faktörler	Arsenik ve inorganik arsenik bileşikleri X ve gama radyasyonu Açık hava kirliliği Dizel egzozu
Meslekler	Alüminyum üretimi Kauçuk üretim endüstrisi Boya endüstrisi Boyacı İtfaiyeci Kuru temizleme Kuaförler veya berberler Baskı süreçleri Tekstil üretimi
Mesleki kimyasal maruziyetler	Benzidin (boya imalatı) 4-Aminobifenil (boya ve kauçuk imalatı) Orto-toluidin (boya ve kauçuk imalatı) 2-Naftilamin (boya ve kauçuk imalatı) 4-Kloro-orto-toluidin (boya imalatı) 2-Merkaptobenzotiazoleb (kauçuk imalatı) Tetrakloroetilenb (kuru temizleme, otomotiv ve metal işleme endüstrileri) İs Kömür katranı zifti
Hastalıklar ve ilaçlar / uyuşturucu maddeler	Klornafazin Şistosomiyazis Siklofosfamid Afyon tüketimi Pioglitazon

Tablo 2.2. Mesane kanseri gelişiminde rol oynayan genetik faktörler. (Dyrskjöt vd., 2023)

Genler	Değişim	Etkilenen fonksiyon
<i>TERT</i>	Nokta mutasyonu	Senesens
<i>FGFR3</i>	Nokta mutasyonu Yukarı düzenlenmiş ekspresyon	RAS–MAPK sinyal yolağı
<i>PIK3CA</i>	Nokta mutasyonu	PI3K sinyal yolağı
<i>HRAS ve KRAS</i>	Nokta mutasyonu	RAS–MAPK ve PI3K sinyal yolakları
<i>ERBB2</i>	Mutasyon Amplifikasyon	RAS–MAPK ve PI3K sinyal yolakları
<i>ERBB3</i>	Mutasyon	RAS–MAPK ve PI3K sinyal yolakları
<i>EGFR</i>	Amplifikasyon	RAS–MAPK ve PI3K sinyal yolakları
<i>PPARG</i>	Mutasyon Amplifikasyon	PPARG sinyal yolağı
<i>RXRA</i>	Mutasyon	PPARG sinyal yolağı
<i>E2F3</i> <i>MDM2</i> <i>CCND1</i> <i>CCNE1</i>	Amplifikasyon	Hücre döngüsünün düzenlenmesi
<i>CDKN2A</i>	Heterozigotluğun kaybı, delesyon Homozigot delesyon Mutasyon	Hücre döngüsü
<i>RB1</i> <i>ATM</i> <i>CDKN1A</i>	İnaktive edici mutasyon	Hücre döngüsü
<i>TP53</i> <i>ELF3</i> <i>ZFP36L1</i>	İnaktive edici mutasyon	Transkripsiyon
<i>KDM6A</i> <i>KMT2D</i> <i>CREBBP</i> <i>KMT2C</i> <i>STAG2</i> <i>ARID1A</i> <i>KMT2A</i> <i>EP300</i> <i>ASH1L</i> <i>ARID2</i>	İnaktive edici mutasyon	Kromatin düzenlenmesi
<i>ERCC2</i> <i>BRCA2</i>	İnaktive edici mutasyon	DNA tamiri

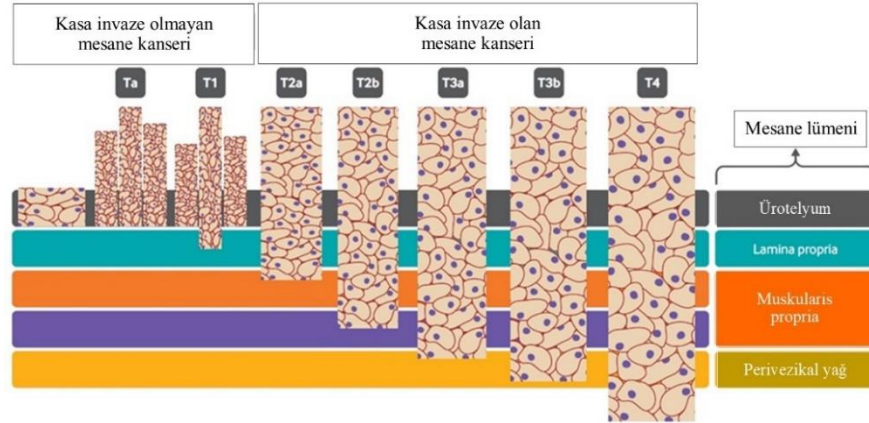
<i>PTEN</i>	Heterozigotluğun kaybı, delesyon	AKT sinyal yolağı
<i>TSC1</i>	İnaktive edici mutasyon	mTOR sinyal yolağı
<i>RBM10</i>	İnaktive edici mutasyon	RNA splicing

2.1.1. Mesane Kanserinin Sınıflandırması

Mesane duvarı, yüzeyde şemsiye (umbrella) hücreleri (ürotelyum), altta fibrokonnektif doku ve damar katmanları (lamina propria), kalın kas demetleri (muskularis propria veya detrusor kası) ve perivezikal yağ bulunan 5-7 epitel hücre katmanından oluşmaktadır (Dyrskjöt vd., 2023). Mesane kanserinin sınıflandırılması hem tümör derecesine hem de kasa invaze olma durumuna göre yapılmaktadır (Tablo 2.3 ve Şekil 2.1). Bu sınıflandırmanın dışında karsinoma *in situ* olarak adlandırılan ve özellikle yüksek tekrarlama ve ilerleme oranlarına sahip, yüksek dereceli, düz, invaziv olmayan bir lezyon olarak tanımlanan belirgin bir fenotip daha bulunmaktadır (Lenis vd., 2020).

Tablo 2.3. Mesane kanserinin sınıflandırılması. (Lenis vd., 2020)

Tümör Evresi	İnvazyon Derinliği	
Ta	Non-invaziv papiller karsinoma	Kasa invaze olmayan mesane kanseri
T1	Lamina propria'ya invazyon	
T2	Muskularis propria'ya invazyon	Kasa invaze olan mesane kanseri
T3	Perivezikal dokuya invazyon	
T4	Komşu organlara ekstrevezikal yayılım	



Şekil 2.1. Tümörün mesane duvarına invazyonunun derinliğine göre mesane kanserinin sınıflandırılması. (Lopez-Beltran vd., 2024)

Tüm mesane kanseri olguları arasındaki dağılıma bakıldığında kasa invaziv olmayan mesane kanseri %70-75'lik bir orana sahipken, kasa invaziv mesane kanseri ve metastatik hastalıklar sırasıyla %20-25 ve %5'lik orana sahiptir. Mesane kanseri vakalarının yaklaşık %90'ı ürotelyal hücreli karsinomdur; geri kalanlar çoğunlukla skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom veya nöroendokrin karsinomdur. Karsinoma *in situ*, kasa invaze olmayan mesane kanserinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Lopez-Beltran vd., 2024).

2.1.2. Mesane Kanserinin Belirtileri ve Tanısı

Mesane kanserinin en yaygın belirtisi ağrısız yoğun hematüridir. Bununla birlikte, mikroskobik hematüri ve tahriş edici boşaltım semptomları (spesifik olmayan alt üriner sistem semptomları, yani artan idrar sıkışması, sıklığı ve disüri) da mesane kanserinden şüphelenilmesine sebep olmaktadır (Dyrskjöt vd., 2023; Lopez-Beltran vd., 2024).

Mesane kanserinin tanısında öncelikle başvuru yöntem tanıda altın standart olarak değerlendirilen sistoskopidir (Lopez-Beltran vd., 2024). Bunun dışında idrar testi ve biyobelirteç taramaları, endoskopik rezeksiyon (mesane tümörünün transüretal rezeksiyonu (TURBT)) ve görüntüleme gibi yöntemler de tanı için kullanılmaktadır (Lenis vd., 2020).

2.1.3. Mesane Kanserinde Tedavi Yöntemleri

Mesane kanserinin tedavisi kasa invaze olma durumuna göre değişkenlik göstermektedir. Genel olarak, kasa invaze olmayan mesane kanseri sıklıkla endoskopik rezeksiyon ve risk bazlı intravezikal adjuvan tedavi ile yönetilir. Bunun aksine, kasa invaze olan mesane kanseri, radikal sistektomi veya trimodal tedavi (TURBT, radyasyon tedavisi ve kemoterapi) ile birlikte neoadjuvan veya adjuvan sistemik kemoterapi dahil olmak üzere daha agresif tedavilerle yönetilir (Lopez-Beltran vd., 2024).

Kasa invaze olmayan mesane kanserinin tedavisinde hastalar düşük, orta ve yüksek risk kategorilerinde değerlendirilmektedir. Düşük riskli hastalığı olan ve tam bir ilk rezeksiyon geçiren hastalar sistoskopik gözetim ile takip edilir. Yüksek dereceli

evre Ta veya T1 hastalığı olan hastalar evrelemenin yetersiz olması veya kalıcı hastalık riski göz önüne alındığında, tekrar rezeksiyona tabi tutulmaktadır. Bununla birlikte, tekrarlanan rezeksiyonlarda kasa invaziv hastalığa dönüşme durumu yaşanmadığı sürece, orta ve yüksek riskli hastalara intravezikal tedavi rejimi uygulanmaktadır (Lenis vd., 2020). İntravezikal tedavi perioperatif kemoterapi ve Bacille Calmette-Guérin (BCG) olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmaktadır. Perioperatif kemoterapide, düşük veya orta riskli hastalıktan şüphelenildiğinde, serbest dolaşan tümör hücrelerini öldürmek ve böylece ürotelyuma yayılımı azaltmak amacıyla TURBT'den sonraki 24 saat içinde tek doz intravezikal kemoterapi (Amerika'da gemsitabin, mitomisin veya doksorubisin, Avrupa'da epirubisin veya pirarubisin) uygulanır. *Mycobacterium bovis*'in canlı zayıflatılmış bir formu olan Bacille Calmette-Guérin (BCG) ise yüksek riskli hastalar için tercih edilen tedavi iken orta riskli hastalar için bir seçenektir. Bu immünoterapi formu ürotelyuma yapışmakta ve daha sonra antijen sunan, hücre aracılı doğuştan ve adaptif bağışıklık tepkilerinin indüksiyonunu başlatmaktadır (Lenis vd., 2020; Lopez-Beltran vd., 2024).

Kasa invaziv mesane kanseri hastalarında tedavi, neoadjuvan tedaviyi takiben radikal sistektomi, pelvik lenf nodu diseksiyonu ve idrar yönlendirmesi veya seçilmiş hastalarda kemoradyasyon veya kısmi sistektomi gibi mesane koruyucu bir protokolden oluşur (Lenis vd., 2020). Radikal sistektomi, kasa invaze mesane kanseri hastaları için altın standarttır. Erkeklerde radikal prostatektomi ve kadınlarda histerektomi, bilateral salpingo-ooferektomi ile vajina ve üretranın kısmi rezeksiyonunu içerir. Pelvik lenfadenektomi ise evreleme bilgilerini içermesinden dolayı radikal sistektominin önemli bir bileşenidir. Radikal sistektomi ve lenf nodu diseksiyonunun ardından, üriner diversiyon gerekir. Üriner diversiyonda kontinan veya inkontinent abdominal diversiyon, üretral diversiyon ve rektosigmoid diversiyon olmak üzere intestinal sistemin farklı segmentlerinin kullanıldığı üç alternatif vardır. Radikal sistektomi öncesi neoadjuvan tedavi sağkalımı iyileştirmek amacıyla uygulanır. Kasa invaze mesane kanserinde metotreksat, vinblastin, adriamisin, sisplatin ve gemsitabin+sisplatin onay almış neoadjuvan tedavilerdir (Witjes vd., 2021; Lopez-Beltran vd., 2024).

2.1.3.1. Mesane Kanseri Tedavisinde Doğal Bileşenlerin Rolü

Son yıllarda mesane kanseri tedavisinde yeni teknikler ve yaklaşımlar geliştirilmesine rağmen, yüksek dereceli malignitesi olan bir hastanın hastalık nüksettikten sonra ortalama sağ kalım süresinin yalnızca 5-6 ay olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, mesane kanseri tedavisi ciddi yan etkiler ve tedavinin başarısını engelleyen ilaç direncinin gelişmesiyle de ilişkilidir. Bu nedenle, yüksek riskli hastalara hastalığın nüksetmesini ve ilerlemesini engellemek için intravenöz terapötik ajan verilmektedir. Ne yazık ki, farklı terapötik ajanların kombinasyonu da çok yüksek maliyetlerle ilişkilidir. Bu sebeple hastalar, alternatif veya tamamlayıcı terapötik seçenekler olarak doğal kökenli ürünlerin arayışına girmekte, bu durum da doğal bileşenlerin kanser üzerindeki koruyucu ya da tedavi edici rollerine yönelik araştırmaların hız kazanmasına sebep olmaktadır (Wigner vd., 2021).

Diğer taraftan, meyve ve sebze tüketimi sağlıklı bir diyetin önemli bir parçası olup kanser riskinin azalmasıyla ilişkilidir. Mesane kanseri ile ilgili hazırlanan raporlarda yüksek meyve ve sebze tüketiminin kanser riskini azaltabileceği, özellikle turunçgiller (*Rutaceae* fam.) ve turpgillerin (*Brassicaceae* fam.) bu bağlamda etkin olarak öne çıktığı ve aynı zamanda sebze ve meyve bakımından zengin bir diyetin kansere karşı koruyucu etkisinin olabileceğini öne sürülmüştür. Son zamanlarda öne çıkan ve dikkat çeken tropikal meyvelerin (muz, ananas, kivi, (karpuz) kavun, incir, mango, nar, çarkıfelek meyvesi, kaju meyvesi, guava, papaya, kuşburnu, sapodilla, karambola (yıldız meyvesi), durian, jak meyvesi, chayotes, rambutan, tamarind (demirhindi)) de mesane kanseri riskini azalttığı belirlenmiştir (Boot vd., 2024).

2.1.3.1.1. Mangostin

Mangostin (*Clusiaceae* bitki ailesi, *Garcinia mangostana* L.) Hindistan, Myanmar, Endonezya, Malezya, Sri Lanka, Filipinler ve Tayland gibi Güneydoğu Asya ülkelerine özgü tropikal bir ağaçtır. Kadifemsi ve tüysüz yapraklara sahip olan ağacın boyu 6-25 m uzunluğundadır. Mangostin meyvesi, koyu mor ve kırmızı renkte olup merkezinde beyaz, yumuşak ve sulu yenilebilir bir etli kısım içerir (Şekil 2.2). Hafif asitli tatlı bir tada ve hoş bir aromaya sahip olan mangostin, en lezzetli tropikal meyvelerden biri olması sebebiyle “Meyvelerin Kraliçesi” olarak bilinmektedir (Pedraza-Chaverri vd., 2008).



Şekil 2.2. Mangostin ağacı ve meyvesi. (Aizat vd., 2019)

Meyvenin tohumları ve perikarplarının, bölgede görülen gastrointestinal ve üriner sistem hastalıkların geleneksel tıbbi uygulamalarında kullanılmasına ilişkin veriler yaklaşık iki yüz yıl öncesine dayanmaktadır. Modern kullanımda ise ishal, karın ağrısı, ateş gibi enfeksiyonlar ile ilişkili semptomların; ayrıca akne, gıda allerjisi, artrit gibi inflammatuar ve immünolojik hastalıklara bağlı şikayetlerin hafifletilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca günümüzde, mangostin özü ve perikarpı içeren içecekler besin takviyesi olarak dünya genelinde satılmaktadır (Ovalle-Magallanes vd., 2017).

Mangostin, bünyesinde barındırdığı lif, vitamin (vitamin C, E, B1 ve B2), mineral (kalsiyum, potasyum ve magnezyum), flavanoid, folat, tannin, saponin, antosiyanin ve terpenden ötürü besin değeri oldukça yüksek bir meyvedir (Jindarat, 2014; Aljunaid vd., 2020). Bununla birlikte, türde bulunan ana fitokimyasallar antibakteriyel, anti-fungal, anti-malaryal, antioksidan, pro-apoptotik, anti-proliferatif, anti-nosiseptif, anti-inflammatuar, nöroprotektif, hipoglisemik ve anti-obezite gibi birçok biyolojik etkiye sahip bir sekonder metabolit sınıfı olan prenilenmiş ksantonlardır (Jindarat, 2014; Ovalle-Magallanes vd., 2017). Perikarp, bütün meyve, kabuk ve yapraklardan izole edilebilmiş en az 68 ksanton içerisinde α -, β - ve γ -mangostin, gartanin, 8-deoksigartanin, garsinon C ve D en fazla bulunan ve dolayısıyla haklarında en fazla çalışma yapılmış olan ksantonlardır (Pedraza-Chaverri vd., 2008; Ovalle-Magallanes vd., 2017). Yüksek güvenilirlikleri ve çeşitli biyolojik işlevleri nedeniyle, mangostin ve türevlerinin birçok hastalık için umut verici bir terapötik ajan olduğu düşünülmektedir.

Son birkaç yılda gerek *in vitro* gerekse *in vivo* koşullarda yapılmış ve mangostinin fitokimyası ve biyolojik aktivitesinin gösterilmesi hedeflenmiş

araştırmalar bilim dnyasında ayrı bir ilgi uyandırmıştır. Mangostinin anti-kanser etkisi ilk olarak çeşitli lemi hücre hatlarında tespit edilmiştir. Akabinde, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda yapılan çalışmalarda melanoma, beyin, meme, akciğer, prostat, mide, kolorektal, hepatosellüler, pankreas, serviks kanseri gibi birçok farklı kanser tipinde mangostinin tümör büyümesini inhibe ettiği veya geciktirdiği gösterilmiştir (M.-H. Wang vd., 2017; Aizat vd., 2019). Mangostinin kanser hücreleri üzerindeki antikanser etkisinde şpbesiz ksantonların rolü büyüktür.

2.2. Programlanmış Hücre lm

Programlanmış hücre ölümü, bir dizi gen tarafından düzenlenen hücrenel bir ölüm biçimini temsil eder. "Programlanmış hücre ölümü" terimi 1960'larda ortaya çıkmış olsa da, bu sürecin altında yatan ayrıntılı moleküler mekanizmalar araştırmaların odak noktası olmaya devam etmektedir. Yapılan çalışmalarla apoptozis, otofaji, nekroptozis, piroptozis ve ferroptozis gibi farklı hücre ölüm modelleri ortaya konulmuştur. Temel bir biyolojik süreç olarak hücre ölümü, embriyogenez ve doku homeostazisi, bağışıklık düzenlemesi, hücrenel strese yanıt ve hasarlı veya enfekte hücrelerin ortadan kaldırılması için olmazsa olmazdır. Gelişim ve fizyolojik süreçlerdeki rolünün ötesinde, eksik ya da fazla olarak düzenlenen programlanmış hücre ölümü, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve otoimmün durumlar dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogenezi önemli lde etkilemektedir. Eksik hücre ölümü genellikle tümör oluşumu ve otoimmün bozukluklarla ilişkilendirilirken, aşırı hücre ölümü nörodejenerasyonda bir itici güçtür. Belirli patolojik bağlamlarda programlanmış hücre ölüm mekanizmalarının devam eden keşfi aynı zamanda umut verici bir terapötik strateji olarak düşünülmesine de sebep olmaktadır (Qian vd., 2024).

2.2.1. Apoptozis

Apoptozis, tüm organizmanın homeostatik dengesinin korunmasından sorumlu olan hücrenel "bir süreçtir. Bu tamamen düzenlenmiş moleküler mekanizma, hücre içi ve hücre dışı ortam uyarılarına yanıt olarak tetiklenir. Hem fizyolojik gelişim süreçlerinde (hücrenel dönüşüm, hormona bağlı atrofi, embriyonik gelişim, doku özelleşmesi ve rejenerasyon) hem de hücrenel mikrovrenin bozulması, DNA hasarı ve neoplastik dönüşümle ilgili patolojik olaylara yanıt olarak bir savunma

mekanizması olarak rol oynar (Elmore, 2007). Apoptoziste genel olarak, apoptozisi başlatan çoklu sinyaller, hücresel bileşenleri parçalayan sistein proteazları (kaspazlar) aracılığıyla majör efektörleri aktive eder. Bu aspartat-spesifik proteolitik proteinler başlangıçta inaktif prokaspazlar olarak bulunur, bunlar daha sonra ölüm reseptörü yolu veya stres kaynaklı yol tarafından proteolitik olarak otomatik aktive edilir. Genel olarak, kaspazlar başlatıcı kaspazlar (kaspazlar-2, -8, -9 ve -10) ve efektör kaspazlar (kaspazlar-3, -6 ve -7) olarak iki gruba ayrılırlar. Ortaya çıkan kaspaz kaskadının rolü, hücre proteinlerin proteolizidir. Proteoliz daha sonra kromatin yoğunlaşmasına ve hücre çekirdeğinin küçülmesine yol açan bir dizi olayı başlatır. Endonükleazların aktivasyonu, DNA parçalanmasına ve nükleer proteinlerin sindirimine neden olurken, sitoskeleton yapısının bozulması, küçülen bir sitoplazma, sıkıca paketlenmiş organeller ve parçalanmış bir çekirdekten oluşan apoptotik cisimlerin oluşumuna yol açar. İleriki aşamalarda, makrofajlar apoptotik cisimleri fagositoz yoluyla yutar ve bunları fagolizozomlarda parçalar. Apoptotik hücre içeriğinin dışarıya salınmaması sebebiyle hiçbir inflamatuvar reaksiyon gelişmez. Apoptozdaki karakteristik olaylardan biri de, fosfatidilserinin membranın içinden dışına taşındığı membran yeniden düzenlenmesidir. Fosfatidilserini dış membrandan ATP'ye bağımlı bir şekilde taşımaktan sorumlu olan enzim flippazdır. Apoptotik membran yeniden düzenlenmesine, kaspazlar-3 ve -7 tarafından bölünme nedeniyle flippaz aktivitesinin kaybı eşlik eder ve bu da fosfatidilserinin geri döndürülemez şekilde açığa çıkmasına neden olur. Bu düzenleme, makrofaj hücreleri için bir "beni ye" sinyali olarak kabul edilir. Hasarın tespitine yönelik mekanizmaya ve apoptozu başlatan tetikleyiciye bağlı olarak, apoptoz mekanizmaları içsel ve dışsal olmak üzere iki farklı yola ayrılır (Gielecińska vd., 2023).

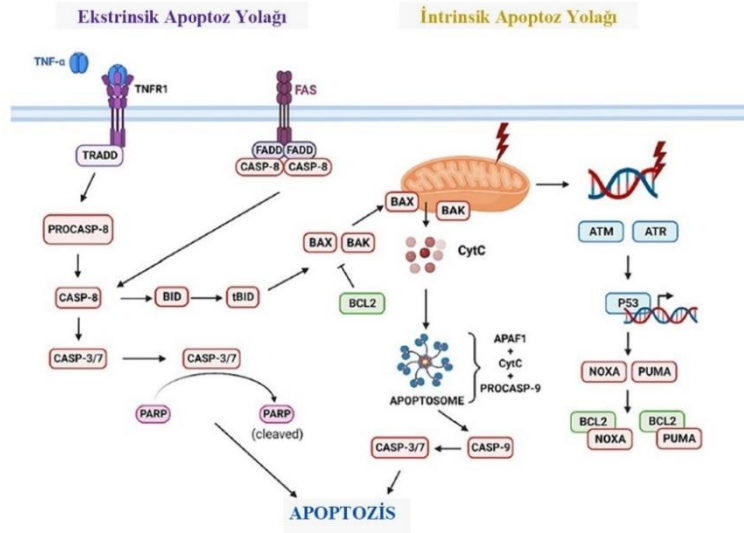
2.2.1.1. İntersik Apoptoz Yolağı

İntersik yolak, DNA hasarına ve p53 aktivasyonuna yanıt olarak aktive edilir. Yolakta Bcl-2 ailesi üyeleri merkezi bir rol oynar. Aile pro-apoptotik, anti-apoptotik ve modüle edici protein grubu olmak üzere üç farklı gruptan oluşur. Birden fazla Bcl-2 homoloji domainine (BH) sahip ilk iki protein grubu, apoptozis düzenlemesinde antagonistik rollere sahiptir. Birinci grup olan Bcl-2, Bcl-XL ve Mcl-1, ikinci grubun inhibisyonu yoluyla anti-apoptotik etki gösterir. İkinci grup olan Bax ve Bak, dış mitokondriyal membranın geçirgenliğini etkileyerek pro-apoptotik bir role sahiptir.

Sadece tek bir Bcl-2 homoloji 3 alanından (sadece BH3 proteinleri) oluşan üçüncü grup, Puma, Noxa, Bid, Bad, Bim ve Bmf'yi içerir. Sadece BH3 proteinleri, yukarıda belirtilen diğer iki grubun etkileşimini modüle ederek apoptozu teşvik eder. p53'ün aktivasyonu, Bcl-2 ve Bcl-XL'in anti-apoptotik etkisini inhibe eden Noxa ve Puma'nın aktivasyonuna yol açar. Bid ve Bad, Bax/Bak'ı aktive eder (Ashkenazi, 2008). Aşağı akış etkisi, dış mitokondriyal membranın geçirgenleşmesi, sitozole birkaç pro-apoptotik maddenin salınmasına yol açar. İlk olarak, sitokrom C'nin dışarı atılması, apoptozom kompleksinin (sitokrom c, Apaf-1 ve kaspaz 9) oluşumuna yol açar. Bu da, efektör kaspazların ardışık aktivasyonu ile birlikte kaspaz 9'un aktivasyonuna yol açar. İkinci olarak, Smac/DIABLO'nun sitozole salınması, survivin gibi IAP'lerin (apoptozis proteinlerinin inhibitörü) etkilerini bloke eder ve böylece apoptozu teşvik eder (Protzel & and Hakenberg, 2009) (Şekil 2.3).

2.2.1.2. Ekstrinsik Apoptoz Yolağı

Ekstrinsik yolak, enfeksiyon veya diğer nedenlerden kaynaklanan hücre hasarına yanıt olarak bağışıklık sisteminin belirli hücreleri tarafından aktive edilir. Hücre yüzeyinde bulunan veya NK hücreleri veya sitotoksik T hücreleri tarafından salgılanan özel pro-apoptotik ligandlar, hasarlı hücrelerde apoptozu aktive eder. Bu ligandlar, daha büyük sitokin TNF süper ailesinin üyeleridir. Apoptoz ligandı 2/TNF ile ilişkili apoptozis ligandı (Apo2L/TRAIL) ve Fas/Apo1/CD95 ligandı (FasL), ekstrinsik yolağın aktivasyonu için bilinen en önemli ligandlardır. Apo2L/TRAIL, iki pro-apoptotik reseptöre (ölüm reseptörleri DR4 ve DR5) bağlanırken, FasL Fas/Apo1/CD95 ligandı reseptörünü aktive eder. Ligandların TNF reseptör ailesinin tüm üyeleri olan DR4/DR5 veya Fas/Apo1/CD95 ligand reseptörüne bağlanması, ölüme neden olan bir sinyalleme kompleksinin (DISC) oluşumunu başlatır. DISC, yukarı akış başlatıcı kaspazlar 8 ve 10'un aktivasyonu ve devamında apoptotik hücre yıkımını başlatır (Ashkenazi, 2008). TNF reseptör ailesinin üçüncü bir reseptörü de apoptozun aktivasyonunda rol oynayabilir. TNF- α 'nın TNFR1'e bağlanması, TNF- α 'nın fizyolojik yolu olan NF- κ B aktivasyonu bloke edilirse apoptozun uyarılmasına yol açabilir (Protzel & and Hakenberg, 2009) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Apoptozun ekstrinsik ve intrinsik yolları ve bunların karşılıklı düzenlenmesi. (Gielecińska vd., 2023)

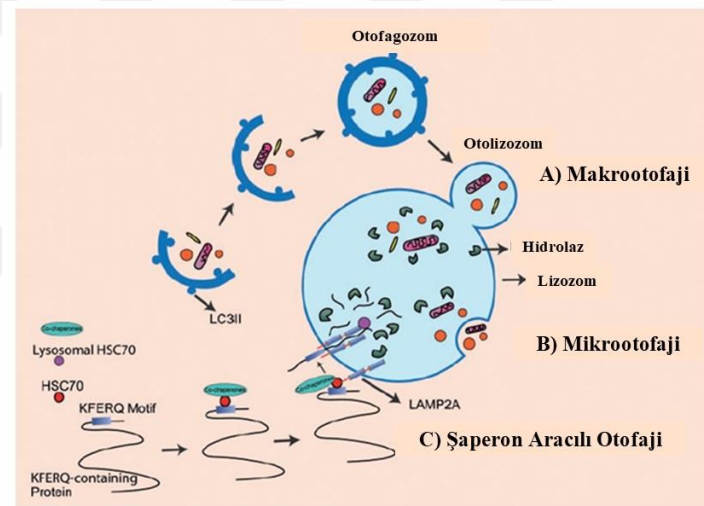
2.2.2. Otofaji

Otofaji, lizozomal enzimler tarafından sitoplazmik makromoleküllerin parçalanmasını içeren oldukça iyi korunmuş çok aşamalı katabolik bir süreçtir. Bu süreçte, yanlış katlanmış proteinler ve hasarlı organeller, otofagozom adı verilen örtülü çift membranlı veziküller oluşturmak için sitoplazmadan ayrılır ve sindirim için lizozomlara aktarılır. Sindirilen hüresel bileşenler ise daha sonra yeniden kullanılmak üzere sitoplazmaya salınır. Hüresel makromoleküllerin geri dönüşümünde rol oynaması sebebiyle, otofaji mekanizmasının bozulması nörodejenerasyon, yaşlanma ve kanser gibi çeşitli bozukluklardaki patofizyolojik süreçleri ile ilişkilendirilmektedir (Konac vd., 2021).

Normal şartlarda otofaji hücrelerde iki fizyolojik süreçten sorumludur. İlki, anormal yapıları ortadan kaldırarak hücrelerin normal fizyolojik işlevlerini sürdürmesini sağlamak ve böylece organellerin kalitesini kontrol ederek ve kusurlu organellerin temizlenmesini sağlayarak tümör gelişimini önlemektir. Diğeri ise, açlık, hipoksi gibi stres koşulları altında hücre canlılığını korumak için mevcut temel olmayan yapıların yok edilmesi için alternatif biyolojik materyal ve enerji sağlamaktır. Otofaji diğeri taraftan, onkogenik moleküllerin parçalanmasını sağlayarak normal hücrelerin tümörlere dönüşmesini de önleyen dinamik bir süreçtir. Koşullara bağlı

olarak otofaji tümör gelişiminde inhibitör bir rol veya tümör oluşumundan sonra proliferatif bir rol oynayabilmektedir (X. Li vd., 2020).

Temel olarak üç farklı otofaji tipi vardır. Bunlar; makrotofaji, mikrotofaji ve şaperon aracılı otofajidir. Otofaji, genellikle makrotofaji için kullanılan bir terimdir. Bu terimde sitoplazmik moleküller çift membranla çevrilidir ve yıkım için lizozomlara aktarılır. Mikrotofajide, sitoplazmik içerik doğrudan lizozomal membran tarafından içeri çekilir ve sindirilir. Şaperon aracılı otofajide ise, sindirim için hedef proteinler, 70 kDa'lık şaperon ısı şoku kognat proteini (HSC70) tarafından tanınan KFERQ veya KFERQ benzeri dizi motiflerine sahiptir. HSC70, bu motiflerle hedef proteinlere bağlanır ve bunları lizozomla ilişkili zar glikoproteini tip 2A (LAMP2A)-spesifik kargo reseptör proteinleriyle etkileşim yoluyla lizozomlara yönlendirir (Chueh vd., 2023) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Otofajinin morfolojik ve mekaniksel olarak farklı tipleri. (Konac vd., 2021)

2.2.2.1. Otofajinin Moleküler Mekanizması

Otofajik akış, açlık, hipoksi, büyüme faktörü eksikliği, ATP/AMP oranı, hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS) oranları, patojenler veya kimyasal ilaçlar gibi içsel ve dışsal stresler tarafından tetiklenebilir. Tetiklenmesi durumunda gerçekleşen otofaji süreci temel olarak birkaç adımdan oluşur:

- Fagofor membran oluşumunun indüklenmesi.
- Nükleasyon (Çekirdeklenme); fagofor membranı tarafından sitoplazmik bileşenlerin sarılarak fincan şeklinde bir yapının oluşturulması.
- Elongasyon/Ekspansiyon (Uzama/Genişleme); fagofor membranının, sitoplazmik bileşenleri çevreleyecek şekilde uzaması. Otofagozom oluşumu.
- Füzyon ve degradasyon; otofagozomların, otolizozomları (genellikle otofagolizozomlar olarak adlandırılır) oluşturmak için lizozomlarla kaynaşması ve ardından kargoları lizozomal hidrolaz ile degrade etmesi. Ortaya çıkan bileşenlerin, hücresel enerji kaynakları olarak kullanılmak üzere sitozole salınması.

Memelilerde fagofor, esas olarak Endoplazmik retikulum (ER) zarının omegasom adı verilen bir alt bölgesinde oluşur. Omegasom, fosfatidilinositol 3-fosfat (PI3P) açısından zenginleştirilmiş bir lipid çift katmanlı membrandır (Ahmadi-Dehlaghi vd., 2023).

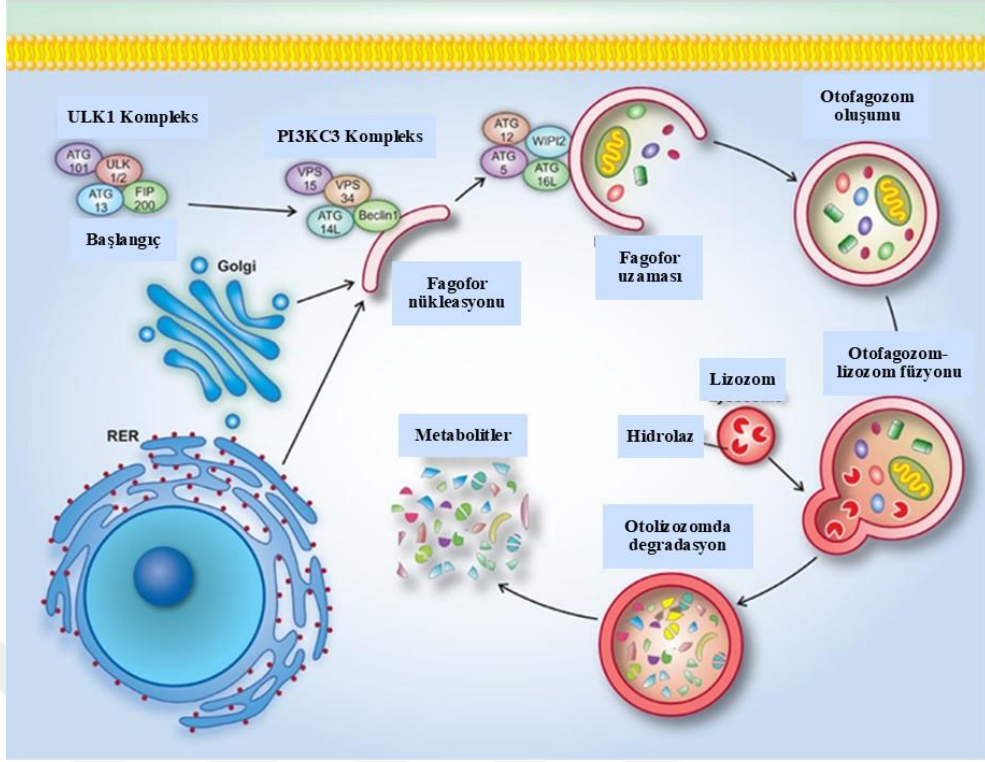
Memelilerde, ULK1/2, 200 kDa'lık FAK ailesiyle etkileşimli protein (FIP200), Atg13 ve Atg101'den oluşan Unc-51 benzeri kinaz (ULK) kompleksi, fagofor oluşumunun başlatılmasından sorumludur. Memeli rapamisin hedefi (mTOR) ve AMP ile aktive edilen protein kinaz (AMPK) yolları tarafından düzenlenir. Normal koşullar altında ve yeterli amino asit ile büyüme faktörü varlığında, fosfatidilinositol 3-kinaz kompleksi 1 (PI3KC1), mTORC1 alt birimini aktive ederek mTOR kompleksinin aktivitesine ve dolayısıyla ULK kompleksinin iki alt birimi olan ULK1 ve Atg13'ün fosforilasyonu yoluyla otofaji başlangıcının önlenmesine yol açar. Açlık koşullarında ise, mTORC1 başlatma kompleksinden ayrılır ve bu da ULK kompleksinin aktivasyonu ile sonuçlanır. Mekanizmada ULK1 Atg13, Atg101 ve FIP200'ü fosforile etme yoluna aktive etmekten sorumludur. Aktivasyondan sonra, ULK kompleksi genişleyen fagofor membranına yerleşir. Başlatma kompleksi ayrıca mTORC1'i baskılayan AMPK'nin aktivasyonu ile de indüklenir. AMPK ise glikoz

kısıtlaması ve ATP/AMP oranının azalmasıyla aktive olur (Ahmadi-Dehlaghi vd., 2023; Chueh vd., 2023).

Nükleasyon adımı, ULK1 proteini bir sınıf III fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3KC3) kompleksini fosforile eder ve aktive eder. Bu kompleks, Bcl-2 ile etkileşime giren miyozin benzeri sarmal (Beclin1), vakuolar protein sıralama 34 (Vps34), Vps15 ve Atg14L'den oluşur. Beclin1 proteini, nükleasyon adımı yer alan faktörler için bir substrattır. PI3KC3 kompleksi ayrıca fagofor nükleasyonu için gerekli olan fagoforlarda yerel PI3P üretir. PI3P, WD-tekrar alanı fosfoinozidit etkileşimli 2'nin (WIPI2) toplanmasını teşvik eder, bu da fagofor uzaması için Atg12–Atg5–Atg16L kompleksini toplar (Ahmadi-Dehlaghi vd., 2023; Chueh vd., 2023).

Uzatma adımı, fagofor membranının genişlemesi ve kapanmasında rol oynayan iki ubikitin benzeri konjugasyon sistemi bulunmaktadır. İlk sistemde, Atg12 aktive edilir ve Atg5'e konjuge edilir. Atg7 (E1 ligaz), Atg12 aktivasyonunda rol oynar ve Atg10 (E2 ligaz), Atg12-Atg5 konjugasyonuna yardımcı olur. Atg12-Atg5 daha sonra Atg16L1 ile ilişkilendirilir ve dolayısıyla otofaji uzama kompleksi oluşur ve bu da lipitates mikrotübül ilişkili protein 1 hafif zincir 3 (Lc3) lipidasyonu için bir yer sağlar. WIPI2'nin Atg16L'ye bağlanması, Atg12-Atg5-Atg16L kompleksinin otofagozom membranında yer almasını sağlar. İkinci sistemde ise, Lc3, Atg4B tarafından kesilerek Lc3-I'ye dönüştürülür ve bu da sitoplazmada fosfatidiletanolamin (PE) ile konjuge edilerek Lc3-II üretir. Daha sonra, Lc3-II, kargo tanınmasına neden olan otofagozom membranına biriktirilir. Lc3-II ayrıca bir otofagozom belirteci olarak görev yapar ve otofagozom olgunlaşması için gereklidir (Ahmadi-Dehlaghi vd., 2023; Chueh vd., 2023).

Olgunlaşma ve kapanmadan sonra, otofagozom lizozomla birleşir ve bu da nihayetinde otofagozom kargonun bozulmasına yol açar. Füzyon adımı Ras ilişkili bağlayıcı proteinler (Rab), çözümlü N-etilmaleimid-duyarlı faktör bağlanma proteinleri (SNARE) ve bağlama kompleksleri gibi çeşitli proteinler yer alır (Ahmadi-Dehlaghi vd., 2023) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Otofaji mekanizması. (Ahmadi-Dehlaghi vd., 2023)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hücre Hatları

Çalışmada kullanılan hücre hatları Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan hücre hatları.

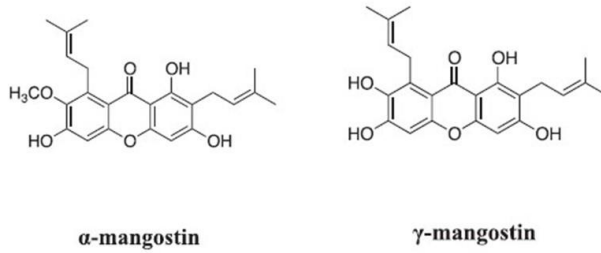
Malzemenin Adı	Markası
5637	American Type Culture Collection (ATCC), US
HT-1376	American Type Culture Collection (ATCC), US

3.2. Etken Maddeler

Çalışmada kullanılan etken maddeler Tablo 3.2’de, etken maddelerin kimyasal yapıları ise Şekil 3.1’de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan etken maddeler.

Malzemenin Adı	Markası
α -mangostin	Cayman Chemical Company, US
γ -mangostin	Cayman Chemical Company, US



Şekil 3.1. α - ve γ -mangostinin kimyasal yapıları. (Ovalle-Magallanes vd., 2017)

3.3. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.3’de özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.

Malzemenin Adı	Markası
RPMI-1640 besiyeri	Gibco, UK
EMEM besiyeri	Capricorn Scientific, DE
Fetal bovin serum (FBS)	Gibco, UK
Penisilin/Streptomisin solüsyonu (100x)	Capricorn Scientific, DE
L-glutamin 200 mM (100x)	Gibco, UK
Sodyum pirüvat solüsyonu (100 mM)	Capricorn Scientific, DE
MEM Esansiyel olmayan aminoasit solüsyonu (100x)	Capricorn Scientific, DE
Tripsin-EDTA %0.25 (1x)	Gibco, UK
Tripan mavisi boyası (%0.4 solüsyon)	Ecotech Biotechnology, TR
2-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-3,5-diphenyl-2H-tetrazolium, monobromide (MTT)	Cayman Chemical Company, US
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Merck, Sigma-Aldrich, US
Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS)	BioShop, CA

3.4. Kitler

Çalışmada kullanılan ticari kitler Tablo 3.4’de özetlenmiştir.

Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan ticari kitler.

Malzemenin Adı	Markası
JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Detection Kit	ABP Biosciences, US
Caspase-Glo 3/7 Assay	Promega, US
Autophagy Detection Kit	Abcam, NL

3.5. Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan sarf malzemeler Tablo 3.5’de özetlenmiştir.

Tablo 3.5. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler.

Malzemenin Adı	Markası
75 cm ² 'lik kültür kabı	Nest, CN
96 kuyucuklu kültür kabı	Labselect, CN
96 kuyucuklu kültür kabı (siyah)	Greiner, AT
96 kuyucuklu kültür kabı (beyaz)	Greiner, AT
1-10 µl filtreli pipet ucu	Medpoint
10-100 µl filtreli pipet ucu	Medpoint
100-1000 µl filtreli pipet ucu	Medpoint
5 ml serolojik pipet	Labselect, CN
10 ml serolojik pipet	Labselect, CN
25 ml serolojik pipet	Labselect, CN
1,5 ml santrifüj tüpü	İsolab, TR
15 ml santrifüj tüpü	İsolab, TR
50 ml santrifüj tüpü	İsolab, TR
2 ml kriyotüp	Biosharp, CN
Eldiven	Haspet

3.6. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 3.6’de özetlenmiştir.

Tablo 3.6. Çalışmada kullanılan cihazlar.

Malzemenin Adı	Markası
Laminar air flow	JSR Biohazard Safety Cabinet JSCB-1200SB
CO ₂ 'li inkübatör	NÜVE EC160

İnverted mikroskop	Bestscope
+4 Buzdolabı	Beko
-20 Derin dondurucu	Beko
Santrifüj cihazı	Hettich Zentrifugen Mikro 200R Hettich Zentrifugen Mikro 320R
Vorteks	IKA MS 3 basic
Hassas terazi	Denver Instrument
10-100 µl otomatik pipet	Eppendorf
100-1000 µl otomatik pipet	Eppendorf
Pipet tabancası	Isolab
Spektrofotometre cihazı	Thermo Scientific Varioskan

3.7. Hücre Kültürü

Proje kapsamında kullanılan 5637 ve HT-1376 hücre hatları ATCC firmasından ticari olarak satın alınmıştır.

Proje süresince uygulanan temel hücre kültür uygulamaları basamaklar halinde aşağıda belirtilmiştir.

3.7.1. Hücrelerin Çözdürülmesi

-86 °C derin dondurucuda muhafaza edilen, ardından buz içerisinde çalışma ortamına ulaştırılan vial içerisindeki hücreler 9 ml tam besiyeri içerisinde çözdürülmüş ve hücre canlılığı tripan mavisi boyası ile ışık mikroskobu altında kontrol edilmiştir. Ardından, DMSO'nun uzaklaştırılması amacıyla 1600 rpm'de 5 dk süresince santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından üstte kalan sıvı kısım uzaklaştırılmış ve altta kalan pellet 15 ml besiyeri içinde çözülmüş, kültür kabına aktarılmış, kültür kabı 37 °C ve %5 CO₂ ortamı sağlayan inkübatöre muhafaza edilmiştir.

Hücre hatları için uygun besiyeri bileşimleri aşağıda belirtildiği gibidir.

5637 hücre hattı için uygun besiyeri: %10 FBS, %1 Penisilin/Streptomisin ve %1 L-glutamin ile desteklenmiş RPMI-1640 besiyeri

HT-1376 hücre hattı için uygun besiyeri: %10 FBS, %1 Penisilin/Streptomisin, %1 L-glutamin, %1 Sodyum pirüvat ve %1 esansiyel olmayan aminoasit solüsyonu ile desteklenmiş EMEM besiyeri

3.7.2. Hücre Canlılığının Günlük Takibi

Hücre canlılığı, hücrelerin ikilenme süresine bağlı olarak gün aşırı inverted mikroskop altında incelenmiştir. Hücre kültür kabının yüzeyindeki hücre yoğunluğu %80'e ulaştığı zaman hücreler pasajlanmıştır.

3.7.3. Hücrelerin Pasajlanması

Pasajlama işleminde ilk olarak, kültür kabında bulunan besiyeri uzaklaştırılmış, kabın yüzeyi 5 ml steril PBS ile yıkanmıştır. PBS uzaklaştırıldıktan sonra 3 ml Tripsin-EDTA eklenmiş ve 5 dk süresince inkübatörde bekletilmiştir. Mikroskop altında inceleme sonucunda, yüzeye tutunmuş olan tüm hücrelerin serbest hale geçtiği tespit edilince kültür kabına var olan hacmin 2 katı kadar besiyeri eklenmiş ve falkon tüpe aktarılmıştır. 1600 rpm'de 5 dk'lık santrifüjün ardından üst kısımda kalan sıvı kısım uzaklaştırılmış ve pellet 1 ml besiyeri ile resüspanse edilmiştir. 1:6-8 oranında yapılan pasajlamanın ardından son hacim 15 ml'ye tamamlanarak kültür kabına aktarılmış ve ardından inkübatöre konulmuştur.

3.7.4. Hücrelerin Dondurulması

Çalışma süresince kullanılmayan fazla miktardaki hücreler dondurularak saklanmıştır. Bu amaçla ilk olarak, kültür kabında bulunan besiyeri uzaklaştırılmış, kabın yüzeyi 5 ml steril PBS ile yıkanmıştır. PBS uzaklaştırıldıktan sonra 3 ml Tripsin-EDTA eklenmiş ve 5 dk süresince inkübatörde bekletilmiştir. Mikroskop altında inceleme sonucunda, yüzeye tutunmuş olan tüm hücrelerin serbest hale geçtiği tespit edilince kültür kabına hacmin 2 katı kadar besiyeri eklenmiş ve falkon tüpe aktarılmıştır. 1600 rpm'de 5 dk süresince santrifüjün ardından üst kısımda kalan sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Bu aşamadan itibaren çalışmaya buz üzerinde devam edilmiştir. Pellet hazırlanan dondurma solüsyonu (9:1 oranında serum:DMSO) ile

resüspanse edilmiş ve birden fazla kriyo tüpe aktarılmıştır. İşlemin ardından tüpler -86 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.8. α - ve γ -mangostinin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan α - ve γ -mangostin Cayman Chemical Company firmasından ticari olarak satın alınmıştır. Toz haline olan kimyasal madde DMSO içerisinde son konsantrasyon 10 mM olacak şekilde hazırlanmıştır. Deneyle sırasında ise ana stok 1/100 dilüe edilerek 100 μ M ara stok şeklinde kullanılmıştır.

Sitotoksosite çalışmalarında uygulanan yöntem basamaklar halinde aşağıda belirtilmiştir.

- Hücreler kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu kültür kaplarına ekilmiştir.
- Hücrelerin kültür kabının zeminine yapışması için 24 saat beklenmiş ve bu sürenin ardından besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır.
- Hücreler etken maddelerin literatürden araştırılarak belirlenmiş konsantrasyonları (5, 10, 15, 20 ve 25 μ M) ile 24, 48 ve 72 saat süresince inkübe edilmiştir.
- Belirtilen her bir sürenin sonunda besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmış, kuyucuklara son konsantrasyon 0.5 mg/ml olacak şekilde MTT reaktifi eklenmiş ve 4 saat süresince inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.
- 4 saatlik inkübasyon süresinin ardından reaktif kuyucuklardan uzaklaştırılmış, oluşmuş formazan kristallerinin çözünmesi amacıyla kuyucuklara DMSO eklenmiş ve 15 dk çalkalayıcı üzerinde bekletilmiştir.
- Absorbans değerleri spektrofotometrede 570 nm'de ölçülmüş, canlılık ve sitotoksosite hesaplanmıştır.
- Deneyle kendi içerisinde 5 tekrarlı olacak şekilde 3 kez tekrarlanmıştır.

3.9. α - ve γ -mangostinin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatlarında Hücre Ölüm Mekanizmaları Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

3.9.1. Apoptoz Üzerindeki Etkisi

Apoptoz iki farklı yöntem ile değerlendirilmiştir.

3.9.1.1. JC-1 Mitokondriyal Membran Potansiyelinin Değerlendirilmesi

Mitokondriyal membran potansiyelinin kaybı apoptoz için bir ayırt edici özelliktir. Çalışmada kullanılan JC-1 Mitokondriyal Membran Potansiyeli Tespit Kiti (ABP Biosciences, US) hücrelerdeki mitokondriyal membran potansiyelini ölçmektedir. Kitte, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybını işaret etmek için katyonik bir boya (5,5',6,6'- tetrakloro-1,1',3,3'- tetraetilbenzimidazolilkarbosiyenin iyodür) kullanılmaktadır. JC-1, mitokondride potansiyele bağlı birikim göstermekte ve bu durum yeşil (529 nm) ile kırmızı (590 nm) arasında bir floresan emisyon kaymasıyla belirtilmektedir. Sonuç olarak, mitokondriyal depolarizasyon kırmızı/yeşil floresan yoğunluk oranındaki azalmayla gösterilmektedir. Sağlıklı hücrelerde, JC-1 mitokondride birikerek kırmızı floresansa dönüşen J-kümelerini oluştururken apoptotik hücrelerde, JC-1 mitokondri içinde birikmemekte ve yeşil floresansı göstermek için monomerik formda sitoplazmada kalmaktadır. Yeşil ile kırmızı floresan oranı yalnızca membran potansiyeline bağlı olup tek bileşenli floresan sinyallerini etkileyebilecek mitokondri boyutu, şekli ve yoğunluğu gibi diğer faktörlere bağlı değildir. Kit protokolü aşağıda belirtildiği gibidir.

- Hücreler kuyucuk başına 7.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu siyah kültür kaplarına ekilmiştir.
- Hücrelerin kültür kabının zeminine yapışması için 24 saat beklenmiş ve bu sürenin ardından besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır.
- Hücreler etken maddelerin aşağıda belirtilmiş dozları ile 72 saat süresince inkübe edilmiştir.

5637 hücre hattı için α -mangostin dozları: 5 μ M, 9.7 μ M, 15 μ M

γ - mangostin dozları: 3.5 μ M, 7.5 μ M, 11.5 μ M

HT-1376 hücre hattı için α -mangostin dozları: 5 μ M, 10 μ M, 15 μ M

γ - mangostin dozları: 2 μ M, 4 μ M, 6 μ M

- Belirtilen sürenin sonunda besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve kuyucuklara 200 μ l PBS konulmuştur.
- Her bir kuyucuğa 2 μ l JC-1 stok solüsyonu eklenmesinin ardından kültür kabı 37°C'de, %5 CO₂'de 30 dakika süresince inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklar 2 kez 200 μ l PBS ile yıkanmış ve son olarak 200 μ l PBS eklenmiştir.
- Spektrofotometrede kırmızı floresans (uyarılma 550 nm, emisyon 600 nm) ve yeşil floresans (uyarılma 485 nm, emisyon 535 nm) absorbansları ölçülmüştür.
- Kırmızı floresansın yeşil floresansa oranı belirlenerek analiz yapılmıştır.

3.9.1.2. Kaspaz-3 ve -7 Aktivitelerinin Ölçümü Yoluyla Apoptoz Tayini

Çalışmada kullanılan Caspase-Glo 3/7 Assay Kit (Promega, US) kaspaz-3 ve -7 aktivitelerini ölçen homojen, lüminesan bir testtir. Kit, kaspaz aktivitesi, lüsiferaz aktivitesi ve hücre lizisi için optimize edilmiş bir reaktifte tetrapeptit dizisi DEVD içeren bir lüminojenik kaspaz-3/7 substratı sağlamaktadır. Reaktifin eklenmesi, hücre lizisine, ardından substratın kaspaz tarafından parçalanmasına ve lüsiferaz tarafından üretilen "parıltı tipi" bir lüminesans sinyalinin oluşumuna neden olmaktadır. Lüminesans sinyal, mevcut kaspaz aktivitesinin miktarıyla orantılıdır. Kit protokolü aşağıda belirtildiği gibidir.

- Hücreler kuyucuk başına 7.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu beyaz kültür kaplarına ekilmiştir.
- Hücrelerin kültür kabının zeminine yapışması için 24 saat beklenmiş ve bu sürenin ardından besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır.
- Hücreler etken maddelerin aşağıda belirtilmiş dozları ile 72 saat süresince inkübe edilmiştir.

5637 hücre hattı için α -mangostin dozları: 5 μ M, 9.7 μ M, 15 μ M

γ - mangostin dozları: 3.5 μ M, 7.5 μ M, 11.5 μ M

HT-1376 hücre hattı için α -mangostin dozları: 5 μ M, 10 μ M, 15 μ M

γ - mangostin dozları: 2 μ M, 4 μ M, 6 μ M

- Belirtilen sürenin ardından kültür kabı inkübatörden çıkarılmış ve oda sıcaklığına gelene kadar beklenmiştir.
- Ardından, her bir kuyucuğa 100 µl Caspase-Glo 3/7 reaktifi eklenmiştir.
- Kültür kabı 30 saniye boyunca 300–500 rpm'de plaka çalkalayıcı kullanarak karıştırılmıştır.
- Kültür kabı oda sıcaklığında 30 dakika – 3 saat arasında inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon süresinin ardından lüminesans miktarı lüminometre ile ölçülmüştür.

3.9.2. Otofaji Üzerindeki Etkisi

Çalışmada kullanılan Autophagy Detection Kit (Abcam, NL) protokolü aşağıda belirtildiği gibidir.

- Hücreler kuyucuk başına 8.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu siyah kültür kaplarına ekilmiştir.
- Hücrelerin kültür kabının zeminine yapışması için 24 saat beklenmiş ve bu sürenin ardından besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır.
- Hücreler etken maddelerin aşağıda belirtilmiş dozları ile 72 saat süresince inkübe edilmiştir.

5637 hücre hattı için α -mangostin dozları: 5 µM, 9.7 µM, 15 µM

γ - mangostin dozları: 3.5 µM, 7.5 µM, 11.5 µM

HT-1376 hücre hattı için α -mangostin dozları: 5 µM, 10 µM, 15 µM

γ - mangostin dozları: 2 µM, 4 µM, 6 µM

- Belirtilen sürenin ardından besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 100 µL 1X Assay Buffer eklenmiştir.
- Assay Buffer kuyucuklardan uzaklaştırıldıktan sonra her bir kuyucuğa 100 µL dual color detection solution (1 ml %5 FBS ile desteklenmiş fenol red içermeyen besiyeri içerisinde 1 µL green detection reagent + 1 µL nuclear stain) eklenmiştir.
- Kültür kabı ışıktan korunmuş ve 30 dakika süresince 37 °C'de inkübe edilmiştir.

- İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklar 200 µL 1X Assay Buffer ile yıkanmış ve son olarak her bir kuyucuğa 100 µL 1X Assay Buffer eklenmiştir.
- Floresans değerleri spektrofotometrede [Green Detection Reagent FITC filter (Excitation ~480 nm, Emission ~530), Hoechst 33342 Nuclear Stain DAPI filter (Excitation ~340, Emission ~480)] ölçülmüştür.

3.10. İstatistiksel Analizler

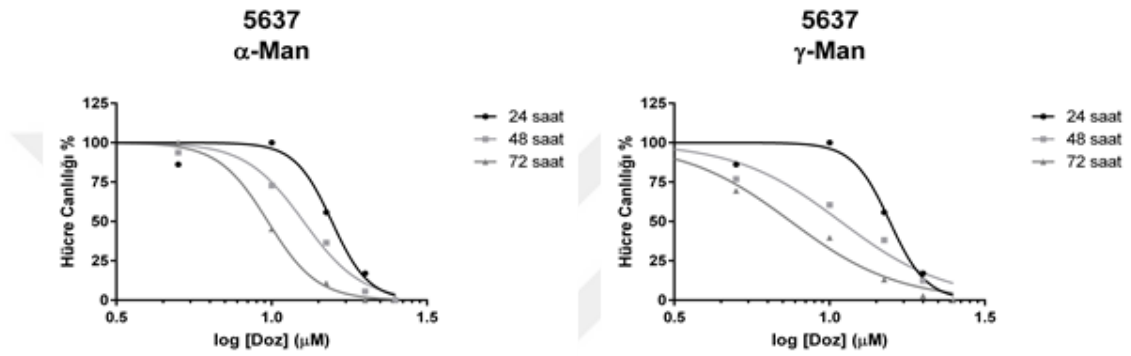
Elde ettiğimiz sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırılması tek yönlü ANOVA ile GraphPad Prism paket programında analiz edildi. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

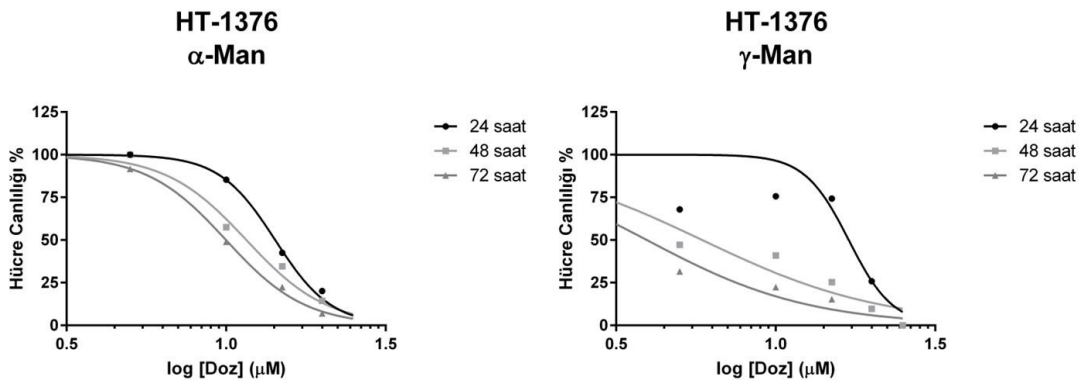
4.1. α - ve γ -mangostinin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisi

Sitotoksikite çalışmaları sonucunda α - ve γ -mangostininin 5637 hücre hattındaki IC_{50} değerleri 72. saatte sırasıyla 9.7 μ M ve 7.5 μ M olarak tespit edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. 5637 hücre hattında α - ve γ -mangostininin (5, 10, 15, 20 ve 25 μ M) 24, 48 ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkisi.

Aynı etken maddelerin HT-1376 hücre hattındaki IC_{50} değerleri ise 72. saatte sırasıyla 10 μ M ve 4 μ M olarak belirlendi (Şekil 4.2).

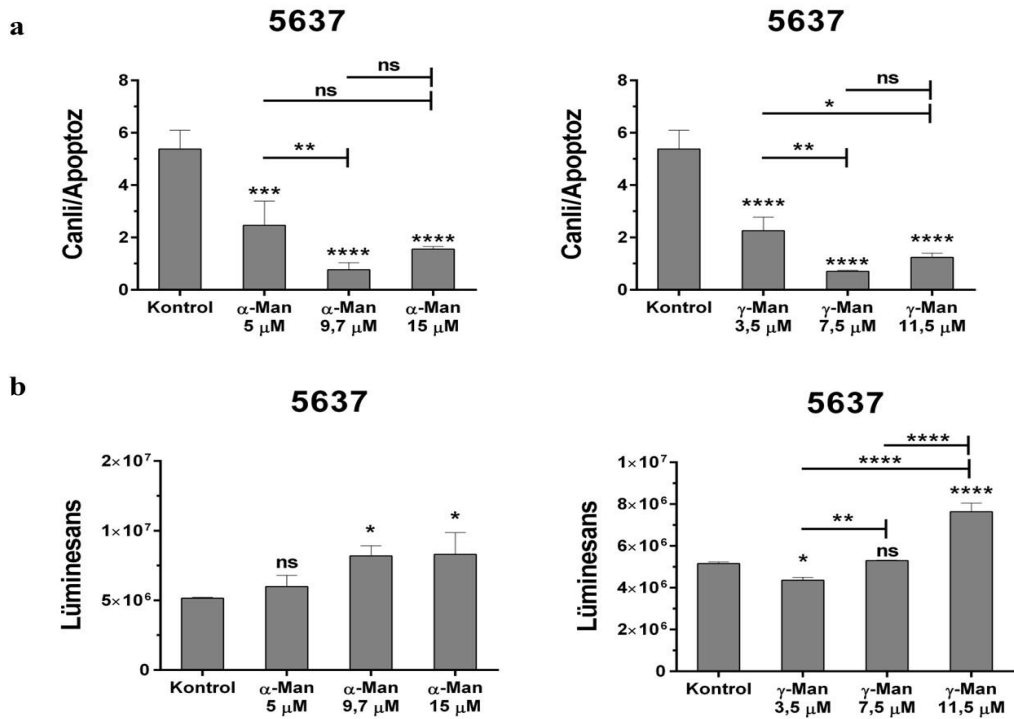


Şekil 4.2. HT-1356 hücre hattında α - ve γ -mangostininin (5, 10, 15, 20 ve 25 μ M) 24, 48 ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkisi.

4.2. α - ve γ -mangostinin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatlarında Apoptoz Üzerindeki Etkisi

Etken maddelerin hücre hatları üzerindeki apoptotik etkisi hem mitokondriyal membran potansiyelindeki hem de kaspaz-3 ve -7 aktivitelerindeki değişimin değerlendirilmesi yoluyla incelenmiştir.

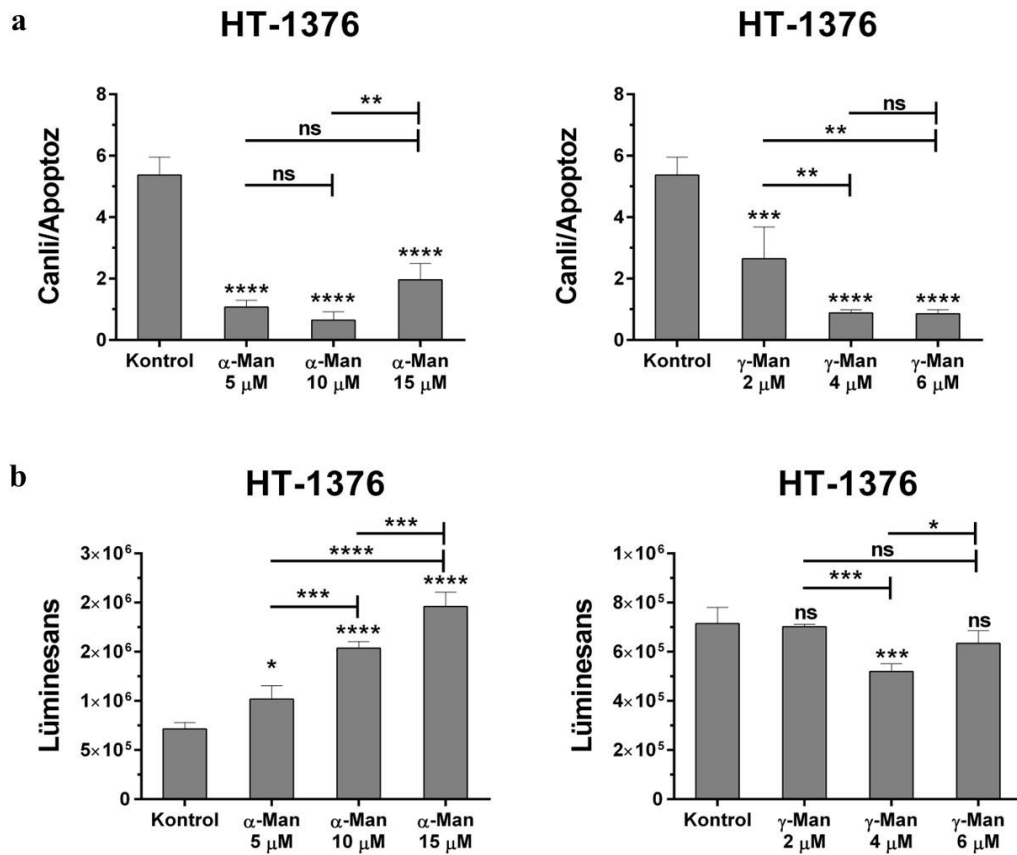
5637 hücre hattında etken maddeler ile muamele sonrasında mitokondriyal membran potansiyelindeki değişimler incelendiğinde, her iki etken madde içinde membran potansiyeli değişiminde doza bağlı olarak anlamlı bir artış tespit edildi (α -mangostin için 5 ve 9.7 μ M dozlarında sırasıyla 2.18- ve 7.02- katlık artışlar; γ -mangostin için 3.5 ve 7.5 μ M dozlarında sırasıyla 2.38- ve 7.57- katlık artışlar) (Şekil 4.3a). Aynı hücre hattında α - mangostin ile muamele sonrası kaspaz-3 ve -7 aktivitelerinin değişimine bakıldığında 9.7 ve 15 μ M dozlarındaki sırasıyla 1.59- ve 1.61- katlık artışlar anlamlı bulundu. γ - mangostin ile muamele sonrasında ise 11.5 μ M dozunda 1.48- kat anlamlı bir artış tespit edildi. Dozlar arasındaki değişim de anlamlı bulundu (Şekil 4.3b).



Şekil 4.3. 5637 hücre hattında α - ve γ -mangostinin apoptoz üzerine etkisi
a) Mitokondriyal membran potansiyeline etkisi b) Kaspaz-3 ve -7

aktivitelerine etkisi. (ns : $p > 0.05$, * : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$, *** : $p \leq 0.001$, **** : $p \leq 0.0001$).

HT-1376 hücre hattında etken maddeler ile muamele sonrasında mitokondriyal membran potansiyelindeki değişimler incelendiğinde her iki etken madde içinde membran potansiyeli değişiminde doza bağlı olarak anlamlı bir artış tespit edildi (α -mangostin için 5 ve 10 μM dozlarında sırasıyla 4.99- ve 8.27- katlık artışlar; γ -mangostin için 2 ve 4 μM dozlarında sırasıyla 2.03- ve 6.08- katlık artışlar) (Şekil 4.4a). Aynı hücre hattında α - mangostin ile muamele sonrası kaspaz-3 ve -7 aktivitelerinin değişimine bakıldığında 10 ve 15 μM dozlarındaki sırasıyla 2.15- ve 2.74- katlık artışlar ve bununla birlikte dozlar arasındaki değişimler anlamlı bulundu. γ - mangostin ile muamele sonrasında ise 4 μM dozda 1.37- katlık anlamlı bir azalış tespit edildi (Şekil 4.4b).

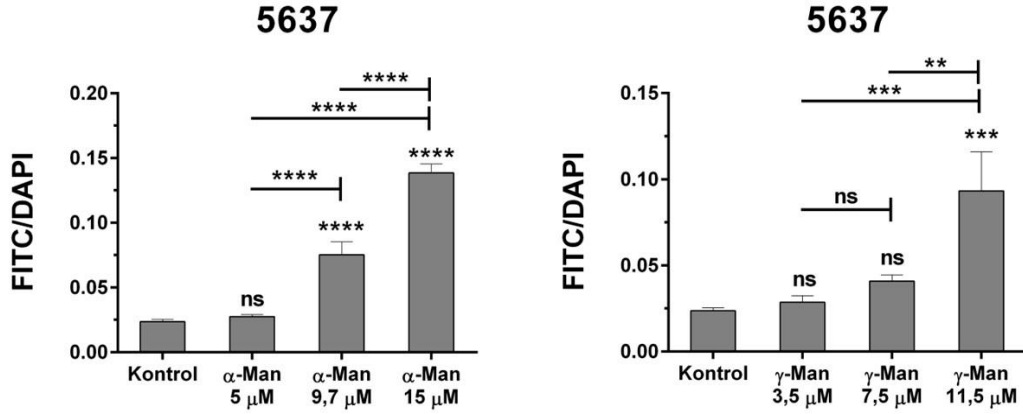


Şekil 4.4. HT-1376 hücre hattında α - ve γ -mangostinin apoptoz üzerine etkisi

a) Mitokondriyal membran potansiyeline etkisi b) Kaspaz-3 ve -7 aktivitelerine etkisi. (ns : $p > 0.05$, * : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$, *** : $p \leq 0.001$, **** : $p \leq 0.0001$).

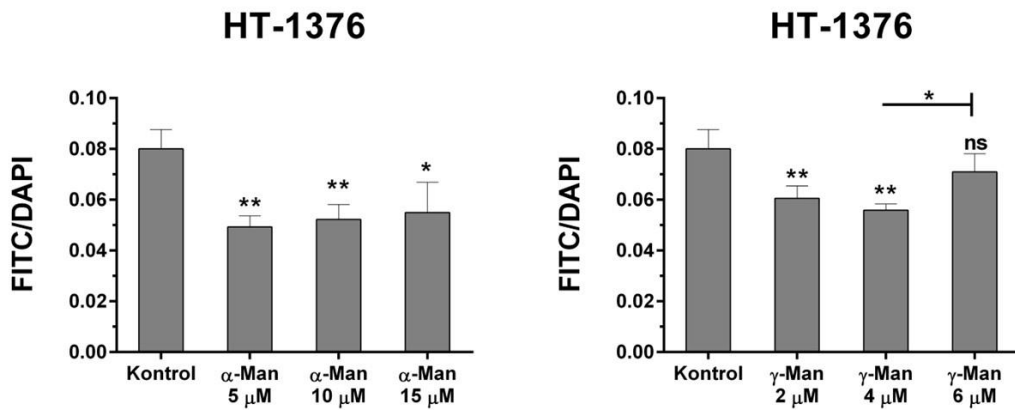
4.3. α - ve γ -mangostinin 5637 ve HT-1376 Hücre Hatlarında Otofaji Üzerindeki Etkisi

Otofaji çalışmaları sonucunda, 5637 hücre hattında otofajinin α - mangostin ile muamele sonrasında 9.7 ve 15 μ M dozlarında sırasıyla 3.19- ve 5.86- kat artığı belirlendi. Ancak, γ - mangostin ile muamele sonrasında 11.5 μ M dozunda sırasıyla 3.94- katlık artış saptandı (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. 5637 hücre hattında α - ve γ -mangostinin otofaji üzerine etkisi (ns : $p > 0.05$, ** : $p \leq 0.01$, *** : $p \leq 0.001$, **** : $p \leq 0.0001$).

HT-1376 hücre hattında ise her iki etken ile muamele sonrasında otofajinin tetiklenmediği, hatta azalış gösterdiği belirlendi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. HT-1376 hücre hattında α - ve γ -mangostinin otofaji üzerine etkisi (ns : $p > 0.05$, * : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$).

5. TARTIŞMA

Mesane kanseri, hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir hastalıktır. Mevcut mesane kanseri tedavileriyle umut verici sonuçlar elde edilmiş olsa da, kanserin tekrarlaması, ilerlemesi ve tedaviye direnç, tedavilerin etkinliğini engelleyen en ciddi sorunlardır. Bu sorunların ortaya çıkmasında apoptoz ve otofaji gibi hücre ölüm mekanizmalarına ilişkin yollarda meydana gelen değişimlerin rolü büyüktür. Dolayısıyla yollardaki değişimleri hedefleyerek hücreyi ölüme teşvik eden kemoterapötik ajanlar ve doğal bileşenler tedavi için önemli stratejilerdir (Protzel & Hakenberg, 2009; Konac vd., 2021).

Mesane kanseri ile ilgili hazırlanan raporlarda yüksek meyve ve sebze tüketiminin de dolayısıyla etken maddelerinin kanser riskini azaltabileceği, aynı zamanda tedaviye de katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. Örneğin, kurkumin, sülforafan ve resveratrol mesane kanseri tedavisinde etkileri araştırılmış olan doğal bileşenlerden sadece bir kaçıdır (Wigner vd., 2021).

Kurkumin, *Curcuma longa*'nın rizomlarından elde edilen bir baharat olan zerdeçalının önemli, güvenli ve toksik olmayan bir bileşiği olup anti-tümör, anti-inflamatuar, anti-apoptotik ve anti-oksidan özelliklere sahiptir (Kamat vd., 2007). Mesane kanserinde hücre çoğalması, hücre sağkalımı ve hücre ölümü gibi önemli süreçlerde rol oynayan çok sayıda sinyal yolağını düzenleyerek kanser karşıtı tedavi için yüksek potansiyel göstermektedir (Tian vd., 2008; H.-S. Liu vd., 2011; Bose vd., 2015; Shi vd., 2017). Tümör destekleyici miR-7641 ekspresyonunu aşağı düzenleyerek hedefindeki p16 tümör baskılayıcı genin ekspresyonunu arttırmakta ve bu düzenlenme apoptozun tetiklenmesiyle sonuçlanmaktadır (K. Wang vd., 2018). Kurkumin aynı zamanda bir histon deasetilaz (HDAC) inhibitörüdür. Klinik uygulamada sentetik HDAC inhibitörlerine kıyasla yan etki olmaksızın HDAC ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Cheng vd., 2019). Gemsitabin ile birlikte kombine kullanıldığında ilaca karşı oluşan direnci tersine çevirmekte ve ek bir sitotoksositeye sebep olarak tümör migrasyonunun baskılanmasını sağlamaktadır (Cho vd., 2019). Diğer bir etkisi ise, organları kemoterapi kaynaklı toksisiteden koruması ve böbreklerde sisplatin tedavisinden sonra gözlenen mitokondriyal oksidatif hasarı hafifletmesidir (Waseem vd., 2013; Negrette-Guzmán, 2019).

Sülforafan ise brokolide bulunan bir doğal bileşendir (Y. Zhang & Tang, 2007). Brokoli tarafından karsinogenez inhibisyonu, oksidanlara ve karsinojenlere karşı önemli koruyucu enzimler olan glutatyon S-transferaz (GST) ve NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1) indüksiyonunun artışıyla ilişkilidir (Munday vd., 2008). Sülforafan diğer taraftan, mitokondri aracılı apoptozun tetiklenmesi ile hücre döngüsünün S ve M evrelerinde durdurulmasını da sağlamaktadır (Tang vd., 2006). Bununla birlikte, sağlıklı mesane hücrelerini kimyasal kaynaklı DNA hasarına karşı koruyabilmektedir. Hem insan mesane hücreleri ile yapılmış *in vitro* hem de fare mesane dokusu ile yapılmış *in vivo* çalışmalarda, sülforafanın çeşitli kimyasal kanserojenlere karşı hücre sel savunmada önemli bir rol oynayan kanserojen detoksifiye edici faz II genleri de dahil olmak üzere birçok sitoprotektif geni transkripsiyonel olarak aktive eden NF-E2 ile ilişkili faktör-2'nin (Nrf2) aktivasyonu yoluyla tütün dumanında bulunan ve mesane kanseri riskini artıran toksik bileşiklerden biri olan 4-aminobifenil kaynaklı DNA hasarını engellediği belirlenmiştir (Y. Ding vd., 2010).

Resveratrol, üzüm, böğürtlen, yaban mersini, ahududu ve fıstıkta bulunan polifenolik bir bileşiktir. Kalbi koruyucu, anti-oksidan, anti-inflamatuar, anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-viral, nöroprotektif ve anti-kanser gibi olumlu etkileri günümüze kadar yapılmış çalışmalar ile belirlenmiştir (Stephan vd., 2017). Resveratrol mesane kanserindeki antikanser etkisini hücre döngüsünün durdurulması, apoptozun tetiklenmesi üzerinden gerçekleştirmektedir (Bai vd., 2010; Lin vd., 2012). Bununla birlikte, resveratrol kaynaklı apoptozun, hücre çoğalmasını artıran, hücre döngüsü ilerlemesini teşvik eden ve kanser hücrelerinde anti-apoptotik aktivasyonu artıran bir onkogen olarak bilinen miR-21 üzerindeki resveratrol etkisinin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. miR-21 yukarı regülasyonun ileri derece mesane kanseri dokuları için karakterize olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışma ile de, resveratrolün miR-21 ekspresyonunu baskılayıp Akt/Bcl-2 sinyal yolağını düzenleyerek apoptozu tetiklediği gösterilmiştir (Zhou vd., 2014).

Diğer taraftan, son zamanlarda öne çıkan ve dikkat çeken tropikal meyvelerin de mesane kanseri riskini azalttığı belirlenmiştir (Boot vd., 2024). Bu tropikal meyvelerden biri olan mangostin meyvesi barındırdığı farklı tiplerde prenilenmiş ksantonlar ve bu sebeple sergilediği anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-malaryal, antioksidan, pro-apoptotik, anti-proliferatif, anti-nosiseptif, anti-inflammatuar,

nöroprotektif, hipoglisemik ve anti-obezite özelliklerinden dolayı uzun yıllardır çalışmalara konu olmuş bir meyvedir (Jindarat, 2014; Ovalle-Magallanes vd., 2017). Barındırdığı ksantonların hücre ölüm mekanizmaları üzerinden antikanser etkisine yönelik çalışmalar birçok farklı kanser tipinde gerçekleştirilmiştir. Örneğin, lösemide, α -, β -, γ -mangostin, mangostinon ve garsinon E primer KML hücrelerinde azalışa sebep olurken normal hematopoetik progenitör hücreleri etkilememektedir. Apoptozu mitokondri aracılığı ile otofajiyi ise LC-3II ekspresyonu artışı ve otofajik vakullerin birikimi sonucu tetiklemektedir (Matsumoto vd., 2003, 2004; Chen vd., 2014). Akciğer kanserinde, NAMPT/NAD sinyal yolağının baskılanması sonucu ROS üretimini arttırarak ROS aracılı apoptozu uyarmaktadır (Seo vd., 2015; C. Zhang vd., 2018; Y.-Y. Ding vd., 2020). Oral kanserlerde, α -mangostin / TRAIL kombinasyonu hücre döngüsünü durdurmakta ve ERK1/2 ile p38 MAPK sinyal yollarının baskılanması sonucu apoptozu arttırmaktadır (Lee vd., 2016; Fukuda vd., 2017). Mide kanserinde, α -mangostin STAT3 sinyal yolağını aktive ederek ve yolağın düzenlediği genlerin ekspresyonlarını baskılayarak hücre canlılığını azaltmakta ve apoptozu tetiklemektedir (Shan vd., 2014). Kolorektal kanserde, α - ve γ -mangostin mitokondri aracılığıyla apoptozu uyarmaktadır (Krishnamachary vd., 2019). Karaciğer kanserinde, gartanın ve α -mangostin Bcl-2 ailesi üyelerinin ve hücre ölümü ile ilişkili proteinlerin ekspresyon seviyelerini değiştirmesi sonucu apoptozu arttırmaktadır (M.-O. Kim vd., 2015; Wudtiwai vd., 2018; H. Zhang vd., 2020). Pankreas kanserinde, α - ve γ -mangostin apoptozu tetiklemekte ve hücre döngüsünün G₁ evresinde durmasını sağlamaktadır (M. Kim vd., 2017). Meme kanserinde, α - ve γ -mangostin hem Bcl-2 ailesinin pro- ve anti-apoptotik proteinleri arasındaki balansı değiştirerek hem de HER2/PI3K/Akt ve MAPK sinyal yolları aracılığı ile apoptozu uyarmaktadır (Kurose vd., 2012; Kritsanawong vd., 2016; Scolamiero vd., 2018). Prostat kanserinde, α -mangostin apoptozu uyarmakta, hücre döngüsünün G₁ evresinde durmasına sebep olmaktadır (Johnson vd., 2012; G. Li vd., 2014). Beyin kanserinde, γ -mangostin ve gartanın apoptozu tetiklemektedir (Chang vd., 2010; Luo vd., 2017). Melanomada, α -, γ -mangostin ve 8-deoksigtartanın apoptozu tetiklemekte, hücre döngüsünün G₁ evresinde durmasına sebep olmaktadır (J. J. Wang vd., 2011). Örneklerden yola çıkarak, literatürde farklı kanser tiplerine ilişkin birçok veri bulunmasına rağmen aynı çeşitlilik mesane kanseri için söz konusu değildir. Bu sebeple çalışmamızda genel olarak, birçok farklı kanser tipinde gerek hücre ölümü gerekse metastaz ve invazyon süreçlerine etkisi yapılan çalışmalar ile gösterilmiş

mangostin meyvesinin bünyesinde iki farklı ksanton tipinin mesane kanseri hücre hatlarındaki etkisini hücre ölümü üzerinden irdelemeyi hedefledik.

α - ve γ - mangostinin 5637 ve HT-1376 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisini araştırdığımız ilk basamakta, 5637 hücre hattı için IC_{50} değerlerini α - ve γ -mangostin için sırasıyla 9.7 ve 7.5 μ M, HT-1376 hücre hattı için ise yine aynı etken maddeler için sırasıyla 10 ve 4 μ M olarak belirledik. Mangostinin mesane kanserindeki etkisine ilişkin yapılmış tek çalışmada, gartanın ve α -mangostinin farklı mesane kanseri hücre hatlarındaki sitotoksik etkisi ve bununla birlikte apoptoz ve otofaji mekanizmaları üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Ancak, her ne kadar etken maddelerin tüm hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri belirlenmiş olsa da çalışmaya gartanın ve bizim çalışmamıza dahil olmayan farklı hücre hatlarıyla devam edilmiştir. Bu sebeple, verilerimizi karşılaştırmamız zorlaşmıştır. Buna rağmen, saptadığımız IC_{50} değerlerini değerlendirecek olursak bahsi geçen çalışmada α -mangostin ile muamele sonrası tespit edilmiş olan IC_{50} değerleri (5637 hücre hattı için 9.5 μ M, HT-1376 hücre hattı için 9.8 μ M) bizim çalışmamızın sonuçları ile uyum göstermektedir (Z. Liu vd., 2013).

Etken maddelerin hücre hatları üzerindeki apoptotik etkilerinin araştırıldığı ikinci basamakta ise her iki hücre hattında her iki etken maddenin sebep olduğu mitokondriyal membran potansiyelindeki değişiklikten kaynaklı gerçekleşen apoptozun doza bağlı olarak artış gösterdiğini saptadık. Ancak, en yüksek dozlarda bu artışı belirlemedik. Bunun sebebinin, yüksek doza bağlı hücre ölümünden dolayı hücre sayısının tespit için yeterli olmadığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Kaspaz 3- ve 7- aktivitelerindeki değişimleri değerlendirdiğimizde ise uygulanan son dozlarda aktivite artışı belirledik. Ancak, HT-1376 hücre hattının γ -mangostin ile muamelesi sonrasında bir fark tespit etmedik.

Otofajinin incelendiği son basamakta ise, 5637 hücre hattında her iki maddenin de otofajiyi farklı oranlarda tetiklediğini belirledik. Ancak, HT-1376 hücre hattında otofaji mekanizmasının çalışmadığını saptadık. Verilerini paylaşmadığımız klorokin ve rapamisin ile yaptığımız ön çalışmalarda hem kontrol grubunda hem de etken madde verilen gruplarda otofajinin negatif düzenlendiğini tespit ettik. Bu durumun hücre hattının farklı özelliklerinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tüm veriler değerlendirildiğinde hem α - hem de γ - mangostinin mesane kanseri hücre hatlarında etkili olduklarını ancak bu etkilerini farklı şekillerde gösterdiklerini düşünüyoruz. Hücre hatlarına ilişkin verilerdeki farklılıkların o hücrelerin başta tümör derecesi olmak üzere karakteristik özelliklerindeki farklılardan kaynaklandığı kanaatindeyiz. Çalışmalara, mekanizmaların daha net aydınlatılması amacıyla süreç ile ilişkili genlerin gen ve protein düzeyindeki ifade değişikliklerinin saptanmasına ilişkin çalışmalar ile devam edilmesinin kıymetli olacağını düşünüyoruz.



KAYNAKLAR

- Ahmadi-Dehlaghi, F., Mohammadi, P., Valipour, E., Pournaghi, P., Kiani, S., & Mansouri, K. (2023). Autophagy: A challengeable paradox in cancer treatment. *Cancer Medicine*, 12(10), 11542-11569. <https://doi.org/10.1002/cam4.5577>
- Aizat, W. M., Jamil, I. N., Ahmad-Hashim, F. H., & Noor, N. M. (2019). Recent updates on metabolite composition and medicinal benefits of mangosteen plant. *PeerJ*, 7, e6324. <https://doi.org/10.7717/peerj.6324>
- Aljunaid, M., Hariyani, N., Roestamadji, R. I., Ridwan, R. D., Kusumaningsih, T., & Qaid, H. R. (2020). Recent updates of the oral benefits of mangosteen plant extracts: Review. *Journal of International Dental and Medical Research*, 13(2), 752-757.
- Ashkenazi, A. (2008). Directing cancer cells to self-destruct with pro-apoptotic receptor agonists. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(12), 1001-1012. <https://doi.org/10.1038/nrd2637>
- Bai, Y., Mao, Q.-Q., Qin, J., Zheng, X.-Y., Wang, Y.-B., Yang, K., Shen, H.-F., & Xie, L.-P. (2010). Resveratrol induces apoptosis and cell cycle arrest of human T24 bladder cancer cells in vitro and inhibits tumor growth in vivo. *Cancer Science*, 101(2), 488-493. <https://doi.org/10.1111/j.13497006.2009.01415.x>
- Boot, I. W. A., Wesseliuss, A., Jochems, S. H. J., Yu, E. Y. W., Bosetti, C., Taborelli, M., Porru, S., Carta, A., Golka, K., Jiang, X., Stern, M. C., Kellen, E., Pohlabein, H., Tang, L., Karagas, M. R., Zhang, Z. F., Taylor, J. A., La Vecchia, C., & Zeegers, M. P. (2024). Fruits and vegetables intake and bladder cancer risk: A pooled analysis from 11 case-control studies in the BLadder cancer Epidemiology and Nutritional Determinants (BLEND) consortium. *European Journal of Nutrition*, 63(7), 2477-2498. <https://doi.org/10.1007/s00394-024-03436-5>
- Bose, S., Panda, A. K., Mukherjee, S., & Sa, G. (2015). Curcumin and tumor immune-editing: Resurrecting the immune system. *Cell Division*, 10(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s13008-015-0012-z>
- Chang, H.-F., Huang, W.-T., Chen, H.-J., & Yang, L.-L. (2010). Apoptotic Effects of γ -Mangostin from the Fruit Hull of *Garcinia mangostana* on Human Malignant Glioma Cells. *Molecules*, 15(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/molecules15128953>
- Chen, J.-J., Long, Zi-Jie, Xu, Dong-Fan, Xiao, Ruo-Zhi, Liu, Ling-Ling, Xu, Zhi-Fang, Qiu, Samuel X., Lin, Dong-Jun, & Liu, Q. (2014). Inhibition of autophagy augments the anticancer activity of α -mangostin in chronic myeloid leukemia cells. *Leukemia & Lymphoma*, 55(3), 628-638. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.802312>
- Cheng, D., Li, W., Wang, L., Lin, T., Poiani, G., Wassef, A., Hudlikar, R., Ondar, P., Brunetti, L., & Kong, A.-N. (2019). Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and PKPD Modeling of Curcumin in Regulating Antioxidant and Epigenetic Gene Expression in Healthy Human Volunteers. *Molecular Pharmaceutics*, 16(5), 1881-1889. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01246>
- Cho, C.-J., Yang, C.-W., Wu, C.-L., Ho, J.-Y., Yu, C.-P., Wu, S.-T., & Yu, D.-S. (2019). The modulation study of multiple drug resistance in bladder cancer by curcumin and resveratrol. *Oncology Letters*, 18(6), 6869-6876. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.11023>
- Chueh, K.-S., Lu, J.-H., Juan, T.-J., Chuang, S.-M., & Juan, Y.-S. (2023). The Molecular Mechanism and Therapeutic Application of Autophagy for Urological Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/ijms241914887>
- Ding, Y., Paonessa, J. D., Randall, K. L., Argoti, D., Chen, L., Vouros, P., & Zhang, Y. (2010). Sulforaphane inhibits 4-aminobiphenyl-induced DNA damage in bladder cells and tissues. *Carcinogenesis*, 31(11), 1999-2003. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq183>

- Ding, Y.-Y., Luan, J.-J., Fan, Y., Olatunji, O. J., Song, J., & Zuo, J. (2020). α -Mangostin reduced the viability of A594 cells in vitro by provoking ROS production through downregulation of NAMPT/NAD. *Cell Stress and Chaperones*, 25(1), 163-172. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-01063-2>
- Dobruch, J., & Oszczudłowski, M. (2021). Bladder Cancer: Current Challenges and Future Directions. *Medicina*, 57(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/medicina57080749>
- Dyrskjøt, L., Hansel, D. E., Efstathiou, J. A., Knowles, M. A., Galsky, M. D., Teoh, J., & Theodorescu, D. (2023). Bladder cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 9(1), 1-21. <https://doi.org/10.1038/s41572023-00468-9>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, & Bray F. (2024). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. <https://gco.iarc.who.int/today>
- Fukuda, M., Sakashita, H., Hayashi, H., Shiono, J., Miyake, G., Komine, Y., Taira, F., & Sakashita, H. (2017). Synergism between α -mangostin and TRAIL induces apoptosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity through the mitochondrial pathway. *Oncology Reports*, 38(6), 3439-3446. <https://doi.org/10.3892/or.2017.6030>
- Gielecińska, A., Kciuk, M., Yahya, E.-B., Ainane, T., Mujwar, S., & Kontek, R. (2023). Apoptosis, necroptosis, and pyroptosis as alternative cell death pathways induced by chemotherapeutic agents? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1878(6), 189024. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2023.189024>
- Jindarat, S. (2014). Xanthones from mangosteen (*Garcinia mangostana*): Multi-targeting pharmacological properties. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihe Thangphaet*, 97 Suppl 2, S196-201.
- Johnson, J. J., Petiwala, S. M., Syed, D. N., Rasmussen, J. T., Adhami, V. M., Siddiqui, I. A., Kohl, A. M., & Mukhtar, H. (2012). α -Mangostin, a xanthone from mangosteen fruit, promotes cell cycle arrest in prostate cancer and decreases xenograft tumor growth. *Carcinogenesis*, 33(2), 413-419. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr291>
- Jubber, I., Ong, S., Bukavina, L., Black, P. C., Compérat, E., Kamat, A. M., Kiemeny, L., Lawrentschuk, N., Lerner, S. P., Meeks, J. J., Moch, H., Necchi, A., Panebianco, V., Sridhar, S. S., Znaor, A., Catto, J. W. F., & Cumberbatch, M. G. (2023). Epidemiology of Bladder Cancer in 2023: A Systematic Review of Risk Factors. *European Urology*, 84(2), 176-190. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2023.03.029>
- Kamat, A. M., Sethi, G., & Aggarwal, B. B. (2007). Curcumin potentiates the apoptotic effects of chemotherapeutic agents and cytokines through down-regulation of nuclear factor- κ B and nuclear factor- κ B-regulated gene products in IFN- α -sensitive and IFN- α -resistant human bladder cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(3), 1022-1030. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-06-0545>
- Kim, M., Chin, Y.-W., & Lee, E. J. (2017). α , γ -Mangostins Induce Autophagy and Show Synergistic Effect with Gemcitabine in Pancreatic Cancer Cell Lines. *Biomolecules & Therapeutics*, 25(6), 609-617. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.074>
- Kim, M.-O., Lee, H.-S., Chin, Y.-W., Moon, D.-O., & Ahn, J.-S. (2015). Gartanin induces autophagy through JNK activation which extenuates caspase-dependent apoptosis. *Oncology Reports*, 34(1), 139-146. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3948>

- Konac, E., Kurman, Y., & Baltaci, S. (2021). Contrast effects of autophagy in the treatment of bladder cancer. *Experimental Biology and Medicine*, 246(3), 354-367. <https://doi.org/10.1177/1535370220959336>
- Krishnamachary, B., Subramaniam, D., Dandawate, P., Ponnuram, S., Srinivasan, P., Ramamoorthy, P., Umar, S., Thomas, S. M., Dhar, A., Septer, S., Weir, S. J., Attard, T., & Anant, S. (2019). Targeting transcription factor TCF4 by α -Mangostin, a natural xanthone. *Oncotarget*, 10(54), 5576-5591. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27159>
- Kritsanawong, S., Innajak, S., Imoto, M., & Watanapokasin, R. (2016). Antiproliferative and apoptosis induction of α -mangostin in T47D breast cancer cells. *International Journal of Oncology*, 48(5), 2155-2165. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3399>
- Kurose, H., Shibata, M.-A., Inuma, M., & Otsuki, Y. (2012). Alterations in Cell Cycle and Induction of Apoptotic Cell Death in Breast Cancer Cells Treated with α -Mangostin Extracted from Mangosteen Pericarp. *BioMed Research International*, 2012(1), 672428. <https://doi.org/10.1155/2012/672428>
- Lee, H. N., Jang, H. Y., Kim, H. J., Shin, S. A., Choo, G. S., Park, Y. S., Kim, S. K., & Jung, J. Y. (2016). Antitumor and apoptosis-inducing effects of α -mangostin extracted from the pericarp of the mangosteen fruit (*Garcinia mangostana* L.) in YD-15 tongue mucoepidermoid carcinoma cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 37(4), 939-948. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2517>
- Lenis, A. T., Lec, P. M., Chamie, K., & MSHS, M. (2020). Bladder Cancer: A Review. *JAMA*, 324(19), 1980-1991. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17598>
- Li, G., Petiwala, S. M., Nonn, L., & Johnson, J. J. (2014). Inhibition of CHOP accentuates the apoptotic effect of α -mangostin from the mangosteen fruit (*Garcinia mangostana*) in 22Rv1 prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(1), 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.09.054>
- Li, X., He, S., & Ma, B. (2020). Autophagy and autophagy-related proteins in cancer. *Molecular Cancer*, 19(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-1138-4>
- Lin, X., Wu, G., Huo, W.-Q., Zhang, Y., & Jin, F.-S. (2012). Resveratrol induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction in bladder carcinoma cells. *International Journal of Urology*, 19(8), 757-764. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2012.03024.x>
- Liu, H.-S., Ke, C.-S., Cheng, H.-C., Huang, C.-Y. F., & Su, C.-L. (2011). Curcumin-Induced Mitotic Spindle Defect and Cell Cycle Arrest in Human Bladder Cancer Cells Occurs Partly through Inhibition of Aurora A. *Molecular Pharmacology*, 80(4), 638-646. <https://doi.org/10.1124/mol.111.072512>
- Liu, Z., Antalek, M., Nguyen, L., Li, X., Tian, X., Le, A., & Zi, X. (2013). The effect of gartanin, a naturally- occurring xanthone in mangosteen juice, on the mTOR pathway, autophagy, apoptosis and the growth of human urinary bladder cancer cell Lines. *Nutrition and cancer*, 65(0 1), 68-77. <https://doi.org/10.1080/01635581.2013.785011>
- Lobo, N., Afferi, L., Moschini, M., Mostafid, H., Porten, S., Psutka, S. P., Gupta, S., Smith, A. B., Williams, S. B., & Lotan, Y. (2022). Epidemiology, Screening, and Prevention of Bladder Cancer. *European Urology Oncology*, 5(6), 628-639. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2022.10.003>
- Lopez-Beltran, A., Cookson, M. S., Guercio, B. J., & Cheng, L. (2024). Advances in diagnosis and treatment of bladder cancer. *BMJ*, 384, e076743. <https://doi.org/10.1136/bmj-2023-076743>

- Luo, M., Liu, Q., He, M., Yu, Z., Pi, R., Li, M., Yang, X., Wang, S., & Liu, A. (2017). Gartanin induces cell cycle arrest and autophagy and suppresses migration involving PI3K/Akt/mTOR and MAPK signalling pathway in human glioma cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 21(1), 46-57. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12937>
- Matsumoto, K., Akao, Y., Kobayashi, E., Ohguchi, K., Ito, T., Tanaka, T., Iinuma, M., & Nozawa, Y. (2003). Induction of Apoptosis by Xanthenes from Mangosteen in Human Leukemia Cell Lines. *Journal of Natural Products*, 66(8), 1124-1127. <https://doi.org/10.1021/np020546u>
- Matsumoto, K., Akao, Y., Yi, H., Ohguchi, K., Ito, T., Tanaka, T., Kobayashi, E., Iinuma, M., & Nozawa, Y. (2004). Preferential target is mitochondria in α -mangostin-induced apoptosis in human leukemia HL60 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(22), 5799-5806. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.08.034>
- Munday, R., Mhawech-Fauceglia, P., Munday, C. M., Paonessa, J. D., Tang, L., Munday, J. S., Lister, C., Wilson, P., Fahey, J. W., Davis, W., & Zhang, Y. (2008). Inhibition of Urinary Bladder Carcinogenesis by Broccoli Sprouts. *Cancer Research*, 68(5), 1593-1600. <https://doi.org/10.1158/00085472.CAN-07-5009>
- Negrette-Guzmán, M. (2019). Combinations of the antioxidants sulforaphane or curcumin and the conventional antineoplastics cisplatin or doxorubicin as prospects for anticancer chemotherapy. *European Journal of Pharmacology*, 859, 172513. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172513>
- Ovalle-Magallanes, B., Eugenio-Pérez, D., & Pedraza-Chaverri, J. (2017). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.): A comprehensive update. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 102-122. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.021>
- Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J. M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3227-3239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.024>
- Protzel, C., & Hakenberg, O. W. (2009). Emerging apoptosis agonists for bladder cancer. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 14(4), 607-618. <https://doi.org/10.1517/14728210903251708>
- Qian, S., Long, Y., Tan, G., Li, X., Xiang, B., Tao, Y., Xie, Z., & Zhang, X. (2024). Programmed cell death: Molecular mechanisms, biological functions, diseases, and therapeutic targets. *MedComm*, 5(12), e70024. <https://doi.org/10.1002/mco2.70024>
- Scolamiero, G., Pazzini, C., Bonafè, F., Guarnieri, C., & Muscari, C. (2018). Effects of α -Mangostin on Viability, Growth and Cohesion of Multicellular Spheroids Derived from Human Breast Cancer Cell Lines. *International Journal of Medical Sciences*, 15(1), 23-30. <https://doi.org/10.7150/ijms.22002>
- Seo, K. H., Ryu, H. W., Park, M. J., Park, K. H., Kim, J. H., Lee, M.-J., Kang, H. J., Kim, S. L., Lee, J. H., & Seo, W. D. (2015). Mangosenone F, A Furanoxanthone from *Garcinia mangostana*, Induces Reactive Oxygen Species-Mediated Apoptosis in Lung Cancer Cells and Decreases Xenograft Tumor Growth. *Phytotherapy Research*, 29(11), 1753-1760. <https://doi.org/10.1002/ptr.5428>
- Shan, T., Cui, X., Li, W., Lin, W., Lu, H., Li, Y., Chen, X., & Wu, T. (2014). α -Mangostin suppresses human gastric adenocarcinoma cells in vitro via blockade of Stat3 signaling pathway. *Acta Pharmacologica Sinica*, 35(8), 1065-1073. <https://doi.org/10.1038/aps.2014.43>
- Shi, J., Zhang, X., Shi, T., & Li, H. (2017). Antitumor effects of curcumin in human bladder cancer in vitro. *Oncology Letters*, 14(1), 1157-1161. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6205>
- Stephan, L. S., Almeida, E. D., Markoski, M. M., Garavaglia, J., & Marcadenti, A. (2017). Red Wine, Resveratrol and Atrial Fibrillation. *Nutrients*, 9(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/nu9111190>

- Tang, L., Zhang, Y., Jobson, H. E., Li, J., Stephenson, K. K., Wade, K. L., & Fahey, J. W. (2006). Potent activation of mitochondria-mediated apoptosis and arrest in S and M phases of cancer cells by a broccoli sprout extract. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(4), 935-944. <https://doi.org/10.1158/15357163.MCT-05-0476>
- Tian, B., Wang, Z., Zhao, Y., Wang, D., Li, Y., Ma, L., Li, X., Li, J., Xiao, N., Tian, J., & Rodriguez, R. (2008). Effects of curcumin on bladder cancer cells and development of urothelial tumors in a rat bladder carcinogenesis model. *Cancer Letters*, 264(2), 299-308. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.01.041>
- Wang, J. J., Sanderson, B. J. S., & Zhang, W. (2011). Cytotoxic effect of xanthenes from pericarp of the tropical fruit mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) on human melanoma cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2385-2391. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.051>
- Wang, K., Tan, S.-L., Lu, Q., Xu, R., Cao, J., Wu, S.-Q., Wang, Y.-H., Zhao, X.-K., & Zhong, Z.-H. (2018). Curcumin Suppresses microRNA-7641-Mediated Regulation of p16 Expression in Bladder Cancer. *The American Journal of Chinese Medicine*, 46(06), 1357-1368. <https://doi.org/10.1142/S0192415X18500714>
- Wang, M.-H., Zhang, K.-J., Gu, Q.-L., Bi, X.-L., & Wang, J.-X. (2017). Pharmacology of mangostins and their derivatives: A comprehensive review. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15(2), 81-93. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(17\)30024-9](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30024-9)
- Waseem, M., Kaushik, P., & Parvez, S. (2013). Mitochondria-mediated mitigatory role of curcumin in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cell Biochemistry and Function*, 31(8), 678-684. <https://doi.org/10.1002/cbf.2955>
- Wigner, P., Bijak, M., & Saluk-Bijak, J. (2021). The Green Anti-Cancer Weapon. The Role of Natural Compounds in Bladder Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), Article 15. <https://doi.org/10.3390/ijms22157787>
- Witjes, J. A., Bruins, H. M., Cathomas, R., Compérat, E. M., Cowan, N. C., Gakis, G., Hernández, V., Linares Espinós, E., Lorch, A., Neuzillet, Y., Rouanne, M., Thalmann, G. N., Veskimäe, E., Ribal, M. J., & van der Heijden, A. G. (2021). European Association of Urology Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2020 Guidelines. *European Urology*, 79(1), 82-104. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.03.055>
- Wudtiwai, B., Pitchakarn, P., & Banjerdpongchai, R. (2018). Alpha-mangostin, an active compound in *Garcinia mangostana*, abrogates anoikis-resistance in human hepatocellular carcinoma cells. *Toxicology in Vitro*, 53, 222-232. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.09.003>
- Zhang, C., Yu, G., & Shen, Y. (2018). The naturally occurring xanthone α -mangostin induces ROS mediated cytotoxicity in non-small scale lung cancer cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(6), 1090-1095. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.03.005>
- Zhang, H., Tan, Y., Zhao, L., Wang, L., Fu, N., Zheng, S., & Shen, X. (2020). Anticancer activity of dietary xanthone α -mangostin against hepatocellular carcinoma by inhibition of STAT3 signaling via stabilization of SHP1. *Cell Death & Disease*, 11(1), 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2227-4>
- Zhang, Y., & Tang, L. (2007). Discovery and development of sulforaphane as a cancer chemopreventive phytochemical. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(9), 1343-1354. <https://doi.org/10.1111/j.17457254.2007.00679.x>
- Zhou, C., Ding, J., & Wu, Y. (2014). Resveratrol induces apoptosis of bladder cancer cells via miR-21 regulation of the Akt/Bcl-2 signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 9(4), 1467-1473. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.1950>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Esra DEMİR
Eğitim	
Lise	Albay Cafer Tayyar Nuran Oğuz Anadolu Lisesi (2013)
Lisans	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi (2014-2019)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (2022-2025)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	Orta derece



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62
sagbilen@balikesir.edu.tr
<http://www.balikesir.edu.tr>



2025

BAÜN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA DEMİR