

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı**

***Mentha pulegium* L. BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN  
EKSTRAKTIN MEME KANSERİ HÜCRE HATTI (MCF 7)  
ÜZERİNDEKİ APOPTOTİK VE ANTİPROLİFERATİF  
ETKİSİ**

**Hazırlayan  
Mustafa Özkan UYSAL**

**Danışman  
Prof. Dr. Nurhan CÜCER**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Mart 2021  
KAYSERİ**



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***Mentha pulegium L.* BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN  
EKSTRAKTIN MEME KANSERİ HÜCRE HATTI (MCF 7)  
ÜZERİNDEKİ APOPTOTİK VE ANTİPROLİFERATİF  
ETKİSİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Mustafa Özkan UYSAL**

**Danışman  
Prof. Dr. Nurhan CÜCER**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
Tarafından TYL-2017-6892 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Mart 2021  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

**Adı-Soyadı** : Mustafa Özkan UYSAL

**İmza** :

## YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

**“*Mentha pulegium L.* Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktın Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF7) Üzerindeki Apoptotik ve Antiproliferatif Etkisi”** adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Tezi Hazırlayan**

Mustafa Özkan UYSAL

**Danışman**

Prof. Dr. Nurhan CÜCER

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Prof. Dr. Hamiyet ALTUNTAŞ

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Prof. Dr. Nurhan CÜCER** danışmanlığında **Mustafa Özkan UYSAL** tarafından hazırlanan “*Mentha pulegium L.* Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktın Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF7) Üzerindeki Apoptotik ve Antiproliferatif Etkisi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.... /... / 2021

### JÜRİ:

### İmza

Danışman : Prof. Dr. Nurhan CÜCER .....

(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Hamiyet ALTUNTAŞ .....

(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Sebiha ÇEVİK-KAPLAN .....

(Abdullah Gül Üniversitesi, Yaşam ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik )

### ONAY:

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

.... /... / 2021

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenim sürecim boyunca bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini hoş görüyle paylaşan aynı zamanda da bilginin paylaşılması gerektiğini bizlere öğreten, akademik gelişimime katkıda bulunan, Sayın Prof. Dr. Nurhan CÜCER hocam'a;

Yüksek Lisans öğrenim sürecimde destek veren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine;

Tez çalışmalarım sırasında yanımda olan, desteklerini hiç esirgemeyen, bilgi birikimleri ile çalışmalarına yardımcı olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Muazzez Derya ANDEDEN'e;

Tezin yapılmasında katkısı olan Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Emrah Erdoğan'a;

Son olarak, her zaman olduğu gibi maddi ve manevi destek sağlayan, bugünlere gelmemde en büyük katkıyı sağlayan eşim Nihal UYSAL'a, oğullarım Ertuğrul ve Sungur UYSAL'a, babam Durmuş UYSAL'a, annem Bahar UYSAL'a ve kardeşlerime **sonsuz teşekkür ederim.**

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (TYL-2017-6892) teşekkür ederim.

Mustafa Özkan UYSAL

Mart 2021, KAYSERİ

***Mentha pulegium* L. BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN  
MEME KANSERİ HÜCRE HATTI (MCF 7) ÜZERİNDEKİ  
APOPTOTİK VE ANTİPROLİFERATİF ETKİSİ**

**Mustafa Özkan UYSAL**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Mart 2021  
Danışman: Prof. Dr. Nurhan CÜCER**

**ÖZET**

Meme kanseri, dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen kanser tipidir ve kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ilk sırada bulunmaktadır. Meme kanseri deri dışı malignant bir tümördür. Genel olarak, geleneksel kanser tedavi seçenekleri (cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, biyolojik terapi ve hormon tedavisi) tamamen etkili değildir. Meme kanseri hastalarında nüks ve diğer patolojik durumlar, yan etkiler, normal hücrelerde ilaçların toksisitesi ve tümörlerin agresif davranışları nedeniyle hala bir sorundur. Bu bakımdan meme kanseri tedavisi ve yardımcı yöntemler araştırmacılar için umut verici ve zorlu bir alanı temsil eder. Son birkaç yılda, meme kanseri geçmişi olan kadınlar tarafından fitoterapötik ürünler ve besin takviyeleri gibi bazı tamamlayıcı ilaç türlerinin kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Pennyroyal olarak bilinen *Mentha pulegium*, *Lamiaceae* familyasında ve nane cinsinde çok yıllık otsu bir bitkidir. *Mentha pulegium*, yaygın olarak şifalı bir bitki, bitkisel çay ve aroma maddesi olarak kullanılır. Bu çalışmada meme kanseri hücre hattında (MCF 7) *Mentha pulegium* L. bitkisinden elde edilen sulu ekstraktın apoptotik ve antiproliferatif etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada MCF-7 hücre hattı üzerine *Mentha pulegium* L. sulu ekstraktının farklı konsantrasyonları uygulandı ve sitotoksik aktiviteleri 24 ve 48. saatte MTT yöntemi kullanılarak belirlendi. *Mentha pulegium* L. ekstraktı için apoptotik etkileri belirlemek amacıyla Giemsa boyama yöntemi kullanıldı.

Proliferasyon testi sonucunda, *Mentha pulegium* L.'nin farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde % canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 24 saatlik uygulamada hücre canlılığının giderek azaldığı görülmüştür. *Mentha pulegium* L.'nin en iyi 100 mg/ml'lik konsantrasyonda proliferasyonu

baskıladığı belirlenmiştir. *Mentha pulegium L.*'nin farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde % canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Giemsa boyaması sonucunda, *Mentha pulegium L.*'nin farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde % apoptotik hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *Mentha pulegium L.*'nin 100 mg/ml'lik konsantrasyonunda apoptotik hücre sayısının % 27,3 ile en fazla olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada doza ve zamana bağlı olarak *Mentha pulegium L.* ekstrektinin MCF-7 hücre kültürlerinde proliferasyonu azalttığını ve az da olsa apoptotik olduğunu gözlemledik. *İn vivo* deneyler ile daha ayrıntılı çalışılarak, terapotik bir ajan olarak *Mentha pulegium L.* ekstrektinin meme kanseri tedavisinin gelişimine önemli katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** *Mentha pulegium*, Meme kanseri, MCF 7, Apoptoz

## THE APOPTOTIC AND ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF EXTRACT FROM *Mentha pulegium* L. ON BREAST CANCER CELL LINE (MCF-7)

Mustafa Özkan UYSAL

Erciyes University, Institute of Health Sciences  
Department of Medical Biology, M.Sc. Thesis, March 2021  
Supervisor: Prof. Dr. Nurhan CÜCER

### ABSTRACT

Breast cancer is the most common type of cancer among women worldwide and it is the leading cause in cancer-related deaths for women. Breast cancer is a nonskin malignant tumor. In general, conventional cancer treatment options (surgery, radiotherapy, chemotherapy, biological therapy and hormone therapy) are not completely effective. Recurrence and other pathologic situations in breast cancer patients are still an issue due to side effects, toxicity of drugs in normal cells and aggressive behaviour of tumours. In this regard, breast cancer treatment and adjuvant methods represent a promising and challenging area for researchers. In the last few years, the use of some types of complementary drugs, such as phytotherapeutic products and nutritional supplements by women with a history of breast cancer has increased significantly. *Mentha pulegium*, known as pennyroyal, is a herbaceous perennial plant in the *Lamiaceae* family and in the mint genus. *Mentha pulegium* is widely used as a medicinal herb, herbal tea and flavoring agent. In this study, it was aimed to investigate the apoptotic and antiproliferative effects of the aqueous extract obtained from *Mentha pulegium* L. plant on breast cancer cell line (MCF 7).

In this study, different concentrations of *Mentha pulegium* L. aqueous extract were applied on the MCF-7 cell line and cytotoxic activities were determined at 24 and 48 hours using MTT method. Giemsa staining method was used to determine apoptotic effects for *Mentha pulegium* L. extract.

As a result of the proliferation test, the % viability rates in MCF 7 cell cultures that were interacted with different doses of *Mentha pulegium* L. for 24 hours were found to be statistically significant. It was observed that the cell viability decreased gradually during the 24-hour application. It was determined that *Mentha pulegium* L. suppresses proliferation at a concentration of 100 mg / ml. The % viability rates in MCF 7 cell

cultures that were interacted with different doses of *Mentha pulegium L.* for 48 hours were not found to be statistically significant.

As a result of Giemsa staining, the number of apoptotic cells % in MCF 7 cell cultures that were interacted with different doses of *Mentha pulegium L.* for 24 hours was found to be statistically significant. It was determined that the number of apoptotic cells at 100 mg / ml concentration of *Mentha pulegium L.* was found to be the highest with 27,3%.

In conclusion, in this study, we observed that depending on the dose and time, *Mentha pulegium L.* extract decreased proliferation in MCF-7 cell cultures and was slightly apoptotic. We believe that further study with in vivo experiments will make a significant contribution to the development of breast cancer treatment as a therapeutic agent.

**Key words:** *Mentha pulegium*, Breast cancer, MCF 7, Apoptosis

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>İÇ KAPAK</b> .....	<b>i</b>
<b>BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK</b> .....	<b>ii</b>
<b>YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI</b> .....	<b>iii</b>
<b>KABUL VE ONAY SAYFASI</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>x</b>
<b>KISALTMALAR ve SİMGELER</b> .....	<b>xiii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>xvi</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>xvii</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kanser ve Tarihçesi .....	3
2.2. Meme Kanseri .....	8
2.3. Meme Kanseri Epidemiyolojisi .....	9
2.4. Meme Kanseri Risk Faktörleri .....	13
2.5. Meme Kanserinin Tipleri .....	13
2.5.1. Duktal Karsinom İn Situ .....	14
2.5.2. Lobular Karsinom İn Situ .....	14
2.5.3. İnvaziv (Yayılmacı) Meme Kanseri .....	15
2.5.4. İnflamatuvar Meme Kanseri .....	15
2.6. Meme Kanserinde Tedavi Yaklaşımları .....	15
2.6.1. Paklitaksel .....	16
2.7. Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF 7)'nin Özellikleri .....	18
2.8. Hücre Ölüm Mekanizmaları .....	18
2.8.1. Apoptoz (Programlı Hücre Ölümü).....	19
2.8.1.1. Apoptozda Görülen Morfolojik Değişiklikler .....	19
2.8.1.2. Apoptozda Rol Oynayan Moleküller.....	20
2.8.1.2.1. p53 .....	20

2.8.1.2.2. Bcl-2 ailesi .....	20
2.8.1.2.3. FAS (APO-1 veya CD95).....	21
2.8.1.2.4. Kaspazlar .....	21
2.9. <i>Mentha pulegium</i> L. Bitkisinin Genel Özellikleri .....	22
2.9.1. <i>Lamiaceae</i> Familyası.....	22
2.9.2. <i>Mentha pulegium</i> L. (Yalancı Nane) .....	23
2.9.3. <i>Mentha pulegium</i> L. Taksonomisi .....	23
2.9.4. <i>Mentha pulegium</i> L.'nin Sitotoksik Aktivitesi .....	24
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>25</b>
3.1. Gereçler .....	25
3.1.1. Demirbaş Cihazlar .....	25
3.1.2. Sarf Malzemeler .....	26
3.2. Yöntem .....	27
3.2.1. Bitki Örneğinin Toplanması .....	27
3.2.2. <i>Mentha pulegium</i> L. Ekstraktının Hazırlanması.....	27
3.2.3. Hücre Kültürü İçin Besiyerinin Hazırlanışı .....	28
3.2.4. Hücre İnkübasyon Koşulları.....	29
3.2.5. Hücre Kültürünün Hazırlanması .....	29
3.2.6. Hücrelerin Pasajlanması .....	30
3.2.7. Hücrelerin Dondurulması ve Saklanması.....	31
3.2.8. <i>Mentha pulegium</i> L. Konsantrasyonlarının Hazırlanması.....	31
3.2.9. Paklitaksel Konsantrasyonların Hazırlanması.....	32
3.2.10. Hücrelerin Sayılması .....	33
3.2.11. Hücrelerin Ekilmesi.....	34
3.2.12. Hücrelere <i>Mentha pulegium</i> ve Paklitaksel Konsantrasyonlarının Eklenmesi .....	34
3.2.13. MTT Testinin Uygulanması .....	35
3.2.14. Sorenson's Fosfat Buffer Hazırlanışı .....	37
3.2.15. Apoptoz Deneyi.....	37
3.3. İstatiksel Analizler.....	38
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>39</b>
4.1. <i>Mentha pulegium</i> L. ve Paklitaksel Konsantrasyonlarının MCF 7 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi.....	39

4.2. <i>Mentha pulegium</i> L. ve Paklitaksel Konsantrasyonlarının MCF 7 Hücrelerinde Apoptoz Üzerine Etkisi .....	43
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>46</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>49</b>
<b>İNTİHAL RAPORU</b>	
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	



## KISALTMALAR ve SİMGELER

%	: Yüzde
5-FU	: 5-Fluorouracil
AIF	: Apoptoz İndükleyici Faktör (Apoptosis Inducing Factor)
APAF-1	: Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör 1 (Apoptotic Protease Activating Factor 1)
ASP	: Aspartik Asit
Bad	: Bcl-2 İlişkili Apoptoz Proteinini (Bcl-2 Associated Agonist of Cell Death )
Bak	: Bcl-2 Antagonisti Öldürücü Protein (Bcl-2 homologous antagonist/ killer )
Bax	: Bcl-2 İlişkili X Proteinini (Bcl-2 Associated X protein)
Bcl-2	: B-hücre lenfoma protein-2 (B-cell lymphoma 2)
Bcl-Xl	: Bcl-2 bağlantılı protein
BclXs	: Bcl-2 Bağlantılı Protein
Bid	: BH3 Etkileşimli Ölüm Proteinini (BH3 interacting-Domain Death Agonist)
Bim	: Bcl-2 Benzeri Protein 11
BRCA	: Meme Kanseri Duyarlılık Geni (Breast Cancer Susceptibility Gen)
BRCA1	: Meme Kanseri Duyarlılık Geni 1 (Breast Cancer Susceptibility Gen 1)
BRCA2	: Meme Kanseri Duyarlılık Geni 2 (Breast Cancer Susceptibility Gen 2)
Ca <sup>++</sup>	: Kalsiyum
c-ErbB-2 (Her-2/Neu)	: Epidermal büyüme (çoğalma) faktörü reseptör-2
cm <sup>2</sup>	: Santimetre Kare
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
dH <sub>2</sub> O	: Distile Su
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DPBS	: Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline
DUOF	: Düzce Orman Fakültesi
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor)
FADD	: Fas İlişkili Ölüm Domeyni (Fas Associated Death Domain)
FBS	: Fetal Bovine Serum
g	: Gram
GLOBOCAN	: Küresel Kanser Gözlemevi (Global Cancer Observatory)
HDI	: İnsani Gelişme Endeksi (Human Development Index)
HER-2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (Epidermal Growth Factor Receptor 2)
IARC	: Uluslar arası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Mono Potasyum Fosfat
LC50	: Lethal Concentration 50
LHRH-A	: Lüteinize Edici Hormon-Salgılatıcı Hormon Analogu (Luteinizing Hormone - Releasing Hormone analogue)
m	: Metre
M	: Molar
M.Ö.	: Milattan Önce
M.S.	: Milattan Sonra
MA	: Molü Hazırlanacak Olan Maddenin 1 Molünün Ağırlığı
MCF 7	: İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı (Michigan Cancer Foundation7)
Mcl-1	: İndüklenmiş Miyeloid Lösemi Hücre Farklılaşma Proteini
ME	: Mentha Ekstraktı
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MLH1	: DNA Uyuşmazlığı Proteini (MutL Homolog 1)

Mp	: <i>Mentha pulegium</i>
MSH2	: DNA Uyuşmazlığı Proteini (MutS Homolog 2)
MTT	: 3-[4,5-dimetil-2-tiazolil]-2,5-difenil tetrazolyum bromid
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	: Disodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat
nm	: Nanometre
Noxa	: Forbol-12-miristat-13-asetat İndüklenen Protein1
N-Ras	: Nöroblastoma RAS Proto-Onkogen
°C	: Santigrad Derece
p21	: Tümör Protein 21
p53	: Tümör Protein 53 (TP53)
Pac	: Paklitaksel
pH	: Power of Hydrogen
Puma	: Bcl-2 Bağlayıcı Komponent 3 (p53 Upregulated Modulator of Apoptosis)
Rb	: Tümör Baskılayıcı Protein (Retinoblastoma Protein)
rpm	: Revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)
RPMI	: Rosswell Park Memorial Institute
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
WNT7B	: Protein Kodlama Geni (Wnt Family Member 7B)
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre

## TABLOLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 2.1.</b> GLOBOCAN 2018 Verilerine Göre Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Erkeklerde En Çok Görülen Beş Kanser Çeşidinin Dağılımı.....	12
<b>Tablo 2.2.</b> GLOBOCAN 2018 Verilerine Göre Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Kadınlarda En Çok Görülen Beş Kanser Çeşidinin Dağılımı.....	12
<b>Tablo 2.3.</b> <i>Mentha pulegium</i> için kullanılan diğer isimler. ....	22
<b>Tablo 2.4.</b> <i>Mentha pulegium L.</i> bitkisinin taksonomisi.....	23
<b>Tablo 4.1.</b> Negatif kontrol, <i>M. pulegium</i> (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde yüzde canlılık oranları. ....	41
<b>Tablo 4.2.</b> Negatif kontrol, <i>M. pulegium</i> (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde yüzde canlılık oranları. ....	42
<b>Tablo 4.3.</b> Kontrol, <i>M. pulegium</i> (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde yüzde apoptotik etkinin oranları.....	45

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Şekil 2.1.</b> Dünya genelinde 2020’de her iki cinsiyette yeni kanser vakalarının ve ölümlerinin yüzdeleri .....	5
<b>Şekil 2.2.</b> Erkekler Arasında En Çok Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).....	7
<b>Şekil 2.3.</b> Kadınlar Arasında En Çok Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).....	7
<b>Şekil 2.4.</b> 2012-2016 Yıllarındaki Cinsiyete Göre Tüm Kanserlerin Yaşa Standardize İnsidans Hızlarının Değişimi (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2012-2016) (Dünya Standart Nüfusu,100.000 Kişide).....	8
<b>Şekil 2.5.</b> Dünya’da 2020 Yılında En Sık Görülen 10 Kanserin (A) Erkekler ve (B) Kadınlar için Vakaların ve Ölümlerin Dağılımı .....	10
<b>Şekil 2.6.</b> Dünya genelinde 2020’de Kadınlar Arasında Ükelere Göre En Yaygın Kanser Ölümcülüğünü Sunan Küresel Haritalar.....	11
<b>Şekil 2.7.</b> Dünya genelinde 2020’de Kadınlar Arasında Ükelere Göre En Sık Görülen Kanser Tipine İlişkin Küresel Haritalar.....	11
<b>Şekil 2.8.</b> Meme kanseri gelişimini etkileyen risk faktörleri .....	13
<b>Şekil 2.9.</b> Duktal kanserin görünümü.....	14
<b>Şekil 2.10.</b> Lobular kanserin görünümü.....	14
<b>Şekil 2.11.</b> İnvaziv kanserin görünümü .....	15
<b>Şekil 2.12.</b> Taksol’ün kimyasal yapısı .....	17
<b>Şekil 2.13.</b> Taksol’ün etki mekanizması .....	17
<b>Şekil 2.14.</b> Apoptozda oluşan morfolojik değişiklikler .....	20
<b>Şekil 3.1.</b> Toplanan <i>M. pulegium</i> L. örneğinin genel görüntüsü.....	27
<b>Şekil 3.2.</b> Kurutulup toz haline getirilmiş <i>Mentha pulegium</i> örneğinin görüntüsü .....	28
<b>Şekil 3.3.</b> <i>Mentha pulegium</i> sulu ekstraktının görüntüsü.....	28

<b>Şekil 3.4.</b>	75 cm <sup>2</sup> 'lik flasklarda hazırlanan hücre kültürü.....	30
<b>Şekil 3.5.</b>	MCF-7 hücreleri (mavi ok) ve stresli hücreler (kırmızı ok). .....	30
<b>Şekil 3.6.</b>	Tripsinize edilmiş hücrelerin santrifüj yapıldıktan sonraki süpernatant (üst faz) ve pellet (alt faz) kısmı görüntüsü.....	31
<b>Şekil 3.7.</b>	Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış <i>M. pulegium</i> örneklerinin görüntüsü .....	32
<b>Şekil 3.8.</b>	Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış Paklitaksel örneklerinin görüntüsü .....	33
<b>Şekil 3.9.</b>	<i>M. pulegium</i> 'un farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü .....	35
<b>Şekil 3.10.</b>	Paklitaksel'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü .....	36
<b>Şekil 3.11.</b>	<i>M. pulegium</i> 'un farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü .....	36
<b>Şekil 3.12.</b>	Paklitaksel'in farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü .....	37
<b>Şekil 4.1.</b>	Negatif kontrol, <i>M. pulegium</i> (mg/ml) ve Paklitaksel (µg/ml)'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde tespit edilen yüzde canlılığın gösterilmesi.....	41
<b>Şekil 4.2.</b>	Negatif kontrol, <i>M. pulegium</i> (mg/ml) ve Paklitaksel (µg/ml)'in farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde tespit edilen yüzde canlılığın gösterilmesi.....	42
<b>Şekil 4.3.</b>	<b>a.A) KONTROL, B)Mp 1, C)Mp 2,5, D)Mp 5, E)Mp 10, F )Mp 25, G)Mp 50, H)Mp 100, I)Pac 5, İ)Pac 40 ,J)Pac 80</b> , MCF 7 hücre kültürlerinde farklı dozlarda uygulanan <i>M. pulegium</i> (mg/ml) ve Paklitaksel (µg/ml)'in apoptotik etkisinin görüntüsü <b>b.</b> Apoptotik hücrelerin grafiksel gösterimi .....	45

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya çapında, kadın meme kanseri 2020 yılında en sık teşhis edilen kanser türü olup, kanser bağımlı ölümler sıralamasında beşinci sırada yer almaktadır (Sung ve ark., 2021). Meme kanseri, meme dokusunda normal hücre işleyişini sağlayan mekanizmaların bozulması sonucunda kontrolsüz hücre çoğalmasına bağlı olarak meydana gelmektedir (Bomford ve Sherriff, 1993).

Üstün tanılama becerilerine ve son on yıldaki tedavisinde değerli ilerlemelere rağmen, kadınlarda dünya genelinde en sık görülen kanser türlerinden birini ve kanser ölümlerinin önde gelen nedenini temsil eden meme kanseridir (Rossi ve ark., 2014). Meme kanseri ile ilgili epidemiyolojik parametreler (örneğin insidans, mortalite ve sağ kalım oranları) ülkeler ve bölgeler arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar sağlık alışkanlıkları, yaşam tarzı değişiklikleri (örneğin diyet değişiklikleri), radyasyona maruz kalma, aile öyküsü, adet döngüsü düzenlerinde ilgili değişiklikler, erken teşhis ve meme kanseri ile ilgili mevcut bilgilere erişim gibi çeşitli faktörlere atfedilebilir (Lina, 2012).

Teşhis aşaması meme kanseri için hem prognostik hem de tedavi stratejilerini etkiler. Şu anda, standart tedavi protokolü, memedeki kanseri kaldırmak veya yok etmek şeklinde yerel veya cerrahi tedavi, radyasyon ve tıbbi onkoloji (kemoterapi, immünoterapi ve hormonal tedavi) gibi sistemik tedavileri içeren farklı multidisipliner bir yaklaşımı birleştirmektedir (Rossi ve ark., 2014).

Son yıllarda özellikle bu yöntemlerin yanında sıkça yardım alınan yöntemlerden biri de tamamlayıcı ve alternatif tıp da denilen bitkisel ürünlerdir.

Bitkiler, birçok kanser türünün tedavisi için son derece etkili geleneksel ilaçların ana kaynağı olmuştur ve antikanser tedavisi için kullanılan toplam ajanların % 60'ından fazlası, bitkilerden veya deniz ve mikro organizmalardan elde edilmektedir (Cragg ve

Newman, 2005). Kemoterapiler ve radyoterapilerle ilişkili ciddi yan etkiler nedeniyle, yakın zamanda doğal kaynaklardan alternatif ve ücretsiz ilaçlar aramaya yönelik bir artış gözlenmiştir (Lee, 2010). *Lamiaceae* familyasından türetilen birçok bitkisel ürün potansiyel antikarsinojenik özellikler göstermiştir (Chen ve ark., 2005; Kwak ve ark., 2009). Bu tip etkileri üzerinde durulan bu familya üyelerinden biri de *Mentha pulegium* bitkisidir.

Yaygın olarak kullanılan bu besin takviyesi bitkinin antikarsinojenik etkilerinin değerlendirilmesi, sadece antikanser özelliğinde yer alan kesin moleküler mekanizmaları ele almak için değil, aynı zamanda bu uygun ve hayati doğal kaynaktan terapötik varlıklar geliştirmek ve kritik bilgiler edinmek için önemlidir.

Bu çalışmada; ülkemizin Düzce ilinden toplanan *Mentha pulegium* bitkisinden elde edilen ekstraktın meme kanseri hücre hattında (MCF 7) zamana ve doza bağlı olarak apoptotik ve antiproliferatif etkilerinin tespiti amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser ve Tarihçesi

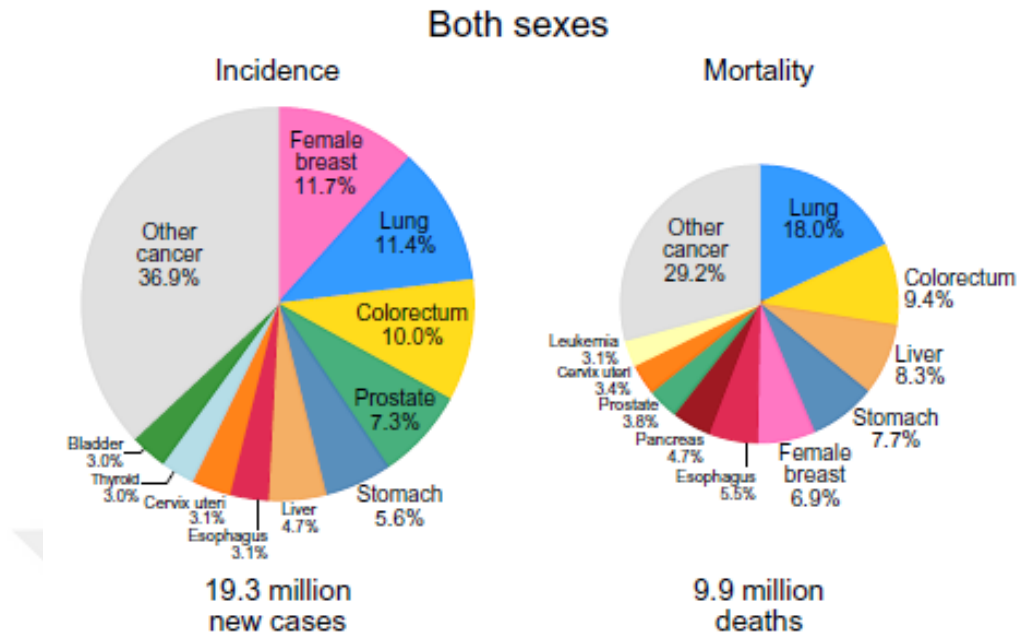
Kanser, vücüttaki hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılmasıyla karakterize bir hastalık grubudur. Eğer yayılma kontrol edilemezse ölümlerle sonuçlanabilir. Kanser, vücudun herhangi bir yerinde düzensiz hücre bölünmesinden kaynaklanan tümör oluşumu olarak da tanımlanır. Popülasyonlarda ölüm sebebi olan en tehlikeli sağlık problemlerinden biri de kanserdir. Tütün, kimyasallar, radyasyon ve bulaşıcı organizmalar gibi dış etmenler ya da kalıtsal mutasyonlar, hormonlar, immün koşullar ve metabolizmadan kaynaklanan mutasyonlar gibi iç etmenler kanser nedenlerindedir (<http://www.cancer.org>, Erişim tarihi: 12 Kasım 2008).

DNA'daki bozulma sonucu kanserli hücreler meydana gelir. Vücut genellikle DNA'da oluşan hasarı onarabilir. Kanser hücrelerinde hasarlı DNA tamir edilmez. Katı kanserler tümör oluştururken, bazı kanser çeşitleri (örneğin; lösemi) tümör oluşturmazlar. Bunun yerine, bu kanser hücreleri kanda ve kanı oluşturan organlarda bulunur ve büyüdükleri diğer dokularda dolaşırlar. Genellikle, kanser hücreleri büyümeye başladıkları vücudun diğer bölgelerine giderler ve normal dokuların yerini alırlar. Bu sürece metastaz denir. Bir kanserin nerede yayılacağına bakılmaksızın, her zaman başladığı yere göre adlandırılır. Örneğin, karaciğere yayılan meme kanserine, karaciğer kanseri değil meme kanseri denmektedir (Kars, 2008).

Tüm tümörler kanserli değildir. İyi huylu (benign) tümörler vücudun diğer bölgelerine yayılmazlar (metastaz yapmaz) ve çok nadir istisnalar hariç, hayatı tehdit edici değildir. Çeşitli kanser türleri çok farklı davranışlar gösterebilir. Akciğer kanseri ve meme kanserinin çok farklı hastalıklar olması buna örnek gösterilebilir. Büyüme oranları ve cevap verdikleri tedaviler farklıdır (Croce, 2008).

Tümörlerin sınıflandırılması, konumlandıkları veya orjin aldıkları dokuya göre yapılmaktadır. Meme, deri, ürogenital dokular gibi epitel hücrelerden orjin alan tümörler *karsinom*, kemik, kıkırdak ve kas gibi mezoderm hücrelerden orjin alanlar *sarkom*, salgı dokularından orjin alanlar ise *adenokarsinom* olarak isimlendirilmektedirler. Lökosit ve lenfositlerin kontrolsüz çoğalması sonucunda ise lösemi ve lenfoma oluşmaktadır (Dilsiz, 2009).

Kanser tiplerinin çoğu, hücre içindeki düzenleyici yolları ve DNA uygunluğunu etkiler. Çalışmaların çoğu, kanser hücreleri ve tümör kütesinin neden olduğu moleküler bozuklukların düzeltilmesine odaklanmıştır. 2020 yılında dünya çapında 19,3 milyon yeni kanser vakası (melanom olmayan cilt kanseri hariç 18,1 milyon) ve yaklaşık 10,0 milyon kanser ölümü (melanom olmayan cilt kanseri hariç 9,9 milyon) meydana geldi. Kadın meme kanseri, tahmini 2,3 milyon yeni vaka (% 11,7) ile en sık teşhis edilen kanser olarak akciğer kanserini geride bıraktı, bunu akciğer (% 11,4), kolorektal (% 10,0), prostat (% 7,3) ve mide (5,6 %) kanserleri takip etti. Akciğer kanseri, kanserden ölümlerin (toplam kanser ölümlerinin% 18,0'ı) başlıca nedenidir, bunu kolorektal (% 9,4), karaciğer (% 8,3), mide (% 7,7) ve kadın meme (% 6,9) kanserleri izlemektedir. Akciğer kanseri, erkeklerde en sık meydana gelen kanserdir ve kanserden ölümlerin önde gelen nedenidir. Akciğer kanserini, insidans sıralamasında prostat ve kolorektal kanseri, mortalite sıralamasında ise karaciğer ve kolorektal kanseri izlemektedir. Kadınlarda meme kanseri en sık teşhis edilen kanserdir ve kanserden ölümlerin önde gelen nedenidir. Meme kanserini, insidans sıralamasında kolorektal ve akciğer kanseri, mortalite sıralamasında ise akciğer ve kolorektal kanseri izlemektedir. Rahim ağzı kanseri hem insidans hem de mortalite için dördüncü sıradadır. Bununla birlikte en sık teşhis edilen kanser ve kanser ölümünün önde gelen nedeni, ekonomik gelişme derecesine ve sosyal yaşam tarzı faktörlerine bağlı olarak ülkeler arasında büyük ölçüde farklılık göstermektedir (Sung ve ark., 2021) (Şekil 2.1.).



**Şekil 2.1.** Dünya genelinde 2020’de her iki cinsiyette yeni kanser vakalarının ve ölümlerinin yüzdeleri. Kaynak: GLOBOCAN 2020 (Sung ve ark., 2021)

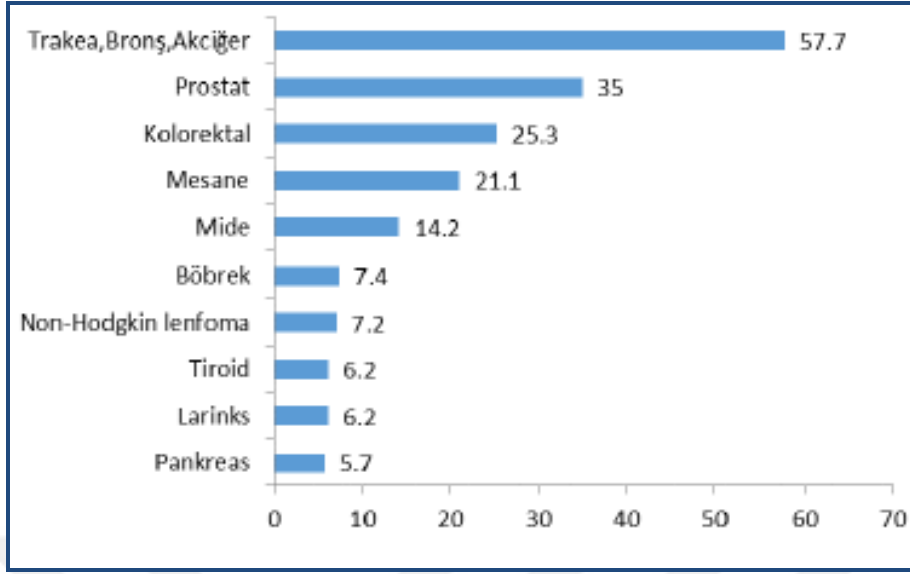
Kanser, insanlar ve hayvanlar için tarih boyunca kaydedilmiştir. Bu nedenle tarihin başlangıcından beri insanların kanser hakkında yazmış olmaları şaşırtıcı değildir. En eski kanser kanıtları arasında fosilleşmiş kemik tümörleri, eski Mısır'daki insan mumyaları ve eski el yazmaları bulunur. Mumyalarda osteosarkom adı verilen kemik kanserini düşündürülen büyüme görülmüştür. Baş ve boyun kanserinde de görüldüğü gibi kemik kafatası yıkımı da bulunmuştur. En eski kanser tarifimiz (kanser kelimesi kullanılmamasına rağmen) Mısır'da keşfedilmiştir ve M.Ö. 3000 yıllarına kadar uzanır. Buna Edwin Smith Papirüs denir ve travma cerrahisi üzerine eski bir Mısır ders kitabının bir parçasının kopyasıdır. Yangın tatbikatı adı verilen bir aletle koterizasyon ile çıkarılmış 8 tümör veya meme ülseri vakasını tarif eder. Yazı, hastalık hakkında “Tedavi yok” demektedir (<http://www.cancer.org>, Erişim tarihi: 10 Kasım 2019).

Kanser kelimesinin kökeni, “Tıbbın Babası” olarak kabul edilen Yunan hekimi Hipokrat'a dayandırılır. Ülser oluşturmayan ve ülser oluşturan tümörleri tanımlamak için karsinoz ve karsinoma terimlerini Hipokrat kullanmıştır. Yunanca'da, bu kelimeler büyük olasılıkla hastalığa uygulanan bir yengeçten söz eder, çünkü parmak benzeri çıkıntılar bir kanserden yayılır ve yengeç şeklini akla çağırıştırır. Roma hekimi Celsus (M.Ö. 28-50), daha sonra Latince yengeç olan sözcüğü Yunanca kansere çevirmiştir. Başka bir Yunan doktor olan Galen (M.S. 130-200) tümörleri tanımlamak için oncos

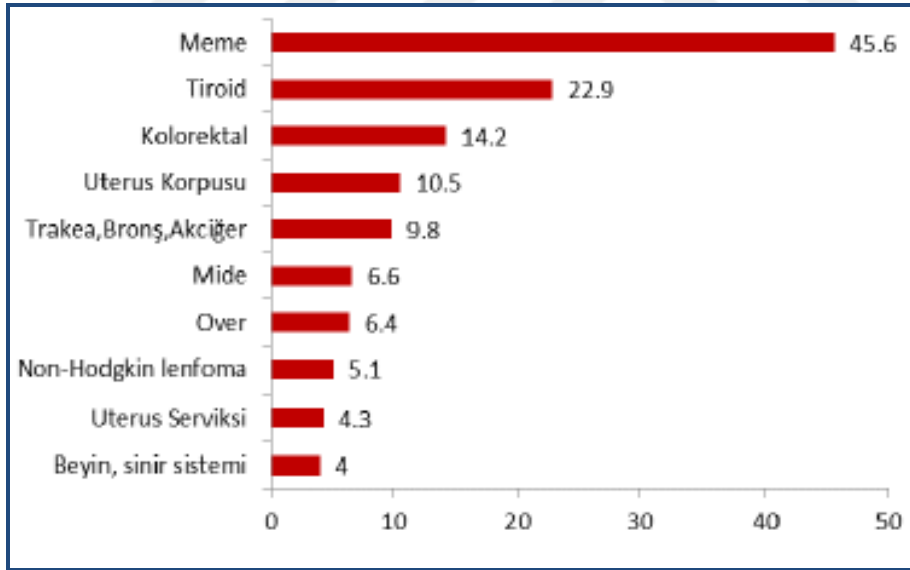
(Yunanca'da şişlik) kelimesini kullanmıştır. Her ne kadar Hipokrat ve Celsus'un yengeç analogisi hala kötü huylu tümörleri tanımlamak için kullanılsa da, günümüzde Galen'in terimi, kanser uzmanları (onkologlar) adının bir parçası olarak kullanılmaktadır (<http://www.cancer.org>, Erişim tarihi: 10 Kasım 2019).

Dünyada ve ülkemizde ölüm sebepleri içerisinde kanser ikinci sırada bulunmaktadır. Dünya çapında yaklaşık her 6 ölümden biri, ülkemizde ise her 5 ölümden biri kansere bağlı olarak gerçekleşmektedir (<http://www.who.int>, Erişim tarihi: 5 Haziran 2018; <https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021). Kansere bağlı ölümlerin yaklaşık üçte biri; tütün kullanımı, yetersiz fiziksel aktivite ve alkol kullanımı, yüksek beden kütle indeksi (fazla kilolu ya da şişman olma), meyve ve sebze az tüketme gibi risk faktörlerinden kaynaklanmaktadır. Kanser için en önemli risk faktörü olan ve kanser ölümlerinin yaklaşık % 22'sinden sorumlu olan tütün kullanımıdır (<http://www.who.int>, Erişim tarihi: 5 Haziran 2018).

Gelişmiş ve az gelişmiş ülkelere göre kanser insidans hızları ve profilleri değişik olabilir. Gelişmiş ülke erkeklerinde örneğin; Orta ve Doğu Avrupa'da en fazla akciğer ve prostat kanseri, kadınlarında ise meme ve kolorektal kanseri görülürken, ABD'de erkeklerde en fazla prostat ve akciğer kanseri, kadınlarda ise meme ve akciğer kanseri görülmektedir. Batı Asya ülke erkeklerinde akciğer, prostat ve kolorektal kanseri, kadınlarında ise meme ve kolorektal kanseri daha fazla görülmektedir. Ülkemizde ise erkeklerde en fazla akciğer, prostat ve kolorektal kanserleri görülürken (Şekil 2.2.), kadınlarda ise meme, tiroid ve kolorektal kanserleri daha fazla görülmektedir (Jemal ve ark., 2006; <https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021) (Şekil 2.3.).

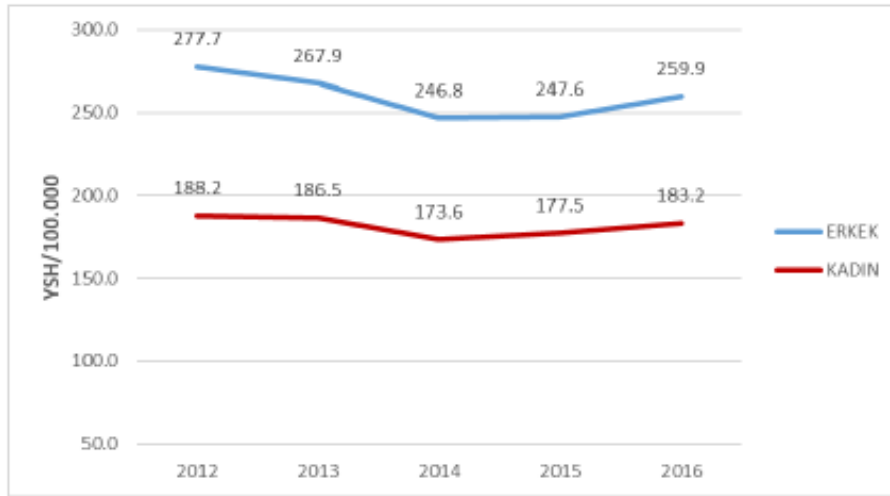


**Şekil 2.2.** Erkekler Arasında En Çok Görülen 10 Kanserın Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide) (<https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021)



**Şekil 2.3.** Kadınlar Arasında En Çok Görülen 10 Kanserın Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide) (<https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021)

2012-2016 yılları arasında Türkiye’de yaşa standardize edilmiş kanser hızı erkekler için 259,9, kadınlar için 183,2’dir (100.000 kişide) (Şekil 2.4.). Akciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanserdir. Meme kanseri, kadınlarda en fazla görülen kanser olmayı sürdürmektedir. Obeziteye bağlı kanserler daha çok kadınları etkilemektedir (<https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021).



**Şekil 2.4.** 2012-2016 Yıllarındaki Cinsiyete Göre Tüm Kanserlerin Yaşa Standardize İnsidans Hızlarının Değişimi (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2012-2016) (Dünya Standart Nüfusu,100.000 Kişide) (<https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021)

## 2.2. Meme Kanseri

Memenin terminal duktal-lobüler ünitesinden köken aldığı kabul edilen meme kanseri, histolojik olarak in situ ve invaziv karsinomlar olarak ayrılmaktadır. İn situ karsinomda; bazal membran içinde sınırlı iken, invaziv karsinomda; bazal membranı delip geçmiştir. İnvaziv tip uzak organ metastazı ile sonuçlanır (<http://www.cancer.gov>, Erişim tarihi: 13 Kasım 2018).

Dünya çapında, kadınlar arasında en fazla tanı konan kanser çeşidi meme kanseridir. Mortalite düşerken, meme kanseri kadınlarda kanser ölümleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Kişisel veya aile meme kanseri öyküsü olan kadınlar, adet dönemleri erken başlayan ve hayatın sonlarında biten, yakın zamanda oral doğum kontrol hapı veya postmenopozal östrojen ve progestin kullanan, son zamanlarda hiç çocuğu olmayan veya ilk çocuğunu almayan menopoz sonrası obezite ile 30 yaş ve alkollü içki tüketenler risk altındadır (<http://info.cancerresearchuk.org>, Erişim tarihi: 18 Eylül 2008).

Risk faktörlerinin tespit edilmesi, erken teşhis ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ile ölüm oranlarının düşürülmesi sağlanabilir. Meme kanseri tedavisi, tümörün lokal olarak çıkarılması, memenin cerrahi olarak çıkarılması, radyasyon tedavisi, kemoterapi, hormon tedavisi olabilir. Tümör boyutu, evre ve hasta tercihinine ek olarak diğer

özellikler tedavi tipi seçiminde önemli faktörlerdir (<http://www.cancer.org>, Erişim tarihi: 12 Kasım 2008).

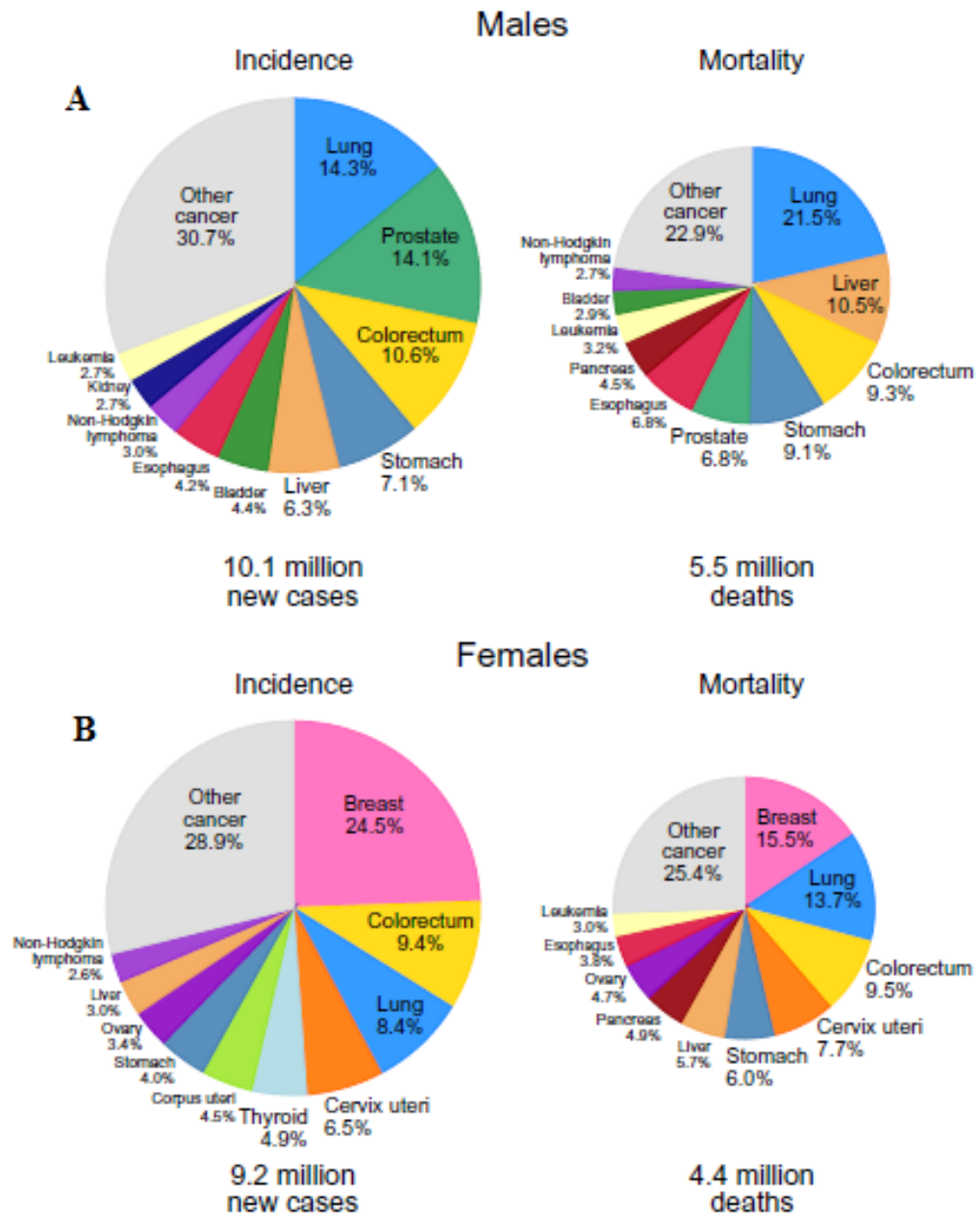
İn vitro çalışmalarda bilim insanlarının tümör tipleri için model hücre hatlarına ihtiyaçları vardır, bu nedenle model hücre hatlarında bazı moleküler analizler yapılır. MCF-7, meme epiteli karsinomu için bir model hücre hattıdır (<http://www.cancer.org>, Erişim tarihi: 12 Kasım 2008).

### **2.3. Meme Kanseri Epidemiyolojisi**

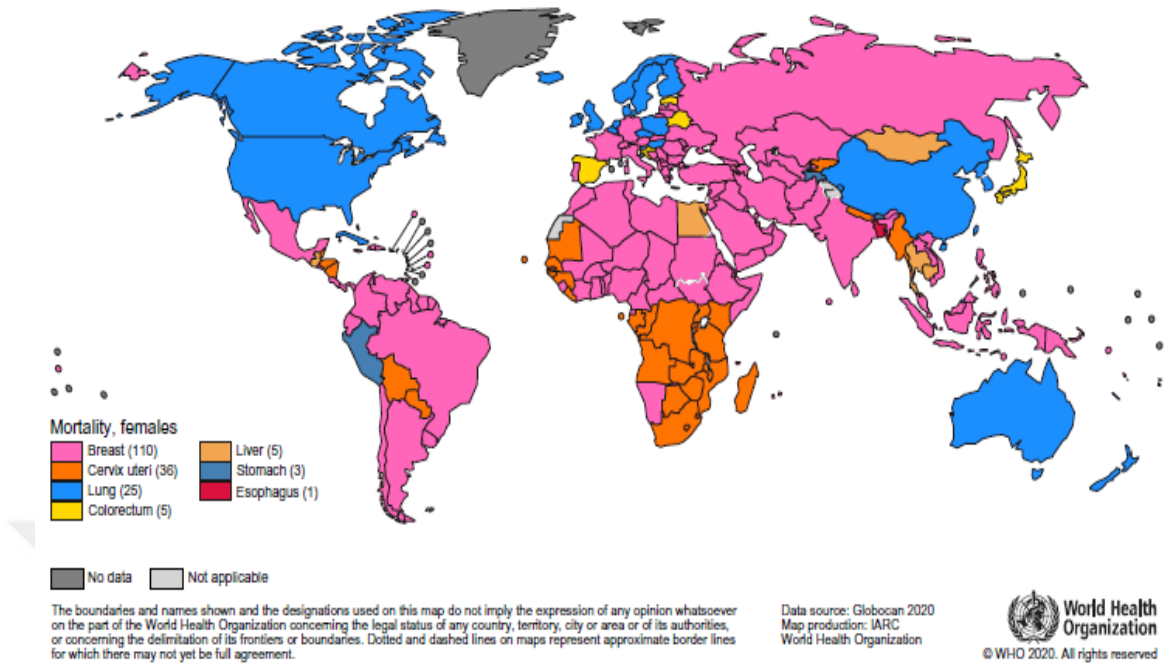
Kanser vaka sayısı dünya çapında ülkelerde genel bir artış göstermektedir. 2020'de her iki cinsiyet birlikte, tüm vakaların yaklaşık yarısının ve kanser ölümlerinin % 58,3'ünün Asya'da gerçekleşeceği tahmin edilmektedir. Asya'da küresel nüfusun % 59,5'i ikamet etmektedir. Avrupa, küresel nüfusun % 9,7'sini temsil etmesine rağmen, toplam kanser vakalarının % 22,8'ini ve kanser ölümlerinin % 19,6'sını oluştururken, bunu Amerika'nın toplam kanser vakalarının % 20,9'u ve kanser ölümlerinin % 14,2'si izlemektedir. Afrika'da ise kanser insidansı % 5,7 iken mortalite % 7,2'dir. Ayrıca 2020 istatistikleri, düşük veya orta İnsani Gelişme Endeksi (HDI) olan ülkelere oranla, yüksek HDI'ye sahip olan ülkelerde kanser insidansının 2-3 katı olduğunu göstermektedir (Sung ve ark., 2021).

Dünya çapında 2020 yılında, her iki cinsiyette kanserden ölümlerin önde gelen sebebi akciğer kanseridir. 2,2 milyon yeni akciğer kanseri vakası ve yaklaşık 1,8 milyon ölüm, 5 (% 18,0) kanser ölümünün 1'ine yakındır (Şekil 2.5.). Kadınlar arasında akciğer kanseri 25 ülkede kanserden ölümlerin önde gelen nedenidir (Sung ve ark., 2021) (Şekil 2.6.).

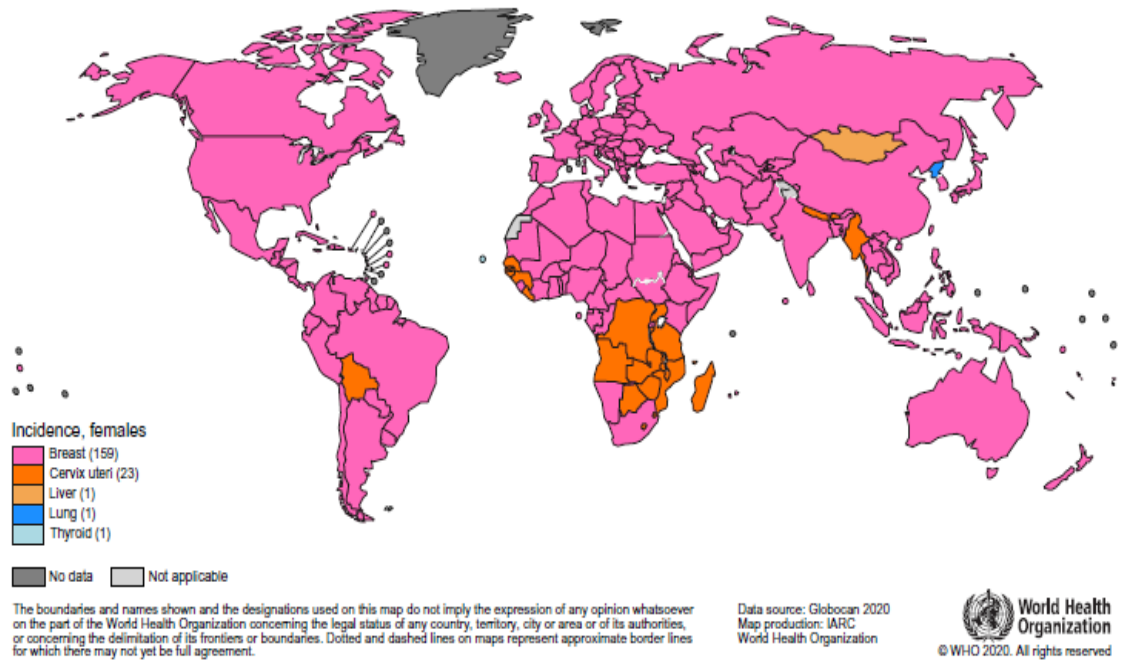
Dünya genelinde 2020'de yeni teşhis edilen kadın meme kanseri vakaları yaklaşık 2,3 milyon ve kadınlar arasında her 4 kanser vakasından yaklaşık 1'ini oluşturmaktadır (Şekil 2.5.). Hastalık, ülkelerin çoğunda en sık teşhis edilen kanserdir (185'in 159'u) (Şekil 2.7.) ve aynı zamanda 110 ülkede kanserden ölümlerin temel nedenidir (Sung ve ark., 2021) (Şekil 2.6.).



**Şekil 2.5.** Dünya’da 2020 Yılında En Sık Görülen 10 Kanserin (A) Erkekler ve (B) Kadınlar için Vakaların ve Ölümünün Dağılımı. Her cinsiyet için, pasta grafiğinin alanı toplam vaka veya ölüm sayısının oranını yansıtır; melanom olmayan cilt kanserleri (insidans için bazal hücreli karsinom hariç) “diğer” kategorisine dahil edilir (Sung ve ark., 2021).



**Şekil 2.6.** Dünya genelinde 2020'de Kadınlar Arasında Ülkelere Göre En Yaygın Kanser Ölümcülüğünü Sunan Küresel Haritalar (Sung ve ark., 2021).



**Şekil 2.7.** Dünya genelinde 2020'de Kadınlar Arasında Ülkelere Göre En Sık Görülen Kanser Tipine İlişkin Küresel Haritalar (Sung ve ark., 2021).

Kişisel veya ailede meme veya yumurtalık kanseri öyküsü ve kalıtsal mutasyonlar (*BRCA1*, *BRCA2* ve diğer meme kanseri duyarlılık genlerinde) dahil kalıtsal ve genetik

faktörler olmasına rağmen , meme kanseri vakalarının % 5 ile % 10'unu oluşturduğu halde, göçmenlerin çalışmaları; kalıtsal olmayan faktörlerin, gözlenen uluslararası ve etnik farklılıkların görülme sıklığının ana itici gücü olduğunu göstermiştir. Yüksek riskli popülasyonlara göç eden düşük riskli popülasyonların karşılaştırılması, art arda gelen nesillerde meme kanseri insidans oranlarının arttığını ortaya koydu (Ziegler, 1993).

Dünya kanser insidansı ile ülkemizdeki kıyaslandığında, erkeklerde ve kadınlarda dünya insidansından fazla olduğu görülmektedir. Ülkemizdeki kanser insidansı, gelişmişlik düzeyi yüksek olan Avrupa Birliği ülkeleri ve Amerika gibi ülkelere oranla her iki cinsiyet için de daha düşüktür. Akciğer kanseri, erkekler arasında en fazla görülen kanserdir (Tablo 2.1). Kadınlar arasında en sık görülen meme kanseridir (Tablo 2.2). Obezite nedenli kanserler daha fazla kadınları etkilerken, kolorektal kanserler, her iki cinsiyette de üçüncü sırada bulunmaktadır (<https://hsgm.saglik.gov.tr>, Erişim tarihi: 2 Şubat 2021).

**Tablo 2.1.** GLOBOCAN 2018 Verilerine Göre Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Erkeklerde En Çok Görülen Beş Kanser Çeşidinin Dağılımı (<https://gco.iarc.fr>, Erişim Tarihi: 26 Haziran 2019)

	Türkiye*	Dünya	Batı Asya	Orta ve Doğu Avrupa	ABD
1	Akciğer	Akciğer	Akciğer	Akciğer	Prostat
2	Prostat	Prostat	Prostat	Prostat	Akciğer
3	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal
4	Mesane	Mide	Mesane	Mide	Mesane
5	Mide	Karaciğer	Mide	Mesane	NHL

\* Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016

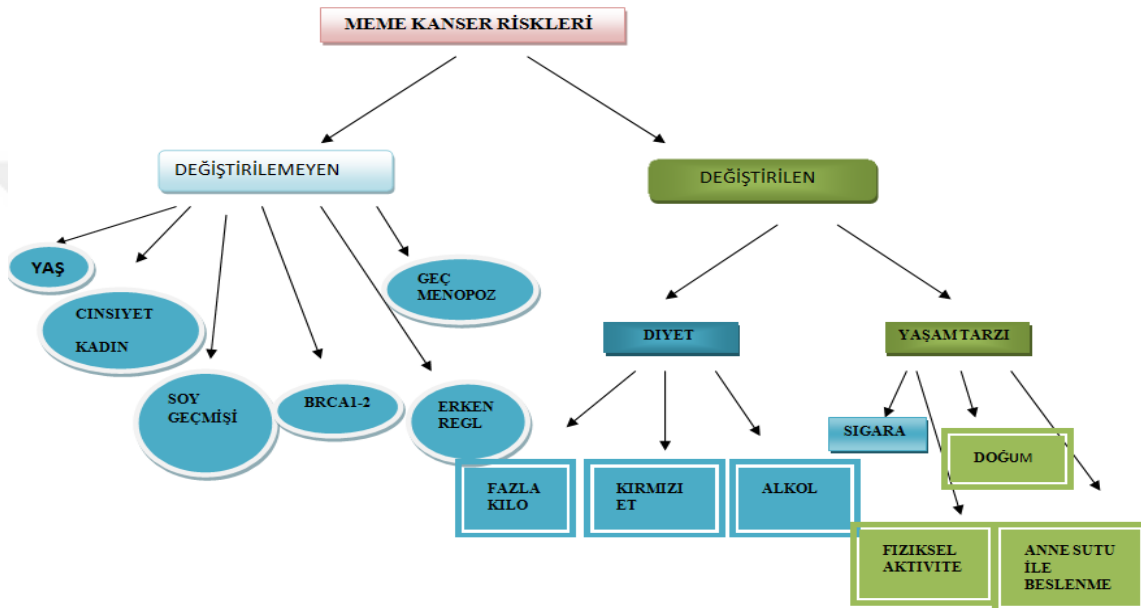
**Tablo 2.2.** GLOBOCAN 2018 Verilerine Göre Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Kadınlarda En Çok Görülen Beş Kanser Çeşidinin Dağılımı (<https://gco.iarc.fr>, Erişim Tarihi: 26 Haziran 2019)

	Türkiye*	Dünya	Batı Asya	Orta ve Doğu Avrupa	ABD
1	Meme	Meme	Meme	Meme	Meme
2	Tiroit	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
3	Kolorektal	Akciğer	Tiroit	Uterus korpusu	Kolorektal
4	Uterus korpusu	Uterus serviksi	Uterus korpusu	Uterus serviksi	Tiroit
5	Akciğer	Tiroit	Akciğer	Akciğer	Uterus korpusu

\* Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016

## 2.4. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Ailede meme kanseri öyküsü, genetik faktörler, adet düzeni, radyasyon, uzun süre ağız yolu ile ilaç alımı, meme kanseri risk faktörü (BRCA1, BRCA2) genlerinde oluşan mutasyonlar meme kanseri risk faktörlerindedir (Jemal ve ark., 2008). Meme kanseri ile BRCA genlerinde tespit edilen mutasyonların ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Bonadona ve ark., 2005) (Şekil 2.8.).



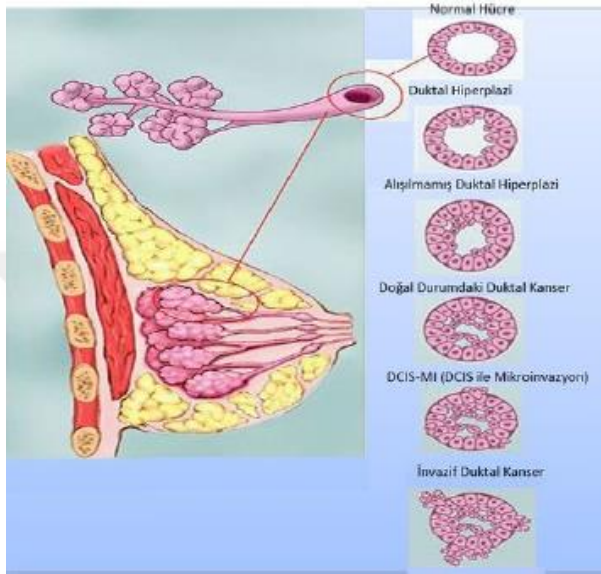
**Şekil 2.8.** Meme kanseri gelişimini etkileyen risk faktörleri (Mavi renkli kutular artan risk faktörlerini, yeşil renkli kutular azalan risk faktörlerini göstermektedir.) (Chiu, 2013).

## 2.5. Meme Kanserin Tipleri

Meme kanserlerinin sınıflandırılması klinik veya histopatolojik olarak yapılmaktadır. Kanser hücrelerinin lokalizasyonu ve yaygınlığına göre meme kanserinin çeşitli tipleri bulunmasına rağmen, meme kanallarını oluşturan hücrelerde oluşan duktal karsinom ve memenin süt bezlerinde oluşan ise lobüler karsinom olarak iki ayrı başlık altında incelenmektedir. Duktal ve lobüler karsinomlar da kendi içlerinde yayılma göstermeyen in situ ve yayılma özelliği olan invaziv tümörler olarak ikiye ayrılmaktadır. En sık rastlanan meme kanseri tipi invaziv duktal karsinomdur (Sayek, 1996; Kumar ve ark., 2008). Meme Kanseri; duktal karsinom in situ, lobüler karsinom in situ, invaziv karsinom ve inflamatuvar karsinom tiplerine ayrılmıştır.

### 2.5.1. Duktal Karsinom İn Situ

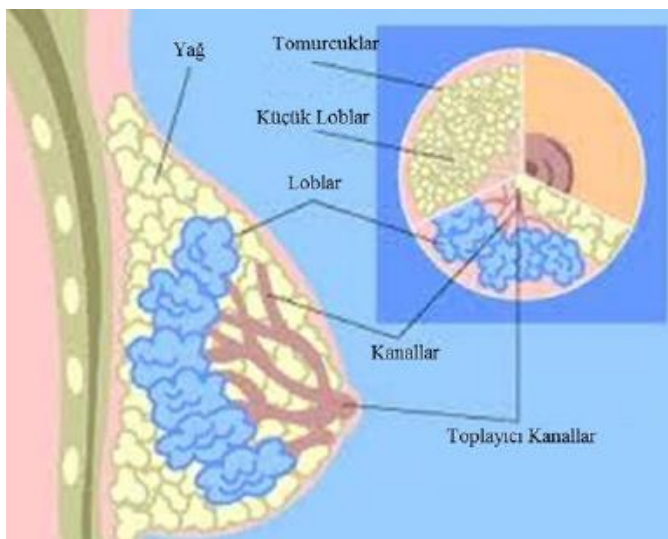
Sütü meme ucuna taşıyan süt kanallarını döşeyen hücrelerin kanserleşmeye başlamasıdır. Meme kanserinin çok erken bir evresidir (Lopez ve ark., 2010; Ganz ve ark., 2010) (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. Duktal kanserin görünümü (Ganz ve ark., 2010).

### 2.5.2. Lobular Karsinom İn Situ

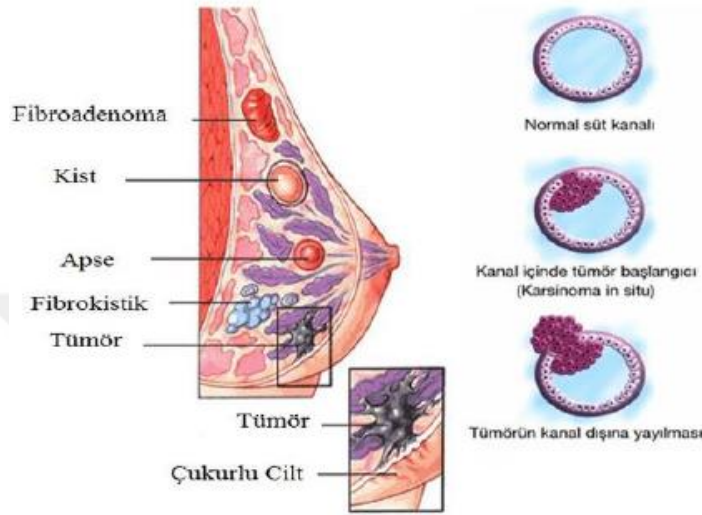
Süt üreten bezlerden (lobüller) kaynaklanan anormal hücre büyümesidir. İnvaziv kanserler arasında ikinci sırada gelmektedir (Bamias ve ark., 2001; Hanby ve Hughes, 2008) (Şekil 2.10.).



Şekil 2.10. Lobular kanserin görünümü (Hanby ve Hughes, 2008).

### 2.5.3. İnvaziv (Yayılmacı) Meme Kanseri

Kanserli hücrelerin başlangıç yerinden memenin farklı dokularına ya da vücudun başka kısımlarına yayılış göstermesi ile oluşur (Luck ve ark., 2008) (Şekil 2.11.).



Şekil 2.11. İnvaziv kanserin görünümü (Luck ve ark., 2008).

### 2.5.4. İnflamatuvar Meme Kanseri

Sık görülmeyen bir meme kanseri türüdür. Kanser hücreleri memedeki lenf kanallarını tıkadığından, meme şişer, kızarır ve sertleşir. Sıkça memedeki bir enfeksiyon ile karıştırılır (Luck ve ark., 2008).

## 2.6. Meme Kanserinde Tedavi Yaklaşımları

Günümüzde meme kanserinde tedavi yaklaşımları lokal ve sistemik kontrolü sağlamaya yöneliktir. Lokal kontrolü sağlamada cerrahi ve postoperatif radyoterapi kombinasyonu kullanılırken, sistemik tedavide kemoterapi, hormonal terapi, hedef moleküler tedavi uygulanabilmektedir. Meme kanserinde en etkin tedavi yöntemi cerrahidir. Hastalarda mastektomiye ek olarak prognostik amaçlı olarak aksiler lenf nodu diseksiyonu da uygulanmaktadır. Günümüzde mikro metastazlarla ilerlediği bilinen meme kanseri tedavisinde sistemik adjuvan tedavi uygulanımı yaygındır. Hastalığın evresi, hastanın premenopozal ya da postmenopozal dönemde olması, lenf nodu metastazı ve hormon reseptör durumuna bağlı olarak uygulanacak sistemik tedavi seçenekleri değişmektedir.

Kemoterapi, hormonal tedavi ve hedef moleküler tedaviler ayrı ayrı ya da kombine olarak uygulanabilmektedir (Goldhirsch ve ark., 2003; Saurel ve ark., 2010).

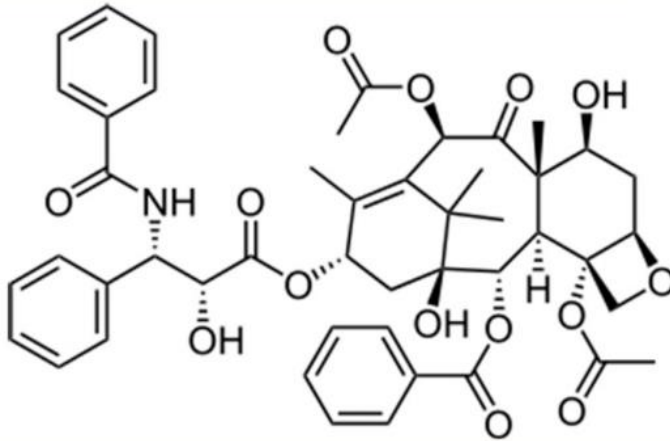
Meme kanserinde kullanılan kemoteröpatik ajanlar; Antrasiklinler, Taksanlar (Paklitaksel, Doksetaksel), Gemsitabin, Kapesitabin, 5-FU, Siklofosamid ve Etoposide'dir. Bu ilaçların kombinasyonu ile farklı kemoterapi protokolleri oluşturulmuş ve uygulanmaktadır. Meme kanseri tedavisinde temel kemoteröpatik ajanlar antrasiklinler ve taksanlardır. Antrasiklinler, DNA baz dizilerinin arasına girip DNA replikasyonunu bozarlar. Ayrıca DNA topoizomeraz 2 inhibisyonu ile DNA tamirini engelleyerek tümör hücrelerinin ölümüne yol açarlar. Diğer önemli grup taksanlar ise tübülün depolimerizasyonunu azaltarak, mitozu özgü mikrotübül sürecini bozar ve hücreleri G2-M fazında durdururlar. Böylece hücre proliferasyonunu engellerler (Saurel ve ark., 2010).

Meme kanseri tedavisinde yaygın olarak uygulanan hormonal tedavi seçenekleri; Antiöstrojenler (tamoksifen, fulvestrant), Aromataz inhibitörleri (anastrozole, letrozole), LHRH-A ve progestinlerdir. Son yıllarda büyüme faktörleri reseptörlerine (trastuzumab), stromal proteazlara ve anjiyogenezin inhibisyonuna (bevacizumab) yönelik hedef terapötik uygulamalara da yer verilmektedir (Goldhirsch ve ark., 2003).

Yeni kemoteröpatik ilaçlar, antihormonal tedavi ve hedef molekül tedavileri ile birçok hastada başarılı sonuçlar elde edilse de, meme kanserindeki moleküler ve genetik mekanizmaların daha iyi anlaşılması ile meme kanserinin heterojen gruplu bir hastalık olduğu ve bazı hastalarda günümüzde kullanılan ilaçların olumlu sonuçlar vermediği bilinmektedir (Saurel ve ark., 2010). Çoğu kanserde hücre proliferasyon ve ölümünde görevli sinyal yollarındaki molekülleri hedef alan tedavilerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar meme kanseri için de yürütülmektedir.

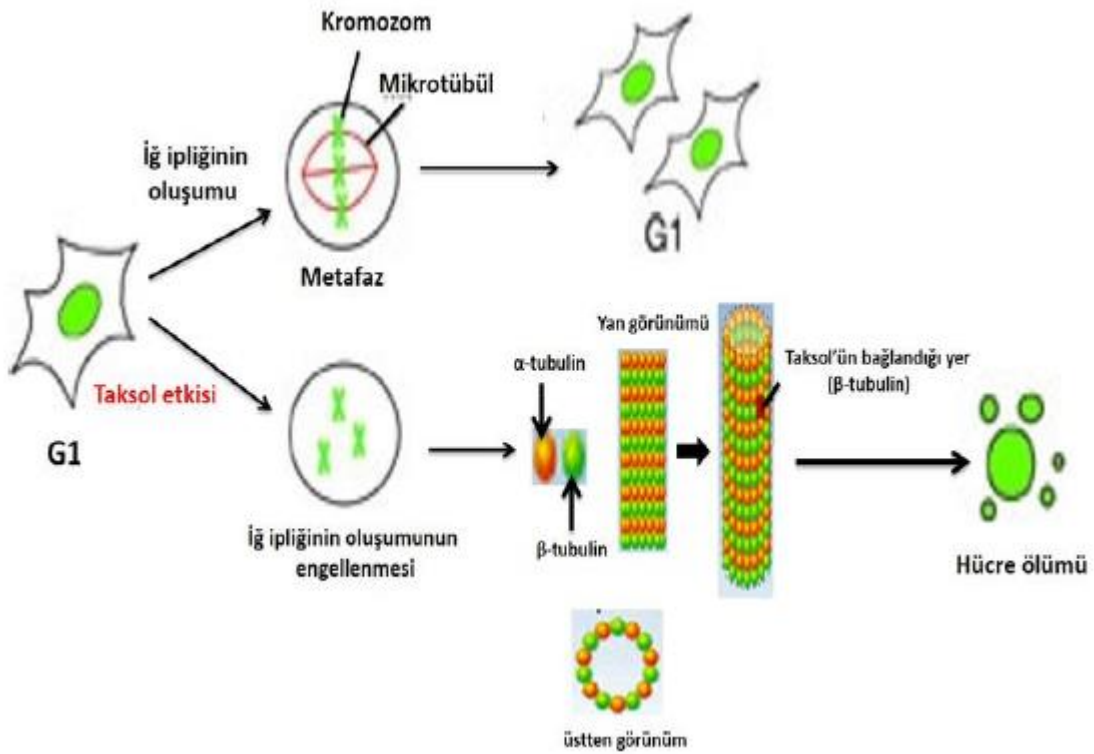
### **2.6.1. Paklitaksel**

Paklitaksel (Taxol), Pasifik porsuk ağacının (*Taxus brevifolia*) kabuğundan izole edilmiştir (Yang ve Horwitz, 2017). Paklitaksel, meme ve yumurtalık kanserinin tedavisinde kullanılan en eşsiz ve başarılı kemoteröpatik ajanlar arasındadır (Fitzpatrick ve Wheeler, 2003). Kimyasal yapısı Şekil 2.12'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.12.** Taksol'ün kimyasal yapısı (Yang ve Horwitz, 2017).

Eşsiz antikanser mekanizması nedeniyle, halihazırda en başarılı ve yaygın olarak kullanılan doğal antikanser ilaçlardan biridir. Tübülün mikrotübüllere birleşmesini önleyen diğer tübülün bağlayıcı antikanser ilaçların aksine, paklitaksel, tübülün mikrotübüllere birleşmesini teşvik eder ve mikrotübüllerin ayrışmasını önler, hücre döngüsü ilerlemesini bloke eder, mitozu önler ve kanser hücrelerinin büyümesini engeller (Zhu ve Chen, 2019) (Şekil 2.13).



**Şekil 2.13.** Taksol'ün etki mekanizması (Fitzpatric ve Wheeler, 2003).

## 2.7. Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF 7)'nin Özellikleri

1973 yılında Dr. Soule ve meslektaşları tarafından kurulan Michigan Kanseri Vakfı isminin kısaltması olan MCF-7 hücreleri bir meme kanseri soyu olup, 1970 yılının Haziran ayında metastatik hastalığı olan 69 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan izole edilmiştir (Soule ve ark., 1973).

Morfolojik olarak epitelyaldir. İnsüline benzeyen büyüme (çoğalma) faktörü bağlanma proteinlerini sentezlemekle birlikte WNT7B onkogeninin ekspresyonu bulunmaktadır. HER-2 geninin ekspresyonu normal olarak gerçekleşir. MCF-7 hücreleri sitogenetik olarak analiz edildiğinde; kromozom sayılarında anormallikler, hatalı eşleşmiş bazların tamir sisteminde bozukluklar görülmektedir (Watanabe ve ark., 2001). MLH1 ve MSH2 gibi hatalı eşleşmiş bazların düzeltilmesinde görevli olan tamir proteinleri MCF-7 hücrelerinde mutasyona maruz kaldığından, hücreler antikanser ajanlara karşı direnç geliştirmektedir (Schwarz ve ark., 2002). Hücre döngüsü kontrol noktalarından siklin D1' de oluşan mutasyonlar, meme kanseri ve pek çok insan kanserinin oluşumunda olduğu gibi, MCF-7 hücrelerinde de vardır (Nagasawa ve ark., 1998).

MCF-7 hücre hattında kaspaz 6, 7, 9 ile Bcl-2 ekspresyonu da oldukça etkili olmakla birlikte, *p53* ve *p21* genlerinin ekspresyonu ve düzenlenmesi de normaldir (Nieves-Neira ve Pommier, 1999). Östrojen ekspresyonunun artması ve buna bağlı proliferasyon, EGF' den bağımsız proliferasyon, artan *c-ErbB-2 (Her-2/Neu)* ekspresyonu (Rait ve ark., 2001), N-ras ve Rb proteinlerinin hızlı fosforilasyonu MCF-7 hücrelerinin çoğalmasına neden olmaktadır (Sutherland ve ark., 1999; Botos ve ark., 2002).

## 2.8. Hücre Ölüm Mekanizmaları

Yakın zamana kadar hücre ölümünün 2 yolla gerçekleştiği düşünülmekteydi. Bunlardan birincisi programlı hücre ölümü olarak da tanımlanan apoptozdur. İkinci hücre ölüm şekli, apoptozun karşıtı olan ve rastlantı sonucu ortaya çıkan, programsız hücre ölümü de denilen nekrozdur. Apoptoz ile programlı hücre ölümü yıllarca eş anlamlı olarak kullanılsa da, 1960 yılından beri alternatif programlı hücre ölüm yollarının olduğu bilinmektedir. Omurgasızlarda tipik apoptoz morfolojisi ile uyuşmayan programlı hücre ölümlerinin gösterilmesi ve organogenez döneminde görülen hücre ölümlerinde de tipik apoptoz morfolojisi gözlenmemesi üzerine 1990'da Clark ve arkadaşları hücre ölümünü

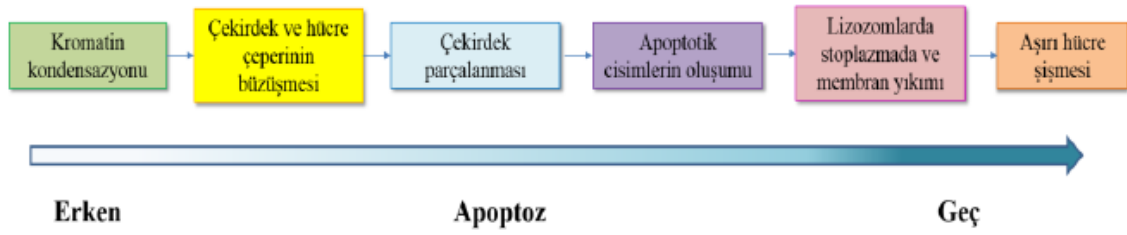
morfolojik olarak üçe ayırmışlardır. Hücre ölümünün morfolojik sınıflandırılmasında 3 tip hücre ölümü vardır. Tip 1 hücre ölümü apoptoz, tip 2 hücre ölümü otofaji, tip 3 hücre ölümü ise non-lizozomal parçalanmadır (Gozuacik ve Kimchi, 2004).

### **2.8.1. Apoptoz (Programlı Hücre Ölümü)**

Canlıların yaşam süreçleri boyunca karşılaştıkları sayısız kimyasal ve biyolojik olay vardır. Bu süreçte herhangi bir sebepten dolayı genetik olarak stabilitesi bozulan veya istenmeyen bir hücrede gerçekleşen programlı hücre ölüm şekline *apoptoz* denir. Apoptoz, patolojik ya da fizyolojik şartlar altında oluşabilir. Komşu hücrelere zarar vermeden ve iz bırakmadan hedef olan hücre ortadan kaldırılır. Yunanca kökenli “apoptosis” terimi, ilk defa 1972 yılında Kerr ve ark. tarafından tanımlanmıştır ve “ağaçtan düşen yaprak veya çiçekten ayrılan petal” anlamına gelmektedir. Apoptoz, DNA hasarı oluşan ve dolayısı ile kanserleşme potansiyeli olan hücreleri yok eden vücuttaki tümör baskılama mekanizmalarından biridir (Evan ve Vousden, 2001). Canlılarda her gün yaşamın devamlılığının sağlanması için birçok hücre ölmektedir. Ancak hücre bölünmesiyle hücre ölümü dengede olduğundan bu durum sorun oluşturmamaktadır. Apoptozda ölüm sinyallerinin alınmasını takiben sitoplazmanın yoğunluğu artar, nukleus küçülür ve parçalanır, oluşan parçalar fagositik hücreler tarafından fagosite edilir, bu nedenle de inflamasyon görülmez. Programlı bir ölüm şekli olmuş olması onu diğer bir hücre ölümü olan nekrozdan ayıran önemli bir unsurdur. Apoptozun aksine nekroz sadece patolojik koşullarda ortaya çıkar. Hücreler su alarak şişer, membran bütünlüğü kaybolur, DNA’da düzensiz parçalanmalar gözlenir, hücre içeriği etraftaki dokulara dağılır ve bu durum yoğun bir inflamasyon ile sonuçlanır. Apoptoz, ölüm sinyallerinin alınması ile başlar ve en son olarak fagositoz ile hücrenin ortadan kaldırılması ile sonuçlanır (MacFarlane ve Williams, 2004).

#### **2.8.1.1. Apoptozda Görülen Morfolojik Değişiklikler**

Apoptotik hücrede, kromatin ipliklerin çekirdek zarına doğru yoğunlaşması, hücre zarı yapısı bozulmadan büzülüp sitoplazma yoğunlaşması ve iyi korunan organel yapıları morfolojik olarak görülen değişimlerdir. Bunu sırasıyla, özelleşmiş yüzeysel yapıların kaybı, sitoplazmik baloncukların ve membranla çevrili küçük parçalar da denilen apoptotik cisimlerin oluşumu izlemektedir (Mountz ve Zhou, 2001). Apoptozda görülen değişiklikler Şekil 2.14’te belirtilmiştir (Huerta ve ark., 2007).



**Şekil 2.14.** Apoptozda oluşan morfolojik değişiklikler (Huerta ve ark., 2007).

Apoptoz hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlayan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciri olarak gerçekleşir. Bu mekanizma;

I) Apoptozun başlatılması,

II) Hücre içindeki proteazların (kaspazların) aktifleşmesi,

III) Hücrede bir çok morfolojik ve biyokimyasal değişikliğin meydana gelmesi,

IV) Fagositoz, olmak üzere dört aşamada gerçekleşmektedir (Thompson, 1999).

### 2.8.1.2. Apoptozda Rol Oynayan Moleküller

Apoptoz mekanizmasının düzenlenmesinde p53, Bcl-2 ailesi gibi moleküller, kaspazlar, sitokrom-c gibi proteinler, mitokondriyonlar, kalsiyum ve seramid gibi moleküller önemlidir. Kalsiyum apoptoz süresince hücre içine girer. Endonükleaz, proteaz ve transglutaminaz aktivasyonunda, gen regülasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda, kalsiyum iyonları rol oynamaktadır (Coşkun ve Özgür, 2011).

#### 2.8.1.2.1. p53

Bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanan p53, hücrede DNA hasarı oluştuğunda hücre döngüsünü G1 safhasında durdurup hücreye DNA tamiri için zaman kazandırmaktadır. Tamir edilemeyecek boyutta hasar varsa; Bax, Apaf-1 ve Fas sentezini artırıp Bcl-2 ve Bcl-XL'yi baskılayarak apoptozu uyarılmaktadır (Coşkun ve Özgür, 2011).

#### 2.8.1.2.2. Bcl-2 ailesi

Bcl-2 ailesi genlerinin heterodimer ya da homodimer yapısına bağlı olarak, hücrenin apoptoz eğilimi olup olmadığı bilinmektedir. Bcl-2 ailesi, proapoptotik ve antiapoptotik üyelerden oluşmaktadır (Frenzel ve ark., 2009). Hücrede proapoptotik

proteinler fazla ise hücre apoptoza yatkındır, antiapoptotik proteinler fazla ise hücre apoptoza daha az yatkındır. Bad, Bax, Bid, BclXs, Bak, Bim, Puma ve Noxa proteinleri proapoptotik üyelerdir. Sitokrom-c ve AIF (Apoptoz indükleyici faktör) salınımını artırarak apoptozu indüklerler. Bcl-2, Bcl-XL ve Mcl-1 proteinleri ise antiapoptotik üyelerdir. Por oluşumunu teşvik eden ve iyon geçişini düzenleyen bu proteinler mitokondri dış zarında, endoplazmik retikulumda ve çekirdek zarında bulunmaktadır. Hücredeki  $Ca^{++}$  oranının kontrol edilmesinde de önemli rol oynamaktadırlar. Ayrıca proapoptotik üyelerin tersine kaspazların öncü formları ile AIF ve sitokrom-c salınımını engelleyerek apoptozu inhibe etmektedirler (Yang ve ark.,1995).

#### **2.8.1.2.3. FAS (APO-1 veya CD95)**

İmmun sistemde hücre ölümünü düzenleyen ve sitotoksik T hücreleri ile doğal katil hücreler üzerinde bulunan Fas, 24 üyeli TNF reseptör ailesinin en bilinen üyesidir. Reseptör trimerizasyonu Fas proteininin hücre yüzeyindeki kendi reseptörüne bağlanmasıyla gerçekleşmektedir. Aktifleşen reseptörler FADD reseptörü ile birleşerek Fas reseptörünün karboksil ucuna (C) yakın 80 aminoasitlik bölgeyi uyararak prokaspazları aktiveleştirirler ve apoptoz gerçekleşir (Cheng ve ark., 1994).

#### **2.8.1.2.4. Kaspazlar**

Sistein-proteaz grubu enzimler olarak tanımlanan Kaspazlar, apoptotik hücre ölümü esnasında önemli rol oynamaktadır. Proteolitik olarak birbirlerini aktiveştiren bu enzimler, hücrede inaktif proenzimler olarak bulmaktadırlar. Aktifleşen kaspazlar hedefledikleri proteinlerin aspartik asitten (ASP) sonraki peptit bağını kesmektedirler (Lavrik ve ark., 2005).

Kaspazlar 3 çeşittir.

**a) Başlatıcı kaspazlar;** (Kaspaz 2, 8, 9, 10)

**b) Efektör kaspazlar;** (Kaspaz 3, 6, 7)

**c) Enflamatuvar kaspazlar;** (Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) (Keane ve ark., 2001).

## 2.9. *Mentha pulegium* L. Bitkisinin Genel Özellikleri

### 2.9.1. *Lamiaceae* Familyası

Pennyroyal olarak bilinen *Mentha pulegium*, *Lamiaceae* familyasında ve nane cinsinde çok yıllık otsu bir bitkidir. *Lamiaceae* familyası, tüm dünyaya yayılmış yaklaşık 250 cins ve 6700 tür içermektedir (Mabberley, 1997; Badisa ve ark., 2003). *Mentha* türleri genellikle İran'da 'na'na' ve 'pooneh', Türkiye'de 'yarpuz', 'yabani nane' adıyla bilinmektedir (Tablo 2.3). Bu bitki yaygın olarak şifalı bir bitki, bitkisel çay ve aroma maddesi olarak kullanılır (Nickavar ve ark., 2008). Güney ve orta Avrupa'ya özgü bitki, ilk Avrupa yerleşimcilerle Kuzey Amerika'ya tanıtıldı ve o zamandan beri dünyadaki vahşi, ılıman bölgelerde doğallaştı. Nemli bölgelerde (çoğunlukla Batı Anadolu) bol miktarda yetişir (Gruenwald, 1998; Chalchat ve ark., 2000). Çiçeklerinin alt dudak ve üst dudak şeklinde bir araya gelmesinden dolayı 1789 yılında De Jussieu tarafından 'dudaklı' anlamına gelen '*Labiatae*' olarak adlandırılmış, 1836 yılında Lindley tarafından '*Lamiaceae*' olarak yeniden adlandırılmıştır (Fayed ve ark., 2015).

*Labiatae* familyası aromatik, yıllık veya çok yıllık bitkilerden oluşur veya çalılıkların altında bulunur ve üyelerinin çoğu lezzet ve koku olarak kullanılan tıbbi ve mutfak değeri nedeniyle uzun süredir tanınır (Mabberley, 1997).

**Tablo 2.3.** *Mentha pulegium* için kullanılan diğer isimler.

Bilimsel Ad	Yerel Ad	Yaygın Ad	Kullanılan Bölüm
<i>Mentha pulegium</i>	Filiskin, Yarpuz, Pülüskün, Yabaninane	Pennyroyal, Peppermint	Yapraklar

*Lamiaceae* familyasının önemli yayılış alanlarından biri de Türkiye'dir. *Lamiaceae* familyasının Türkiye'de bulunan 45 cins ve 574 türü bulunmaktadır. Bulundurduğu takson sayısı açısından ülkemizde üçüncü sırada bulunan bu familyanın Türkiye'deki endemizm oranı yaklaşık % 44.5'tir. Uçucu ve aromatik yağlar ile benzeri sekonder metabolitler bakımından bu familyadaki türlerin çoğu zengindir. Bu nedenle; tıp, eczacılık, gıda, kozmetik ve parfümeri gibi alanlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Koyuncu ve ark., 2010).

### 2.9.2. *Mentha pulegium* L. (Yalancı Nane)

*Mentha* bitkilerinin çoğu nemli ortamı tercih etmektedir. Göl ve göletlerin kıyılarında, kanallar ve şelalelere yakın yerlerde bulunmaktadır (Tucker ve Naczi, 2006). *M. Pulegium* L., Avrupa'nın, Kuzey Afrika'nın ve Asya'nın küçük bir kısmı ve yakın Doğu'daki yerli türlerdir. Öte yandan *Mentha* cinsi, ailenin önemli üyelerinden biridir ve İran florasındaki yaklaşık 6 türü temsil eder (Nickavar ve ark., 2008). Bu türün Türkiye'deki habitatu, batıdan doğuya ve güneyden kuzeye çok geniştir (Eryiğit, 2006).

*Mentha pulegium* L. içeriğinde en fazla bulunan uçucu yağ Pulegon adlı maddedir. Pulegon'a ilave olarak piperiton, menthol ve menthon gibi maddeleri de içermektedir (Baser ve ark., 1999; Öztürk ve ark., 2002). Bronşit, tüberküloz, soğuk algınlığı, sinüzit, kolera ve gıda zehirlenmeleri tedavisinde kullanıldığı rapor edilen (Zargari, 1990) Yarpuz (*Mentha* L.)'un, antifungal (Hmiri ve ark., 2011), antihelmintik (Maggiore ve ark., 2012), spazmolitik (Estrada-Soto ve ark., 2010) ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Mahboubi ve Haghi, 2008). Ayrıca; adet düzenini sağlama, balgam ve idrar söktürme, gaz giderme ve öksürüğü kesme amacıyla kullanılmaktadır (Barnes ve ark., 1996). İçerdiği yüksek orandaki fenolik bileşikler (Strycharz ve Shetty, 2002) ve flavonoidlerden dolayı metanol ve sudaki ekstraktları antioksidan etki gösteren Yarpuz'un antigenotoksik etkisinin de olduğu tespit edilmiştir (Justesen ve Knuthsen, 2001; Kamkar ve ark., 2010; Alpsoy ve ark., 2011).

### 2.9.3. *Mentha pulegium* L. Taksonomisi

**Tablo 2.4.** *Mentha pulegium* L. bitkisinin taksonomisi (<https://plants.usda.gov>, Erişim Tarihi: 10 Kasım 2019).

Filogenetik Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Şube	<i>Magnoliophyta</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Lamiales</i>
Familya	<i>Labiatae/ Lamiaceae</i>
Cins	<i>Mentha</i> L.
Tür	<i>Mentha pulegium</i> L.

#### **2.9.4. *Mentha pulegium L.*'nin Sitotoksik Aktivitesi**

Badisa, *Labiatae* familyasının on dokuz metanolik ham bitki ekstraktının, tuzlu su karideslerine karşı sitotoksik aktivite ve kontrol hücresi olarak normal bir fare hücresi ile birlikte kolon karsinomu (Caco-2), hepatoblastom (HepG2) ve meme kanseri hücreleri (MCF-7) olmak üzere üç insan kanseri hücre hattının değerlendirildiğini bildirmiştir. Tuzlu su karides öldürücü testinde *M. pulegium*, LC50 değeri 347.3 µg/ml olan aktif olan tek numuneydi (Badisa ve ark., 2003). Gordon, ME (*Mentha* Ekstraktı) toksisitesinde pulegone ve menthafuranın ana toksik metabolit olduğunu bildirmiştir (Gordon ve ark., 1987).

## 3. GEREÇ ve YÖNTEM

### 3.1. Gereçler

#### 3.1.1. Demirbaş Cihazlar

1. Hücre Kültür Kabini (Faster 230 Vac)
2. İnkübatör (N-Biotek, NB-203XL)
3. Hassas Terazî (Pioneer Ohaus)
4. Sıcak Su banyosu (Termal Laboratuvar Aletleri)
5. Derin dondurucu -20 (Vestel, kod. no. 100703000000)
6. Derin dondurucu -85 (Panasonic)
7. Buzdolabı +4 (Uğur, no. KG57NVW20N)
8. Invert mikroskop (Leica)
9. Santrifüj (Nüve, NF 800)
10. Vorteks (Benchmark)
11. Etüv (Dedeoğlu)
12. Manyetik karıştırıcı (Heidolph)
13. Pipet Tabancası (Gilson)
14. Mikropipet seti (Gilson)
15. Soğutmalı santrifüj (Hermle)
16. Mikroplate okuyucu (Tecan)

### 3.1.2. Sarf Malzemeler

1. Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) (Capricorn, Cat No.DMEM-HA, Lot No.CP17-1894),
2. Fetal Bovine Serum (FBS) (Capricorn, Cat.no.FBS-11A, Lot No.CP16-1265 ),
3. Hepes 1M (Wisent, Cat.No. 330-050-EL, Lot. No.330050070)
4. L-glutamin (Gibco, Ref.No. 25030-024, Lot. No. 1839860),
5. Dulbecco's PBS (1X) (Capricorn, Cat.No. PBS-1A, Lot. No.CP16-1373)
6. Penisilin-streptomisin (Capricorn, Cat.No. PS-B, Lot. No.CP16-1498),
7. RPMI 1640 (Capricorn, Cat No.RPMI-A, Lot. No.CP17-1629),
8. Sodium Pyruvate (Capricorn, Cat No.NPY-B, Lot. No.CP18-1425),
9. Trypsin/EDTA (%0,05) (Wisent, Cat.No. 325-542-EL, Lot. No.325542046),
10. Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck, Lot.No: K42958612 238),
11. Sodium Phosphate (Sigma-Aldrich, Lot. No.BCBT6377),
12. Etil alkol (Sesim, Cas. No.64-17-5),
13. Giemsa's Azur Eosin Methylene Blue (Merck, Lot. No.HX61167104),
14. Methanol (Merck, Lot. No.I849409 641),
15. Potassium Dihydrogen Phosphate (Merck, Lot. No.AM1089673 644),
16. Trypan blue (Biological Industries, Ref. 03-102-1B),
17. Propanol (VWR Chemicals, Lot. No.17B014036),
18. MTT Cell Viability Assay Kit (Biotium, Cat. 30006, Lot.16M0715-1047189),
19. Steril 6'lı (Lot. No.2016002), 96 kuyucuklu (Lot. No.2016002) plaklar (Orange Scientific)
20. Cryo tüp steril (Biosigma, Lot. No.15P1062600),
21. Stericup 500 ml 0,22 µm (Millipore, Cat.No.SCGPU05RE, Lot. No.MP517046SA),
22. Pipet ucu 0-10 µl (Isolab), 10-200 µl (Laborant), 100-1000 µl (Labosel),
23. Serolojik pipet 5 ml, 10 ml, 25 ml (LP),

24. Thoma lamı (HHH),

25. Hücre kültür plakları 25 cm<sup>2</sup> (Orange Scientific, Lot. No.2016001),

26. Hücre kültür plakları 75 cm<sup>2</sup> (Orange Scientific, Lot. No.2015002),

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Bitki Örneğinin Toplanması

*Mentha pulegium* L., çiçeklenme döneminde, Düzce Efteni Gölü, Orman İşletme Deposu'ndan (40° 45' 18" K, 31° 03' 53" D), göl kenarına 125 m. mesafede, Mustafa Özkan UYSAL tarafından toplanmıştır (14.08.2017) (Şekil 3.1.). Bitki örneği, Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi'nde, Uzman Biyolog Serdar ASLAN tarafından teşhis edilmiştir. İncelenen örneğe ait bir şahit örnek Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (DUOF 7052).



Şekil 3.1. Toplanan *M. pulegium* L. örneğinin genel görüntüsü

#### 3.2.2. *Mentha pulegium* L. Ekstraktının Hazırlanması

Toplanan *Mentha pulegium* L. örneklerinin toprak üstü kısımları (yaprak-çiçek) 5 gün gölgede, oda sıcaklığında kurutuldu. Elekten geçirilip toz haline getirilen örnek, 2 saat 40 °C'de etüvde tutuldu ve serilip 1 gece gölgede kurutuldu (Şekil 3.2.).

15 g *Mentha pulegium* L. yaprak ve çiçekleri, 300 ml distile suda 2 saat kaynatıldı. Elde edilen çözelti süzgeç kağıdından filtre edildi (Şekil 3.3.). *Mentha pulegium* L. sulu ekstraktı Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi laboratuvarında liyofilize edildi. Elde edilen liyofilize örnek kullanılmıncaya kadar -20 °C'de bekletildi.



**Şekil 3.2.** Kurutulup toz haline getirilmiş *Mentha pulegium* örneğinin görüntüsü



**Şekil 3.3.** *Mentha pulegium* sulu ekstraktının görüntüsü

### 3.2.3. Hücre Kültürü İçin Besiyerinin Hazırlanışı

Hücre kültüründe kullanılacak besiyeri için;

435 ml RPMI 1640 Medium (% 87),

50 ml Fetal Bovin Serum (FBS) (% 10),

10 ml Penicilin-Streptomisin (% 2),

5 ml L-Glutamin (% 1) kullanıldı.

Maddeler eklenerek toplam hacim 500 ml olacak şekilde kullanıma hazır hücre kültür medyumu hazırlandı.

1. FBS, ilk kullanımda 56 °C'de 30 dk sıcak su banyosunda bekletilerek ısı inaktivasyonu yapıldı.

2. RPMI, Penicilin/Streptomycin ve L- Glutamine 37 °C'de sıcak su banyosunda ısıtıldı.
3. Hazırlanan besiyeri (medyum) 0.22 µm çaplı filtreden süzülerek 500 ml olarak kullanıma hazır hale getirildi.

### 3.2.4. Hücre İnkübasyon Koşulları

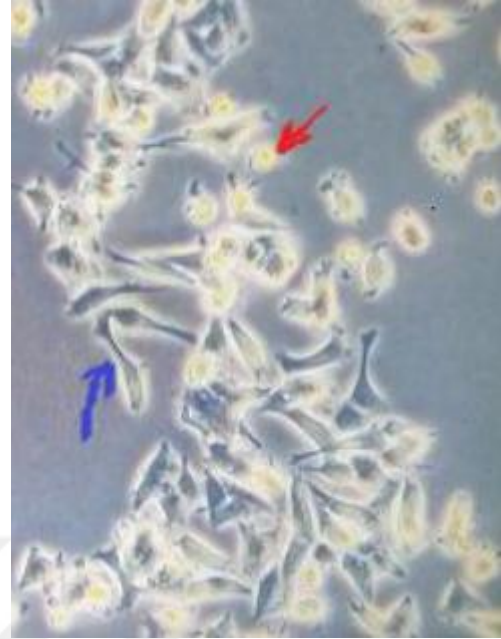
İnsan meme kanseri hücre hattı (MCF-7), 69 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan elde edilmiştir. İnsan meme kanseri hücre hattı (MCF-7), Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nden temin edildi. MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını sağlamak amacıyla, 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklar içinde RPMI 1640 Mediumu ile hazırlanan kültür ortamında steril şartlarda, CO<sub>2</sub> inkübatöründe 37 °C ve % 5 CO<sub>2</sub>' de inkübasyona bırakıldı.

### 3.2.5. Hücre Kültürünün Hazırlanması

1. -85 °C'de dondurulmuş stok MCF-7 hücreleri 37 °C'de sıcak su banyosunda ısıtılarak çözündürüldü.
2. 15 ml'lik falkon tüpüne hazırlanan besiyerinden (RPMI) 5ml konulup üzerine çözündürülmüş hücre ilave edildikten sonra birkaç kez pipetaj yapıldı.
3. DMSO'yu uzaklaştırma amacı ile hazırlanan çözelti santrifüj cihazında 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.
4. Süpernatant (üst faz) atıldı.
5. Çöken hücre pelleti (alt faz) üzerine 5ml besiyeri (RPMI) konuldu. Pipetaj yapıldı.
6. 75cm<sup>2</sup>'lik flaska 10 ml medyum (RPMI) ve falkon içindeki 5 ml hücre süspansiyonu ilave edildi ve flask hareket ettirildi (Şekil 3.4.).
7. Hücrelerin yapışmasını ve çoğalmasını sağlamak için hazırlanan kültür CO<sub>2</sub> inkübatöründe 37 °C ve % 5 CO<sub>2</sub>'de 24 saat inkübasyona bırakıldı (Şekil 3.5.).
8. İnvirt mikroskopta inceleme yapıldı ve hücrelerin kısmen yapıştığı görüldü.
9. Besiyerine 6ml medyum ilave edilip tekrar inkübatöre konuldu.



**Şekil 3.4.** 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda hazırlanan hücre kültürü

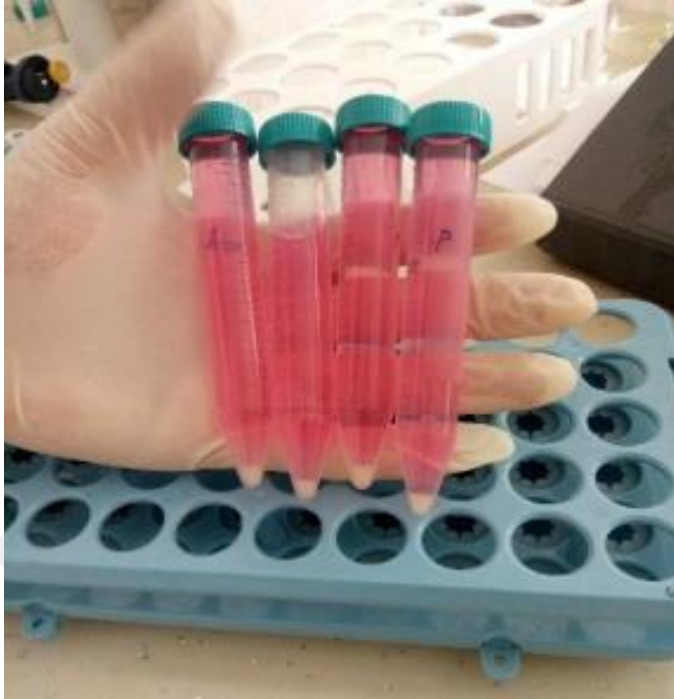


**Şekil 3.5.** MCF-7 hücreleri (mavi ok) ve stresli hücreler (kırmızı ok).

### 3.2.6. Hücrelerin Pasajlanması

Flaskta hücre doluluk oranı (confluent) % 80-90 aralığına ulaştığında 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklara aktarılmak üzere pasajlandı.

1. Flasktan eski medyum aspire edilip atıldı.
2. Hücrelerden serumu uzaklaştırmak için üç kez 5 ml steril fosfat tampon solüsyonu (DPBS) ile yıkandı.
3. Yıkanan hücreleri flask tabanından kaldırmak için 2.5 ml tripsin (EDTA'lı) eklenip 2 dakika kadar 37 °C'de inkübatörde bekletildi.
4. Hücrelerin flask tabanından ayrılıp hareket ettiği görülünce tripsinin etkisini inhibe etmek için tripsin miktarının 2 katı olacak şekilde (5 ml) medyum ilave edilip pipetaj yapıldı.
5. 15 ml'lik falkon tüpe alınan hücreler, 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi (Şekil 3.6.).
6. Süpernatant atılıp pellet (hücreler) üzerine 12 ml medyum eklenip pipet kullanılarak homojenize edildi.
7. İçerisinde 10 ml besiyeri bulunan 75 cm<sup>2</sup>'lik 4 flaska, 3'er ml hücre süspansiyonu ekimi yapıldı ve 37 °C ve % 5 CO<sub>2</sub>'de inkübatöre yerleştirildi.



**Şekil 3.6.** Tripsinize edilmiş hücrelerin santrifüj yapıldıktan sonraki süpernatant (üst faz) ve pellet (alt faz) kısmı görüntüsü

### 3.2.7. Hücrelerin Dondurulması ve Saklanması

Pellet (hücre), protokolde belirtildiği üzere pasajlanan hücrelerden elde edildikten sonra üzerine 10 mL dondurma medyumunu (% 5 DMSO (Dimetilsülfoksit) ve % 95 RPMI) eklendi. 2 ml'lik cryo tüplere alınan hücreler -85 °C'de stok olarak donduruldu.

### 3.2.8. *Mentha pulegium L.* Konsantrasyonlarının Hazırlanması

Bu çalışmada Düzce'den temin edilen *Mentha pulegium L.* bitkisinden elde edilen ekstrakt kullanılmıştır.

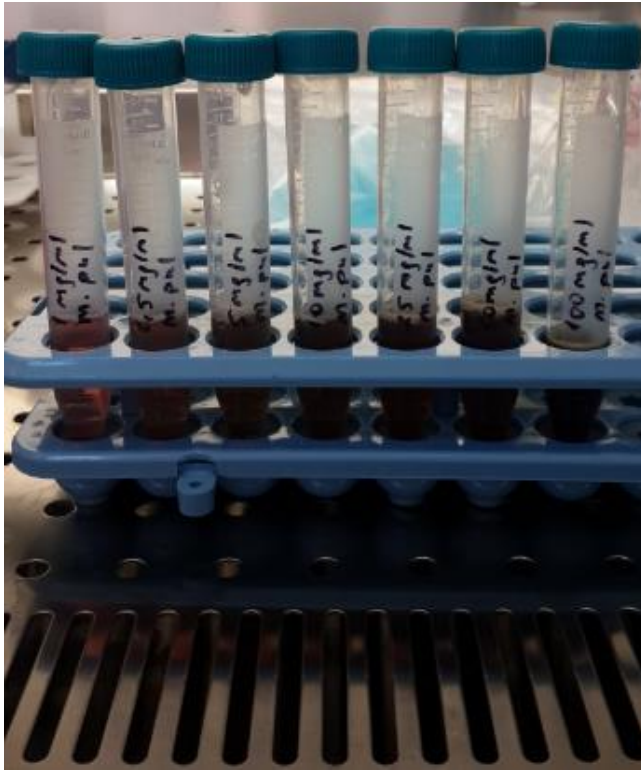
1. Liyofilize edilmiş *Mentha pulegium L.* bitkisinden 1 (1000 mg) gram hassas terazide tartıldı.
2. Steril kabin içerisinde 15 ml'lik falkona alınan *Mentha pulegium L.* özütüne 2 ml besiyeri eklendi ve pipet kullanılarak iyice homojenize edildi. Seyreltilen özüte 8 ml daha besiyeri eklendi ve 0.22 µm'lik filtreden geçirilerek 15'lik falkona aktarıldı.
3. 100 mg/ml'lik stok elde edildi. -20 °C'ye konuldu.

4. Stok konsantrasyon RPMI içerisinde çözdürülerek farklı konsantrasyonlarda (1 mg/ml, 2.5mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml) hazırlandı (Şekil 3.7.).

$$C_1XV_1=C_2XV_2$$

$C_1$ : Hazırlanan Konsantrasyon  $C_2$ : Stok Konsantrasyonu

$V_1$ : Hazırlanan Hacim  $V_2$ : Stoktan Alınacak Hacim

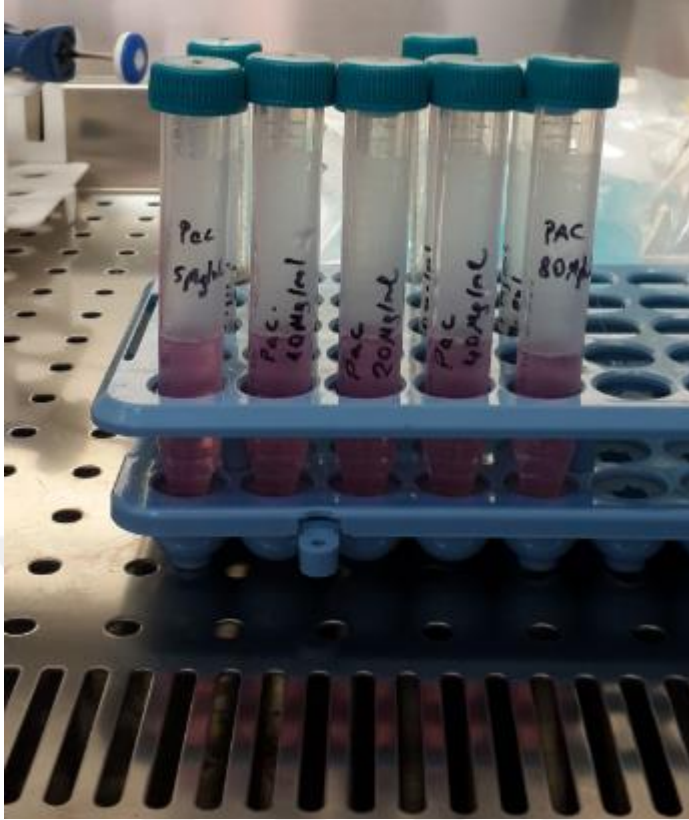


Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış *M. pulegium* örneklerinin görüntüsü

### 3.2.9. Paklitaksel Konsantrasyonların Hazırlanması

Paklitaksel, meme ve yumurtalık kanserinin intravenöz tedavisinde kullanılan en eşsiz, başarılı kemoterapötik ajanlar arasındadır. Bu çalışmada 1 flakon 30 mg/5 ml Paklitaksel (taksen) kullanılmıştır.

1. Steril kabin içerisinde Paklitaksel RPMI içerisinde çözdürülerek farklı konsantrasyonlarda (1 µg/ml, 2.5µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 80 µg/ml) hazırlandı (Şekil 3.8.).
2. Elde edilen farklı Paklitaksel konsantrasyonları -20 °C'ye konuldu.



**Şekil 3.8.** Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış Paklitaksel örneklerinin görüntüsü

### 3.2.10. Hücrelerin Sayılması

1. 75cm<sup>2</sup>'lik flasklara ekimi yapılan hücrelerden medyum aspire edilip atıldı. Flasklardaki hücrelerin oluşturduğu atıkları uzaklaştırma amacı ile için üç defa 5 ml steril fosfat tampon solüsyonu (DPBS) ile yıkandı.
2. Yıkanan hücreleri flask tabanından kaldırmak için 2.5 ml tripsin (EDTA'lı) eklenip 2 dakika kadar 37 °C'de inkübatörde bekletildi.
3. Hücrelerin flask tabanından ayrılıp hareket ettiği görülünce tripsinin etkisini inhibe etmek için tripsin miktarının 2 katı olacak şekilde (5 ml) medyum ilave edilip pipetaj yapıldı.
4. 15 ml'lik falkon tüpe alınan hücreler, 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant atılıp pellet (hücreler) üzerine önce 2 ml medyum eklenip pipetaj yapıldıktan sonra 8 ml daha medyum eklenip pipetaj yapıldı. Böylece 10 ml'lik hücre süspansiyonu hazırlandı.

6. İçerisinde 10 ml besiyeri bulunan 75 cm<sup>2</sup>'lik 4 flaska, 3'er ml hücre süspansiyonu ekimi yapıldı ve 37 °C ve % 5 CO<sub>2</sub>'de inkübatöre yerleştirildi.
7. 1.5 ml'lik ependorfa 1:1 oranında hücre süspansiyonu ve Tripan Blue konulup pipetaj yapıldı.
8. Ependorftan Thoma lamına üst ve alt kareye 50 µL hücre süspansiyonu yüklendi. Işık mikroskopunda 20X'lik objektifte hücreler sayıldı.
9. Sayımla elde edilen rakam kullanılarak aşağıdaki formülle ml'deki hücre sayısı hesaplandı.

$$\text{Hücre sayısı/ml} = [(\text{Sayılan Hücre} \times 10000) \div \text{Kare Sayısı}] \times \text{Seyreltme Katsayısı}$$

### 3.2.11. Hücrelerin Ekilmesi

1. Hücreler sayıldıktan sonra 96 kuyucuklu plakalara her bir kuyuya 2500 hücre olmak üzere 35 µl hücre ekimi yapıldı.
2. Kuyuların toplam hacmi 200 µl olacak şekilde hücrelerin üzerine 165 µl medyum eklendi.
3. Blanke 200 µl besiyeri konuldu.
4. Hücrelerin yapışması için 37 °C'de, % 5 CO<sub>2</sub>'de, 24 saat inkübasyona bırakıldı.

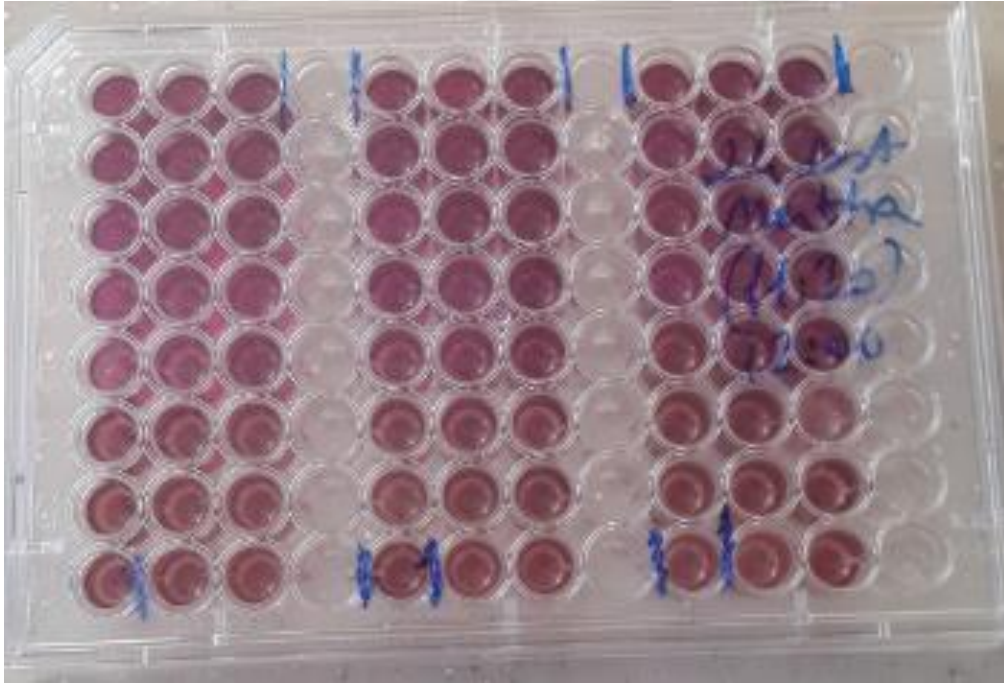
### 3.2.12. Hücrelere *Mentha pulegium* ve Paklitaksel Konsantrasyonlarının Eklenmesi

1. 24 saat sonra inkübatörden alınan plakalardaki medyum 200 µl'lik steril pipetle uzaklaştırıldı.
2. Plaka düzenine göre her bir kuyuya her konsantrasyondan 100 µl üç tekrar şeklinde ilave edilerek *Mentha pulegium L.* konsantrasyonları ile kuyulardaki hücreler etkileştirildi.
3. Pozitif kontrol olarak ayrılan kuyulara da 100 µl Paklitaksel konsantrasyonları eklendi.
4. Hücre bulunan negatif kontrol ve hücre bulunmayan blank kuyucuklarına da 100 µl medyum ilave edildi.
5. 24 ve 48 saat için plakalar inkübatörde tutuldu.

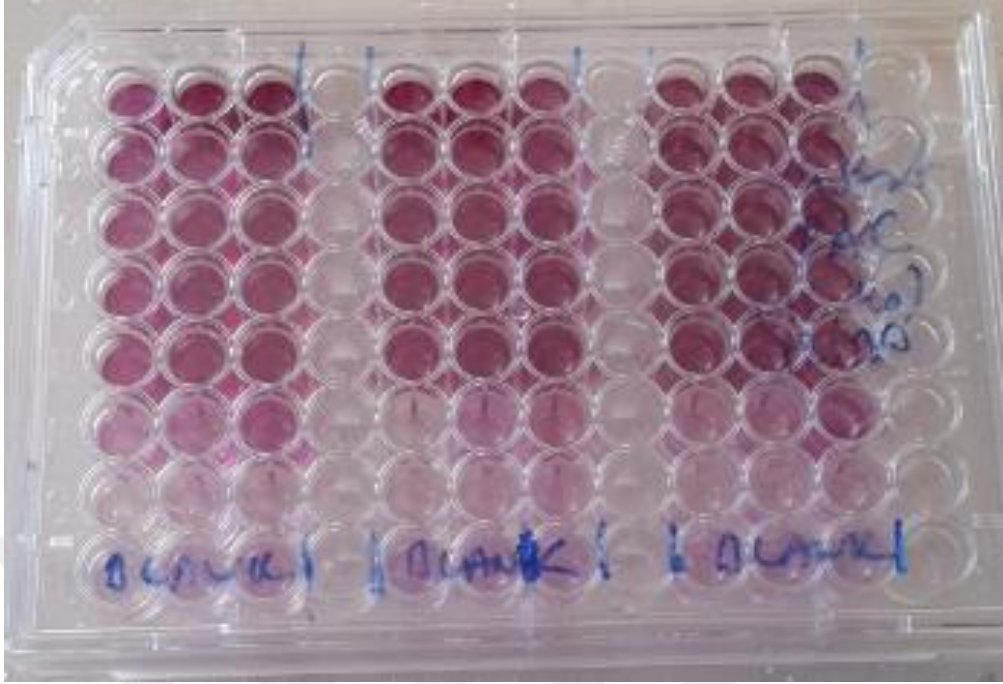
### 3.2.13. MTT Testinin Uygulanması

Bu çalışma için spektrofotometre kullanılmıştır.

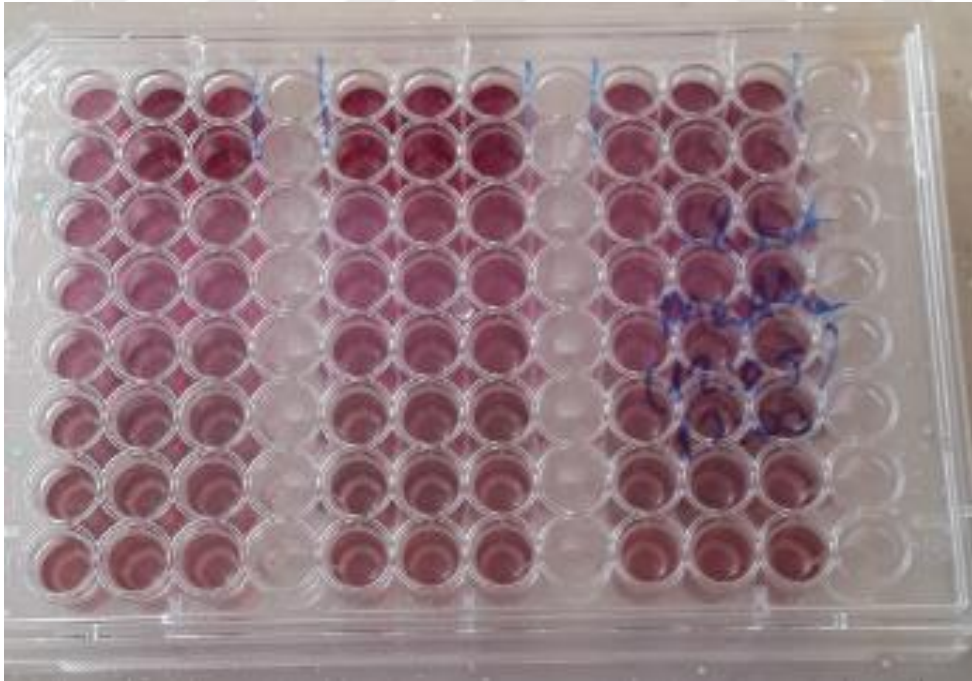
1. MTT solüsyonu 37 °C'de çözüldü ve 2000 rpm'de 10 sn. santrifüj edildi.
2. 96 kuyucuklu pleytlerde 24 ve 48 saatlik sürelerle inkübasyona bırakılan hücrelere süre sonunda her bir kuyuya 10 µl MTT solüsyonu konuldu. Orbital shakerda hafifçe çalkalandı ve 4 saat süre ile inkübatöre konuldu.
3. Süre sonunda MTT solüsyonu eklenen kuyulardan üst fazlar uzaklaştırıldı.
4. Her bir kuyuya 200 µl DMSO eklendi (Şekil 3.9-12.).
5. Orbital shakerda hafifçe çalkalandı.
6. Spektrofotometre'de (TECAN), 570 ve 630 nm'de her bir kuyu için absorban ölçümleri yapıldı.



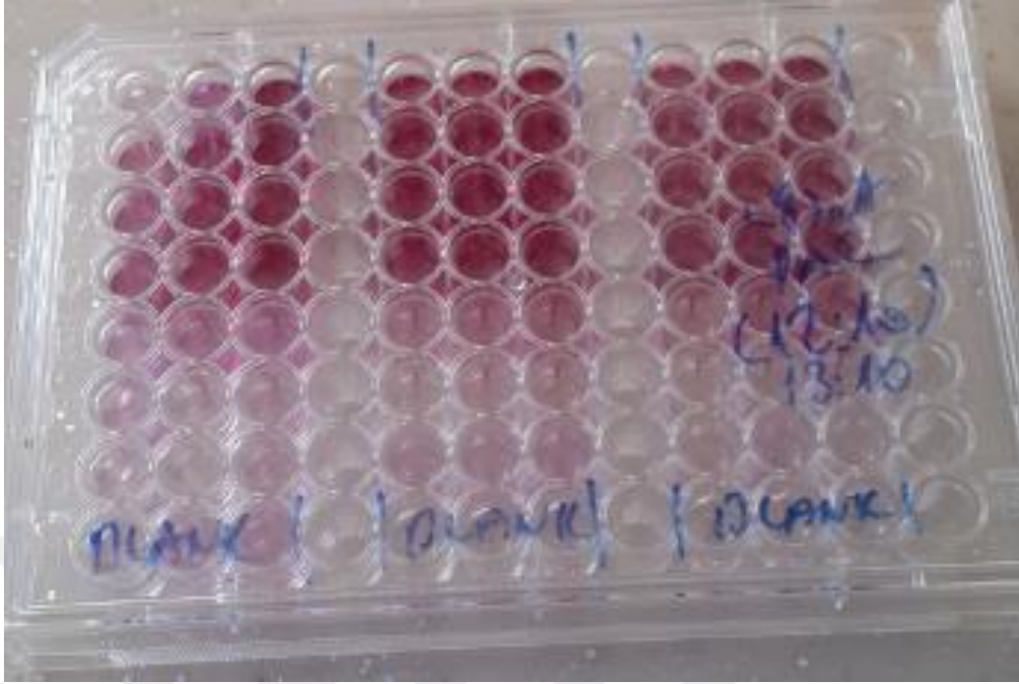
**Şekil 3.9.** *M. pulegium*'un farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü



**Şekil 3.10.** Paklitaksel'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü



**Şekil 3.11.** *M. pulegium*'un farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü



**Şekil 3.12.** Paklitaksel'in farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücrelerinin MTT solüsyonu eklendikten sonraki görüntüsü

### 3.2.14. Sorenson's Fosfat Buffer Hazırlanışı

1000 ml dH<sub>2</sub>O içerisine 5.26 gram KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (MA:136.085g/mol) ile 8.65 gram Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (MA: 301.93g/mol) eklenerek Sorenson Fosfat Buffer elde edildi.

Hazırlanan fosfat bufferdan 94 ml alınıp üzerine 6 ml Giemsa boyası ilave edilerek pH'si 7 olan % 6'lık Giemsa boya solüsyonu hazırlandı.

### 3.2.15. Apoptoz Deneyi

1. 6'lı plakalarda kuyulara  $4 \times 10^4$  hücre olmak üzere 1.07 ml MCF 7 hücresi ekildi. Blanke 1.07 ml besiyeri konuldu. % 60-70 yoğunluğa ulaşması için inkübasyona bırakıldı.
2. 24 saat sonra kuyucuklardaki besiyeri pipet ucu alınıp atıldı.
3. Pleyt düzenine göre her bir kuyuya her konsantrasyondan (1 mg/ml, 2.5mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml) 1.07 ml eklenerek *Mentha pulegium L.* konsantrasyonları ile kuyulardaki hücreler etkileştirildi (Tablo 3.1.).
4. Pozitif kontrol olarak ayrılan kuyulara da 1.07 ml Paklitaksel konsantrasyonları (5 µg/ml, 40 µg/ml, 80 µg/ml) eklendi (Tablo 3.1.).

5. Hücre bulunan negatif kontrol ve hücre bulunmayan blank kuyucuklarına da 1.07 ml besiyeri eklendi ve inkübasyona bırakıldı.
6. 24 saat sonra hücreler, her bir kuyucuk 3 kez 2 ml DPBS ile yıkandıktan sonra 2 ml soğuk metanol ile 5 dakika fiksasyona bırakıldı.
7. 5 dakikalık fiksasyon süresinin hemen ardından metanol pipetle alınarak kuyucukların kuruması için beklendi.
8. Daha önce hazırlanan % 6'lık Giemsa boyasından (yukarıda anlatıldığı gibi) 3 ml alınıp her kuyuya eklendikten sonra 10 dakika inkübatörde bekletildi.
9. Kuruma sağlanınca hücreler 3 defa distile su ile yıkandıktan sonra kuruması için beklendi.
10. Kurumanın bitmesinden sonra kuyulardaki hücreler invert mikroskop altında 40X'lik objektifte incelendi ve fotoğrafları çekildi. Örneklerin her birindeki hücreler sayıldıktan sonra, apoptotik hücre sayısının toplam hücre sayısına oranlanması ile apoptotik hücrelerin yüzde değerleri hesaplandı.

### **3.3. İstatiksel Analizler**

Verilerin normal dağılıma uygunluğu histogram, q-q grafikleri ve Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. İki'den fazla gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni testi kullanıldı. Veriler Turcosa (Turcosa Analitik Ltd Co, Türkiye, [www.turcosa.com.tr](http://www.turcosa.com.tr)) istatistik yazılımında gerçekleştirilmiştir. Anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. *Mentha pulegium* L. ve Paklitaksel Konsantrasyonlarının MCF 7 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi

*Mentha pulegium* ve Paklitaksel konsantrasyonlarının MCF 7 hücrelerindeki doza ve zamana bağlı olarak proliferasyonu azaltıcı yönde tesirinin olup olmadığına MTT testi ile bakılmıştır. *M. pulegium*'un farklı konsantrasyonları (1 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml) ile etkileştirilen MCF 7 hücrelerinde, 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra MTT ile 570 (örnek)-630 (blank) nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Hesaplamalar sırasında hiç *M. pulegium* ekstraktı eklenmeyen negatif kontrol kuyucuklarının hücre canlılığı % 100 olarak kabul edilmiştir. 24 ve 48 saatlik sürelerde alınan absorbans değerleri ile aşağıda verilen formülle hücre canlılığı yüzde olarak hesaplanmıştır.

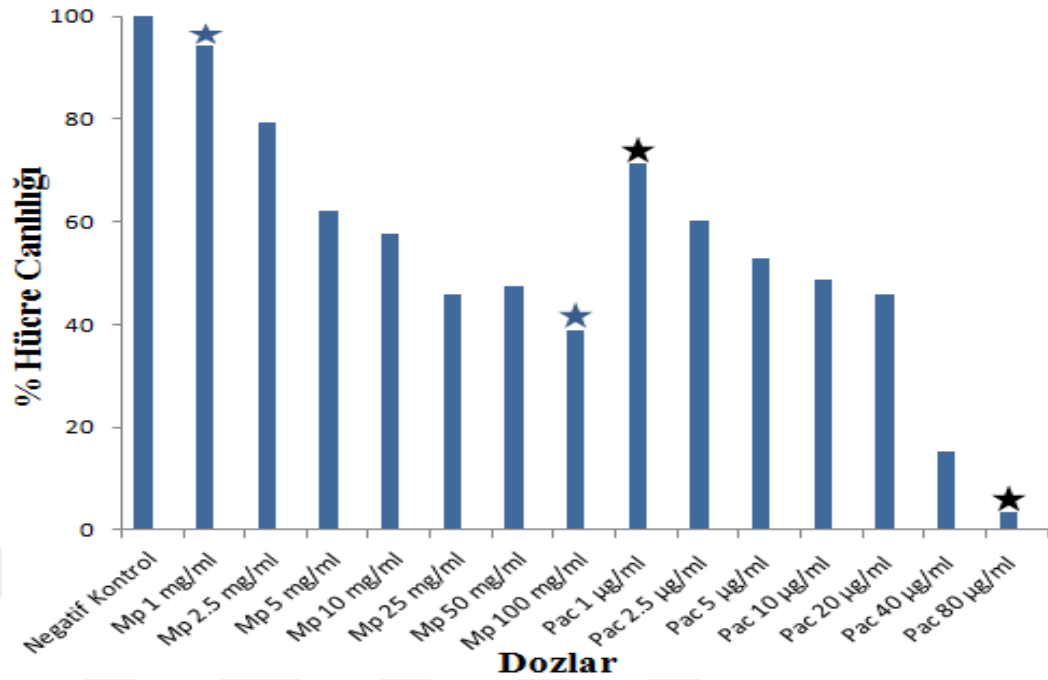
**Hücre Canlılığı (%)= (Örneğin Normalize Absorbansı/ Kontrolün Normalize Absorbansı)\*100**

Test sonucu *M. pulegium* konsantrasyonlarının proliferasyonu azaltıcı etkisinin olup olmadığı Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de yüzde olarak hücre canlılığı şeklinde gösterilmiştir. Bu testin istatistiksel analiz sonuçları ise Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

24 saat kontrol grubundaki veriler değerlendirildiğinde, *M. pulegium* uygulamalarının 1 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 100 mg/ml dozlarında proliferasyon azalmıştır (Şekil 4.1.). *M. pulegium* uygulanmamış negatif kontrol hücreleri ile karşılaştırma yapıldığında en çok proliferasyona 1 mg/ml konsantrasyonda, en az ise 100 mg/ml konsantrasyonda rastlanmıştır. Pozitif kontrol olan Paklitaksel uygulamalarının 1 µg/ml, 2.5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml ve 80 µg/ml dozlarında proliferasyon azalmıştır (Şekil 4.1.). Paklitaksel uygulanmamış negatif kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında en çok proliferasyona 1 µg/ml konsantrasyonda,

en az ise 80 µg/ml konsantrasyonda rastlanmıştır. İstatiksel olarak p değeri 24 saatin *M. pulegium* (p=0.013) ve Paklitaksel (p=0.012) dozları için anlamlı çıkmıştır.

Kültürün 48 saat kontrol grubundaki değer göz önüne alındığında, *M. pulegium* uygulamalarının 1 mg/ml, 2.5 mg/ml ve 5 mg/ml dozlarında proliferasyon azalmıştır (Şekil 4.2.). *M. pulegium* uygulanmamış negatif kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında en çok proliferasyona 1 mg/ml konsantrasyonda, en az ise 100 mg/ml konsantrasyonda rastlanmıştır. Pozitif kontrol olan Paklitaksel uygulamalarının 1 µg/ml, 2.5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml ve 80 µg/ml dozlarında proliferasyon azalmıştır (Şekil 4.2.). Paklitaksel uygulanmamış negatif kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında en çok proliferasyona 1 µg/ml konsantrasyonda, en az ise 80 µg/ml konsantrasyonda rastlanmıştır. İstatiksel olarak p değeri 48 saatin *M. pulegium* (p=0.563) dozları için anlamsız ve Paklitaksel (p=0.014) dozları için anlamlı çıkmıştır. Yıldız işaretleri, negatif kontrol, *M. pulegium* ve Paklitaksel ile muamele edilen konsantrasyonlar arasındaki anlamlı farkı belirtir (p<0.05).

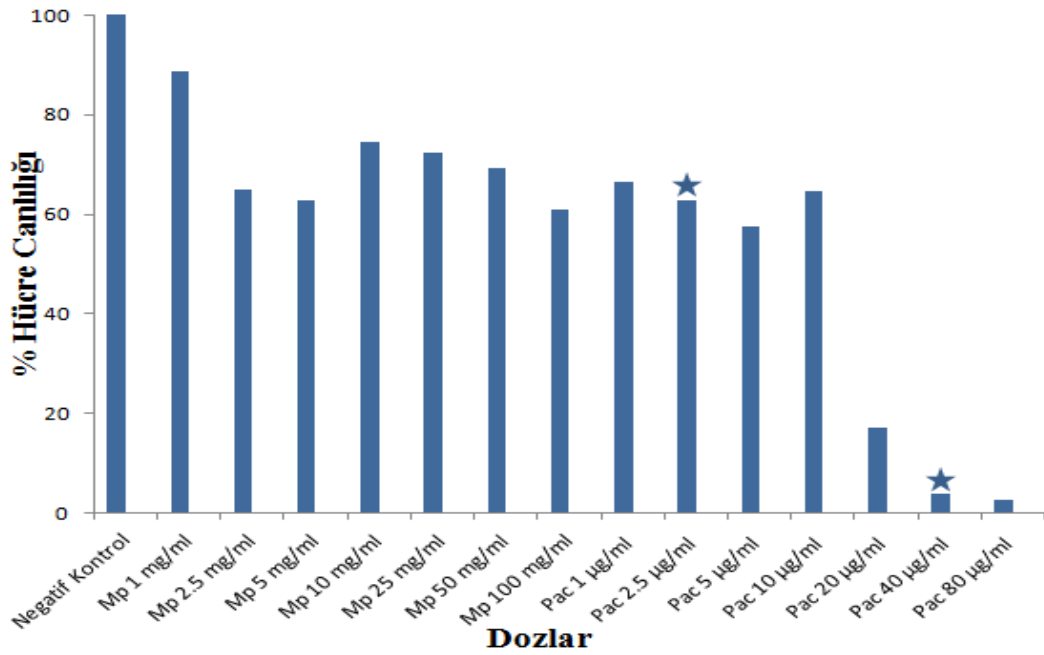


**Şekil 4.1.** Negatif kontrol, *M. pulegium* (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde tespit edilen yüzde canlılığın gösterilmesi ★ Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı değerler ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.1.** Negatif kontrol, *M. pulegium* (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde yüzde canlılık oranları.

Konsantrasyon	Grup	Median (min-max)	p*
0 mg/ml	Negatif Kontrol	100	-
1 mg/ml	<i>Mentha pulegium</i>	94.2(93.3-100.6) <sup>a</sup>	0.013
2.5 mg/ml		79.2(74.4-93.9) <sup>ab</sup>	
5 mg/ml		62.2(56.0-73.1) <sup>ab</sup>	
10 mg/ml		57.5(51.4-63.9) <sup>ab</sup>	
25 mg/ml		46.0(38.6-60.9) <sup>ab</sup>	
50 mg/ml		47.5(32.6-58.3) <sup>ab</sup>	
100 mg/ml		38.7(31.4-48.4) <sup>b</sup>	
1 $\mu\text{g/ml}$	Paklitaksel	71.2(49.4-72.4) <sup>c</sup>	0.012
2.5 $\mu\text{g/ml}$		60.3(46.0-69.8) <sup>cd</sup>	
5 $\mu\text{g/ml}$		52.9(50.7-63.7) <sup>cd</sup>	
10 $\mu\text{g/ml}$		48.6(36.7-54.4) <sup>cd</sup>	
20 $\mu\text{g/ml}$		45.7(41.4-48.2) <sup>cd</sup>	
40 $\mu\text{g/ml}$		15.3(6.4-21.8) <sup>cd</sup>	
80 $\mu\text{g/ml}$		3.4(1.2-3.8) <sup>d</sup>	

(p\* gruplara göre konsantrasyonlar arasındaki farkı ifade etmektedir. Veriler median (min-max) olarak ifade edilmiştir. Üst simge olarak gösterilen aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.)



**Şekil 4.2.** Negatif kontrol, *M. pulegium* (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde tespit edilen yüzde canlılığın gösterilmesi ★ Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı değerler ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 4.2.** Negatif kontrol, *M. pulegium* (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 48 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde yüzde canlılık oranları.

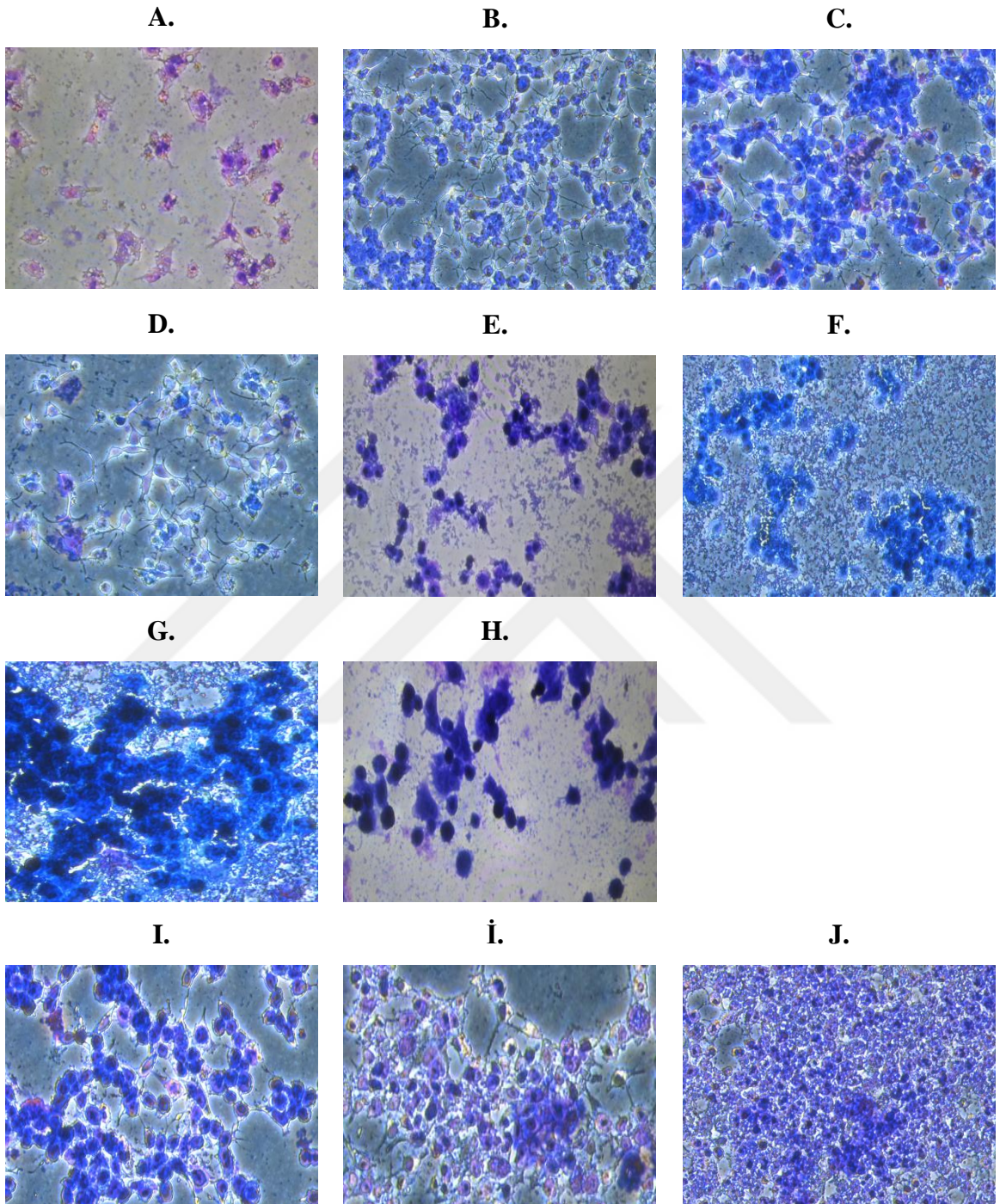
Konsantrasyon	Grup	Median (min-max)	p*
0 mg/ml	Negatif Kontrol	100	-
1 mg/ml	<i>Mentha pulegium</i>	88.6(78.5-93.0)	0.563
2.5 mg/ml		65.0(61.0-76.7)	
5 mg/ml		62.8(54.7-79.9)	
10 mg/ml		74.5(52.3-85.6)	
25 mg/ml		72.3(62.6-110.2)	
50 mg/ml		69.3(56.2-103.8)	
100 mg/ml		60.9(45.6-84.1)	
1 $\mu\text{g/ml}$	Paklitaksel	66.5(48.8-68.2) <sup>ab</sup>	0.014
2.5 $\mu\text{g/ml}$		62.7(61.2-68.4) <sup>a</sup>	
5 $\mu\text{g/ml}$		57.6(53.0-70.0) <sup>ab</sup>	
10 $\mu\text{g/ml}$		64.7(45.3-65.9) <sup>ab</sup>	
20 $\mu\text{g/ml}$		17.2(16.6-18.1) <sup>ab</sup>	
40 $\mu\text{g/ml}$		4.0(2.1-7.4) <sup>b</sup>	
80 $\mu\text{g/ml}$		2.6(2.3-7.9) <sup>ab</sup>	

(p\* gruplara göre konsantrasyonlar arasındaki farkı ifade etmektedir. Veriler median (min-max) olarak ifade edilmiştir. Üst simge olarak gösterilen aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.)

#### 4.2. *Mentha pulegium* L. ve Paklitaksel Konsantrasyonlarının MCF 7 Hücrelerinde Apoptoz Üzerine Etkisi

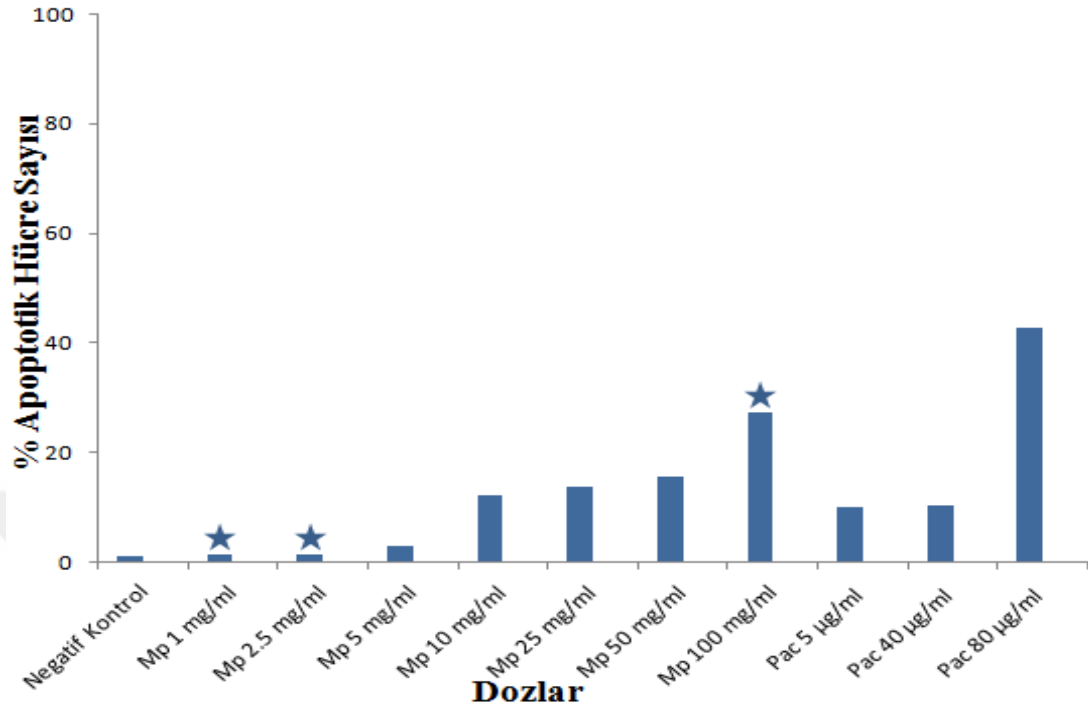
*M. pulegium*'un farklı konsantrasyonları (1 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 100 mg/ml) ve Paklitaksel'in farklı konsantrasyonları (5 µg/ml, 40 µg/ml ve 80 µg/ml) ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde apoptoz indüksiyonu olup olmadığı giemsa boyaması yöntemi ile değerlendirildi. Koyu mavi ile boyanan, yoğunlaşmış ve koyu çekirdekleri ile tanımlanan hücreler apoptotik hücrelerdir (Şekil 4.3.a.). *M. pulegium* ve Paklitaksel dozlarının MCF 7 hücrelerindeki apoptotik etkisine bakılmıştır. *M. pulegium* ve Paklitaksel'in farklı konsantrasyonlarına bağlı olarak konsantrasyon artışı ile apoptotik hücre sayısı da artmıştır. *M. pulegium* uygulanmamış negatif kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında en az apoptoza 1 mg/ml konsantrasyonda, en çok ise 100 mg/ml konsantrasyonda rastlanmıştır. Pozitif kontrol olan Paklitaksel uygulamalarının 5 µg/ml, 40 µg/ml ve 80 µg/ml dozlarında apoptotik hücre sayısı artmıştır (Şekil 4.3.b.). Paklitaksel uygulanmamış negatif kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında en az apoptoza 5 µg/ml konsantrasyonda, en çok ise 80 µg/ml konsantrasyonda rastlanmıştır (Tablo 4.3.). İstatiksel olarak p değeri *M. pulegium* (p=0.006) dozları için anlamlı ve Paklitaksel (p=0.066) dozları için anlamsız çıkmıştır. Yıldız işaretleri, negatif kontrol, *M. Pulegium* ve Paklitaksel ile muamele edilen konsantrasyonlar arasındaki anlamlı farkı belirtir (p<0.05).

a.



**Şekil 4.3. a.A) KONTROL, B)Mp 1, C)Mp 2,5, D)Mp 5, E)Mp 10, F )Mp 25, G)Mp 50, H)Mp 100, I)Pac 5, İ)Pac 40 ,J)Pac 80, MCF 7 hücre kültürlerinde farklı dozlarda uygulanan *M. pulegium* (mg/ml) ve Paclitaxel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in apoptotik etkisinin görüntüsü**

b.



Şekil 4.3. b. Apoptotik hücrelerin grafiksel gösterimi, ★ Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı değerler ( $p < 0.05$ ).

Tablo 4.3. Kontrol, *M. pulegium* (mg/ml) ve Paklitaksel ( $\mu\text{g/ml}$ )'in farklı dozları ile 24 saat etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde yüzde apoptotik etkinin oranları.

Konsantrasyon	Grup	Median (min-max)	p*
0 mg/ml	Negatif Kontrol	1.1(0.0-3.1)	-
1 mg/ml	<i>Mentha pulegium</i>	1.4(0.8-2.1) <sup>a</sup>	0.006
2.5 mg/ml		1.4(1.1-2.8) <sup>c</sup>	
5 mg/ml		3.0(1.5-4.6) <sup>abc</sup>	
10 mg/ml		12.1(8.3-12.6) <sup>abc</sup>	
25 mg/ml		13.9(8.3-17.3) <sup>abc</sup>	
50 mg/ml		15.5(13.3-17.0) <sup>abc</sup>	
100 mg/ml		27.3(26.9-28.0) <sup>b</sup>	
5 $\mu\text{g/ml}$	Paklitaksel	10.0(6.9-12.5)	0.066
40 $\mu\text{g/ml}$		10.4(9.6-12.3)	
80 $\mu\text{g/ml}$		42.9(40.7-52.6)	

(p\* gruplara göre konsantrasyonlar arasındaki farkı ifade etmektedir. Veriler median (min-max) olarak ifade edilmiştir. Üst simge olarak gösterilen aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.)

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya genelinde 2020'de yeni teşhis edilen kadın meme kanseri vakaları yaklaşık 2,3 milyon ve kadınlar arasında her 4 kanser vakasından yaklaşık 1'ini oluşturmaktadır. Hastalık, ülkelerin çoğunda en sık teşhis edilen kanserdir (185'in 159'u) ve aynı zamanda 110 ülkede kanserden ölümlerin temel nedenidir (Sung ve ark., 2021).

Geleneksel tıpta kullanılan ve çevresel toksik bileşiklerin zararlı etkilerini ortadan kaldıracak ve / veya çoklu insan hastalıklarını önleyebilen doğal ürünler üzerine yapılan çalışmalara giderek daha fazla önem verilmektedir. Bu bağlamda, farklı şifalı bitkiler yeniden değerlendirilmiş ve değerli nutrasötiklerin kaynakları olarak kabul edilmiştir (Soumaya ve ark., 2014).

Karakaş ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada Bolu, Türkiye'de yetiştirilen 16 farklı bitkinin antitümör etkisini değerlendirdiler. Antitümör aktivitesi, *Agrobacterium tumefaciens* kaynaklı patates disk tümör deneyi ile değerlendirildi. *Mentha pulegium*'un sulu ekstresi ile % 94, metanolik ekstraktı ile % 86 tümör inhibisyonu elde edilmiştir. *Mentha pulegium*'un tüm ekstraktları arasında en iyi antitümör aktivitesi sulu ile gözlenmiştir (% 94).

Bizde tez çalışmamızda, *in vitro* kültür yöntemlerini kullanarak Türkiye'nin Düzce bölgesinden toplanan *Mentha pulegium L.* bitkisinin MCF 7 meme kanseri hücre hattı üzerinde apoptotik ve antiproliferatif etkilerini göstermeyi amaçladık.

*Mentha pulegium L.* bitkisi birçok kanserli hücre tipinde çalışılmış olmasına rağmen literatürde *Mentha pulegium L.* sulu ekstraktlarının *in vitro* MCF 7 meme kanseri hücrelerinde apoptotik ve antiproliferatif etkilerini inceleyen bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle tez çalışmamız özgündür ve *Mentha pulegium L.* sulu

ekstraktlarının MCF 7 meme kanseri hücre hattı üzerinde apoptotik ve antiproliferatif etkilerini inceleyen ilk araştırmadır.

Çalışmamızda, farklı konsantrasyonlardaki *Mentha pulegium L.* sulu ekstraktlarının MCF 7 meme kanseri hücre hattı üzerinde apoptotik ve antiproliferatif etkilerinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için kültüre alınan MCF-7 hücreleri, 24 ve 48 olmak üzere *Mentha pulegium L.* sulu ekstraktlarının farklı konsantrasyonları ile etkileştirilmiştir. Yedi ayrı *Mentha pulegium L.* bitkisinin sulu ekstraktı (1 mg/ml, 2.5mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml) ile birlikte bir negatif ve bir pozitif kontrol grubu ile yapılan kültürlerin 24 ve 48. saatlerinde MCF 7 hücrelerine proliferasyon testi (MTT) uygulanmıştır.

Proliferasyon testi sonucunda, *Mentha pulegium L.*'nin farklı dozları ile 24 saat boyunca etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde % canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 24 saatlik uygulamada hücre canlılığının giderek azaldığı görülmüştür. *Mentha pulegium L.*'nin en iyi 100 mg/ml'lik konsantrasyonda proliferasyonu baskıladığı belirlenmiştir.

Proliferasyon testi sonucunda, *Mentha pulegium L.*'nin farklı dozları ile 48 saat boyunca etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde % canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 48 saatlik uygulamada *Mentha pulegium L.* özütünün bozulduğu ya da daha az etkili olduğu düşünülmektedir.

*Mentha pulegium L.*'nin farklı konsantrasyonları ile 24 saat etkileştirme sonucunda hücre kültürleri karşılaştırıldığında;

*Mentha pulegium L.*'nin 100 mg/ml'lik konsantrasyonu ile muamele edilen kültürde % 61,3,

*Mentha pulegium L.*'nin farklı konsantrasyonları ile 48 saat etkileştirme sonucunda hücre kültürleri karşılaştırıldığında;

*Mentha pulegium L.*'nin 100 mg/ml'lik konsantrasyonu ile muamele edilen kültürde % 39,1 hücre canlılığının azaldığı gözlemlenmiştir.

Yaptığımız çalışmadaki proliferasyon sonuçları değerlendirildiğinde, 24 saat *Mentha pulegium L.* ekstraktı ile etkileştirilen MCF 7 hücre kültüründe proliferasyon baskılanmıştır. % 5,8'lik azalma 24 saatteki en düşük proliferasyonu baskılama değeri olarak 1 mg/ml'lik konsantrasyonun hücre çoğalmasını baskılamada yetersiz kaldığını göstermiştir.

48 saat *Mentha pulegium L.* ekstraktı ile etkileştirilen MCF 7 hücre kültüründe, proliferasyon bazı dozlarda baskılanırken bazılarında artmıştır. Bu baskılanma ve artışlar zaman ve doza bağlı olarak anlamsız kabul edilmektedir. *Mentha pulegium L.*'nin 48 saatlik etkileştirmesinin proliferasyonu baskılamada etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Giemsa boyaması sonucunda, *Mentha pulegium L.*'nin farklı dozları ile 24 saat boyunca etkileştirilen MCF 7 hücre kültürlerinde % apoptotik hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *Mentha pulegium L.*'nin 100 mg/ml'lik konsantrasyonunda apoptotik hücre sayısının % 27,3 ile en fazla olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmadaki apoptoz indüksiyonu sonuçları yorumlandığında, *Mentha pulegium L.* uygulanan hücrelerde apoptoz, doz artışına bağlı olarak az da olsa artmıştır. Bu baskılanma % 1,4'lük bir oran ile 1 mg/ml konsantrasyonda en düşük apoptotik değeri göstermiştir. Bu durum 1 mg/ml'lik konsantrasyonun apoptozu indüklemeye yetersiz kaldığını göstermektedir.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz veriler, *Mentha pulegium L.* sulu özlerinin, hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkileri hakkında yeni bilgiler getirmektedir. Çalışılan *Mentha pulegium L.* sulu özlerinin moleküler mekanizmalarını belirlemek için ek araştırmalar gerekli olsa da, elde edilen veriler değerlendirildiğinde *Mentha pulegium L.*'nin antiproliferatif ve az da olsa apoptotik olduğunu göstermektedir.

Bu verilerimiz, *Mentha pulegium L.* özlerinin meme kanseri hücrelerinin tedavisi için terapötik bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, *Mentha pulegium L.* özlerinin MCF 7 hücrelerindeki apoptotik ve anti-proliferatif etkilerinin *in vivo* deneylerde de gösterilerek bu sonuçların desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Alpsoy L, Sahin H, Karaman S. Anti-oxidative and anti-genotoxic effects of methanolic extract of *Mentha pulegium* on human lymphocyte culture. *Toxicol Ind Health*. 2011; 27(7): 647-654.
- American Cancer Society, Cancer facts and figures 2006, 1-56, 2006. <http://www.cancer.org/downloads/STT/CAFF2006PWSecured.pdf>. Erişim tarihi: 12.11.2008.
- American Cancer Society, The History of Cancer, <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer>. Erişim tarihi: 10.11.2019.
- Badisa RB, Tzakou O, Couladis M, Pilarinon E. Cytotoxic activities of some Greek *Labiatae* herbs. *Phytother Res*. 2003; 17(5): 472-476.
- Bamias A, Baltayiannis G, Kamina S, Fatouros M, Lympelopoulos E, Agnanti N, Tsianos E, Pavlidis N. Rectal metastases from lobular carcinoma of the breast: report of a case and literature review. *Ann Oncol*. 2001; 12(5): 715-718.
- Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. *Herbal Medicines, a Guide for Healthcare Professionals*, Pharmaceutical Press, London, 1996, 6.
- Baser KHC, Krkođlu M, Tarımcılar G, Kaynak G. Essential oils of *Mentha* species from Northern Turkey. *J Essent Oil Res*. 1999; 11(5): 579-588.
- Bomford CK KLH, Sherriff SB. *Texbook of Radiotherapy*: Churchill livingstone, 1993.
- Bonadona V, Sinilnikova OM, Chopin S, Antoniou AC, Mignotte H, Mathevet P, Brmond A, Martin A, Bobin JY, Romestaing P, Raudrant D, Rudigoz RC, Lon M, Chauvin F, Easton DF, Lenoir GM, Lasset C. Contribution of BRCA1 and BRCA2 germ-line mutations to the incidence of breast cancer in young women: results from a prospective population-based study in France. *Genes Chromosomes Cancer*. 2005; 43(4): 404-413.

- Botos J, Barhoumi R, Burghardt R, Kochevar DT. Rb localization and phosphorylation kinetics correlate with the cellular phenotype of cultured breast adenocarcinoma cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2002; 38(4): 235-241.
- Cancer Fact sheet February 2018. World Health Organization. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer> Erişim Tarihi: 05.06.2018.
- Cancer Research UK's News & Resources. UK cancer incidence statistics by age, 2007. <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/incidence/age>. Erişim tarihi: 18.09.2008.
- Chalchat JC, Gorunovic MS, Maksimovic ZA, Petrovic SD. Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *J Essent Oil Res.* 2000; 12(5): 598-600.
- Chen YC, Shen SC, Tsai SH. Prostaglandin D (2) and J (2) induce apoptosis in human leukemia cells via activation of the caspase 3 cascade and production of reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1743(3): 291–304.
- Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JC, Brauer MJ, Kiefer MC, Barr PJ, Mountz JD. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science.* 1994; 263(5154): 1759-1762.
- Chiu WC. Evaluation Of Thymoquinone For Cytotoxic Activity Against Human Breast Cancer Cell Lines And Tumor Xenograft In Nude Mice, Doktora Tezi, National University Of Singapore Department of Pharmacology, 2013.
- Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arřiv Kaynak Tarama Dergisi* 2011; 20(3): 145-158.
- Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. *J Ethnopharmacol.* 2005; 100(1-2): 72-79.
- Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med.* 2008; 358 (5): 502-511.
- Dilsiz N. *Moleküler Biyoloji* (2. Baskı), Palme yayıncılık, Ankara, 2009.
- Eryiğit F. *Mentha pulegium* L. ve *Salvia tomentosa* Miller bitkilerinin metanol özütlerinin in vitro antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Isparta, 2006, 2.

- Estrada-Soto S, González-Maldonado D, Castillo- España P, Aguirre-Crespo F, Sánchez-Salgado JC. Spasmolytic effect of *Mentha pulegium* L. involves ionic flux regulation in rat ileum strips. *J Smooth Muscle Res.* 2010; 46(2): 107-117.
- Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature.* 2001; 411(6835): 342-348.
- Fayed AA, Zareh M, Hassan N, Faried A. A systematic revision of the genus *Teucrium* (*Lamiaceae*) in Egypt. *Nordic Journal of Botany* 2015; 33(4): 389-400.
- Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2018). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>. Erişim Tarihi:26.06.2019
- Fitzpatric FA, Wheeler R. The immunopharmacology of paclitaxel (Taxol), docetaxel(Taxotere) and related agents. *Int Immunopharmacol.* 2003; 3(13-14): 1699-1714.
- Frenzel, A, Grespi F, Chmelewskij W, Villunger A. Bcl2 family proteins in carcinogenesis and the treatment of cancer. *Apoptosis.* 2009; 14(4): 584-596.
- Ganz PA, Casillas JN, Coscarelli A. Estimating the human costs of cancer survivorship in children. *Ann Intern Med.* 2010; 152(7): 465-466.
- Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2003; 21(17): 3357-3365.
- Gordon WP, Huitric AC, Seth CL, McClanahan RH, Nelson SD. The metabolism of the abortifacient terpene, (R)-(+)-pulegone, to a proximate toxin, menthofuran. *Drug Metab Dispos.* 1987; 15(5): 589-594.
- Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. *Oncogene* 2004; 23(16): 2891-2906.
- Gruenwald J. The emerging role of herbal medicine in health care in Europe. *Drug Information Journal* 1998, 32 (1): 151-153.
- Hanby AM, Hughes TA. In situ and invasive lobular neoplasia of the breast. *Histopathology* 2008; 52(1): 58-66.

Hmiri S, Amrani N, Rahouti M. In vitro determination of antifungal activity of eugenol and essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Tanacetum annuum* L. against three fungi causing postharvest rot of apples. *Acta Botanica Gallica* 2011; 158(4): 609-616.

<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-istatistikleri/yillar/2016-yili-turkiye-kanser-i-s-tatistikleri>. Erişim tarihi: 02.02.2021.

<https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MEPU>. Erişim Tarihi: 10.11.2019

Huerta S, Goulet EJ, Huerta-Yepez S, Livingston EH. Screening and detection of apoptosis. *J Surg Res.* 2007; 139(1): 143-156.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer Statistics, 2006. *CA Cancer J Clin.* 2006; 56(2): 106-130.

Jemal A, Ward E, Anderson RN, Murray T, Thun MJ. Widening of socioeconomic inequalities in U.S. death rates, 1993-2001. *PLoS One* 2008; 3(5): e2181.

Justesen U, Knuthsen P. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food Chemistry* 2001; 73(2): 245-250.

Kamkar A, Javan AJ, Asadi F, Kamalinejad M. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48(7): 1796-1800.

Karakaş FP, Yıldırım A, Türker A. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turk J Biol* 2012; 36: 641-652.

Kars MD. Molecular mechanisms of vincristine and paclitaxel resistance in MCF-7 cell line, Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Doğal ve Uygulamalı Bilimler Enstitüsü, Ankara, 2008: 1.

Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Bethea JR, Krajewski S, Reed JC, Dietrich WD. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2001; 60(5): 422-429.

Koyuncu O, Yaylacı ÖK, Öztürk D, Erkara İP, Savaroğlu F, Akçoşkun Ö, Ardıç M. Risk categories and ethnobotanical features of the *Lamiaceae* taxa growing

naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs. *Biological Diversity and Conservation* 2010; 3/3: 31-45.

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Basic Pathology (Sekizinci Baskı)*, Çevikbaş U, Nobel, İstanbul, 2008.

Kwak CS, Yeo EJ, Moon SC. Perilla leaf, *Perilla frutescens*, induces apoptosis and G1 phase arrest in human leukemia HL-60 cells through the combinations of death receptor-mediated, mitochondrial, and endoplasmic reticulum stress-induced pathways. *J Med Food*. 2009; 12(3): 508–517.

Lavrik I, Golks A, Krammer PH. Death receptor signaling. *J Cell Sci*. 2005; 118(Pt 2): 265-267.

Lee KH. Discovery and development of natural product-derived chemotherapeutic agents based on a medicinal chemistry approach. *J Nat Prod*. 2010; 73(3): 500-516.

Lina NK. Knowledge about breast cancer and negative influences affecting breast cancer screening among women in Jordan. *IJHSS* 2012; 2: 1-11.

Lopez Deogracias M, Flores Jaime L, Arias-Camison I, Zamacola I, Murillo Guibert J, Suescun Garcia R, Querejeta Usabiaga J, Martinez Garcia F. Rectal metastasis from lobular breast carcinoma 15 years after primary diagnosis. *Clin Transl Oncol*. 2010; 12(2): 150-153.

Luck AA, Evans AJ, James JJ, Rakha EA, Paish EC, Green AR. Breast carcinoma with basal phenotype: mammographic findings. *AJR Am J Roentgenol*. 2008; 191(2): 346-351.

Mabberley DJ. *The Plant-Book* (2 nd ed), Cambridge University Press, Cambridge, 1997.

MacFarlane M, Williams AC. Apoptosis and disease: a life or death decision. *EMBO Rep*. 2004; 5(7): 674-678.

Maggiore MA, Albanese AA, Gende LB, Eguaras MJ, Denegri GM, Elissondo MC. Anthelmintic effect of *Mentha* spp. essential oils on *Echinococcus granulosus* protoscoleces and metacestodes. *Parasitol Res*. 2012; 110(3): 1103-1112.

- Mahboubi M, Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J Ethnopharmacol. 2008; 119(2): 325-327.
- Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and Autoimmunity. In: Koopman WJ ed. A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions. Lippincott Williams & Wilkins 2001.
- Nagasawa H, Keng P, Maki C, Yu Y, Little JB. Absence of a radiation-induced first-cycle G1-S arrest in p53+ human tumor cells synchronized by mitotic selection. Cancer Res. 1998; 58(9): 2036-2041.
- Nickavar B, Alinaghi A, Kamelinejad M. Evaluation of the Antioxidant Properties of Five Mentha Species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2008; 7(3): 203-209.
- Nieves-Neira W, Pommier Y. Apoptotic response to camptothecin and 7-hydroxystaurosporine (UCN-01) in the 8 human breast cancer cell lines of the NCI anticancer drug screen: Multifactorial relationships with topoisomerase I, protein kinase C, Bcl-2, p53, MDM-2 and caspase pathways. Int J Cancer. 1999; 82(3): 396-404.
- Öztürk B, Konyalıoğlu S, Ertaş H, Gökğünneç L. "14. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı" , Türkiye’de doğal yayılış gösteren bazı Mentha L. taxonlarının karşılaştırmalı uçucu yağ bileşenleri ve antioksidan etkileri, 2002, Eskişehir, 125-129.
- Rait AS, Pirollo KF, Rait V, Krygier JE, Xiang L, Chang EH. Inhibitory effects of the combination of HER-2 antisense oligonucleotide and chemotherapeutic agents used for the treatment of human breast cancer. Cancer Gene Ther. 2001; 8(10): 728-739.
- Rossi RE, Pericleous M, Mandair D, Whyand T, Caplin ME. The role of dietary factors in prevention and progression of breast cancer. Anticancer Res. 2014; 34(12): 6861-6875.
- Saurel CA, Patel TA, Perez EA. Changes to adjuvant systemic therapy in breast cancer: a decade in review. Clin Breast Cancer. 2010; 10(3): 196-208.
- Sayek İ. Temel Cerrahi (İkinci Baskı), Güneş Kitabevi, Ankara, 1996, 835-892.

- Schwarz VA, Hornung R, Fedier A, Fehr MK, Walt H, Haller U, Fink D. Photodynamic therapy of DNA mismatch repair-deficient and-proficient tumour cells. *Br J Cancer*. 2002; 86(7): 1130-1135.
- Soule HD, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan M. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1973; 51(5): 1409-1416.
- Soumaya KJ, Zied G, Nouha N, Mounira K, Kamel G, Marie Genvieve FD, Leila GC. Evaluation of in vitro antioxidant and apoptotic activities of *Cyperus rotundus*. *Asian Pac J Trop Med*. 2014; 7 (2): 105–112.
- Strycharz SM, Shetty K. Peroxidase activity and phenolic content in elite clonal lines of *Mentha pulegium* in response to polymeric dye R-478 and *Agrobacterium rhizogenes*. *Process Biochem*. 2002; 37(8): 805-812.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 0: 1-41.
- Sutherland RL, Watts CKW, Lee CSL, Musgrove EA. Breast cancer. In: Masters JRW, Palsson B. Human cell culture. Vol. II. Cancer cell lines. Part 2. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1999, 79–106.
- The National Cancer Institute, <http://www.cancer.gov/cancertopics>. Erişim tarihi: 13.11.2008.
- Thompson CB. Apoptosis. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers, 1999.
- Tucker AO, Naczi RF. *Mentha*: an overview of its classification and relationships. In: Lawrence BM (editör). *Mint: The Genus Mentha*. CRC Press, Boca Raton, London, New York, CRC Press, 2006: 3-35
- Watanabe N, Okochi E, Mochizuki M, Sugimura T, Ushijima T. The presence of single nucleotide instability in human breast cancer cell lines. *Cancer Res*. 2001; 61(21): 7739-7742.
- Yang CH, Horwitz SB. Taxol<sup>®</sup>: The First Microtubule Stabilizing Agent. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(8): 1733.

Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. *Cell*. 1995; 80(2): 285-291.

Zargari A. Medicinal Plants (in Persian), Tehran University Press, Tehran, 1990.

Zhu L, Chen L. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy. *Cell Mol Biol Lett*. 2019; 24: 40.

Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, Hildesheim A, Nomura AM, West DW, Wu-Williams AH, Kolonel LN, Horn-Ross PL, Rosenthal JF, Hyer MB. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst*. 1993; 85(22): 1819-1827.

# Mentha pulegium L. BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN MEME KANSERİ HÜCRE HATTI (MCF 7) ÜZERİNDEKİ APOPTOTİK VE ANTİPROLİFERATİF ETKİSİ

## ORJİNALLİK RAPORU

% <b>14</b>	% <b>11</b>	% <b>3</b>	% <b>10</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% <b>3</b>
2	www.freepatentsonline.com İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
3	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
4	eprints.uns.ac.id İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
5	www.bilimvetekno.com İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
6	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
7	dsc.duq.edu İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
8	www.memorial.com.tr İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mustafa Özkan UYSAL

Uyruğu : Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri

Medeni Durumu

Tel

E-mail

Yazışma Adresi

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1997
Lise	Ankara Alpaslan Lisesi	1993

## YABANCI DİL

İngilizce