

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

***PİSTACIA TEREBİNTHUS*
(MENENGİÇ) REÇİNE EKSTRESİNİN MDA-MB-231
HÜCRE HATTINA ETKİSİ**

**Hazırlayan
Kerim FIRAT**

**Danışman
Doç. Dr. Mehtap NİSARİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Ocak 2023
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PİSTACIA TEREBİNTHUS
(MENENGİÇ) REÇİNE EKSTRESİNİN MDA-MB-231
HÜCRE HATTINA ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Kerim FIRAT**

**Danışman
Doç. Dr. Mehtap NİSARİ**

**Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2021-11155 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2023
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Kerim FIRAT
İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“*Pistacia Terebinthus* (Menengiç) Reçine Ekstresinin MDA-MB-231 Hücre Hattına Etkisi” adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Kerim FIRAT

Danışman

Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

Doç. Dr. Mehtap NİSARİ danışmanlığında **Kerim FIRAT** tarafından hazırlanan “*Pistacia Terebinthus* (Menengiç) Reçine Ekstresinin MDA-MB-231 Hücre Hattına Etkisi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

.../...../.....

JÜRİ

İmza

Danışman : Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

Üye : Prof. Dr. Zühal HAMURCU

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Ayşe ÖMERLİ

ONAY

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

...../...../.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyuncaengin bilgi ve deneyimlerini paylaşarak yetişmemi sağlayan, tez projemin planlanması, yürütülmesi ve yazılması konusunda göstermiş olduğu destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve aynı zamanda bölüm başkanımız olan sayın Doç. Dr. Mehtap NİSARİ'ye, araştırma laboratuvarı kullanımımı sağlayan, tezimin deneysel aşamalarında ve bulguların değerlendirilmesinde destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Zühal HAMURCU'ya ve Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Enstitüsü yüksek lisans öğrencisi İrem METİN'e teşekkürlerimi sunarım. Birikimlerinden yararlandığım bölüm hocalarım sayın Prof. Dr. Erdoğan UNUR, Prof. Dr. Harun ÜLGER, Dr. Öğr. Üyesi Hatice GÜLER, Dr. Öğr. Üyesi İlyas UÇAR, Dr. Öğr. Üyesi Özge AL, Öğr. Gör. Dr. Zeynep SARIMERMER YÜCEL'e, bölümümüzde bulunan tüm doktora ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma, Anatomi Anabilim Dalı yardımsever personeline teşekkür ederim.

Ayrıca TYL- 2021- 11155 proje kodu ile tez projemi destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Birim Personeline ve çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme, sevgili eşim Yağmur YAŞAR FIRAT'a ve oğlum Ekin FIRAT'a en derin duygularla teşekkür ederim.

Kerim FIRAT Kayseri, Aralık 2022

***PİSTACIA TEREBINTHUS* (MENENGIÇ) REÇİNE EKSTRESİNİN MDA-MB-231 HÜCRE HATTINA ETKİSİ**

Kerim FIRAT

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2022

Danışman: Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

ÖZET

Meme kanseri özellikle kadınlarda en fazla görülen ve en yüksek mortalite oranına sahip olan kanser türüdür. Çeşitli bitkilerde doğal olarak mevcut olan bazı bileşenlerin insanlarda kanserin önlenmesinde önemli ölçüde etkili olduğu bilinmektedir. *Pistacia terebinthus*'un ham özleri, uçucu yağları ve bazı triterpenoid bileşenleri, astrenjan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral ve uyarıcı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Pistacia terebinthus* (menengiç) reçine ekstresinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada reçine ekstresinin MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik dozu MTS analizi ile değerlendirildi. Reçine ekstresinin apoptoza etkisi Hoechst boyama ile incelendi. Kaspaz-3 ve bölünmüş kaspaz-3 protein ekspresyonları western blot analizi ile belirlendi. Görüntüler İmage J programına aktarılarak, istatistiksel analizleri GraphPad Prism programı ile yapıldı. Reçine ekstresinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında IC50 dozu 56.54 µg/ml olarak belirlendi. Hoechst boyama analizi ile kontrole göre 10 ve 100 µg/ml MRE konsantrasyonlarında apoptotik değişime uğrayan hücrelerde artış gözlemlendi. Kontrol grubuna göre 100 µg/ml reçine ekstresi verilen hücrelerde kaspaz-3 ve bölünmüş kaspaz-3 protein ekspresyonlarında anlamlı bir değişim gözlemlenmedi. *Pistacia terebinthus* reçinesinin MDA-MB-231 hücrelerinde kaspaz bağımsız apoptoz yolağı ya da diğer hücre ölüm yolları üzerinden hücre ölümüne neden olabileceği düşünüldü ve meme kanseri tedavisine destekleyici bir tedavi olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz; MDA-MB-231; *Pistacia terebinthus*; Reçine.

EFFECT OF *PISTACIA TEREBINTHUS* (MENENGIÇ) RESIN EXTRACT ON MDA-MB-231 CELL LINE

Kerim FIRAT

Erciyes University, Graduate School of Healthy Sciences

Department of Anatomy

M.Sc. Thesis, December 2022

Supervisor: Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

ABSTRACT

Breast cancer is the most common type of cancer, especially in women, and has the highest mortality rate. It is known that some components that are naturally present in various plants are significantly effective in preventing cancer in humans. Crude extracts, essential oils and some triterpenoid components of *Pistacia terebinthus* are used as astringent, anti-inflammatory, antimicrobial, antiviral and stimulant. In this study, it was aimed to evaluate the effect of *Pistacia terebinthus* (menengiç) resin extract on MDA-MB-231 breast cancer cell line. In the study, the cytotoxic dose of the resin extract in MDA-MB-231 cells was evaluated by MTS analysis. The effect of resin extract on apoptosis was examined by Hoechst staining. Caspase-3 and cleaved caspase-3 protein expressions were determined by western blot analysis. Images were transferred to Image J program and statistical analyzes were performed with GraphPad Prism program. IC50 dose of resin extract in MDA-MB-231 breast cancer cell line was determined as 56.54 µg/ml. With Hoechst staining analysis, an increase was observed in cells that underwent apoptotic change at 10 and 100 µg/ml MRE concentrations compared to the control. There was no significant change in caspase-3 and cleaved caspase-3 protein expressions in cells given 100 µg/ml resin extract compared to the control group. It was thought that *Pistacia terebinthus* resin might cause cell death in MDA-MB-231 cells via caspase-independent apoptosis pathway or other cell death pathways, and it was concluded that it could be a supportive treatment for breast cancer treatment.

Keywords: Apoptosis; MDA-MB-231; *Pistacia terebinthus*; Resin.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
İÇ KAPAK.....	
BİLMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Meme Anatomisi ve Fizyolojisi.....	3
2.2. Meme Kanseri.....	5
2.2.1. Meme kanseri epidemiyolojisi.....	5
2.2.2. Meme kanseri patogenezi.....	6
2.2.3. Meme kanseri risk faktörleri.....	7
2.2.3.1. Değiştirilemeyen risk faktörleri.....	7
2.2.3.2. Değiştirilebilir risk faktörleri.....	8
2.2.4. Meme kanseri belirtileri.....	10
2.2.5. Meme kanseri teşhisi.....	12
2.2.6. Meme kanseri evreleri.....	12
2.2.7. Meme kanseri tedavisi.....	14
2.3. Meme Kanseri Hücre Hatları.....	15
2.4. Apoptoz.....	15

2.4.1. Apoptozun intrinsik yolu.....	17
2.4.2. Apoptozun ekstrinsik yolu.....	17
2.5. Meme Kanseri Tedavisinde Tıbbi Bitkiler.....	18
2.6. Menengiç (<i>Pistacia Terebinthus</i>).....	19
2.6.1. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un kimyasal yapısı.....	20
2.6.2. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un geleneksel kullanımı.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Kullanılan Malzemeler.....	23
3.1.1. Demirbaş malzemeler.....	23
3.1.2. Sarf malzemeler.....	24
3.2. Menengiç Reçine Ekstresinin Hazırlanması.....	25
3.3. Hücre Hattı.....	26
3.4. Hücre Besiyeri.....	26
3.5. Hücrelerin Çözdürülmesi.....	27
3.6. Hücrelerin Sayımı.....	28
3.7. Hücrelerin Pasajlanması.....	29
3.8. Hücrelerin Dondurulması.....	29
3.9. Ekstre Stoğunun Hazırlanması.....	30
3.10. Sitotoksosite Testi (MTS Testi).....	30
3.11. Apoptoz Testleri.....	31
3.11.1. Hoechst boyama.....	31
3.11.2. Western blot analizi.....	31
3.12. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Menengiç Reçine Ekstresi (MRE)'nin Hücre Canlılığına Etkisi.....	34
4.2. Menengiç Reçine Ekstresi (MRE)'nin Hücrelerin Nükleer Morfolojisine Etkisi.....	35
4.3. Menengiç Reçine Ekstresi (MRE)'nin Apoptoz Sinyal Yolağına Etkisi.....	37

5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
7. KAYNAKLAR.....	44
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	



KISALTMALAR

a.:	Arteria
Apaf-1:	Apoptoz proteaz aktive edici faktör-1
CARD:	Kaspaz alım bölgesi
DEB:	Ölüm efektör bölgesi
DISC	Ölüme neden olan sinyal bölgesi
DMEM:	Dulbecco's modified eagle medium
DMSO:	Dimetil sülfoksit
DPBS:	Dulbecco's phosphate buffered saline
DPPH:	Difenil pikrilhidrazil
DR:	Ölüm reseptörü
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
ECL:	Enhanced chemiluminescence
EPT:	Östrojen progesteron reseptörü
ER:	Östrojen reseptörü
FADD:	Fas ilişkili ölüm alanı
FBS:	Fetal bovine serum
FSH:	Folikül uyarıcı hormon
GAE:	Gallik asit eşdeğeri
HER2:	İnsan epidermal büyüme faktörü 2
HRT:	Hormon replasman tedavisi
LH:	Lüteinizan hormon
MAPK:	Mitojen Aktive Protein Kinaz
m.:	Musculus
MOMP:	Mitokondriyal membran dışı membran geçirgenliği
MR:	Manyetik rezonans
MRE:	Menengiç reçine esktresi
MTS:	3 - (4,5 - dimetiltiyazol - 2 - yl) - 5 - (3 - karboksimetoksifenil) - 2 - (4 - sülfopenil) - 2H - tetrazolyum
n.:	Nervus
NT:	Ekstre eklenmeyen hücre
PI3K:	Fosfoinositid-3-kinaz

PR:	Progesteron reseptörü
ROS:	Reaktif oksijen türleri
TBS:	Tris tamponlu saline
TBS-T:	TBS-Tween 20 karışım Solüsyonu
TEAC:	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi
TNF:	Tümör nekroz faktör
TNFR:	Tnf reseptörü
TRADD:	Tnfr ilişkili ölüm alanı
USG:	Ultrasonografi
v.:	Vena



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1.	Meme anatomisi.....	4
Şekil 2.2.	Ülkemizde meme kanseri insidansı.....	6
Şekil 2.3.	Meme kanseri risk faktörleri	10
Şekil 2.4.	Meme kanseri evreleri (1., 2., 3, ve 4. evre meme kanseri).....	13
Şekil 2.5.	Apoptozun intrinsik ve ekstrinsik yolu.....	18
Şekil 2.6.	A: Menengiç bitkisi, B: Menengiç tohumu, C: Menengiç reçinesi.....	20
Şekil 3.1.	<i>Pistacia terebinthus</i> (Menengiç) reçinesi	25
Şekil 3.2.	MDA-MB-231 hücre hattı	26
Şekil 3.3.	Su banyosu	27
Şekil 3.4.	A: -80°C dondurucu, B: Laminar air flow	27
Şekil 3.5.	A: Santrifüj cihazı, B: Etüv	28
Şekil 3.6.	A: İnvvert mikroskop, B: Thoma lamı hücre sayımı	29
Şekil 3.7.	ELİSA okuyucu	30
Şekil 3.8.	Floresan mikroskop	31
Şekil 3.9.	Western yürütme tankı	32
Şekil 3.10.	ChemiDoc cihazı	33
Şekil 4.1.	MTS analiz yöntemi ile MRE'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki 24. saat sitotoksitesitesi	34
Şekil 4.2.	MTS analiz yöntemi ile MRE'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki IC50 dozu	35
Şekil 4.3.	MRE'ye maruz kalan ve Hoechst boyası ile boyanan MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri	36
Şekil 4.4.	MDA-MB-231 hücrelerinde MRE ve kontrol grubunun A: Kaspaz-3, bölünmüş kaspaz-3 (Cl-caspase-3) ve β -aktin protein ekspresyonlarının Western Blot görüntüleri, B: Kaspaz-3 protein ekspresyonu, C: Bölünmüş kaspaz-3 protein ekspresyonu sonuçları	37

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, insan sağlığı için önemli bir tehdit olup, dünyada kalp damar hastalıklarından sonra ölüm nedeni olarak ikinci sırada yer almaktadır (Wang, 2017). Meme kanseri ise özellikle kadınlarda en fazla görülen ve en yüksek mortalite oranına sahip olan kanser türüdür (Sung ve ark., 2021).

Son zamanlarda sağlık konusunda hassasiyetin artması, hızla artan hastalıklara karşı kullanılan sentetik ilaçların yetersizliği ve bu ilaçların bazı yan etkilerinin olduğunun belirlenmesi, doğal/bitkisel ürünlerin kullanımına olan eğilimde artışa neden olmuştur (Çiftçi Yegin, 2017). Çeşitli bitkilerde doğal olarak mevcut olan bazı bileşenlerin kanserin önlenmesinde önemli ölçüde etkili olduğu bilinmektedir. Kanser baskılayıcı ya da önleyici özelliğe sahip olan bu doğal bileşenlerin insanlarda düşük toksisitesi olduğu ve tedavi esnasında hastaların ağrılarını azaltacak etkiye sahip olabildiği belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, bitkilerde doğal olarak bulunan bileşenlerin kanseri tedavi edici etkisinin kullanılan sentetik ilaçlara göre daha az olduğu, fakat bu bileşenlerin çeşitli kombinasyonlarının tedavideki etkinliğini önemli oranda artırdığı bildirilmektedir (Jiang ve ark., 2017; Wang ve ark., 2012). Bu nedenle, kanserin tedavi edilmesinde çeşitli türdeki doğal kanser baskılayıcıların doğru kombinasyonlarının keşfedilmesi büyük önem arz etmektedir. Literatür incelendiğinde menengiç bitkisinin yüksek antioksidan içerdiği görülmüştür (Özcan ve ark., 2020). Ayrıca menengiç bitki ekstresinin meme kanseri oluşturulmuş ratlarda antikanser etki gösterdiği rapor edilmiştir (Erdem Erişir, 2020). Mevcut literatüre göre, menengiç reçine ekstresinin (MRE) meme kanseri hücre hatlarında sitotoksik etkileri ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada *Pistacia terebinthus*

(menengiç) reçine ekstresinin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hattında sitotoksik ve apoptoz sinyal yolağına olası etkisini değerlendirilmesi amaçlandı.



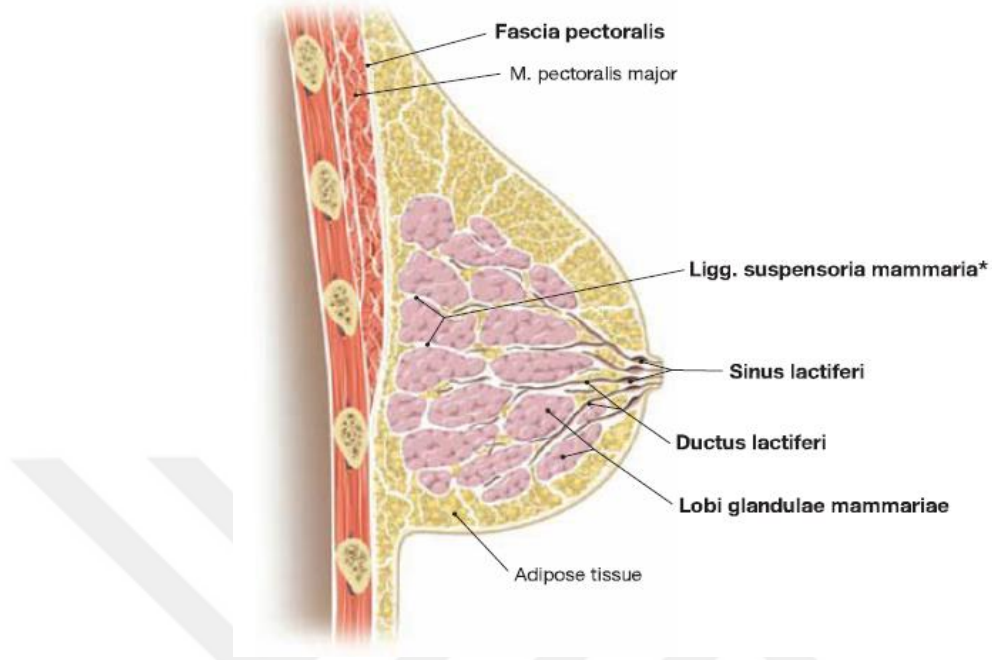
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Anatomisi ve Fizyolojisi

İnsanlarda meme yağ ve bağ dokusu ile süt bezlerinden oluşmaktadır. Her meme, 15-20 lobdan oluşmakta ve her bir lobda birçok lobül bulunmaktadır. Meme başını çevreleyen renkli ve pütürlü alana areola mammae denir. Göğüs ön duvarının üzerinde 2. ve 6. kostalar arasında, sternumun lateralinden linea axillaris medianaya kadar uzanmaktadır. Koltuk altına kadar uzanan processus axillaris (Spence'nin kuyruğu) adı verilen meme kuyruk bölümü vardır. 4., 5. ve 6. nervus (n.) intercostalislerin rami cutaneus lateralis ve anterior dalları ile memenin sinirsel uyarımı olmaktadır. 4. n. intercostalisin dalları meme başını innerve etmektedir. Bunlara ek olarak 2., 3. ve 6. n. intercostalisin rami cutaneus lateralis ve anterior dalları ile C3 ve C4' ten çıkan n. supraclavicularis de innerve edebilmektedir. Hangi sinirlerin memeyi innerve ettiği kişiden kişiye değiştiği gibi aynı kişinin her iki memesinde de değişebilmektedir. Arteria (a.) axillarisin dalları, a. intercostalis posterior ve a. thoracica interna memenin kanlanmasını sağlayan arterlerdir. Venöz drenajı ise areola mammae çevresindeki plexus venosus areolaristen (Haller plexusu) başlayıp vena (v.) axillaris ve v. thoracica internaya açılır. Memenin lenfatik drenajı başlıca nodi axillaresdir. Ancak hem nodi axillares hem de nodi parasternales akım gerçekleşebilmektedir. Aksiller bölgede 20-40 adet musculus (m.) pectoralis minör komşuluğuna göre sınıflandırılan aksiller lenf nodu vardır:

- a) Alt grup; m. pectoralis minör inferior ve lateralinde
- b) Orta grup; m. pectoralis minör posteriorunda

c) Üst grup; m. pectoralis minör üst kısmının superiorunda (Şekil 2.1.) (Arıncı ve Elhan, 1997; Cabioglu, 2012; Moore ve Dalley, 1992).



Şekil 2.1. Meme anatomisi (Klonish ve Hombach, 2011).

Memenin başlıca vazifesi süt oluşumunu sağlamasıdır. Meme dış bölgesi diğer bölgeler ile mukayese edildiğinde daha fazla salgısal doku muhteva etmektedir ve bunun sonucu olarak lezyon oluşumu bu bölgede diğerlerine kıyasla daha sık gözlemlenebilir. Meme bezi boyutu; genetik faktörler, yaş, gebelik gibi etkenlere bağlı olarak farklılık sergileyebilir. Meme şeklini değiştiren bir diğer faktör ise yağ doku miktarıdır. Meme gelişimi hormonlar tarafından düzenlenmektedir. Erken ergenlik döneminde östrojen salgılanması görülmektedir. Hipotalamustan salgılanan hormonlar hipofize gelerek buradan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH) salgılanmasını sağlar. FSH vazifesi over foliküllerinin gelişimini uyarmaktır ve over foliküllerinde östrojen salgısı mevcuttur. Östrojen etkisinde cinsel organ ve meme gelişimi meydana gelmektedir. Yumurtlama görülmeyen dönemde ise östrojen memede bağ doku gelişimini, damarlaşmayı ve yağ doku stoklanmasını teşvik etmektedir. Yumurtlama evresinde progesteron hormonu salgılanması gözlemlenir. Östrojen ve progesteron hormonları etkisinde, meme gelişimi devam etmektedir (Alowami et al., 2003; Değerli, 1998).

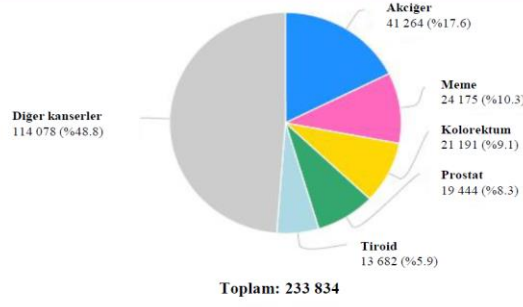
2.2. Meme Kanseri

Kanser; epigenetik değişimler, kopya sayısı sapmaları ve genetik mutasyonlarla seyreden hücre proliferasyonu, canlılık, yenilenme, ölüm, invazyon ve değişik hücrelerde sinyal yollarının bozulmasına yol açan karmaşık ve farklılaşmış hastalıklardır (Clarke ve Fisher, 2020). Mitojen aktive protein kinaz (MAPK) sinyali, fosfoinositid-3- kinaz (PI3K) / mTOR sinyali, Wnt sinyali, p53 sinyali, östrojen sinyali ve benzeri gibi kontrollü hücre büyümesinden sorumlu olan birçok etkili metabolik yol vardır (Sobocan ve ark., 2020). Bu metabolik yollardan biriyle direkt ya da dolaylı yoldan ilişkili olan gen ürünlerinde meydana gelen anomali, genomik istikrarsızlığa yol açabilir, mekanizmaların bozulmasına neden olabilir ve doku etrafındaki kan damarlarında artışla sonuçlanabilir. Böylece hücreler, uygun moleküler kontrol noktası denetleyicileri olmadan bölünür ve dokuda tümörojenik bölgeler oluşturur. Aslında tümörlerin kendileri çoğunlukla ölümcül değildir, bu tümörlerin asıl tehlikesi aşırı moleküler özellikler kazanmaları ve diğer vücut dokularına yayılmak ve istila etmek için kendilerini geliştirmeleridir. Bu duruma metastaz denir ve kanser ölümlerinin genelini oluşturur (Park ve ark., 2020).

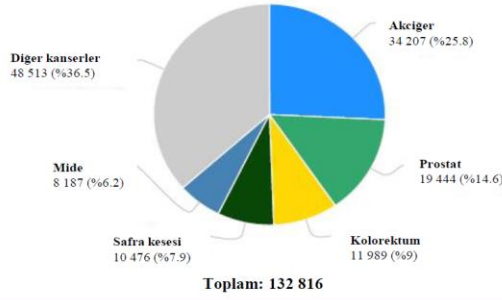
2.2.1. Meme kanseri epidemiyolojisi

Meme kanseri, meme bezi epitel dokusundan gelişen kadın malign neoplazmidir ve dünya çapında kadınlar arasında yüksek oranda ölümlere sebebiyet verici en yaygın görülen kanser türlerindedir (Li ve Han, 2018). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2020 yılındaki raporuna göre meme kanseri dünya genelinde %11.7 görülme oranı ile en sık görülen kanser türü iken, ülkemizde de %10.3'lük görülme oranı ile akciğer kanseri ile birlikte en sık görülen kanserler arasındadır. Dünya genelinde kadınlardaki insidansı %24.5 iken ülkemizde %23.9'dur (Şekil 2.2.) (Dünya Sağlık Örgütü, 2021).

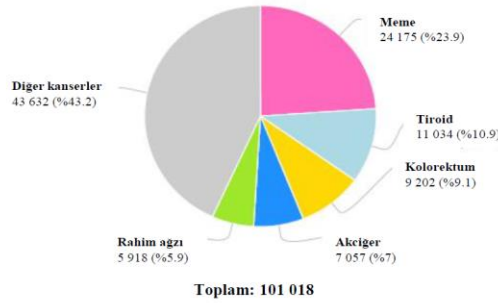
Her iki cinsiyet ve her yaştan 2020'deki yeni vaka sayısı



Erkeklerde her yaştan 2020'deki yeni vaka sayısı



Kadınlarda her yaştan 2020'deki yeni vaka sayısı



Şekil 2.2. Ülkemizde meme kanseri insidansı (Dünya Sağlık Örgütü, 2021).

2.2.2. Meme kanseri patogenezi

Meme kanseri genelde çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi ile oluşur. PI3K/AKT yolu ve RAS/MEK/ERK yolu, normal hücreleri intihardan korur. Bu koruyucu yolları kodlayan genler mutasyona uğradığında, hücreler artık ihtiyaç duyulmadığında intihar edemez hale gelir ve bu da kanser gelişimine yol açar. Bu mutasyonların deneysel olarak östrojen maruziyetiyle bağlantılı olduğu kanıtlanmıştır. Büyüme faktörleri sinyalizasyonundaki anormalliklerin maling hücre büyümesini kolaylaştırabileceği öne sürülmüştür. Leptinin meme yağ dokusunda aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunun artmasına ve kansere yol açmaktadır.

Meme kanseri gelişiminde ailesel yatkınlığa kalıtsal meme-yumurtalık kanseri sendromu denir. p53, BRCA1 ve BRCA2 gibi kanserle ilişkili bazı mutasyonlar, kontrolsüz bölünmeye, bağlanma eksikliğine ve uzak organlara metastaza yol açan DNA'daki hataları düzeltmek için mekanizmalarda meydana gelir. BRCA1 veya BRCA2 genlerindeki kalıtsal mutasyon, DNA çapraz bağlarının ve DNA çift zincir kırıklarının onarımını engelleyebilir. GATA-3, östrojen reseptörünün (ER) ve epitelyal farklılaşma ile ilişkili diğer genlerin ekspresyonunu doğrudan kontrol eder. GATA-3'ün kaybı, artan kanser hücresi invazyonunu artırır ve uzak metastaz nedeniyle farklılaşmanın inhibisyonuna ve kötü prognoza yol açmaktadır (Kabel ve Baali, 2015).

2.2.3. Meme kanseri risk faktörleri

Meme kanseri risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemeyen risk faktörleri olmak üzere iki başlık altında incelenebilir (Şekil 2.3.)

2.2.3.1. Değiştirilemeyen risk faktörleri

- **Genetik:** BRCA1 ve BRCA2 genleri, meme kanserinin altında yatan tek büyük yüksek penetrasyonlu genler olabilir (Collins ve Politopoulos, 2011).
- **Cinsiyet:** Kadın cinsiyet en güçlü risklerdendir. Günümüzde her 8 kadından biri ömrü süresince meme kanseri olma riski ile karşı karşıyadır (DeSantis ve ark., 2014)
- **Yaş:** Yaş hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir yere sahiptir. İleri yaş ile meme kanseri insidansındaki artış paralellik göstermektedir. Meme kanserlerinin neredeyse tamamı (%90-95'i) >40 yaş kadınlarda görülmektedir (Parlar ve ark., 2005).
- **Aile öyküsü:** Hastaların %15'inin ailesinde kanser öyküsü olduğu gözlenmiştir (Colditz ve ark., 2012).

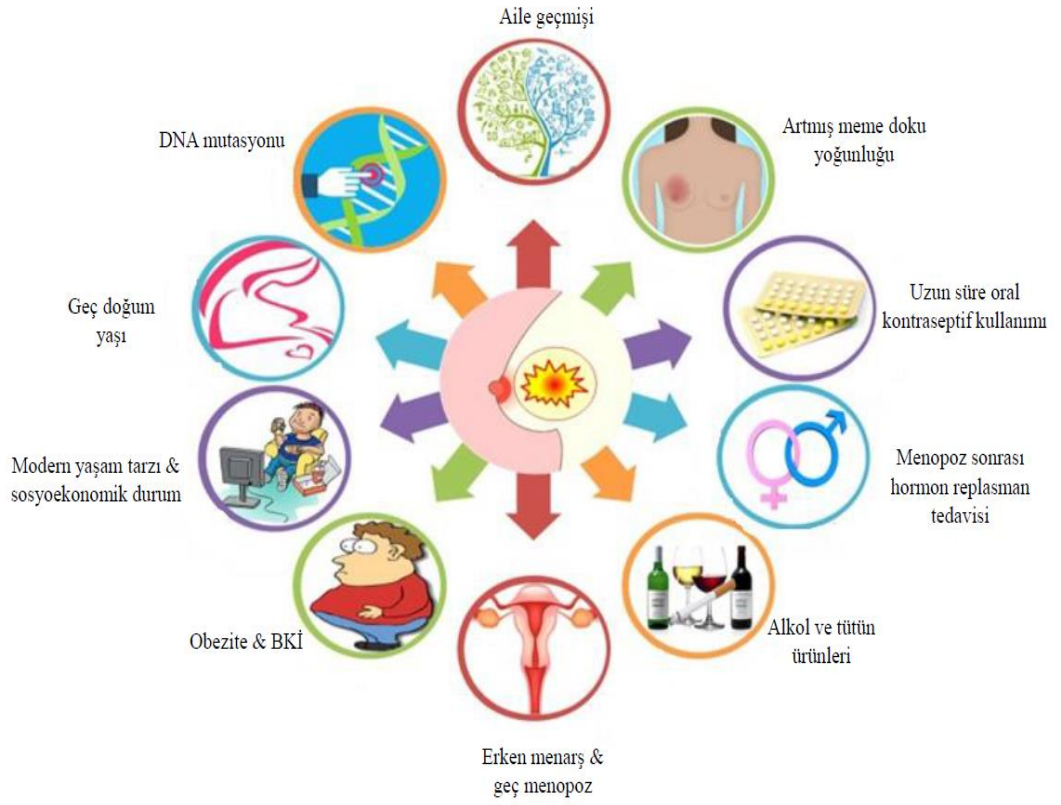
- **İyi huylu meme hastalıkları:** Kist, hiperplazi ve fibroadenom gibi bazı benign meme rahatsızlıklarına sahip kadınlarda risk daha yüksek olabilmektedir (Hartmann ve ark., 2005)
- **İrk ve etnik faktörler:** Beyaz kadınlardaki risk Afrikalı Amerikalılara göre biraz daha fazladır, ancak aradaki fark son yıllarda azalmıştır. Afrikalı Amerikalı kadınlarda da ölüm riski her yaşta daha yüksektir. Hispanik, Asyalı ve Yerli Amerikalı kadınlarda meme kanseri oluşum ve kanserden ölme riski daha azdır (Lorona ve ark., 2021).
- **Menstrüel öykü:** Erken regl dönemi (<12 yaş) ve 55 yaşından sonra menopoza başlama, hormonlara daha uzun süre maruziyete neden olduğu için riski artırmaktadır (Rojas ve Stuckey, 2016).
- **Meme kanseri öyküsü:** Daha önce meme kanseri hikayesi olan ve tedavi almış olan kadınların, diğer memelerinde kanser olasılığının meme kanseri olmamış olanlara göre 3-4 kat daha fazladır (Campbell, 2002).
- **Uzun olmak:** Uzun boylu kadınlarda kısa kadınlara göre risk fazla olabilmektedir. Bunun nedeni net olarak tanımlanmamış olmakla birlikte, beslenme, hormonal ya da genetik faktörlerle ilişkili olabileceği söylenmektedir (Escala- Garcia ve ark., 2020).
- **Meme doku yoğunluğu:** Yoğun göğüslerde bağ dokusu yağ dokusundan daha fazla olduğu için mamografide tümörü görmeyi güçleştirebilmektedir. Dolayısı ile risk daha fazladır (Howell ve ark., 2014).
- **Göğüste radyasyon maruziyeti:** Farklı bir kanser için alınan radyoterapi, ileride meme kanseri oluşum riskini artırabilir (Hill ve ark., 2005).

2.2.3.2. Değiştirilebilir risk faktörleri

- **Doğum yaşı ve sayısı:** İlk doğumun ileri yaşta olması ya da daha hiç doğum yapmamak riski artırmaktadır. Bu riski azaltan durum ise gebelik ve emzirme

döneminde östrojen hormonun düşmesinden kaynaklanmaktadır (Rosato ve ark., 2014).

- **Emzirme:** Çoğu çalışma ≥ 1 yıl emzirmenin riski azaltabileceğini ileri sürmektedir. Çünkü emzirmenin uzun olması yaşam döngüsündeki adet sayısının az olmasına neden olmaktadır. Uzun süre östrojene maruziyet riski artırmaktadır. Gebelik ve emzirme döneminde östrojen seviyelerinde düşüş olduğu için ≥ 1 yıl süre boyunca emzirme riski azaltmaktadır (Rojas ve Stuckey, 2016).
- **Doğum kontrolü ve hormon tedavileri:** Oral kontraseptiflerin riski artırabileceği belirtilmektedir. Hormon replasman tedavisinin (HRT), özellikle östrojen-progesteron tedavisinin (EPT) riskte artışla ilişkilendirilmiştir (Rojas ve Stuckey, 2016).
- **Alkol alımı:** Orta düzeyde alkol tüketimi, meme kanseri riskinde yaklaşık %30-50 artışla ilişkilendirilmiştir. Hücre kültürü, hayvan ve insan çalışmaları, alkolün meme kanseri patogeneğinde rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. En yaygın olarak araştırılan yollar, hem etanol metabolitlerinin kanserojen rolünden hem de alkolün östrojen seviyelerini değiştirmedeki rolünden kaynaklanmaktadır (McDonald ve ark., 2013).
- **Beslenme:** Başta doymuş yağlar olmak üzere aşırı yağ alımının hastalarda mortalite ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca normal ağırlıktaki kadınlara kıyasla hafif şişman veya obez kadınlarda riskin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Sun ve ark., 2017).
- **Fiziksel inaktivite:** Özellikle menapoz sonrası düzenli fiziksel aktivitenin riski azalttığı düşünülmektedir. Ancak bu azalışı nasıl sağladığı net değildir; inflamasyon, vücut ağırlığı, enerji dengesi üzerindeki etkileri ve hormonlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (de Boer ve ark., 2017).



Şekil 2.3. Meme kanseri risk faktörleri (Harwansh ve Deshmukh, 2020).

2.2.4. Meme kanseri belirtileri

Memenin boyutu, şekli ve yapısı; menstürasyon durum, hormonal durum, yaş, gebelik, laktasyon ve genetik gibi birçok faktörden etkilenir. Genellikle kadınlarda her iki meme boyutlarında farklılık görülmektedir. Boyut farkı adölesan dönemde başlar ve yaşam boyu sürer. Meme yapı itibarıyla homojen değildir. Üst dış kadranda glandüler yapının en fazla bulunduğu bölgedir. Bu yüzden meme kanseri genellikle üst dış kadranda oluşmaktadır (Bland ve ark., 2017). Yerleşim yeri üst dış kadrandan başlayarak santral, üst iç, alt dış, alt iç kadranda şeklinde devam etmektedir (Tasdelen, 2012).

- **Kitle:** Meme kanserinin en önemli belirtisi kitledir (Tasdelen, 2012). Memede kitle ağrısız, sert ve çevre doku ile yapışık ve doku ile hareket edebilme özelliği olmasından dolayı memede bulunan benign tümörlerden ayrılmaktadır (Koo ve ark., 2017).

- **Meme Başında Retraksiyon:** Memede nipple areola kompleksi gerisinde bulunan kitleler fibrozis nedeniyle klinik belirti şeklinde deri ve meme başı retraksiyonu şeklinde görülebilmektedir. Meme kanseri fibrozisle ilerleyen malign süreçtir ve bu fibrotik komponent tümörün üstündeki deride veya yakınındaki deride retraksiyonun sebebi olabilir (Tasdelen, 2012).
- **Eritem ve Ülserasyon:** Meme kanserinde iki nedenle eritem oluşabilmektedir. İlk olarak, tümör meme derisine yaklaştığında venöz değişiklikler oluşturarak deride eriteme neden olmaktadır. Bu, tümörün üzerinde bulunan küçük bir alanda oluşmaktadır. Lokal süreç ilerledikçe deriyi infiltre ettiği için ilk başta deride beslenme bozukluğuna, sonra ise ülserasyona neden olmaktadır. İkinci olarak, inflamatuvar meme kanseri belirtisi ile eritem oluşmaktadır. Bu nedenle oluşan eritem, yaygın ve geniş bir alanda bulunmaktadır. Deri; gergin, parlaktır ve meme içindeki kitleyi palpe etmek zordur. İnflamasyona çok benzemektedir bu nedenle apseyle karışabilmektedir (Tasdelen, 2012).
- **Ödem:** Meme kanserinde ödem, meme derisinin lenfatik drenajındaki bir tıkanıklık nedeniyle oluşur. Memedeki tümör hücreleri, derinin yüzeysel lenf nodlarını tıkayarak meme derisinin lenf dolaşımının bozulmasına neden olur. Meme derisindeki belirgin ödem, deriyi kalınlaştırarak kıl foliküllerinin içeriye çekilmesini sağlar. Ödem memede görülen şişlik olarak algılanabilir ve şişliğin ileri döneminde portakal kabuğu görüntüsü (peau d'orange) oluşmaktadır (Tasdelen, 2012).
- **Lenf nodlarında büyüme:** Memede; aksilar, servikal, infraklavikular ve supraklavikular lenf nodları bulunmaktadır. Bu nodların şişliği enfeksiyona bağlı oluşabileceği gibi malign tümör metastazına bağlı da olabilmektedir (Tasdelen, 2012).
- **Meme Başı akıntısı:** Meme başının akıntısı genellikle benign nedenlerden kaynaklanmaktadır. Ancak meme başı akıntısı görülen kadınların %2-15'inde ve erkeklerin ise %20'sinde görülen meme başı akıntısı meme kanserinden kaynaklı oluşmaktadır. Özellikle kitleyle beraber görülen meme başı akıntısında meme kanseri riski artar. Akıntının; kanlı, spontan ve tek taraflı olması meme kanseri şüphesini arttırmaktadır (Tasdelen, 2012).

- **Ağrı:** Memedeki ağrı genellikle fizyolojik ya da bening temelli olmakla beraber meme kanserinin ileri evre belirtileri olarak da görülebilmektedir (Owen ve ark., 2019).

2.2.5. Meme kanseri teşhisi

- **Kendi kendine muayene:** Teşhis için kadının kendi kendine muayenesi oldukça önemlidir, çünkü kadınların memelerinin normal görünüşlerini ve nasıl hissettiklerini bilmeleri meme sağlığının en önemli parçasıdır (L. Wang, 2017).
- **Görüntüleme:** Tarama testleri, meme kanserinde belirtiler ortaya çıkmadan önce teşhis için oldukça önemlidir. Meme kanserinde erken teşhis tedavinin olumlu sonuçlanmasını beraberinde getirmektedir. Memenin mamografiyle taranması çok önemli olup bunun yanında ultrasonografiden (USG) de yararlanılmaktadır. Ek olarak, manyetik rezonans (MR) görüntüleme yöntemi de meme kanseri teşhisinde kullanılmaktadır (L. Wang, 2017).

Mamografi, USG ve MR görüntüleme yöntemleri meme kanseri teşhisinde kullanılmaktadır. Meme kanserinin erken teşhisi için 40 yaşından itibaren her yıl düzenli olarak tarama mamografisi yapılması önerilmektedir. Ancak, mamografi her meme kanserini bulamayabilir. Bu yüzden, kadınların kendilerini düzenli olarak kendi kendine muayene yöntemiyle kontrol etmeleri gerekmektedir. Bir dokunun mikroskopik olarak incelenmesi, meme kitlesini değerlendirir ve kesin teşhisin konulmasını sağlar. Meme kanserleri tanısının koyulabilmesi için klinik değerlendirme, görüntüleme yöntemleri ve biyopsi gibi patolojik yaklaşımların beraber ele alındığı teşhis yöntemleri birlikte kullanılmalıdır (L. Wang, 2017).

2.2.6. Meme kanseri evreleri

Meme kanserinde evrelemenin; hastaları farklı prognostik kategorilere ayırarak klinik araştırma sonuçlarının ve terapötik sonuçların karşılaştırılmasını kolaylaştırdığı bilinmektedir (Hortobagyi ve ark., 2018).

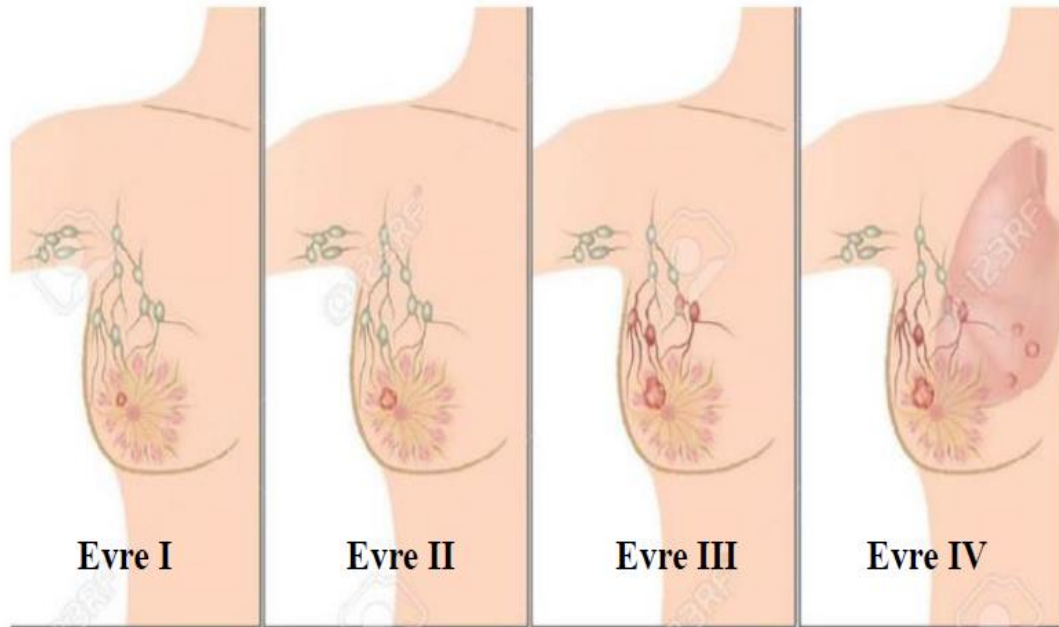
Evre 0: Kanserli ve kanserli olmayan hücrelerde, tümörün büyümeye başladığı meme bölümünde bulunduğunu ve bölümü çevreleyen dokularda tümör bulunmadığını ve tümörün invazif özellik göstermediği evredir (Bednarek ve ark., 1997).

Evre I: Bu evre “invaziv meme kansinomu” olarak isimlendirilir. Mikroskopik invazyon görülebilir. Evre IA ve IB olarak kategorize edilir ve evre IA’da meme tümörü 2 cm’ye kadar olabilir ve lenf nodları dahil değildir. Evre IB’de, lenf nodlarında 0,2 mm’den daha büyük küçük bir kanser hücresi grubu bulunmaktadır (Segal ve ark., 2001).

Evre II: Evre IIA ve IIB olarak kategorize edilir. Evre IIA’da, lenf düğümlerinde tümör bulunmaktadır. Ancak memede tümör bulunmamaktadır. Tümör 2-5 cm arasında olmaktadır. Evre IIB’de, tümör 5 cm’den büyüktür, ancak lenf düğümlerinde bulunmamaktadır (Moran ve ark., 2014).

Evre III: Evre IIIA, IIIB ve IIIC olarak kategorize edilir. Evre IIIA’da, memede tümör bulunmazken lenf düğümlerinde bulunabilir. Evre IIIB’de tümör boyutu farklılık gösterebilir, ancak ciltte şişme ya da ülserlere neden olmaktadır. Ayrıca evre IIIB’de, inflamasyonla seyreden kırmızı, sıcak ve şiş meme derisi bulunmaktadır. Evre IIIC’de ise, tümör lenf noduna yayılmıştır (Jacquillat ve ark., 1990).

Evre IV: Meme kanseri memenin ötesine beyin, akciğerler, karaciğer ve kemikler gibi vücudun diğer bölgelerine uzak metastaz yapmıştır (Neuman ve ark., 2010) (Şekil 2.4.)



Şekil 2.4. Meme kanseri evreleri (1., 2., 3., 4. evre meme kanseri) (Siddique ve ark., 2020).

Meme kanseri evreleri; tümör tipine, boyutuna ve hücrelerin meme dokusuna nüfuz etme oranına bağlıdır (Heim ve ark., 1997).

2.2.7. Meme kanseri tedavisi

Meme kanserinde uygulanan tedavi yöntemlerini belirlemek için kanserin evresi, hastanın menapozu girip girmediği ve hastanın yaşı önemlidir. Cerrahi operasyonlar, radyoterapi, kemoterapi ve hormonal tedaviler en sık başvuru olan tedavi türlerindedir (Hwang ve ark., 2013).

- **Cerrahi Operasyonlar:** Cerrahi operasyonlar, meme kanserinde ilk ve en fazla tercih edilen tedavi yöntemidir. Kanserinin yerine, yapısına, metastazına göre uygulanacak iki farklı cerrahi operasyon yöntemi bulunmaktadır. İlk yöntem, bölgesel mastektomi olarak adlandırılan tümörün alındığı operasyonlardır. İkinci yöntemde ise, total mastektomi ile tüm meme alınmaktadır (Fisher ve ark., 2002).
- **Radyoterapi:** Radyoterapi ile tedavi yönteminde, yüksek enerjili ışınlar kullanılarak iki şekilde tedavi uygulanmaktadır. Tümör büyükse cerrahi operasyondan önce tümörü küçültmek ya da tümörün boyutu küçükse operasyondan sonra kalan tümör hücrelerini öldürmek için radyoterapi ile tedavi yapılmaktadır. Radyoterapinin hedefi, doğrudan DNA yapısını bozmak ya da serbest radikal oluşumunu sağlayarak dolaylı olarak DNA'ya hasar verip tümör hücreleri yok etmektir (Chew, 2001).
- **Kemoterapi:** Kemoterapi; kanser hücrelerini zayıflatarak, öldürerek ve yeniden ortaya çıkmasını engelleyerek anti-kanser ilaçların kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. Bazı durumlarda kemoterapi, cerrahi operasyon öncesi tümör boyutunu küçültmek amacıyla ya da üçlü reseptör negatif hastalarda neo-adjuvan olarak uygulanabilmektedir. Bazı durumlarda ise, cerrahi operasyon sonrası kalan tümör hücrelerini yok etmek amacıyla kemoterapi adjuvan tedavi yöntemi olarak uygulanabilmektedir (Pritchard ve ark., 2006).
- **Hormonal tedavi:** Östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü olmak üzere iki reseptör meme kanserinde bulunmaktadır. Meme kanserinin hormonal tedavisi bu reseptörlerin tümör büyümesine olan katkısını azaltmayı hedeflemektedir. Bu tedavide, ER antagonisti ajanlarla ER reseptörleri inhibe edilir ya da direkt östrojen sentezini baskılayan ajanlar kullanılır (Dowsett, 2001; Vogel ve ark., 2006).

- **Hedefe yönelik tedavi:** Uygulanan diğer tedavilerin komplikasyonlarını azaltmak için monoklonal antikörlerin, tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. Kemoterapiye göre daha avantajlı olmasına rağmen iyileşme üzerine kesin bir yanıt alınamamıştır (Romond ve ark., 2005; Slamon ve ark., 2011).

2.3. Meme Kanseri Hücre Hatları

Hücre hatları, başta kanser araştırmaları olmak üzere çeşitli araştırmalarda in vitro modeller olarak yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle kanserin moleküler tanısında anahtar öge gibi görünmektedir (Comşa ve ark., 2015).

MDA-MB-231 hücre hattı, metastatik meme adenokarsinomu olan 51 yaşındaki beyaz bir kadının plevral efüzyonundan elde edilmiştir. Epiteyal özellikte bir hücre dizisidir ve tıbbi araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Cailleau ve ark., 1978). MDA-MB-231 oldukça agresif, ER ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonunun yanı sıra insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) amplifikasyonundan yoksundur. Bu nedenle oldukça invaziv, agresif ve kötü farklılaşmış üçlü negatif meme kanseri hücre dizisidir. Diğer invaziv kanser hücre hatlarına benzer şekilde, MDA-MB-231 hücrelerinin invaze olmasına, hücre dışı matriksin proteolitik bozulması aracılık eder (Chavez ve ark., 2010; Liu ve ark., 2003).

2.4. Apoptoz

Apoptoz kavramının bileşenleri daha önceki yıllarda tanımlanmış olmasına rağmen, terim olarak apoptoz ilk kez 1972'de Kerr, Wyllie ve Currie tarafından hücre ölümünün morfolojik olarak farklı bir biçimini tanımlamak için kullanılmıştır (Kerr ve ark., 1972). Apoptoz, bir hücrenin bölünmesini ve büyümesini engelleyen ve bunun yerine, hücre içeriğinin dışarıya dökülmeden kontrollü ölümüyle sonuçlanan bir süreçtir. Apoptoz, bazen programlanmış hücre ölümü (veya daha yaygın olarak 'hücre sel intihar') olarak da adlandırılır (D'Arcy, 2019).

Apoptoz, yani programlanmış hücre ölümü, DNA hasarını takiben veya gelişim sırasında oluşan hasarlı hücrelerin düzenli ve etkili bir şekilde ortadan

kaldırılmasıyla sonuçlanır ve gen düzeyinde çok iyi bir şekilde düzenlenir. Apoptoz mekanizması karmaşıktır ve birçok sinyal yolunu içerir (Pistritto ve ark., 2016).

Apoptoz, hem homeostatik mekanizma hem de savunma mekanizması olarak rol oynamaktadır. Büyüme ve yaşlanma dönemlerinde de homeostatik bir mekanizma, bağışıklık reaksiyonlarında veya hücreler zararlı ajanlardan hasar gördüğü zamanlarda ise bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkmaktadır. Apoptozu indükleyen hem fizyolojik hem de patolojik birçok uyarıcı ve durum olmasına rağmen, apoptoz uyarıcı bütün hücreleri aynı şekilde etkilememektedir. Radyoterapi veya kemoterapi tedavisinde kullanılan ilaçlar, bazı hücrelerde DNA hasarı yolu ile p53'e bağlı bir yolağı aktif hale getirerek apoptotik ölüme neden olabilir. Kortikosteroidler gibi bazı hormonlar, timositler gibi bazı hücrelerde apoptozu indükleyebilir, fakat diğer hücreler etkilenmemekle birlikte uyarılabilir (Elmore, 2007). Prekanseroz lezyonlarda DNA hasarının bir sonucu olarak apoptozun indüklenmesi, potansiyel olarak zararlı hücreleri uzaklaştırabilir ve böylece tümör büyümesini bloke edebilir. Bu ölüm sürecinin deregülasyonu, kontrolsüz hücre çoğalması, kanserin gelişmesi ve ilerlemesi ve ilaç tedavilerine karşı kanser direnci ile ilişkilidir. Bu nedenle apoptozun deregülasyonu kanserin ayırt edici özelliklerinden biri olarak kabul edilir. Bu nedenle apoptotik dirençle ilgili molekülleri hedef alan terapötik stratejiler, kanser hücrelerinin apoptozu duyarlılığını geri kazandırmak ve tedavilerin etkisiz hale gelmesini engellemek için izlenecek geçerli bir yaklaşımdır (Pistritto ve ark., 2016).

Apoptoz, kaspazlar olarak bilinen bir dizi sistein-aspartik proteazın aktivasyonu ile başlar. Kaspazlar başlatıcı (kaspaz 2, 8, 9 ve 10) ve efektör (kaspaz 3, 6, ve 7) olmak üzere iki kategoriden oluşmaktadır. Hücre hasarı gerçekleştiğinde, prokaspazlar (aktif değil) başlatıcı kaspazları (kaspaz 8 ve 9) aktive eder ve efektör kaspazların (kaspaz 3, 6 ve 7) aktivasyonu ile süreç devam eder. Efektör kaspazlar aktive edildiğinde, endonükleazların aktivasyonu ile DNA fragmentasyonu, nükleer proteinlerin ve hücre iskeletinin yok edilmesi, proteinlerin çapraz bağlanması, fagositik hücreler için ligandların ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile sonuçlanan bir olaylar dizisi başlamaktadır. İnsan vücudunda günde yaklaşık 1×10^9 hücrenin apoptozu uğradığı tahmin edilmektedir. Apoptozun hem intrinsik hem de

ekstrinsik yolları, çok hücreli organizmaların sağlıklı kalmasını ve kusurlu hücrelerin vücuttan atılmasını sağlamak için sinerjik olarak çalışır (D'Arcy, 2019).

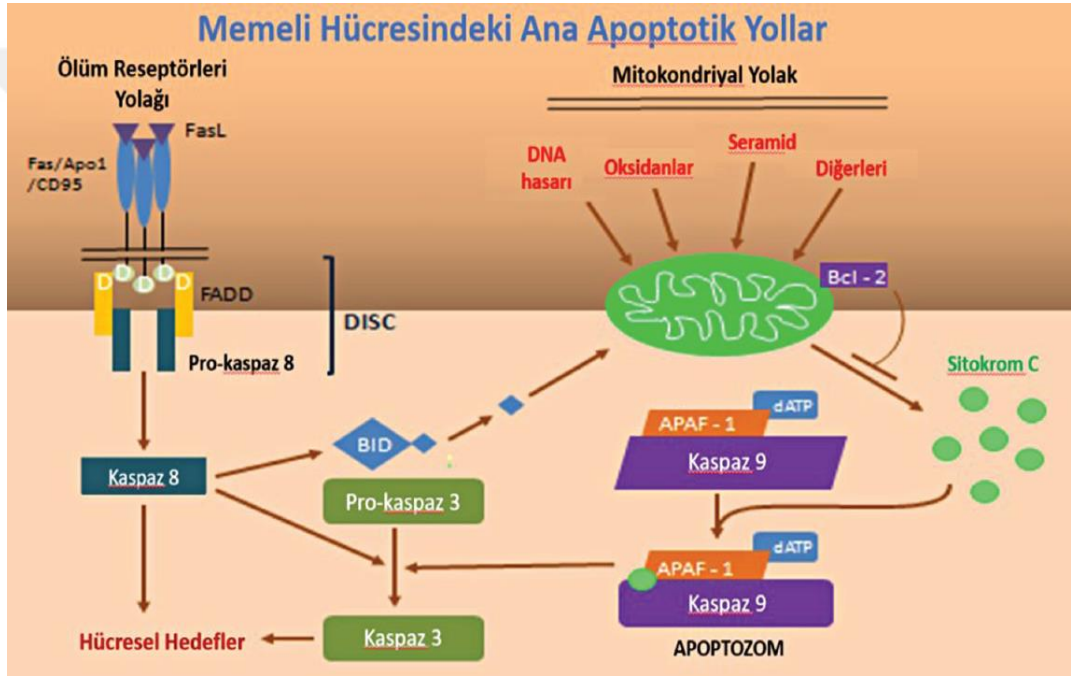
2.4.1. Apoptozun intrinsik yolu

İntrinsik apoptotik yolak (mitokondriye bağımlı), farklı stres koşullarına (yani, ışınlama, kemoterapötik ajanlarla tedavi, vb.) yanıt olarak mitokondriyal seviyede birleşen hücre içi sinyaller aracılığıyla gerçekleşir. Onarılamaz genetik hasar, hipoksi, aşırı yüksek sitozolik Ca⁺ konsantrasyonları ve şiddetli oksidatif stres gibi iç uyaranlar, intrinsik mitokondriyal yolun başlatılmasının bazı tetikleyicileridir. Bcl-2 ailesinin (Bax, Bak) proapoptotik BH3 üyelerinin aktivasyonunu takiben, antiapoptotik proteinler olan Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1'i nötralize ederek mitokondriyal membran dış membran geçirgenliğinin (MOMP) bozulmasına yol açar. Böylece normalde zarlar arası boşlukta bulunan proteinler sitozole salınır. Bu proteinler, sitozolde mitokondriye bağlı ölümü aktive etmede çok önemli bir rol oynayan sitokrom-c gibi apoptojenik faktörleri içerir. Sitokrom-c, sitozolik Apaf-1'e (apoptoz proteaz aktive edici faktör-1) bağlanır ve başlatıcı pro-kaspaz-9'u kaspaz alım bölgesine (CARD) alan, otoaktivasyona ve ardından proteolize izin veren apoptozom adlı bir kompleksin oluşumunu tetikler. İşlem sırayla apoptotik hücre ölümüne yol açan hücrel substratların bölünmesi için sırasıyla yürütücü kaspaz-3, -6 ve -7'yi aktive eder (Şekil 2.5) (Pistritto ve ark., 2016).

2.4.2. Apoptozun ekstrinsik yolu

Bu ekstrinsik yol apoptozun ölüm reseptörü (DR) yolu olarak da bilinmektedir (Şekil 2.4.1). Doğal öldürücü hücreler veya makrofajlar, ölüm ligandlarını ürettiğinde başlatılmaktadır. Prokaspaz 8, hedef hücre zarındaki DR'lerle bağlandıktan sonra kaspaz 8'e aktive olur ve böylece ekstrinsik yol indüklenir. DR'ler, tümör nekroz faktörü (TNF) üst ailesinin üyeleridir ve her DR'nin karşılık gelen bir ölüm ligandına sahip olduğu birkaç üye içerir. Kaspaz 8'in aktivasyonu için, bir ölüm ligandının bir DR'ye bağlanması gerekir, bu da monomerik prokaspaz 8'in ölüm efektör bölgesi (DEB) aracılığıyla liganda bağlı DR'nin sitoplazmik alanında bulunan ölüme neden olan bir sinyal kompleksine (DISC) alınmasıyla sonuçlanır. DISC ayrıca prokaspaz 8'in DISC ile etkileşimini kolaylaştıran ya FAS ile ilişkili ölüm alanı (FADD) ya da

TNF reseptörü (TNFR) ile ilişkili ölüm alanı (TRADD) olarak bilinen bir adaptör proteini içerir. Prokaspaz 8 monomerleri DISC'e alınır, bunlar dimerize olur ve aktive edilir, sonuçta kaspaz 8 ortaya çıkar. Kaspaz 8 de, iki farklı alt yoldan biri yoluyla apoptozu indükleyebilir. Hangi alt yolun indükleneceği hücrelerin Tip I veya Tip II hücre olmasına bağlıdır. Kaspaz 8 Tip I hücrelerde efektör kaspazları doğrudan bölmekte ve böylece doğrudan apoptozu başlatmaktadır. Mitokondriden salınan proteinler apoptoz inhibitör proteinleri inhibe etmediği sürece Tip II hücrelerde, efektör kaspazların doğrudan kaspaz 8 aktivasyonunu inhibe eder (Şekil 2.5.) (D'Arcy, 2019).



Şekil 2.5. Apoptozun intrinsik ve ekstrinsik yolu (Celepli ve ark., 2020).

2.5. Meme Kanseri Tedavisinde Tıbbi Bitkiler

Kanser tedavisi yepyeni bir araştırma alanı haline gelmiştir. Kanser için uygulanan geleneksel tedaviler olduğu kadar birçok da modern teknikler vardır. Kanser tedavisi için kemoterapi, radyoterapi veya cerrahi tedavi gibi çeşitli teknikler vardır. Ancak hepsinin dezavantajları vardır. Geleneksel kimyasalların kullanımı yan etkilere ve toksisitelere sahiptir. Ancak, sorun devam ederken, özellikle geleneksel kemoterapötik yaklaşımların başarısız olması nedeniyle hastalıkların kontrolü için yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, bu hastalığa bağlı ölüm oranını

kontrol altına almak için kanserin önlenmesi ve tedavisi için yeni stratejilere ihtiyaç vardır. Bitkisel ilaçlar çok güvenli, toksik olmayan ve kolayca temin edilebilen kanser tedavi edici bileşikler kaynağı haline gelmiştir. Bitkilerin sahip oldukları çeşitli özelliklerden dolayı vücuttaki hastalıkların etkilerini nötralize ettiğine inanılmaktadır (Khan ve ark., 2019).

Sanayi sektörünün ve endüstriyel tıbbın gelişmesiyle birlikte şifalı otların kullanımı uzun bir süre unutulmuştur. Yeni tekniklerin ortaya çıkması nedeniyle doğal bileşiklerle ilgili engeller azalmış ve bu tür doğal bileşenlerin ilaç endüstrisinde kullanımına ilgi artmıştır (Saklani ve Kutty, 2008). Dünyada geleneksel tedavi yöntemleri kullanımını %80 olduğu tahmin edilmektedir (Wang ve ark., 2012). Bitkilerin çeşitli hedefler üzerindeki etkilerinin anlaşılması, antikanser, anti-inflamatuar ve anti-virüs gibi bazı önemli özellikleri tanımlayan modern biyomoleküler bilimin yardımıyla olmuştur. Bu tür bitkisel ilaçların etkilerinin giderek daha iyi anlaşılması ile farklı kanser türlerine karşı etkileri de tespit edilmiştir (Khan ve ark., 2019).

Son birkaç on yılda, kanser tedavisinde kullanılan ikincil metabolitlerin fazlaca karmaşıklığı nedeniyle yeni bileşiklerin keşfine ihtiyaç duyulmuştur. Bu durum geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkilerin araştırılmasına ilginin artmasına neden olmuştur. Aslında taksan, vinka alkaloidleri, podofillotoksin ve kamptotesin gibi birçok antikanser ilacı şifalı bitkilerden izole edilmiştir: Vinblastin ve vinkristin gibi Vinca alkaloidleri *Catharanthus roseus*'tan türetilmiştir ve paklitaksel orijinal olarak *Taxus brevifolia*'dan izole edilmiştir (Aumeeruddy ve Mahomoodally, 2019). *Pistacia terebinthus* L.' de alternatif tıpta kullanılan *Anacardiaceae* (Sakız ağacıgiller) familyasına ait bir bitkidir.

2.6. Menengiç (*Pistacia Terebinthus*)

Türkiye'de "menengiç" (Şekil 2.6.) olarak bilinen *Pistacia terebinthus*, *Anacardiaceae* familyasına ait 20 *Pistacia* türünden biridir. Kanarya Adaları ve Akdeniz bölgesinde yerli bir ağaç olan *Pistacia terebinthus*, genellikle Fas, Portekiz, Yunanistan ve Türkiye'de yayılım göstermektedir. Ayrıca Kuzey Afrika, Arap Yarımadası ve Batı Asya'da da bulunmaktadır. Bu bitki türü Türkiye'nin güney ve

batı bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Menengiç ağacı, kuru kaya yamaçlarında veya çam ormanlarında, özellikle Toros dağlarında, deniz seviyesinin hemen üstünden 1600 m yüksekliğe kadar yetişen çok yıllık bir ağaçtır (Tastekin ve ark., 2014). Kırmızımsı mor renkli çiçekler Mart ve Nisan aylarında görülür. Önce kırmızı renkte olan meyveler, olgunlaştıkça mavimsi veya yeşilimsi siyah renk halini alır. Tohumlar ise Eylül-Ekim aylarında olgunlaşır. Yetiştigi bölgeye göre bitki farklı isimler almaktadır. Bunlar menengiç, melengiç, melengeç, menekiş, meneviş, meniş, melekeş, antep fıstığı, çitlik, çedene, çetimek, çitlenbik, çitemik, çitlembik, çitmik, çöğre, sakızlak, sakızlı ağaç gibi isimlerdir (Şahin, 2019).



Şekil 2.6. A: Menengiç bitkisi, B: Menengiç tohumu, C: Menengiç reçinesi.

2.6.1. *Pistacia terebinthus*'un kimyasal yapısı

Pistacia terebinthus yağ asitleri, steroller ve tokoferoller içerir. Temel yağ asidi, yağ asitlerinin %43-51'ini oluşturan oleik asittir. *Pistacia terebinthus* α ve γ tokoferol içeriği 110-150 mg/kg olarak belirlenmiştir. İçeriğindeki temel sterol ise, sterollerin %80'ini oluşturan β sitosteroldür (Bahcecioglu ve ark., 2015).

Pistacia terebinthus reçine, uçucu yağlar, proteinler, organik asitler, şekerler, flavonoidler ve tanenler dahil olmak üzere zengin madde içeriğine sahiptir. Uçucu yağın kimyasal bileşimi, bitkinin elde edildiği kısma ve bitki popülasyonunun coğrafi kökenine göre değişiklik göstermektedir (Pulaj ve ark., 2016).

Salgısı %4 uçucu yağ, %60 reçine ve %36 tanen karışımı içerir. Ayrıca meyveler organik besin maddeleri açısından da zengindir. 100 g menengiç yaklaşık 594 kcal, 2 g posa, 7.3 mg Fe, 136 mg Ca, 20.8 g protein, 500 mg P, 16.4 g nişasta, 51.6 g yağ,

158mg Mg, 1.02mg K vitamini, 0.4 mg B6 vitamini, 1.45 mg B2 vitamini, 62 mg B1 vitamini, 5.2 mg E vitamini ve 7 mg C vitamini içerir (Yüksel ve ark., 2015).

2.6.2. *Pistacia terebinthus*'un geleneksel kullanımı

Pistacia terebinthus ağacının farklı bölümlerinin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu için, eski zamanlardan beri fitoterapide yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Kallis ve ark., 2019). Günümüzde, tıbbi uygulamalar için *Pistacia terebinthus*'dan elde edilen fenolik bileşikler, terpenoidler, monoterenler, flavonoidler, yağ asitleri, alkaloidler, saponinler ve steroller gibi bileşenlere farmasötik açıdan dikkat çekilmektedir. *Pistacia terebinthus*'un ham özleri, uçucu yağları ve bazı triterpenoid bileşenleri, astrenjan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral ve uyarıcı olarak kullanılmasının yanı sıra, egzama, felç, diyare, boğaz enfeksiyonları, böbrek taşları, sarılık, astım ve mide ağrıları gibi çok sayıda inflamatuvar hastalığın tedavisi için de kullanılmaktadır (Duru ve ark., 2003; Giner-Larza ve ark., 2001; Lamiri ve ark., 2001; Mouhajir ve ark., 2001). Ayrıca, *Pistacia terebinthus*'dan elde edilen reçine, geleneksel olarak sakız ve gıda katkı maddesi olarak ve dudak kuruluğuna, bazı mide hastalıklarına karşı ve solunum sistemi için antiseptik olarak kullanıldığı için birçok uygulama alanına sahiptir. Son çalışmalar, bu reçinenin, geliştirilmiş aromatik özelliklere sahip yeni fonksiyonel gıda ürünlerinin üretimi için bir antimikrobiyal ajan ve gıda koruyucusu ve ayrıca bir bakteriyel immobilizasyon taşıyıcısı olarak kullanımını ortaya çıkarmıştır (Kallis ve ark., 2019). *Pistacia terebinthus*, geleneksel Türk halk tıbbında da güneş çarpması, peptik ülser, gastralji, astım, romatizma, öksürük, egzama, ishal ve boğaz enfeksiyonlarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Tastekin ve ark., 2014). Meyveleri aynı zamanda kahve ikamesi olarak da tüketilmekte ve meyvelerinden elde edilen yağ, Türkiye'nin belirli bir bölümünde yemeklik yağ olarak ve sabun üretiminde kullanılmaktadır. Farklı ülkelerde farklı kullanım alanları da mevcuttur. Örneğin, İran'da hava temizleyici olarak kullanılmaktadır (Pulaj ve ark., 2016).

Yapılan bir çalışmada menengiç bitki ekstresinin antioksidan kapasitesi araştırılmıştır. Bitki yapraklarının yüksek 85 trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) ile yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve *Staphylococcus aureus*' a

karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda menengiç bitkisinin olası kanser riskini azaltmada etkili bir biyoaktif bileşik olduğu sonucuna varılmıştır (Kavak ve ark., 2010). Orhan ve ark. (Orhan ve ark., 2012) yaptıkları bir çalışmada menengiç kahve çekirdekleri ve meyve etil asetat ve metanol ekstralarının asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibisyonu yoluyla nöroprotektif etkilerini araştırmışlardır. Aynı zamanda antioksidan kapasiteleri de test edilmiştir. Ekstrelerin bütirilkolinesteraza karşı ılımlı bir inhibisyon sağladığı ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) e karşı potansiyel bir radikal süpürücü olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda antioksidan kapasitelerini belirlemek için kullanılan metal şelasyon testlerinde ve ferik-azaltıcı antioksidan güç testinde güçlü aktivite gösterdikleri ve fosfomolibden azaltma gücünün ılımlı düzeyde olduğu rapor edilmiştir (Orhan ve ark., 2012) *Pistacia terebinthus* bitkisinin antiinflamatuvar aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, bitkinin kronik ve akut inflamasyona karşı etkili olduğu belirlenmiş ve kromatografik analize göre de, içeriğinde bulunan lanostanın iyi bir antiinflamatuvar ajan olabileceği sonucuna varılmıştır (Giner-Larza ve ark., 2000). Yapılan bir çalışmada, MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında *Pistacia terebinthus* meyve ve yapraklarının metanollü ve sulu ekstralarının antiproliferatif etkisi MTT analizi ile değerlendirilmiştir. MTT analizi için hücreler farklı konsantrasyondaki (250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml ve 1000 µg/ml) *Pistacia terebinthus* metanollü ve sulu ekstraları ile muamele edilmiştir. 48. saatte doza bağlı olarak *Pistacia terebinthus* ekstraları her iki hücrede de proliferasyonda azalmaya neden olmuştur. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığında 500 µg/ml konsantrasyonlarda, sırasıyla %36 ve %20'den daha büyük azalma görülmüştür (İçen ve ark., 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının deneyleri Erciyes Üniversitesi Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi laboratuvarında gerçekleştirildi ve ekstre Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı laboratuvarında hazırlandı.

3.1. Kullanılan Malzemeler

Deney sırasında kullanılan demirbaş ve sarf malzemeler aşağıdaki gibidir.

3.1.1. Demirbaş malzemeler

- Laminar Akım Kabini (Airstream)
- CO₂ 'Li İnkübatör (Panasonic, MCO-19 A/C(UV))
- Otoklav (Alp, CL-40M)
- Vorteks (Heidolph)
- Manyetik Karıştırıcı (Heidolph)
- Derin Dondurucu -20 (Ugur)
- Invert Mikroskop (Leica)
- Soğutmalı Santrifüj (Beckman Counter)
- Buzdolabı +4 (Siemens)
- Hassas Terazisi (Sanyo)
- Su Banyosu (Mettler)
- Floresan Mikroskop (Leica)

- alkalayıcı (Heidolph)
- Pipet Tabancası (Gilson)
- Mikropipet Seti (Gilson)
- Biorad Western Görüntüleme Cihazı (ChemiDocMP)
- Sonikatör (Scientz)
- Spektrofotometre (Promega)

3.1.2. Sarf malzemeler

- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Biological Industries, 01-170-1A)
- Fetal Bovine Serum (FBS) (Biological Industries, 04-001-1A)
- L-Glutamin (Biological Industries, 03-020-1B)
- Penisilin-Streptomisin (Biological Industries, 03-031-1B)
- Tripsin-EDTA (%0.05) (Gibco, 25200056)
- Serolojik Pipet 5 ml, 10 ml, 25 ml (Grenier, MSP0101)
- Steril 6-24-96 Kuyucuklu Plaklar (Grenier,657160, 662102, 651101)
- Pipet Ucu 0.1-10 µl, 5-200 µl, 200-1000 µl (Greiner, 772351, 775351, 778352)
- Hücre Kültür Plakları 25 cm² (Grenier,690160)
- Hücre Kültür Plakları 75 cm² (Grenier, 658170)
- Cryo Tüp Steril (Isolab, 09111102)
- Fosfat Buffer Saline (PBS) (Merck, P5493)
- Metanol (Merck, 494437)
- Dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck, D8418)
- Blotting Grade Blocker (Biorad, 1706404)
- Tween 20 (Biorad, 1706531)

- Glycine (Sigma, G8898)
- Tris-base (Serva, 37192.01)
- Membran (Bio Rad, Biorad Immun Blot Pvd, 1620177)
- Jel (Mini-Protean TGX, Precast Gel) (Biorad, 4561084)
- Filtre (Biorad Thick Blot Paper, 1703932)
- MTS (Abcam, ab197010)
- PMS (Sigma, P9625)
- Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS) (Merck, D8537)
- Tris tamponlu saline (TBS) (Merck, T5912)
- ECL (Enhanced Chemiluminescence) (Bio Rad, 1705060)
- Protein marker (Bio Rad, 1610374)
- Rabbit sekonder antikor (Bio Rad, 1706515)

3.2. Menengiç Reçine Ekstresinin (MRE) Hazırlanması

Bitki reçinesi Eylül ayında Malatya Kale yöresinden toplandı (Şekil 3.1.). Ekstre Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı laboratuvarında hazırlandı.

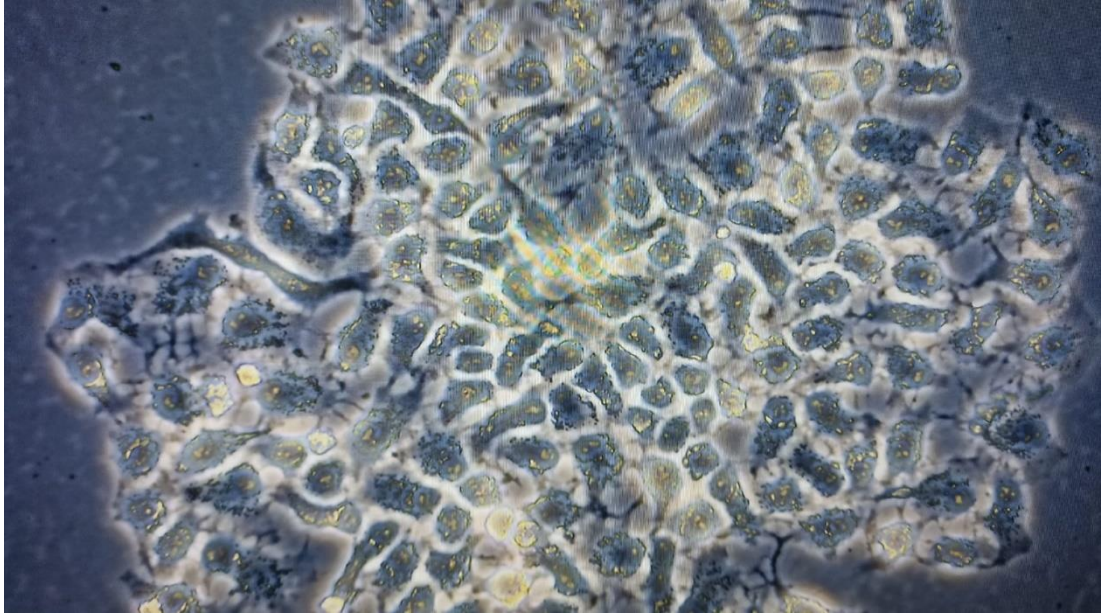


Şekil 3.1. *Pistacia terebinthus* (Menengiç) reçinesi.

Bitkisel materyalin üzerine %80'lik metanol eklenip 24'er saat süreyle masere edilip dört kez oda sıcaklığında ekstre edildi. Elde edilen ekstreler birleştirilip vakum altında rotavaporda (37-38 °C) yoğunlaştırıldı. Tüm ekstreler liyofilize edildi ve analiz anına kadar -20 °C'de saklandı.

3.3. Hücre Hattı

Bu çalışmada hücre hattı olarak agresif meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 hücre hattı kullanıldı. Hücre hattı Erciyes Üniversitesi Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi'nden alındı. Kullanılan hücre hattı 22. Pasaj sayısına sahipti (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. MDA-MB-231 hücre hattı.

3.4. Hücre Besiyeri

Hücrelerin büyümesi için %10 FBS, %1 L-glutamin ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM besiyeri kullanıldı. Hazırladığımız besiyeri kullanılabildiği kadar +4°C'de muhafaza edildi. Kullanılacağı zaman su banyosunda ısıtılarak, sıcaklığı 37°C'ye getirilip kullanıldı (Şekil 3.3.). Besiyerinin hazırlanması steril şartlarda laminar air-flow kabinde hazırlandı.



Şekil 3.3. Su banyosu.

3.5. Hücrelerin Çözdürülmesi

Dondurulmuş MDA-MB-231 hücre hatlarının çözülmesi için %10 DMSO ile dondurulmuş olan krioviyal tüpler içerisindeki hücre hatları, nitrojen tankından alındı ve steril laminar air flow'da 37 °C'de çözülmesi bekledi (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. A: -80°C dondurucu, B: Laminar air flow.

DMSO'nun toksik etki göstermesinden dolayı, hücre hatlarının tamamen çözülmesi beklenmeden, yarı buzlu haldeyken 15 ml'lik falkon tüpe alındı ve üzerine 9 ml hazırlanan besiyeri eklendi. Falkon tüp +4 °C'de 1500 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonrası falkon tüpte bulunan süpernatant kısım, yani

pelletin üzerinde kalan kısım aspire edildi. Çöken MDA-MB-231 hücrelerinin üzerine besiyerinden 1 ml eklenerek, pipetaj ile hücrelerin süspansiyon hale gelmesi sağlandı. Sonra üzerine besiyeri eklendi ve 75 cm²'lik flaslara aktarılarak, 37 °C'de, %5 CO₂ ve %95 nem içeren etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübatörde çoğalmaya bırakılan flaskların günlük mikroskopik kontrolü yapıldı ve hücrelerin besiyeri üç dört günde bir yeni besiyeri ile değiştirildi. Flasklarda hücre yoğunluğu %70-80 oranına ulaştığında hücreler pasajlanarak flasklarda çoğaltıldı (Şekil 3.5.).

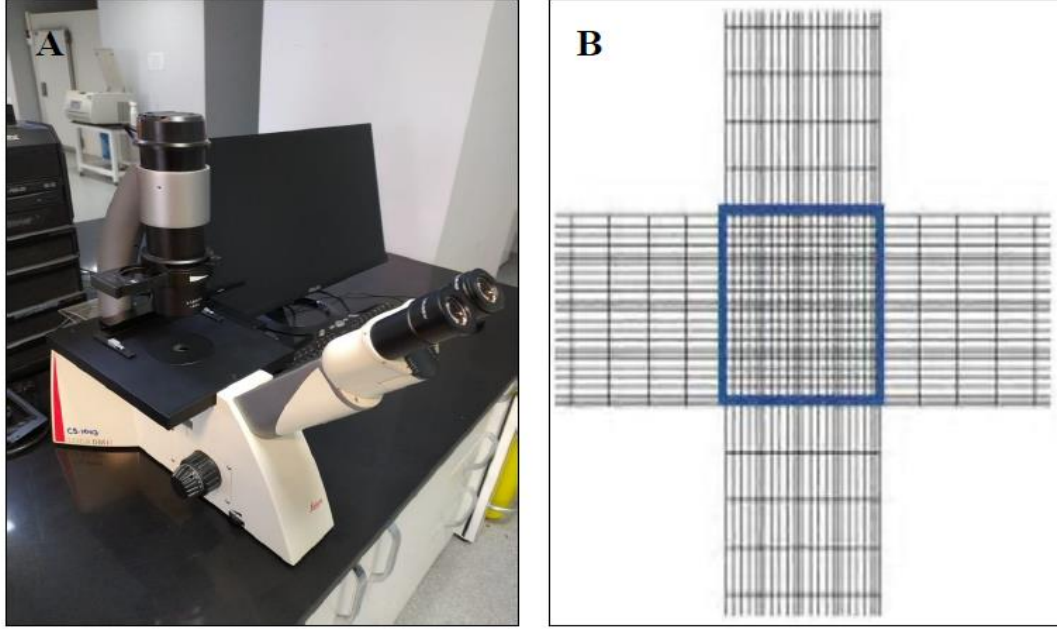


Şekil 3.5. A: Santrifüj cihazı, B: Etüv.

3.6. Hücrelerin Sayımı

Hücrelerin canlılıklarının belirlenmesinde tripan mavisi boyası testi kullanıldı. Hücrelerin çoğalmaya bırakıldığı 75 cm²'lik flask laminar kabine alındı. Flaskın içinde bulunan besiyeri aspire edildi. Yapışan hücrelerin kaldırılması için flaska 3 ml tripsin-EDTA eklendi. Flask 5 dk süre boyunca 37 °C'de, %5 CO₂'li inkübatörde bekletildi. İnkübatörden çıkarılan flask içerisine 6 ml besiyeri eklenerek, bu hücre ve besiyeri karışımı 15 ml'lik falkon tüp içerisine alınarak +4 °C'de 5 dakika süre ile 1500 rpm'de santrifüj edildi. Pelletin üzerinde kalan süpernatant aspire edildi. Daha sonra pelletin üzerine 9 ml besiyeri eklenerek yavaş pipetajla çözülmesi sağlandı.

Thoma lamını çukur kısımlarına 1:1 oranında 10'ar µL hücre+besiyeri karışımından ve tripan mavisi boya eklenerek invert mikroskopta canlı hücre sayımı yapıldı (Şekil 3.6.).



Şekil 3.6. A: İvert mikroskop, B: Thoma lamı hücre sayımı.

1 ml'deki hücre sayısı=sayılan bölgelerin ortalama sayısı x dilüsyon katsayısı x 10^4 formülü ile hücre sayısı belirlendi.

3.7. Hücrelerin Pasajlanması

İnkübatörden çıkarılan flasklardaki besiyerleri aspire edildi. Flasklara 3 ml tripsin eklenerek 5 dk süre boyunca 37°C 'de, %5 CO_2 'li inkübatörde bekletildi. İnkübatörden çıkarılan flask içerisine 6 ml besiyeri eklendi, bu hücre ve besiyeri karışımı 15 ml'lik falkon tüp içerisine alınarak $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika süre ile 1500 rpm'de santrifüj edildi. Pelletin üzerinde kalan süpernatant aspire edildi. Pellet besiyeri ile çözdürülerek 75 cm^2 'lik flaslara aktarılarak üzerlerine besiyeri eklendi. Flasklar 37°C 'de, %5 CO_2 ve %95 nem içeren etüve alınarak inkübasyona bırakıldı.

3.8. Hücrelerin Dondurulması

Hücrelerin dondurulmasında DMSO kullanıldı. İnkübatörden çıkarılan flasklardaki besiyerleri aspire edildi. Flasklara 3 ml tripsin eklenerek 5 dk süre boyunca 37°C 'de,

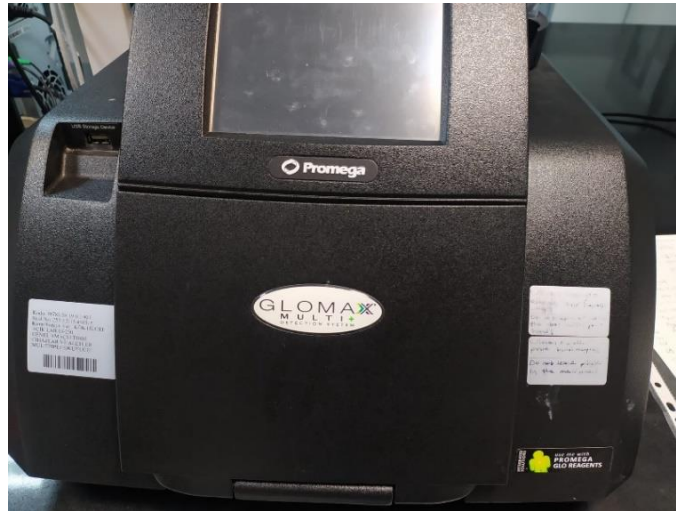
%5 CO₂'li inkübatörde bekletildi. İnkübatörden çıkarılan flask içerisine 6 ml besiyeri eklenerek, bu hücre ve besiyeri karışımı 15 ml'lik falkon tüp içerisine alınarak +4 °C'de 5 dakika süre ile 1500 rpm'de santrifüj edildi. Pelletin üzerinde kalan süpernatant aspire edildi. Pelletin üzerine 900 µL besiyeri ve 100 µL DMSO eklenerek krioviyal tüpe alınarak nitrojen tankında donduruldu.

3.9. Ekstre Stoğunun Hazırlanması

Ekstre stoğunun hazırlanması için hassas terazide tartılan 4 mg reçine ekstresi ependorf tüpe alındı. Ekstre 20 µL DMSO ile çözdürüldü. Çözdürülen karışıma 1980 µL besiyeri eklenerek sonikatör cihazı ile homojenizasyonu sağlandı.

3.10. Sitotoksisite Testi (MTS Testi)

Reçine ekstresinin %50 canlılık dozunun belirlenmesi için 3 - (4,5 - dimetiltiyazol - 2 - yl) - 5 - (3 - karboksimetoksifenil) - 2 - (4 - sülfifenil) - 2H - tetrazolyum (MTS) hücre proliferasyon testi kullanıldı. MDA-MB-231 hücreleri, 96 kuyucuklu plakalara ekildi ve kültürün 72. saatinde 10, 25, 50, 100, 200, 300 ve 500 µg/ml MRE eklendi. Bir kısma da ekstre eklenmeyen hücreler (NT) eklendi. 24 saatlik MRE uygulamasından sonra hücre canlılığını ölçmek için her kuyucuğa 20 µl MTS-PMS karışımı (2 ml MTS-100 µl PMS mg/ml) eklendi. İnkübatörde 2-3 saat inkübasyona bırakıldı. 3-4 saat sonra hücrelerin canlılık oranı 450 nm dalga boyunda ELİSA okuyucusa (Promega) ölçüldü. Deneyler, üç kez tekrarlandı (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7. ELİSA okuyucu.

3.11. Apoptoz testleri

3.11.1. Hoechst boyama

MRE'nin apoptotik hücre ölümüne etkisini morfolojik olarak belirlemek için 6 kuyucuklu plaklara her kuyucukta 100 000 hücre olacak şekilde hücreler ekildi ve CO₂'li etüvde inkübe edildi. İnkübasyonlarının 72. saatinde hücreler 10, 25, 50, 100, 200, 300 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında MRE ile muamele edildi. Bir kısım hücrelere ise kontrol amaçlı kullanmak için hiçbir muamele yapılmadı. 24 saatlik uygulamayı takiben %4 paraformaldehit ile fikse edildi. Paraformaldehit aspire edildikten sonra 3 defa PBS ile yıkandı ve 0.2 mL Hoechst boya eklendi ve 15 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra boya aspire edildi ve floresan mikroskopta görüntüleri alındı (Şekil 3.8.).

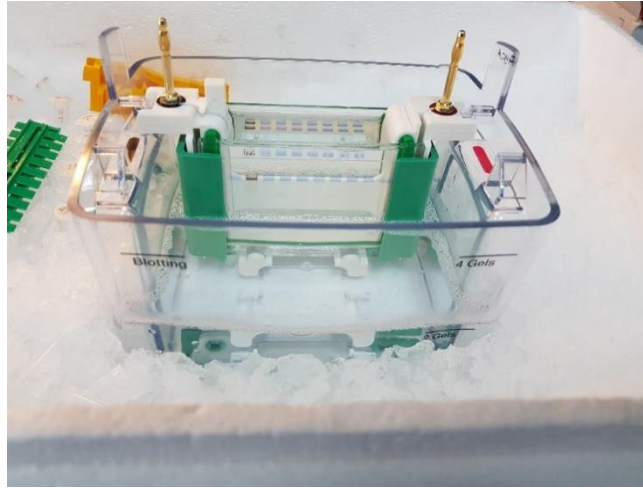


Şekil 3.8. Floresan mikroskop.

3.11.2. Western blot analizi

Öncelikle 37 °C'de 25 cm²'lik flasklara ekilen MDA-MB-231 hücreleri MTS analizi ile Hoeschst boyama analizinde anlamlı değer çıkan 100 ug/ml MRE ile 24 saat süre boyunca muamele edildi. Kontrol olarak kullanılan NT grubuna hiçbir uygulama yapılmadı. Zaman aralığı dolduğunda hücrelerin yapışan flasktan kaldırılması için flasklara tripsin-EDTA eklendi. Sonra hücreler 5 dk etüvde bekletildi, üzerine 10 ml medyum eklenerek santrifüj yapıldı. Santrifüjden sonra süpernatant atılarak kalan

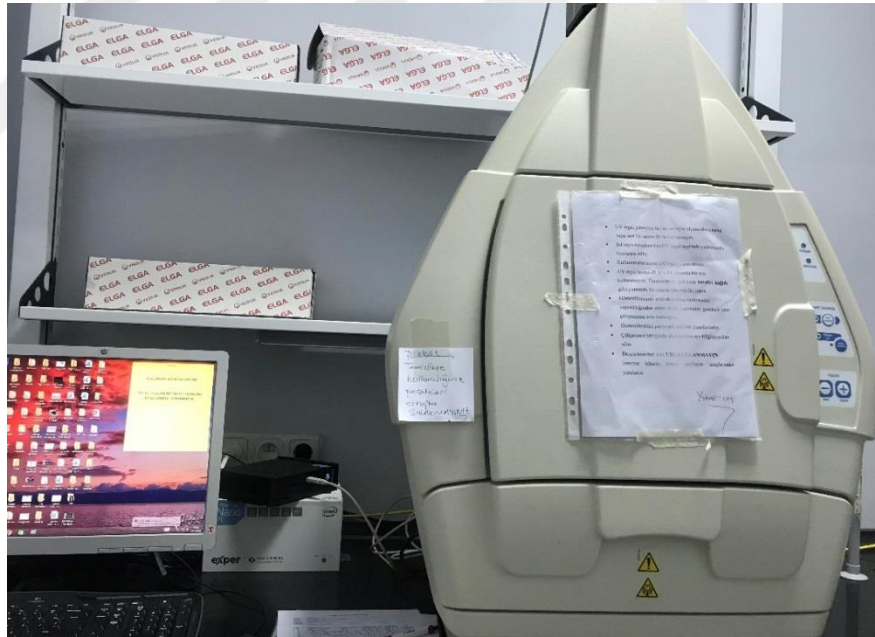
pelletin üzerine 1 ml DPBS eklenerek hücreler süspanse edildi, sonra hücreler ependorf tüplere aktarıldı. Hücreler +4°C'de 3 dk boyunca 5000 rpm'de tekrar santrifüj edildi. Sonrasında hücrelerin parçalanarak proteinlerin izole edilmesini sağlamak amacıyla yıkanmış hücrelerin üzerine fosfataz inhibitörü, proteaz inhibitörü ve sodyum florür içiren lizis solüsyonu ile bir mix hazırlanarak, ependorf tüplere 100'er µL eklendi. Daha sonra ependorf tüpler vortekste karıştırılıp buza alındı. 3 defa bu işlem tekrarlandı. Sonra tüpler +4°C'de 20 dk süre ile 13000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası protein içeren süpernatant kısım yeni ependorf tüplere aktarıldı. İzole edilen proteinler 7:1 oranında dilüe edildikten sonra 96 kuyucuklu plakaya eklendi. Proteinlere Reagent A, B ve S solüsyonları gerekli miktarlarda eklenip 3 dakika shaker cihazında inkübe edildi. 750 nm dalga boyunda ELİSA-okuyucuda protein konsantrasyonları ölçüldü. Ölçülen örnekler uygun konsantrasyonlarda su ve loading buffer eklenerek jele yüklenecek total miktarları için hazırlandılar. 99 °C'de heater cihazında 5 dakika bekletildikten sonra total protein oranı 40 µl olacak şekilde jeldeki kuyucuklara her örnekten eklendi ve 50 V'da 3 saat boyunca yürütülerek proteinlerin molekül ağırlıklarına göre ayrılması sağlandı (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. Western yürütme tankı.

Çıkarılan jel, membran, filtre kâğıdı ve sünger ile sandviç modeli (sünger, filtre kâğıdı, membran, jel, filtre kâğıdı ve sünger) kullanılarak jeldeki proteinlerin membrana transfer edilmesi sağlandı. Bunun için transfer tankına yerleştirilen transfer aparatının üzerine transfer buffer eklenildi ve tank bir gece boyunca +4°C'de bekletildi. Ertesi gün membran transfer tankından çıkarıldı ve TBS-Tween 20

karışım solüsyonu (TBS-T) ve süt tozundan oluşan karışım içerisine alınarak shaker üzerinde 1 saat blokladı. Süt tozu ile doyurma işlemi tamamlandıktan sonra, membranın 3 tekrar ile yıkaması yapıldı ve membran bir gece boyunca primer antikorlar ile +4°C’de bekletildi. Primer antikorlar hazırlanırken antikorlar ayrı ayrı TBS-T ve süt tozu karışımından oluşan solüsyonla karıştırıldı, ertesi gün primer antikorlar membrandan uzaklaştırıldı. Uzaklaştırmak için 3 kez 5’er dk TBS-T ile shakerda yıkandı. Primer antikor uzaklaştırıldıktan sonra membran TBS-T ve süt tozu karışımı ile hazırlanan sekonder antikor ile muamele edildi. Sekonder antikor 2 saat süre ile bekletilip tekrar TBS-T ile yıkama yapıldı. Yeni bir antikora bakılmadan önce membran strip buffer ile 10 dakika muamele edildi ve bir önceki antikorun membrandan uzaklaşması sağlandı. Membranın görüntülemesi için TBS-T uzaklaştırılıp membrana 700’er µL ECL A ve B solüsyonu eklenerek ChemiDOC görüntüleme cihazında görüntüleri alındı ve kaydedildi. Kaydedilen görüntülerden elde edilen protein bantları ImageJ programı ile ölçüldü (Şekil 3.10.)



Şekil 3.10. ChemiDoc cihazı.

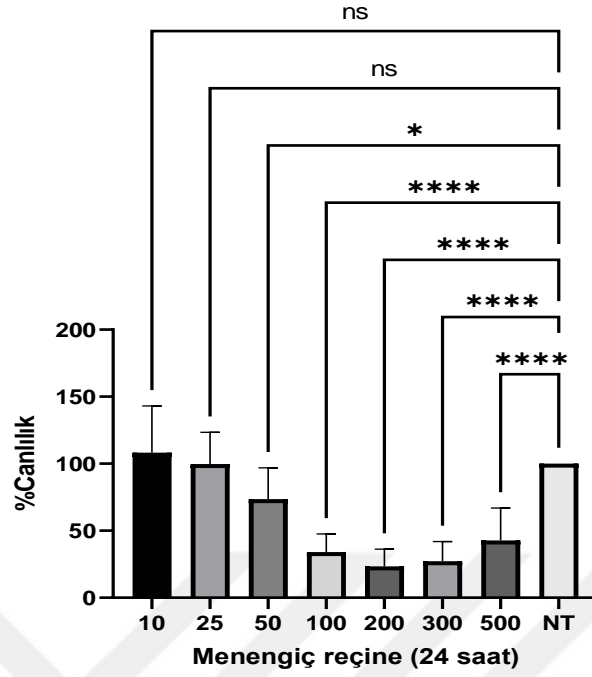
3.12. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi Microsoft Excell 2019 ve GraphPad Prism 9 programı ile yapıldı. Verilerin karşılaştırılmasında bağımsız iki örneklem t-testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Menengiç Reçine Ekstresi (MRE)' nin Hücre Canlılığına Etkisi

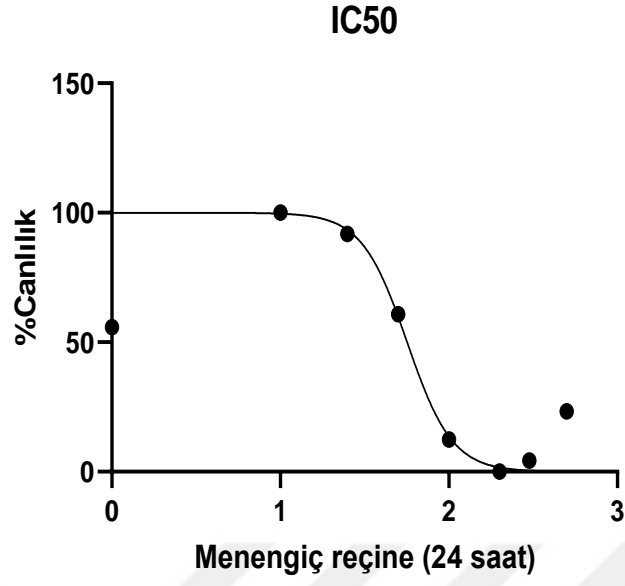
MRE'nin MDA-MB-231 hücreleri için sitotoksik olup olmadığını test etmek ve eğer toksik etkiye sahipse hücrelerin yaklaşık %50'sinin öldüğü (IC değeri) sitotoksi değeri belirlemek için MTS analizi yapıldı. Bu amaçla hücreler 24 saat boyunca 10, 25, 50, 100, 200, 300 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında MRE ile muamele edildi.



Şekil 4.1. MTS analiz yöntemi ile MRE'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki 24.saat sitotoksitesi.

MTS analizi sonucunda 10 ve 25 µg/ml MRE'nin hücre canlılığını etkilemediği konsantrasyonlarda toksik etkisinin olmadığı bulundu ($p>0.05$). 50 µg/ml dozu itibaren tüm dozlarda hücre canlılığında kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0.0001$) (Şekil 4.1.).

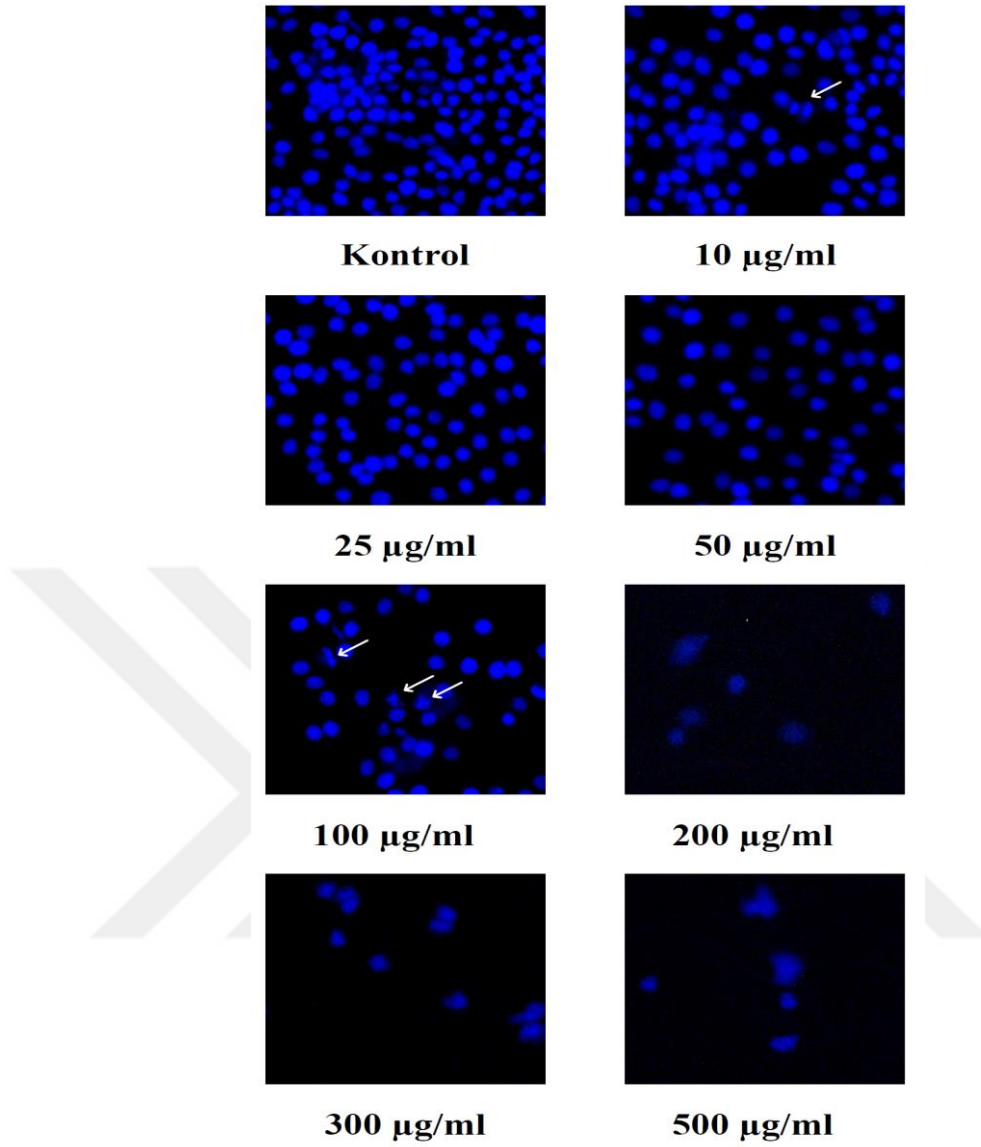
MTS analizi sonuçlarımıza göre MRE'nin 24 saatlik uygulama sonrası IC50 dozu 56.54 µg/ml olarak belirlendi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. MTS analiz yöntemi ile MRE'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki IC50 dozu.

4.2. Menengiç Reçine Ekstresi (MRE)' nin Hücrelerin Nükleer Morfolojisine Etkisi

MRE'nin MDA-MB-231 hücre hattında hücrelerin nükleus morfolojisine etkisini değerlendirmek için Hoechst boyama yapıldı. Uygulanan dozların hücre hattındaki etkileri Şekil 4.3.'de gösterildi.



Şekil 4.3. MRE'ye maruz kalan ve Hoechst boyası ile boyanan MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri.

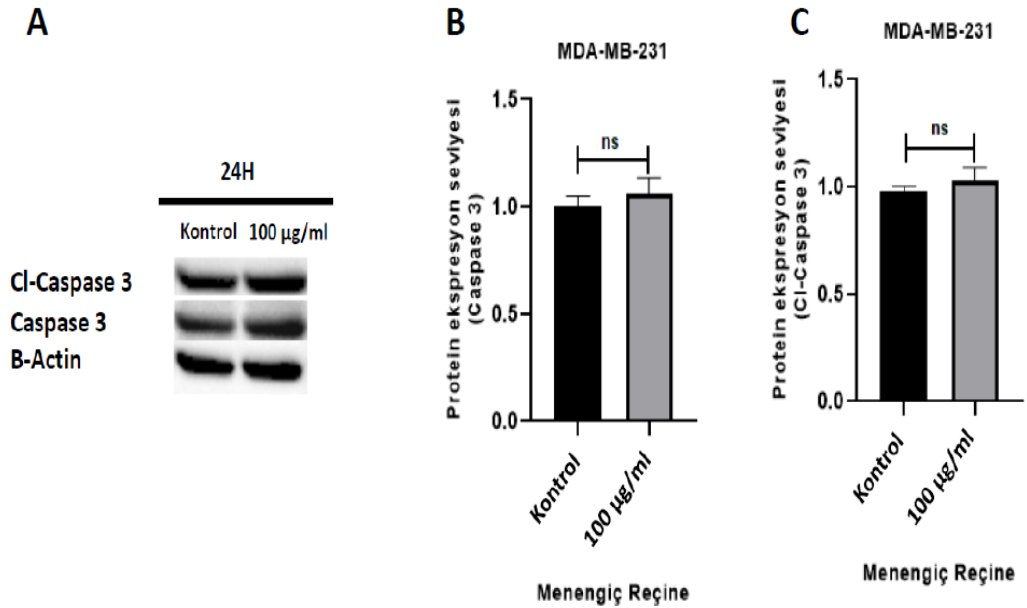
Ok ile gösterilen hücrelerde apoptoz sonucu oluşan kromatin yoğunlaşması (kondansasyonu) görülmektedir.

Boyanan hücrelerin nükleus morfolojisi incelenerek, kromatin kondansasyon ve nükleus fragmentasyonu (parçalanma) araştırıldı. Hoechst boyanan hücrelerin görüntüleri analiz edildiğinde kontrol grubuna göre 10 ve 100 µg/ml MRE konsantrasyonlarında apoptotik değişime uğrayan hücrelerin arttığı gözlemlendi. 200, 300 ve 500 µg/ml MRE konsantrasyonları toksik dozun üzerinde olduğu için canlı hücre sayılarında önemli oranda azalma görüldü. 25 ve 50 µg/ml MRE

konsantrasyonlarında kontrole göre apoptotik değişim görülmedi. Kontrol grubu hücrelerde de birkaç apoptotik değişime uğrayan hücre gözlemlendi (Şekil 4.3.).

4.2. Menengiç Reçine Ekstresi (MRE)' nin Apotoz Sinyal Yolağına Etkisi

MRE'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında apoptoz sinyal yolağına etkisini değerlendirmek için Hoechst boyama analizinde anlamlı çıkan doz olan 100 µg/ml MRE ile muamele edilen hücrede kaspaz-3 ve bölünmüş kaspaz-3 (Cleaved caspase-3) proteinlerinin ekspresyonları western blot yöntemi ile analiz edildi. Yükleme kontrolü olarak β-aktin proteini kullanıldı. Western blot analizi sonuçlarına göre total kaspaz-3 ve aktif kaspaz-3 olan bölünmüş kaspaz-3 proteinlerinin ekspresyonları açısından kontrol grubu (NT) ve 24 saat 100 µg/ml MRE uygulanan hücreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. MDA-MB-231 hücrelerinde MRE ve kontrol grubunun **A:** Kaspaz-3, bölünmüş kaspaz-3 (Cl-caspase-3) ve β-aktin protein ekspresyonlarının Western Blot görüntüleri, **B:** Kaspaz-3 protein ekspresyonu, **C:** Bölünmüş kaspaz-3 protein ekspresyonu sonuçları.

5. TARTIŞMA

Bitkiler çeşitli biyoaktif bileşenlerden oluşur ve bu bileşenlerin bileşimi ve konsantrasyonu coğrafi konum, hasat mevsimi, hasat sonrası işlem ve depolamaya göre değişebilmektedir. Standart kanser tedavisinde kullanılan çok sayıda modern ilaç da bitkilerden yapılmaktadır. Son on yılda, bitkilerin hem biyoaktif bileşenlerinin hem de bitkilerin ekstraktlarının antikanser etkilerini belirlemek ve anlamak için çeşitli araştırma çalışmaları yapılmıştır (Subramani ve Lakshmanaswamy, 2017). Bitkilerden elde edilen fitokimyasallar, güvenlikleri, düşük toksisiteleri ve genel kullanılabilirlikleri nedeniyle kanser tedavisinde diğer kaynaklardan daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Tümör oluşumu, tutunma ile başlayıp, çeşitli genetik ve epigenetik değişiklikleri içeren ilerleme ve metastazı izleyen çok aşamalı bir süreçtir. Fitokimyasallar, çeşitli sinyal yollarını etkileyerek antianjiyogenik, antiinflamatuvar, antioksidatif stres, antiproliferatif ve proapoptotik etkiler gösterir. Bu durum, fitokimyasalları kanseri birden fazla aşamada engelleyebilen etkili antikanser ilaçları yapmaktadır (Shu ve ark., 2010).

Pistacia terebinthus, organik asitler, şekerler, temel yağlar, reçine, proteinler, tanenler ve flavonoidler dahil olmak üzere zengin bir madde karışımından oluşmaktadır (Pulaj ve ark., 2016). *Pistacia* türlerinin saf ekstraktları, uçucu yağları ve bazı triterpenoid maddeleri, antiinflamatuvar ve antifungal özelliklere sahiptir. Ayrıca, karakteristik bir antioksidan olan alfa-tokoferol (E vitamini), yapraklarında bol miktarda bulunmaktadır (Tastekin ve ark., 2014). *Pistacia terebinthus*, özellikle içerdiği flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler ve tohumlarında bulunan yağ asitleri

sayesinde antioksidan, sitotoksik, antipiretik, antiseptik ve antiinflamatuvar aktivitelere sahiptir (Dhifi ve ark., 2012; Topçu ve ark., 2007). *Pistacia terebinthus* reçinesinden izole edilen üç triterpen olan mastikadienolik asit, mastikadienonik asit ve morolik asit, anti-inflamatuar aktivitesinden sorumlu görünmektedir (Bozorgi ve ark., 2013). *Pistacia terebinthus* ekstrelerinin, askorbik asit ve bütillenmiş hidroksianisol ile karşılaştırıldığında 12 kat daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu, muhtemelen, yüksek miktarda içerdiği fenol ve flavonoidlerin bir sonucudur (Bahcecioglu ve ark., 2015).

Reaktif oksijen türleri (ROS) çeşitli endojen (sitokinler, büyüme faktörleri ve metabolik süreçler) ve eksojen maddeler (sigara dumanı) tarafından üretilir. ROS, hücre yaşamı için oldukça reaktif ve tehlikeli yapan eşleştirilmemiş bir elektrona sahiptir. Kanser hücrelerinde ROS sinyal yolu iki yönlüdür: ROS ile indüklenen tümör ilerlemesi ve ROS ile indüklenen tümör apoptozu. Kanser hücreleri, yerleşik bir karsinogenez kaynağı olan büyümeyi, hücre sağkalımını ve inflamasyonu uyarmaya yardımcı olmak için serbest radikalleri ve diğer ROS'ları üretir. Ancak inflamatuvar süreçte makrofaj ve nötrofillerin varlığı, süperoksit ve diğer ROS'ların üretiminin toksik seviyelere ulaşmasına neden olarak, sonunda tümör hücresi ölümüne ve apoptoza neden olabilir. Antioksidanlar, ROS'u stabilize etmek veya parçalamak için gereken ekstra bir elektron sağlar. Bu nedenle, kanser hücrelerinin sabit bir ROS dengesini korumak için antioksidanlar üretmesi zorunludur (Athreya ve Xavier, 2017). Kanser ve antioksidanlar arasındaki bu ilişki göz önüne alındığında, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan *Pistacia terebinthus*'un da kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Literatürde *Pistacia terebinthus* bitkisinin daha çok antidiyabetik ve karaciğer hasarının önleyici etkisi üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Bahçecioglu ve ark (Bahcecioglu ve ark., 2015) menengiç kahvesinin ratlarda karaciğer hasarı üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, ratları 4 gruba ayırmışlardır. Birinci gruba bazal bir diyet + intraperitoneal salin solüsyonu, 2. gruba bazal diyet + taze hazırlanmış menengiç kahvesi + intraperitoneal salin solüsyonu, 3. Gruba bazal diyet + intraperitoneal tiyoasetamid ve 4. Gruba da bazal diyet + intraperitoneal tiyoasetamid + taze hazırlanmış menengiç kahvesi verilmiştir. 8 haftalık tedaviden sonra menengiç kahvesi tüketen karaciğer hasarlı grupta fibrozis ve inflamasyon skorlarını

istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olarak bulmuşlardır. *Pistacia terebinthus* bitkisinin bu özelliğinin NF-KB sinyal yolağında proinflamatuvar sitokinleri baskılamasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (Bahcecioglu ve ark., 2015). *Pistacia terebinthus* bitkisinin yağlı ekstresinin ratlarda antidiyabetik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ratlarda diyabet oluşturduktan sonra 28 gün süre ile ratlara akarboz ya da gastrik gavaj yolu ile 2ml/kg *Pistacia terebinthus* yağlı ekstresi uygulanmıştır. Ekstre alan grupta kontrol grubu ve akarboz olan gruba göre kan glikoz, AST, ALT, alkalen fosfataz, laktat dehidrogenaz, trigliserit ve LDL kolesterol seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmasının yanı sıra, antioksidan enzim seviyelerinde de iyileşmeler olduğu gösterilmiştir (Uyar ve Abdulrahman, 2020). *Pistacia terebinthus* kahve ve ekstreleri ile yapılan çalışmalara ek olarak, sabunu ile yapılan çalışma bulunmaktadır. Taştekin ve ark (Tastekin ve ark., 2014) kolon kanseri için setuksimab (epidermal büyüme faktörü resptörü inhibitörü bir ilaç) tedavisi alan 15 bireye topikal olarak *Pistacia terebinthus* sabunu uygulaması yaparak deri toksisitesi üzerine etkisini incelemiştir. Hastalardan haftada iki kez yüzlerini menengiç sabunu ile yıkamalarını istemişlerdir. Yüzlerini yıkarken sabunu uyguladıktan sonra iki dakika bekletip yıkamaları istenmiştir. Bir haftalık tedaviyi takiben bireylerde deri toksisite seviyelerinde anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir (Tastekin ve ark., 2014).

Pistacia terebinthus bitkisinin antikanser etkisini inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmalarda bitkinin antioksidan özelliğinden dolayı antikanser etki gösterdiği belirtilmiştir (Erdem Erişir, 2020; İçen ve ark., 2015; Naghmachi ve ark., 2022). *Pistacia terebinthus* bitkisinden elde edilen gümüş nanopartiküllerin de meme kanseri hücre hattı olan MCF-7 hücrelerine etkisini inceleyen çalışmada 3, 6, 12.5, 25, 50, 100, 200 ve 400 mg/L dozlarındaki menengiç metanolik ekstresi ve gümüş nanopartiküllerinin antioksidan etki göstererek ve hücre proliferasyonunu azaltarak antikanser etki gösterdiği bildirilmiştir (Naghmachi ve ark., 2022). *Pistacia terebinthus* tohumu sulu ve metanolik ekstrelerinin meme kanseri hücre hatları olan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında sitotoksik etkilerini araştıran çalışmada MTT testi uygulanmıştır. Her iki hücreye de 0, 250, 500, 750 ve 1000 µg/ml dozlarında ekstreler 24 süre ile uygulanmıştır. Ekstrelerin ikisinin de iki hücre hattında 250 µg/ml ve altındaki dozların hiçbirinde sitotoksik etki gözlenmezken,

500 µg/ml dozunda MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığında sırasıyla %36 ve %20 lik azalma olduğu gösterilmiştir (İçen ve ark., 2015). Çalışmamızda *Pistacia terebinthus* reçinesinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri araştırılmıştır. Agresif meme kanser hücre hattı olan MDA-MB-231 hücreleri üzerindeki 24 saat MRE uygulandığında hücrelerin yaklaşık %50'sinin öldüğü IC50 değeri 56.54 µg/ml olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda MRE'nin, tohum formunun sulu ve metanolik ekstralarına göre daha düşük dozlarda bile sitotoksik etki gösterdiği görülmektedir. Yani *Pistacia terebinthus* bitkisinin reçinesinin tohumundan daha çok sitotoksik etkiye sahip olduğu düşünülebilir.

Pistacia terebinthus tohumu sulu ekstresinin deneysel meme kanseri oluşturulan ratlarda apoptotik proteinlerin ekspresyonuna etkisinin incelendiği çalışmada, kontrol grubu dışındaki sıçanlara 16 hafta süre ile oral tüketim ile 20 mg/kg menengiç tohumu sulu ekstresi verilmiştir. Ekstre verilen grupta kontrol grubuna göre kaspaz-9 ve Bax proteinlerinin ekspresyonları anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenirken Bcl-2 ekspresyonu da anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (Erdem Erişir, 2020). Bizim çalışmamızda ise apoptoz yolağında yer alan kaspaz-3 ve bölünmüş kaspaz-3 protein ekspresyonlarını Western blot ile değerlendirme sonucunda MRE verilen grupta kontrol grubuna göre kaspaz-3 protein ekspresyonu ve kaspaz-3'ün aktive edilmiş protein hali olan bölünmüş kaspaz-3 ekspresyonunda bir değişiklik bulunamamıştır. Kaspaz-3'ün bölünmesi genellikle apoptozun evrensel bir belirteci olarak kabul edilmektedir, çünkü kaspaz-3 aktivitesi, apoptoz ile ilişkili morfolojik ve biyokimyasal olayların çoğu için gereklidir. Kaspaz-3, üç fragment ile sonuçlanan iki bölgede bölünür; ön etki alanı, büyük alt birim ve küçük alt birim. Birinci bölünme kaspaz-3'ü sadece kısmen aktive eder ve ikinci otolitik bölünme tam aktivasyonla sonuçlanır. Bu nedenle, apoptozun meydana geldiğini belirtmek için kaspaz-3'ün tamamen aktive olmasını sağlamak önemlidir (Crowley ve Waterhouse, 2016). Ancak bizim çalışmamızda kaspaz-3'ün aktive hali olan bölünmüş kaspaz-3 ekspresyonu MRE grubunda yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu veriler MRE'nin sitotoksik etkisini kaspaz bağımlı apoptoz yolağı üzerinden göstermediğini düşündürmektedir. Kaspaz aktivitesinde bir değişiklik olmamasına rağmen Hoeshst boyama sonuçlarımıza göre hücrelerin nükleer morfolojilerinde önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Hatta artan MRE

konsantrasyonlarına bağlı olarak hücre sayısında azalma bulunmuştur. Bu sonuçlarımıza göre MRE'nin agresif meme kanseri hücreleri için sitotoksik bir etki gösterdiği ve hücrelerin proliferasyonunu/canlığını inhibe ettiği bulundu. MRE'nin agresif meme kanseri hücrelerinde kaspaz bağımlı apoptoz sinyal yolağını etkilemediği bulundu. Tüm bu sonuçlarımıza göre; MRE'nin kaspaz bağımsız apoptoz yolağı üzerinden veya diğer hücre ölüm yolakları üzerinden hücrelerin canlığını baskıladığını düşünebiliriz. MRE'nin hangi ölüm sinyal yolağını etkileyerek sitotoksik etki gösterdiğini, yani MRE'nin agresif meme kanseri hücrelerindeki moleküler mekanizmasını açığa çıkarmak için daha ileri çalışmalar yapılması gereklidir.

Literatür incelendiğinde *Pistacia terebinthus* tohumları ve kahvesinin çeşitli hastalıklar üzerine etkileri araştırılmıştır. Ancak *Pistacia terebinthus* reçinesinin meme kanseri üzerine etkisi araştırılmamıştır. Dolayısı ile *Pistacia terebinthus* reçinesinin agresif meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 üzerine etkilerini incelemeyi amaçlayan bu tez çalışması, literatürde ilk olma niteliğindedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Pistacia terebinthus (menengiç) reçine ekstresinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında hücre ölümüne etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- MRE'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında IC50 dozu 56.54 µg/ml olarak belirlendi.
- Hoechst boyama analizi sonucunda 100 µg/ml dozundan sonra hücre canlılığı önemli bir şekilde azaldı.
- MRE verilen hücrelerde kaspaz sinyal yolağında görevli olan proteinlerin ekspresyonları değişmedi.
- MRE, MDA-MB-231 hücrelerini kaspaz bağımlı apoptozdan ziyade diğer hücre ölüm yolları aracılığı ile öldürmüş olabilir. Sonuçlar doğrultusunda,

Pistacia terebinthus reçinesinin meme kanseri tedavisine destek olarak kullanılabilir bir ürün olabileceği öngörülmektedir. Ancak bitkisel ürünlerin bilinçsiz kullanımının ortaya çıkarabileceği olumsuz sonuçlardan dolayı, özellikle kanser hastaları gibi riskli bir grupta, reçinenin uygun şekilde kullanımı ve toksik dozu ile ilgili gerekli hayvan çalışmaları ve klinik çalışmaların yapılması gereklidir. Ayrıca reçinenin meme kanseri hücrelerindeki etkilerinin hangi mekanizma yoluyla olduğunu net olarak belirleyebilmek için daha fazla moleküler çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- Alowami S, Troup S, Al-Haddad S, Kirkpatrick I, Watson PH. Mammographic density is related to stroma and stromal proteoglycan expression. *Breast Cancer Res*, 2003; 5: R129-R135.
- Arıncı K, Elhan A. *Anatomi: Dolaşım Sistemi, Periferik Sinir Sistemi, Merkezi Sinir Sistemi, Duyu Organları 2. cilt.* Güneş Kitapevi, Ankara 1997; s.: 401-404.
- Athreya K, Xavier MF. Antioxidants in the treatment of cancer. *Nutr Cancer*, 2017; 69: 1099-1104.
- Aumeeruddy MZ, Mahomoodally MF. Combating breast cancer using combination therapy with 3 phytochemicals: Piperine, sulforaphane, and thymoquinone. *Cancer*, 2019; 125: 1600-1611.
- Bahcecioglu IH, Ispiroglu M, Tuzcu M, Orhan C, Ulas M, Demirel U, Yalniz M, Özeran IH, Ilhan N, Sahin K. Pistacia terebinthus coffee protects against thioacetamide-induced liver injury in rats. *Acta Medica Cordoba*, 2015; 58: 56-61.
- Bednarek AK, Sahin A, Brenner AJ, Johnston DA, Aldaz CM. Analysis of telomerase activity levels in breast cancer: positive detection at the in situ breast carcinoma stage. *Clin cancer Res an Off J Am Assoc Cancer Res*, 1997; 3: 11-16.
- Bland KI, Copeland EM, Klimberg VS, Gradishar WJ. *The breast E-book: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases.* Elsevier Inc 2017; p.: 1754-1780.
- Bozorgi M, Memariani Z, Mobli M, Surmaghi MHS, Shams-Ardekani MR, Rahimi R. P. khinjuk, and P. lentiscus): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*, 2013; 2013: 219815-219848.
- Cabioğlu N. *Meme anatomisi ve fizyolojisi.* Kitap: Özmen V, Cantürk Z, Çelik V, Güler N, Kopkaç M, Koyuncu A, Müslümanoğlu M, Utkan Z (editörler), *Meme Hastalıkları Kitabı.* Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara 2012; s.:3-17.
- Cailleau R, Olive M, Cruciger QVJ. Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In Vitro*, 1978; 14: 911-915.
- Campbell JB. Breast cancer-race, ethnicity, and survival: a literature review. *Breast Cancer Res Treat*, 2002; 74: 187-192.

- Celepli S, Bigat İ, Celepli P, Karagin PH. Apoptoz ve apoptotik yolların gözden geçirilmesi. *Güncel Gastroenteroloji*, 2020; 24: 103-111.
- Chavez KJ, Garimella S V, Lipkowitz S. Triple negative breast cancer cell lines: one tool in the search for better treatment of triple negative breast cancer. *Breast Dis*, 2010; 32: 35-48.
- Chew HK. Adjuvant therapy for breast cancer: who should get what? *West J Med*, 2001; 174: 284-287.
- Clarke MA, Fisher J. Executable cancer models: successes and challenges. *Nat Rev Cancer*, 2020; 20: 343-354.
- Colditz GA, Kaphingst KA, Hankinson SE, Rosner B. Family history and risk of breast cancer: nurses' health study. *Breast Cancer Res Treat*, 2012; 133: 1097-1104.
- Collins A, Politopoulos I. The genetics of breast cancer: risk factors for disease. *Appl Clin Genet*, 2011; 4: 11-19.
- Comşa Ş, Cimpean AM, Raica M. The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 years of experience in research. *Anticancer Res*, 2015; 35: 3147-3154.
- Crowley LC, Waterhouse NJ. Detecting cleaved caspase-3 in apoptotic cells by flow cytometry. *Cold Spring Harb Protoc*, 2016; 2016: 958-962.
- Çiftçi Yegin S. Farklı yörelere ait sumak (*Rhus Coriaria L.*) ekşisinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. *Cumhur Üniv Sağ Bil Enst Derg*, 2017; 2: 35-39.
- D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*, 2019; 43: 582-592.
- de Boer MC, Wörner EA, Verlaan D, van Leeuwen PAM. The mechanisms and effects of physical activity on breast cancer. *Clin Breast Cancer*, 2017; 17 :272-278.
- DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*, 2014; 64: 52-62.
- Dhifi W, Mnif W, Ouerhani B, Ghrissi K. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from the seeds of *Pistacia terebinthus* grown in Tunisia. *J Essent Oil Bear Plants*, 2012; 15: 582-588.
- Dowsett M. Overexpression of HER-2 as a resistance mechanism to hormonal therapy for breast cancer. *Endocr Relat Cancer*, 2001; 8: 191-195.
- Duru ME, Cakir A, Kordali S, Zengin H, Harmandar M, Izumi S, Hirata T. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia*, 2003; 74: 170-176.
- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 2007; 35: 495-516.
- Erdem Erişir F. Deneysel meme kanseri hücre modelinde sumak ve memengiç'in Her-2, p53, Bcl-2, Bax, Kaspaz-9 ve Ras proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ile bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri., Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ 2020; s.: 17-43.

- Escala-Garcia M, Morra A, Canisius S, Change-Claude J, Kar S, Zheng W, Bojesen SE, Easton D, Pharoah PD, Schmidt MK. Breast cancer risk factors and their effects on survival: a Mendelian randomisation study. *BMC Med*, 2020; 18: 327-337.
- Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, Jeong JH, Wolmark N. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med*, 2002; 347: 1233-1241.
- Giner-Larza EM, Máñez S, Giner-Pons RM, Recio MC, Ríos J-L. On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. *J Ethnopharmacol*, 2000; 73: 61-69.
- Giner-Larza EM, Máñez S, Recio MC, Giner RM, Prieto JM, Cerdá-Nicolás M, Ríos JL. Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *Eur J Pharmacol*, 2001; 428: 137-143.
- Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, Lingle WL, Degnim AC, Ghosh K, Vierkant RA, Maloney SD, Pankratz VS, Hillman DW, Suman VJ, Johnson J, Blake C, Tlsty T, Vachon CM, Melten 3rd LJ, Vischer DW. Benign breast disease and the risk of breast cancer. *N Engl J Med*, 2005; 353: 229-237.
- Harwansh RK, Deshmukh R. Breast cancer: An insight into its inflammatory, molecular, pathological and targeted facets with update on investigational drugs. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2020; 154: 103070-103080.
- Heim E, Valach L, Schaffner L. Coping and psychosocial adaptation: Longitudinal effects over time and stages in breast cancer. *Psychosom Med*, 1997; 59: 408-418.
- Hill DA, Gilbert E, Dores GM, Gospodarowicz M, Van Leeuwen FE, Holowaty E, Glimelius B, Andersson M, Wiklund T, Lynch CF, van't Veer M, Storm H, Pukkala E, Stovall M, Curtis RE, Allan JM, Boice JD, Travis LB. Breast cancer risk following radiotherapy for Hodgkin lymphoma: modification by other risk factors. *Blood*, 2005; 106: 3358-3365.
- Hortobagyi GN, Edge SB, Giuliano A. New and important changes in the TNM staging system for breast cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ B*, 2018; 38: 457-467.
- Howell A, Anderson AS, Clarke RB, Duffy SW, Evans DG, Garcia-Closas M, Gescher AJ, Key TJ, Saxton JM, Harvie MN. Risk determination and prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2014; 16: 446-465.
- Hwang ES, Lichtensztajn DY, Gomez SL, Fowble B, Clarke CA. Survival after lumpectomy and mastectomy for early stage invasive breast cancer: the effect of age and hormone receptor status. *Cancer*, 2013; 119: 1402-1411.
- İçen MS, Karakuş F, Tosun E, Yılmaz K. Antiproliferative Potential of *Pistacia terebinthus* L. on Breast Cancer Cell Lines, International Gazi Pharma Symposium Bildiri Kitabı. Antalya 12-15 Kasım 2015; ss.:17282.

- Jacquillat C, Weil M, Baillet F, Borel C, Auclerc G, De Maublanc MA, Housset M, Forget G, Thill L, Soubrane C. Results of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in the breast-conserving treatment of 250 patients with all stages of infiltrative breast cancer. *Cancer*, 1990; 66: 119-129.
- Jiang Q, Yang M, Qu Z, Zhou J, Zhang Q. Resveratrol enhances anticancer effects of paclitaxel in HepG2 human liver cancer cells. *BMC Complement Altern Med*, 2017; 17: 477-489.
- Kabel AM, Baali FH. Breast cancer: insights into risk factors, pathogenesis, diagnosis and management. *J Cancer Res Treat*, 2015; 3: 28-33.
- Kallis M, Sideris K, Kopsahelis N, Bosnea L, Kourkoutas Y, Terpou A, Kanellaki M. Pistacia terebinthus resin as yeast immobilization support for alcoholic fermentation. *Foods*, 2019; 8: 127-144.
- Kavak DD, Altıok E, Bayraktar O, Ülkü S. Pistacia terebinthus extract: As a potential antioxidant, antimicrobial and possible β -glucuronidase inhibitor. *J Mol Catal B Enzym*, 2010; 64: 167-171.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972; 26: 239-257.
- Khan T, Ali M, Khan A, Nisar P, Jan SA, Afridi S, Shinwari ZK. Anticancer plants: A review of the active phytochemicals, applications in animal models, and regulatory aspects. *Biomolecules*, 2019; 10: 47-77.
- Klonish T, Hombach-Klonish S. Sobotta Atlas of Human Anatomy (15th ed). Paulsen F, Waschke J (eds), Elsevier GmbH, Munich 2011; p.:115.
- Koo MM, von Wagner C, Abel GA, McPhail S, Rubin GP, Lyratzopoulos G. Typical and atypical presenting symptoms of breast cancer and their associations with diagnostic intervals: Evidence from a national audit of cancer diagnosis. *Cancer Epidemiol*, 2017; 48: 140-146.
- Lamiri A, Lhaloui S, Benjilali B, Berrada M. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *F Crop Res*, 2001; 71: 9-15.
- Li J, Han X. Adipocytokines and breast cancer. *Curr Probl Cancer*, 2018; 42: 208-214.
- Liu H, Zang C, Fenner MH, Possinger K, Elstner E. PPAR γ ligands and ATRA inhibit the invasion of human breast cancer cells in vitro. *Breast Cancer Res Treat*, 2003; 79: 63-74.
- Lorona NC, Malone KE, Li CI. Racial/ethnic disparities in risk of breast cancer mortality by molecular subtype and stage at diagnosis. *Breast Cancer Res Treat*, 2021; 190: 549-558.
- McDonald JA, Goyal A, Terry MB. Alcohol intake and breast cancer risk: weighing the overall evidence. *Curr Breast Cancer Rep*, 2013; 5: 208-221.
- Moore KL, Dalley AF. Clinically Orientated Anatomy (8th ed). Williams and Wilkins, Baltimore 1992; p.: 29-37.
- Moran MS, Schnitt SJ, Giuliano AE, Harris JR, Khan SA, Horton J, Klimberg S, Chavez-MacGregor M, Freedman G, Houssami N, Johnson PL, Morrow M.

- Society of Surgical Oncology–American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014; 88: 553-564.
- Mouhajir F, Hudson JB, Rejdali M, Towers GHN. Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by Berber peoples of Morocco. *Pharm Biol*, 2001; 39: 364-374.
- Naghmachi M, Raissi A, Baziyar P, Homayoonfar F, Amirmahani F, Danaei M. Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) by *Pistacia terebinthus* extract: Comprehensive evaluation of antimicrobial, antioxidant and anticancer effects. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022; 608: 163-169.
- Neuman HB, Morrogh M, Gonen M, Van Zee KJ, Morrow M, King TA. Stage IV breast cancer in the era of targeted therapy: does surgery of the primary tumor matter? *Cancer Interdiscip Int J Am Cancer Soc*, 2010; 116: 1226-1233.
- Orhan IE, Senol FS, Gulpinar AR, Sekeroglu N, Kartal M, Sener B. Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses. *Food Chem*, 2012; 130: 882-888.
- Owen WA, Brazeal HA, Shaw HL, Lee M V, Appleton CM, Holley SO. Focal breast pain: imaging evaluation and outcomes. *Clin Imaging*, 2019; 55: 148-155.
- Özcan MM, Al Juhaimi F, Uslu N, Ahmed IAM, Babiker EE, Osman MA, Gassem MA, Alqah HA, Ghafoor K. Effect of sonication process of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) fruits on antioxidant activity, phenolic compounds, fatty acids and tocopherol contents. *J Food Sci Technol*. 2020, 57: 2017-2025.
- Park H-A, Brown SR, Kim Y. Cellular mechanisms of circulating tumor cells during breast cancer metastasis. *Int J Mol Sci*, 2020; 21: 5040-5059.
- Parlar S, Kaydul N, Ovayolu N. Meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesinin önemi. *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilim Derg*, 2005; 8: 72-83.
- Pistritto G, Trisciuglio D, Ceci C, Garufi A, D’Orazi G. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*, 2016; 8: 603-619.
- Pritchard KI, Shepherd LE, O’Malley FP, Andrulis IL, Tu D, Bramwell VH, Levine MN, National Cancer Institute of Canada Clinical Trial Group. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med*, 2006; 354: 2103-2111.
- Pulaj B, Mustafa B, Nelson K, Quave CL, Hajdari A. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Pistacia terebinthus* essential oils derived from wild populations in Kosovo. *BMC Complement Altern Med*, 2016; 16: 147-156.
- Rojas K, Stuckey A. Breast cancer epidemiology and risk factors. *Clin Obstet Gynecol*, 2016; 59: 651-672.

- Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer Jr CE, Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA, Swain SM, Pisansky TM, Fehrenbacher L, Kutteh LA, Vogel VG, Visscher DW, Yothers G, Jenkins RB, Brown AM, Dakhil SR, Mamounas EP, Lingle WL, Klein PM, Ingle JN, Wolmark N. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*, 2005; 353: 1673-1684.
- Rosato V, Bosetti C, Negri E, Talamini R, Dal Maso L, Malvezzi M, Falcini F, Montella M, La Vecchia C. Reproductive and hormonal factors, family history, and breast cancer according to the hormonal receptor status. *Eur J cancer Prev*, 2014; 23: 412-417.
- Saklani A, Kutty SK. Plant-derived compounds in clinical trials. *Drug Discov Today*, 2008; 13: 161-71.
- Segal R, Evans W, Johnson D, Smith J, Colletta S, Gayton J, Woodard S, Wells G, Reid R. Structured exercise improves physical functioning in women with stages I and II breast cancer: results of a randomized controlled trial. *J Clin Oncol*, 2001; 19: 657-665.
- Shu L, Cheung K-L, Khor TO, Chen C, Kong A-N. Phytochemicals: cancer chemoprevention and suppression of tumor onset and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 2010; 29: 483-502.
- Siddique M, Hassan A, Nawaz M, Bashir H, Chaudhry M. Comparison between sentinel lymph node hybrid scintigraphy and blue dye technique in breast cancer patients: An institutional experience. *World J Nucl Med*, 2020; 19: 21-27.
- Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Press M, Mackey J, Glaspy J, Chan A, Pawlicki M, Pinter T, Valero V, Liu MC, Sauter G, von Minckwitz G, Visco F, Bee V, Buyse M, Bendahmane B, Tabah-Fisch I, Lindsay MA, Riva A, Crown J, Breast Cancer International Research Group. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*, 2011; 365: 1273-1283.
- Sobocan M, Smolle MA, Schatz C, Haybaeck J. The interplay of tumor stroma and translational factors in endometrial cancer. *Cancers (Basel)*, 2020; 12: 2074-2088.
- Subramani R, Lakshmanaswamy R. Complementary and alternative medicine and breast cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2017; 151: 231-274.
- Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, Shi W, Jiang J, Yao PP, Zhu HP. Risk factors and preventions of breast cancer. *Int J Biol Sci*, 2017; 13: 1387-1397.
- Şahin İ. Menengiç (*Pasticia terebinthus*) tohumu yağının karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya 2019; s.: 4-9.
- Tasdelen İ. Meme hastalıklarında belirtiler. Kitap: Özmen V, Cantürk Z, Çelik V, Güler N, Kopkaç M, Koyuncu A, Müslümanoğlu M, Utkan Z (editörler), Meme hastalıkları kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara 2012; s.: 33-46.

- Tastekin D, Tambas M, Kilic K, Erturk K, Arslan D. The efficacy of Pistacia Terebinthus soap in the treatment of cetuximab-induced skin toxicity. *Invest New Drugs*, 2014; 32: 1295-1300.
- Topçu G, Ay M, Bilici A, Sarıkürkcü C, Öztürk M, Ulubelen A. A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. *Food Chem*, 2007; 103: 816-822.
- Uyar A, Abdulrahman NT. A histopathological, immunohistochemical and biochemical investigation of the antidiabetic effects of the Pistacia terebinthus in diabetic rats. *Biotech Histochem*, 2020; 95: 92-104.
- Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, Cronin WM, Cecchini RS, Atkins JN, Bevers TB, Fehrenbacher L, Pajon Jr ER, Wade 3rd JL, Robidoux A, Margolese RG, James J, Lippman SM, Runowicz CD, Ganz PA, Reis SE, McCaskill-Stevens W, Ford LG, Jordan VC, Wolmark N, National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *Jama*, 2006; 295: 2727-2741.
- Wang CZ, Calway T, Yuan CS. Herbal medicines as adjuvants for cancer therapeutics. *Am J Chin Med*, 2012; 40: 657-669.
- Wang L. Early diagnosis of breast cancer. *Sensors*, 2017; 17: 1572-1592.
- World Health Organisation (2021). The Global Cancer Observatory: Turkey. Erişim: [<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-factsheets.pdf>]. Erişim Tarihi: 9 Kasım 2022.
- Yüksel AK, Şat IG, Yüksel M. The effect of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) coffee addition on the chemical and physical characteristics, colour values, organic acid profiles, mineral compositions and sensory properties of ice creams. *J Food Sci Technol*, 2015; 52: 8023-8031.

PİSTACIA TEREBİNTHUS (MENENĞİÇ) REÇİNE EKSTRESİNİN MDA-MB-231 HÜCRE HATTINA ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 16	% 14	% 2	% 9
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 5
2	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 2
3	acikerisim.erbakan.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	abakus.inonu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
6	Submitted to Sağlık Bilimleri Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
7	acikerisim.istinye.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Yakın Doğu Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1

acikerisim.pau.edu.tr:8080

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Kerim FIRAT
Uyruğu : Türkiye (T.C.)

EĞİTİM BİLGİLERİ

<u>DERECE</u>	<u>KURUM</u>	<u>MEZUNİYET</u>
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Anatomisi ABD,	2018- Devam ediyor
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü	2009-2013

İŞ DENEYİMİ

<u>YIL</u>	<u>KURUM</u>	<u>GÖREV</u>
2013-2014	Özel Eylül Sevim Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi (Bünyan/KAYSERİ)	Fizyoterapist
2014-2015	Özel Anadolu Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi (Kocasinan/KAYSERİ)	Fizyoterapist
2015-2020	Özel Yeni Koza Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi (Kocasinan/KAYSERİ)	Fizyoterapist
2020	Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi (Başakşehir/İSTANBUL)	Fizyoterapist
2020-Halen	Özel Yeni Koza Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi (Kocasinan/KAYSERİ)	Fizyoterapist

YABANCI DİL

İngilizce