



**T.C.
HİTİT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM İ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**CEVİZ (*Juglans regia* L.) SÜTÜNÜN ÇEŞİTLİ KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN ANTİMİKROBİYAL,
ANTIOKSİDAN VE PREBİYOTİK AKTİVİTE İLE BİRLİKTE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi
Merve GİDEMEN**

**Danışman
Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI**

ÇORUM-2021

Ceviz (*Juglans regia* L.) Sütünün Çeşitli Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkinliğinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Prebiyotik Aktivite ile Birlikte Değerlendirilmesi

Merve GİDEMEN

**Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

Yüksek Lisans Tezi

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI

ÇORUM - 2021

Merve GİDEMEN tarafından hazırlanan “Ceviz (*Juglans regia* L.) Sütünün Çeşitli Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkinliğinin Antimikrobiyal, Antioksidan Ve Prebiyotik Aktivite İle Birlikte Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 13/ 07/ 2021 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Emre AVCI

Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI

Dr. Öğr. Üyesi Ash KARA

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Yönetim Kurulu’nun tarih ve sayılı kararı ile Merve Gidemem’ in Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesi alması onaylanmıştır.

Prof. Dr. Muhammed Asif YOLDAŞ

Müdür

TEZ BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Ceviz (*Juglans regia* L.) Sütünün Çeşitli Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkinliğinin Antimikrobiyal, Antioksidan Ve Prebiyotik Aktivite İle Birlikte Değerlendirilmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI ‘ın sorumluluğunda tamamladığımı, analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak atıf yaparak belirttiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı beyan ederim.

Merve Gidemem

**CEVİZ (*Juglans regia* L.) SÜTÜNÜN ÇEŞİTLİ KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN ANTİMİKROBİYAL,
ANTİOKSİDAN VE PREBİYOTİK AKTİVİTE İLE BİRLİKTE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve GİDEMEN

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİMİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ÇORUM -2021

ÖZET

İnsan sağlığı açısından oldukça önemli olduğu bilinen ve sıklıkla tüketilen besin kaynaklarımızdan biri ceviz (*Juglans regia* L.)' dir. Günümüzde, insan beyninin sağlığının korunmasında ve öğrenmede etkili, kolesterol oksidasyonuna karşı etkin, kronik yüksek tansiyonun düzenlenmesi, damarlarda kasılma ve krampların azaltılması, karsinogeneze mekanizmasına karşı etkin, enfeksiyöz rahatsızlık etkenleri, atopik astım, immün sistem ve sinir sisteminde tedavide rol oynadığı düşünülen birçok fonksiyonel özelliği araştırılmaktadır. Çağımızın en sık görülen hastalıklarından biri olan kanser ile ilgili çok sayıda araştırma sürdürülmektedir. Kanser, hücrede fonksiyonel işlevleri denetleyen genlerde epigenetik değişiklikler veya mutasyonlar sonucu ortaya çıkan genetik bir hastalıktır. Bu çalışmada Çorum'un Oğuzlar ilçesinde yetiştirilen yerli ceviz (*Juglans regia* L.) kullanıldı. Cevizden elde edilen sütün farklı konsantrasyonlarının meme karsinoma (MCF-7), hepatoselüler karsinoma (HepG-2) ve sağlıklı fare fibroblastı (L929) hücre hatları üzerinde antitümoral ve proliferatif etkinliğinin araştırılması amaçlandı. Aynı zamanda çalışmamızda ceviz sütünün bazı biyolojik etkinliklerinin de ortaya konması hedeflendi. Çalışmamızda elde edilen verilere göre, ceviz (*Juglans regia* L.)

sütünün bazı konsantrasyonlarının 24 saatte L929 ve MCF-7 hücre hatlarında proliferatif etki gösterdiği, HepG-2 hücre hattında ise 500 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında proliferatif etki gösterirken, diğer konsantrasyonlarda sitotoksik etkinliğe sahip olduğu belirlendi. L929, MCF-7 ve HepG-2 hücre hatlarında 48 saat inkübasyon sonunda ise 500 µg/ml dışındaki tüm konsantrasyonlarda sitotoksik etkinlik tespit edildi. Biyolojik etkinlik çalışmalarında deneylerde kullanılan test mikroorganizmaları üzerinde inhibisyon etkinliği saptanmamıştır. Prebiyotik çalışmalarında ise *L. rhamnosus* ATCC 53103 ve *L. reuteri* DSMZ 17938 suşları üzerine proliferatif etki tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite tayininde ceviz (*Juglans regia* L.) sütünün antioksidan aktivitesi 8,89 mg/ml olarak belirlenirken, total antioksidan miktarı (TAS) 1,9 mmol/L olarak tespit edildi. Çalışmamızda ceviz sütünün farklı konsantrasyonlarının sitotoksik ve prebiyotik etkinliğe ve bir miktar antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Ceviz sütünün farklı konsantrasyonlarının bazı kanser hücrelerinin inhibe edilmesinde etkin olabileceği, ancak daha fazla araştırma yapılmasının gerekli olduğu, antioksidan ve prebiyotik etkinliği sayesinde ise vücut savunmasında destekleyici rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Juglans regia* L., sitotoksite, kanser, antimikrobiyal, antioksidan, prebiyotik aktivite

**EVALUATION OF CITOTOXIC ACTIVITY OF WALNUT (*Juglans regia* L.)
MILK ON VARIOUS CANCER CELLS WITH ANTIMICROBIAL,
ANTIOXIDANT AND PREBIOTIC ACTIVITY**

Merve GİDEMEN

HİTİT UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

ÇORUM -2021

ABSTRACT

Walnut (*Juglans regia* L.) is one of our frequently consumed food sources and is known to be very important for human health. Today, it's many functional properties thought to be play role in such cases as the protection of the health of the human brain and learning, cholesterol oxidation, the regulation of chronic high blood pressure, reduction of contractions and cramps in the vessels, the mechanism of carcinogenesis, infectious disease factors, atopic asthma, immune system and nervous system are being investigated. A myriad of studies are being carried out on cancer, one of the most common diseases of our age. Cancer is a genetic disease that occurs as a result of epigenetic changes or mutations in genes controlling functional functions in the cell. In this study, walnut (*Juglans regia* L.) grown in Oğuzlar district of Çorum was used. It was aimed to investigate the antitumoral and proliferative effects of different concentrations of milk obtained from walnuts on breast carcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (HepG-2) and healthy mouse fibroblast (L929) cell lines. Besides, it was aimed to reveal some biological activities of walnut milk in the study. According to the data obtained in our study, some concentrations of walnut (*Juglans regia* L.) milk have a proliferative effect in L929

and MCF-7 cell lines in 24 hours, while it has a proliferative effect at 500 and 250 µg/ml concentrations in HepG-2 cell lines, while it found to have cytotoxic activity at other concentrations. In L929, MCF-7 and HepG-2 cell lines, cytotoxic activity was detected at all concentrations except 500 µg/ml after 48 hours of incubation. In biological activity studies, no inhibition activity was detected on the test microorganisms used in the experiments. In prebiotic studies, a proliferative effect was detected on *L. rhamnosus* ATCC 53103 and *L. reuteri* DSMZ 17938 strains. In the antioxidant activity determination, the antioxidant activity of walnut (*Juglans regia* L.) milk was determined as 8.89 mg/ml, while the total antioxidant amount (TAS) was determined as 1.9 mmol/L. In our study, it was determined that different concentrations of walnut milk had cytotoxic and prebiotic activity and some antioxidant activity. It is thought that different concentrations of walnut milk may be effective in inhibiting some cancer cells, but more research is needed and it may play a supportive role in body defence thanks to its antioxidant and prebiotic activity.

Keywords: *Juglans regia*, cytotoxicity, cancer, antimicrobial, antioxidant, prebiotic activity

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve maddi manevi destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI ‘ a;

Biyokimya alanındaki çalışmalarında akademik deneyimlerini ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Emre AVCI’ a;

Samimiyeti, yardımseverliği, güler yüzlülüğü ile hücre kültürü çalışmalarında sonsuz desteklerini sağlayan benim için bir asistandan çok daha fazlasını ifade eden Arş. Gör. Tuğba UYSAL KILIÇ’ a;

Bende her zaman hatırı olacak olan Arş. Gör. Gamze ÇAĞATAY NAMALIR’ a;

Tez İzleme Kurulu’nda ve Tez Jürisi’nde bulunarak değerli önerilerini paylaşan ve vakitlerini ayıran kıymetli hocalarıma;

Her koşulda yanımda olduklarını sonsuz anlayışları, destekleri ve sevgileriyle bana hissettiren canım annem Meryem GİDEMEN, babam Kazım GİDEMEN, ablam Zekiye GİDEMEN, erkek kardeşim Kemal Alp GİDEMEN ve kız kardeşim Büşra Nur GİDEMEN OKUR ‘ a;

Sevgileriyle hep bana destek olan canım yeğenlerim Elizan Ela OKUR ve Poyraz Hüseyin OKUR’ a;

Laborotuvarda onlarla çalışmaktan büyük keyif aldığım yol arkadaşlarıma

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIII
RESİMLER DİZİNİ.....	XV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XVII
1.GİRİŞ.....	1
2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.)	3
2.2. Tarihçe	4
2.3. Arkeolojisi	5
2.4. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) Türleri	7
2.4.1. Yerli Ceviz Çeşitleri	7
2.4.2. Yabancı Ceviz Türleri	8
2.5. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) Temel Bileşenleri	13
2.6.Cevizin İnsan Sağlığı Açısından Önemi	16
2.7. Kanser	20
2.7.1. Kanser Tarihçesi	20
2.7.2. Kanser Epidemiyolojisi	22
2.7. 3. Kanser Hücresinin Fonksiyonel Özellikleri	23
2.7.4. Kanser Hücresinin Moleküler Mekanizması	25
2.7.5. Kanser Hücresinin Sınıflandırılması	31
2.7.6. Hepatoselüler Karsinom	36
2.7.7. Meme Karsinoma	37

2.8.Sitotoksosite	38
2.9.Biyolojik aktivite	40
2.9.1. Antimikrobiyal Aktivite	40
2.9.2. Prebiyotik Aktivite	47
2.9.3. <i>Lactobacillus</i> sp.	50
2.9.4. Antioksidan Aktivite	53
2.9.5. Antioksidan Tayin Etme Yöntemleri	59
3.1.MATERYAL	61
3.1.1.Araştırmanın yeri	61
3.1.2. Örneklerin temini	61
3.1.3.Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	61
3.1.4. Araştırmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanışı	62
3.2. METOT	63
3.2.1. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) Sütü Elde Etme Yöntemi	63
3.2.2.Hücre Kültürü	63
3.2.3. Antimikrobiyal aktivite testi	67
3.2.4. Antioksidan aktivite testleri	69
3.2.5. Prebiyotik aktivite	70
3.2.6. İstatiksel analiz	71
4.BULGULAR.....	72
4.1. Ceviz sütü elde etme verileri	72
4.2. Hücre kültürü verileri	72
4.3. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) sütünün hücre kültüründe canlılık üzerine etkileri	73
4.4. Sitotoksite verileri	77
4.5. Biyolojik etkinlik verileri	80

4.4.1. Antimikrobiyal aktivite sonuçları	80
4.5.2. Prebiyotik aktivite verileri	83
4.5.3. Antioksidan aktivite verileri	85
5. TARTIŞMA.....	86
6. SONUÇ VE ÖNERİ.....	93
7. KAYNAKÇA.....	95
B	99



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Cevizdeki yağ asitleri.....	14
Çizelge 2.2. Cevizdeki aminoasitler.....	14
Çizelge 2. 3. Epitelyal kökenli benign ve malign tümörlerin isimlendirilmesi....	34
Çizelge 2.4. Mezenşimal kökenli benign ve malign tümörlerin isimlendirilmesi	35
Çizelge 2. 5. Prebiyotik Gıda Bileşenleri.....	49
Çizelge 3. 1. MRS Broth besiyeri hazırlama.....	63
Çizelge 4. 1. TAS referans seviyeleri (Rel Assay Diagnostics kiti).....	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. <i>Juglans regia</i> L. taksonomik sınıflandırılması.....	4
Şekil 2. 2. 2018 ve 2019 yıllarında hastalıklarının görülme oranları.....	22
Şekil 2.3. Kanser hastalığının 2018 ve 2019 yıllarında görülme oranı.....	22
Şekil 2.4. Türkiye’de kanser çeşitlerinin cinsiyet dağılımı.....	23
Şekil 2.5. Kanserın temel özellikleri.....	24
Şekil 2.6. Kanserın temel özelliklerine eklenen 4 yeni fonksiyonel özellikler.....	25
Şekil 2.7. Normal hücrelerde ile kanser hücrelerde hücre bölünmesi.....	26
Şekil 2. 8. Karsinogenez oluşumu.....	31
Şekil 2.9. Kanser hücrelerinin şematik olarak sınıflandırılması.....	33
Şekil 2.10. Kanser kısaltmaları lokalizasyonu.....	34
Şekil 2.11. [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] MTT’ in formazana dönüşümü.....	39
Şekil 2.12. Dirençli ve duyarlı mikroorganizmalarda zon oluşumu.....	40
Şekil 2. 13. Bağırsak mikrobiyomunda <i>Escheria coli</i>	44
Şekil 2.14. Probiyotiklerin etki mekanizması.....	48
Şekil 2.15. Oksidatif denge.....	55
Şekil 2.16. Antioksidanların sınıflandırılması.....	57
Şekil 2.17. Hücrede antioksidan mekanizmaları.....	58
Şekil 2.18. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalının indirgenmesi.....	60
Şekil 3.1. Antimikrobiyal testi petri ekim şablonu.....	68
Şekil 3.2. DPPH’ın renk değişim reaksiyonu.....	69
Şekil 4. 1. <i>Juglans regia</i> L. sütünün 24 saat sonunda L929 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.....	74
Şekil 4.2. <i>Juglans regia</i> L. sütünün 48 saat sonunda L929 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.....	74

Şekil 4.3. Ceviz sütünün 24 saat sonunda HepG-2 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.....	75
Şekil 4.4. <i>Juglans regia</i> L. sütünün 48 saat sonunda HepG-2 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.....	76
Şekil 4.5. <i>Juglans regia</i> L. sütünün 24 saat sonunda MCF-7 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.....	76
Şekil 4.6. <i>Juglans regia</i> L. sütünün 48 saat sonunda MCF-7 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.....	77
Şekil 4.7. L929 hücre hattının <i>Juglans regia</i> L.IC50 değer grafiği.....	77
Şekil 4.8. L929 hücre hattının <i>Juglans regia</i> L.EC50 değer grafiği.....	78
Şekil 4.9. MCF-7 hücre hattının <i>Juglans regia</i> L.IC50 değer grafiği.....	79
Şekil 4.10. MCF-7 hücre hattının <i>Juglans regia</i> L.EC50 değer grafiği.....	79
Şekil 4.11. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) sütünün <i>L. rhamnusus</i> ATCC 53103 suşu üzerinde prebiyotik etkisi.....	84
Şekil 4. 12. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) sütünün <i>L. reuteri</i> DSMZ 17938 suşu üzerinde prebiyotik etkisi.....	84
Şekil 4.13. DPPH standart eğri grafiği.....	85

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 2. 1. <i>Juglans regia</i> L. dış kabuk ve içinin görüntüsü.....	3
Resim 2. 2. Anadolu'daki Çorum ilinin Oğuzlar ilçesindeki 200 yıllık ceviz ağacı	6
Resim 2. 3. Çorum ilinin Oğuzlar ilçesinin yerli cevizi	6
Resim 2. 4. Yerli ve yabancı ceviz türlerinin dış görünüşleri ve boyutları.....	12
Resim 2. 5. Ceviz içi ve beynin görüntüsü	19
Resim 2. 6. Hipokrat'ın yengeç ve kanser hücresinin görünüm benzetmesi.....	21
Resim 2. 7. İlk yazılı kanser belgesi.....	21
Resim 2. 8. a) germ-line mutasyon, b) somatik hücre mutasyonu.....	28
Resim 2.9. Normal hücre ile kanserli hücre arasındaki farklar.....	29
Resim 2.10. Benign ve Malign tümör hücrelerinin görüntüleri.....	32
Resim 2.11. HepG-2 hücre hattının düşük ve yüksek yoğunluktaki görüntüleri	37
Resim 2.12. MCF-7 hücre hattının düşük ve yüksek yoğunluktaki görüntüleri	38
Resim 2.13. <i>Bacillus subtilis</i> görüntüsü.....	41
Resim 2.14. <i>Staphylococcus aureus</i> ' un petri ve mikroskoptaki görüntüsü.....	42
Resim 2.15. <i>Enterococcus faecalis</i> ' in petri ve mikroskoptaki görüntüsü.....	43
Resim 2.16. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> görüntüsü.....	45
Resim 2.17. <i>Candida albicans</i> görüntüsü.....	46
Resim 2.18. <i>Lactobacillus</i> elektron mikroskop görüntüsü.....	51
Resim 2.19. <i>L.rhamnusus</i> SEM görüntüsü.....	52
Resim 3.1. BIO-RAD TC 20 cihazında Neubauer lamı ile canlı ve ölü hücrelerin belirlenmesi.....	64
Resim 3.2. A) Hücreli complete mediumun platelere yüklenmiş hali(renk: açık pembe) B) Ceviz sütü konsantrasyonlarının sırasıyla yüklenmiş görüntüsü(renk: bulanık pembe) C) Ceviz sütü üzerine MTT solüsyonun yüklemiş hali (renk: sarı- pembe) D) MTT solüsyonun 37°C' de 4 saat inkübasyon sonundaki hali (renk: koyu	

pembe) E) İnkübasyon sonunda DMSO eklendikten sonraki hali (renk: koyu mor)	66
Resim 3.3. MTT için kullanılan blue tetrazolium.....	65
Resim 3.4. Petrilerin inkübasyon öncesi görüntüsü.....	68
Resim 3.5. Total antioksidan miktarını belirlemek için kullanılan (TAS) Rel-Assay Diagnostics kiti.....	70
Resim 3.6. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.)sütü ve <i>Lactobacillus</i> suşlarının ekim görüntüsü.....	71
Resim 4.1. Elde edilen ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) sütünün görünümü.....	72
Resim 4.2. L929 hücre hattının inverter mikroskop görüntüsü(100X).....	72
Resim 4.3. HepG-2 hücre hattının inverter mikroskop görüntüsü(100X).....	73
Resim 4.4. MCF-7 hücre hattının inverter mikroskop görüntüsü(100X)	73
Resim 4.5. <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ışıık mikroskobu görüntüsü (100X).....	81
Resim 4.6.. Anti-mikrobiyal testinin inkübasyon sonundaki görüntüleri.....	82
Resim 4.7. <i>Lactobacillus</i> suşlarının 1.aktiflik görüntüleri (100X).....	83
Resim 4.8. <i>Lactobacillus</i> suşlarının 2.aktiflik görüntüleri (100X).....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µm	Mikromolar
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
pH	Asit-baz derecesi

Kisaltmalar

ALT	Alanin Aminotransferaz
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>C.albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CAT	Katalaz
DMEM	Dulbecco' s Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
<i>E. coli</i>	<i>Escherica coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
FBS	Fetal Bovine Serum
GGT	Gama Glutamil Transferaz

GIS	Gastrointestinal sistem
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon S- Transferaz
HEPG-2	Hepatoselüler karsinoma hücre hattı
IPW	Uluslararası Probiyotik Çalıştayı
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonu
<i>J.regia</i>	<i>Juglans regia</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>L. rhamnasus</i>	<i>Lactobacillus rhamnasus</i>
L929	Sağlıklı fare fibroblastı hücre hattı
LAB	Laktik Asit Bakterileri
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MCF-7	Meme karsinoma hücre hattı
MHA	Müller Hilton Agar
MIC	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MRS	Man Rogosa and Sharpe
MTT	Mossman Tetrazolyum Tuzları
MUFA	Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NB	Nutrient Broth

NO₂	Nitrik oksit
O.D.	Optik Dansite
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBS	Fosfat Buffer Saline
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
RPM	Devir sayısı
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SOD	Süperoksit Dismutaz
Spp.	Species Plural
TAS	Total Antioksidan Miktarı
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

1.GİRİŞ

Çorum'un Oğuzlar ilçesinde yetiştirilen *Juglans regia* L. (ceviz) ülkemizin yerli çeşitlerinden birisidir. Yerli ceviz yetiştirildiğinde çevreye uyum önemlidir. Oğuzlar cevizi, 1200 metre yükseklikteki yaylalarında ve ilçe merkezinde çok daha kolay yetiştirilmektedir. Kirlilik oranı az olan, suyu bünyesinde tutamayan, killi, taşlı ve verimlilik seviyesi orta düzeyde olan topraklarda adaptasyonu çok yüksektir. Güneş ışığı fazlaca olan açık bölgelerde yetiştirilmektedir.

Pomoloji bilimine göre taksonomik olarak sert kabuklu meyve çeşitleri arasında bulunan ceviz (*Juglans regia* L.) botanik olarak *Dicotyledoneae* sınıfı *Juglandales* takımı, *Juglandaceae* familyası ve *Juglans* cinsi içerisinde yer almaktadır. Ceviz gümüş içeren tek meyve çeşididir. İnsan vücudunda gümüş iyonuna ihtiyaç duyan tek organımız beyindir. Gümüş iyonu, insan beyin fonksiyonlarının korunmasında ve öğrenme mekanizması üzerinde olumlu etki göstermektedir (Şen S.M., 1986).

Ceviz (*Juglans regia* L.) temel bileşenleri içerisinde yer alan fitosterol, polifenoller ve vitamin E gibi birçok antioksidanlar cevizin fonksiyonel besin grubu içerisinde yer almasına olanak sağlamaktadır. Bu bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerine bakıldığında kardiyovasküler hastalıklar, belirli kanser hücreleri ve yaşlılıkla birlikte görülen olumsuz nedenlere karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir. Vitamin E'nin kötü kolesterol olarak adlandırılan düşük yoğunluklu kolesterol (LDL) seviyesini azaltıldığı bildirilmiştir. Bu sayede atardamarlarda tıkanmayı önleyerek kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaktadır (Rietjens I.M. ve ark., 2002).

Kuruyemişler içerisinde yer alan badem, fındık, yer fıstığı tekli doymamış yağ asitlerini (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA) daha fazla miktarda içermektedir. Ceviz ise çoklu doymamış yağ asitlerince (PUFA) daha zengindir. Çoklu doymamış

yağ asitlerinin kardiyovasküler rahatsızlıkları engellediği; anti-inflamatuvar, anti-hipertensif olduğu, özellikle kandaki yağ oranını azaltıcı, tromboz ve damar tıkanıklığını engellediği bildirilmektedir (Carrero J.J. ve ark., 2004). Cevizde çok fazla miktarda bulunan L-arginin amino asiti kronik yüksek tansiyon hastalığı açısından büyük bir öneme sahiptir. Damar tıkanıklığı üzerindeki olumlu etkisine bakıldığında L-arginin vücutta nitrikoksit (NO_2) dönüşerek, iç duvarlardaki sertliği azaltır. Bu sayede damarların rahatlamasını sağlar ve vasküler sistem rahatsızlıklarının riskini de azaltmaktadır (Anonim, 2005d).

İnsan sağlığı için en önemli hususlardan birisi de kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermesidir.

Yapılan birçok çalışmada ceviz yaprağı, yeşil kabuğu, ceviz içinin alkolllü ve saf su çözültüleri ekstraktlarını veya ceviz yağını birçok kanserli hücre üzerinde anti-tümoral etkinliği araştırılmıştır (Arvind S.N. ve ark., 2011; Dangel F. ve ark., 2021; Venugopal K. ve ark., 2017).

Son yıllarda çok dikkat çeken probiyotik mikroorganizmaları desteklemek için prebiyotikler kullanılmaktadır. Sınırlı sayıdaki literatürde ceviz sütünün belirli probiyotik suşlar üzerinde proliferatif etkinliğe sahip olduğu bildirilmektedir (Öztürkoğlu-Budak S. ve ark. , 2016).

Bu tez çalışmasında diğer sitotoksikite çalışmalarından farklı olarak Çorum Oğuzlar cevizinden elde edilen, ceviz (*Juglans regia* L.) sütü kullanılmıştır. Ceviz sütünün meme karsinoma (MCF-7) ve hepatoselüler karsinoma (HepG-2) hücre hatları üzerinde MTT yöntemi ile sitotoksik etkinliğinin belirlenmesi, sağlıklı fare fibroblastı (L929) hücre hattı üzerinde proliferatif etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca çalışmamızda, ceviz (*Juglans regia* L.) sütünün DPPH ve TAS yöntemi ile antioksidan aktivitesi ve bazı patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ve *L.rhamnosus* ATCC 53103 ve *L.reuteri* DSMZ 17938 üzerindeki ceviz sütünün prebiyotik aktivitesi birlikte değerlendirildi.

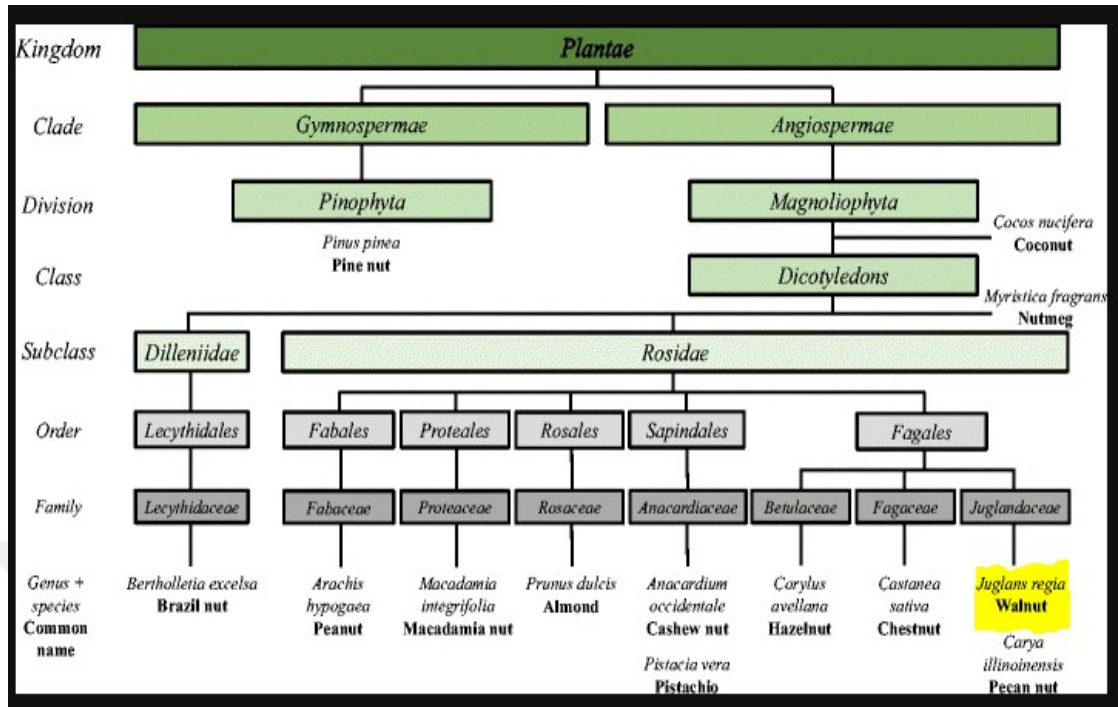
2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Ceviz (*Juglans regia* L.)

Ceviz (*Juglans regia* L.), botanikte *Dicotyledoneae* sınıfı *Juglandales* takımı, *Juglandaceae* familyası ve *Juglans* cinsinde yer alır. *Juglans* cinsi içerisinde günümüzde özellikleri belirlenen 18 türden en önemlisi ve üstün meyve kalitesi ile ceviz denildiğinde ilk akla gelen, “Anadolu cevizi”, “İran cevizi” ve “İngiliz cevizi” olarak da adlandırılan *J. regia*’dır (Şen, 1986). *Juglans regia* L. boyutu, lezzeti, dış kabuğunun ince yapıda olması ve kolay kırılması sebebiyle en çok yetiştirilen ve ticari açıdan en önemli ceviz çeşididir (Rosengarten, 1984).



Resim 2. 1. *Juglans regia* L. dış kabuk ve içinin görüntüsü (Anonim, 2019).



Şekil 2. 1. *Juglans regia* taksonomik sınıflandırılması (Bernard A. ve ark., 2017).

2.2. Tarihçe

Ceviz (*Juglans regia* L.), Orta Asya sıradağlarının doğal bitki örtüsüdür. Ceviz buradan Sincan'a (Doğu Türkistan), Kazakistan'ın bir kısmına, Özbekistan'a, Kırgızistan'ın Güneyine, Nepal Dağlarına, Tibet'e, Hindistan'ın Kuzeyine ve Pakistan üzerinden Afganistan'a, Tacikistan'a, Türkmenistan'a, İran'a, Irak'a, Azerbaycan'ın bir kısmına, Ermenistan'a, Gürcistan'a, Türkiye'nin Doğusuna geçmiş ve zamanla Türkiye'nin tamamına yayılmıştır (Bayazit S. ve ark, 2016).

Ceviz (*Juglans regia* L.), Bulgaristan, eski Yugoslavya, Romanya ve Yunanistan'ın da doğal bitki örtüsü içerisinde de bulunmaktadır. Ceviz (*Juglans regia* L.) Yunanistan'dan Romanya'ya geçişinde *Jovis Glanas* (Jüpiter'in Meyvesi) olarak adlandırılmıştır. Günümüzde cevizin akademik ismi olarak bilinen *Juglans* kelimesi, *Jovis Glans* 'dan ortaya çıkmıştır. İtalya'dan Fransa'ya ve İspanya'ya transfer edilen ceviz, oradan Portekiz'e ve Almanya'nın güneyine ulaşmıştır. 16.Yüzyılın ortalarında İngiltere'ye götürülen ceviz, 17.Yüzyılın sonlarında ABD'ye geçmiştir (Budak Y., 2010).

İlk göçmenler, cevizle İngiliz cevizi (English Walnut) adını, Amerika'nın siyah cevizden ayırt etmek amacıyla isimlendirilmiştir. Sonrasında İran cevizi (Persian Walnut) adını meyvecilerin büyük bir kısmı ve günümüz batılı yazarları genellikle kullanmayı tercih etmişlerdir. İsmi İngiliz veya İran cevizi olarak kullanılsa da ülkemizin yerli meyvesi olan ceviz yani Anadolu cevizi dünyanın birçok yerinde ekonomik olarak yetiştirilmekte ve sert kabuklu meyveler arasında büyük bir öneme sahiptir.

2.3. Arkeolojisi

Ceviz (*Juglans regia* L.) kelimesi günümüze Arapça'dan “ceviz” kelimesinden türetilerek geçmiştir. Roma İmparatorluğu döneminde gergin ve psikolojik hastalıkları olan kişiler ceviz yedirilerek tedavi edilmektedir. Ceviz meyvesinin Romalılar döneminde sinir hastası kişilere yedirilmesinin bir diğer nedeni de cevizin beynin her iki yarım lobuna benzer bir şekilde beyin üzerindeki “sulcus” denilen kıvrımlarına benzer şekle sahip olması nedeniyledir.

Cevizin cins ismi olan *juglans*, Jupiter'in meyvesi olmasından gelir. Pliny, cevizin ilk kez Pers İmparatorluğu vasıtasıyla Yunan'a geçtiğini bildirir. İngilizce ceviz anlamına gelen “walnut” kelimesi “gaul nut” kelimesinden evrildiği düşünülmektedir. Eski İngilizcede *wealhnutu* (*wealh* “yabani” + *hnutu* “fındık” dan) üretilmiş bir kelimedir (Anonim, 2020g).



Resim 2. 2. Anadolu'daki Çorum ilinin Oğuzlar ilçesindeki 200 yıllık ceviz ağacı (Anonim, 2020a) .



Resim 2. 3. Çorum ilinin Oğuzlar ilçesinin yerli cevizi (Anonim, 2020a).

2.4. Ceviz (*Juglans regia* L.) Türleri

2.4.1. Yerli Ceviz Çeşitleri

- **Yalova-1:** Akdeniz ve Ege bölgeleri dışındaki tüm bölgelerde yetiştirilir. Tüketimi yaş ve kuru formlarda önerilmektedir. Eylül ayının sonlarında ürün toplamı yapılır. Dölleyicileri Yalova-2 ve Yalova-4 türleridir.
- **Yalova -2:** Eylül sonunda hasatı yapılan bu ceviz taze tüketimi önerilmektedir. Ancak bu tür günümüzde yetiştirilmemektedir (Anonim, 2011).
- **Yalova-3:** Zararlı etkenlere veya hastalık oluşturacak tüm etmenlere karşı dayanıklı bir ceviz türüdür. Eylül ayı sonunda hasatı yapılan bu tür kuru olarak kullanımı tavsiye edilmektedir. Dölleyicileri ise Yalova-1, Tokat-1 ve Bilecik yerli çeşitleridir.
- **Yalova-4:** Kuru formda kullanıma elverişli olan bu yerli ceviz eylül ayı sonunda hasat yapılmaktadır. Tozlayıcıları Yalova-1 ve Kaplan-86 türleridir (Ağaoğlu Y.S. ve ark., 2012)
- **Şebin:** Tomurcukları geç patlayan ceviz türü eylül ayında ürün toplamı yapılmaktadır. Şebin cevizi kuru iç olarak kullanımı tavsiye edilmektedir. Diğer ceviz türlerine göre daha verimlidir. Dölleyicileri Bilecik, Yalova-3 ve Kr-2 (Yavuz-1) türleridir.

Şebin ceviz türünün avantajları

- İnce kabuklu olması
- Erken meyveye yatması
- Ceviz için kabuktan kolay ayrılması ve bütün çıkması
- Salkımında minimum 2-4 tane meyve bulundurmasıdır.

- **Bilecik:** Tomurcukları geç patlayan bu tür eylül ayının sonlarında hasatı yapılmaktadır. Kuru ceviz içi olarak tüketilen bu ceviz lezzetlidir. Genel olarak Şebin cevizinin tozlayıcısı olarak kullanılmaktadır. Çeşidin dölleyicileri Bilecik ve Yalova-3 türleridir.
- **KR-1 (Gültekin-1):** Eylül ortalarında ürün toplamı yapılan bu tür ceviz yetişen tüm bölgelere elverişlidir. Soğukların geç geldiği iklim şartlarında yetiştirilmesi önerilmektedir. Kabuktan kolay ayrılan içi dolgun ve beyaz renkli olan bu ceviz kuru olarak tüketilmektedir. Dölleyicileri Şebin ve Bilecik çeşitleridir (Yurtkulu V., 2020).
- **KR-2 (Yavuz-1):** Hasatı eylül ayı sonlarında yapılan bu tür soğukların daha geç geldiği iklimlerde yetiştirilmesi tavsiye edilir. Kuru olarak tüketilmesi önerilen bu türün dölleyicileri Yalova-3, Şebin ve Bilecik türleridir.
- **Kaplan-86:** Özellikle kıyı bölgelerinde yetiştirilmesi önerilen bu tür tüm ceviz yetişen bölgelerde de üretim yapılabilir. Meyvesi normal cevizden daha büyüktür. Kuru olarak tüketilmektedir. Ağustos ortasında hasatı yapılmaya başlayan bu çeşidin dölleyicileri Yalova-1, Yalova-3 ve Şebin türleridir (Anonim, 2016a).
- **Şen-2:** Kıyı bölgeler hariç tüm bölgelerde yetiştirilmesi önerilmektedir. Soğukların daha geç iklim şartları tavsiye edilmektedir. Eylül ayı sonlarında ürün toplamı yapılan bu çeşidin dölleyicileri Yalova-1, Yalova-2 ve Şebin türleridir.
- **Tokat-1:** Ceviz yetişen tüm bölgelerde üretilmesi önerilmektedir. Kuru olarak tüketilen bu ceviz kabuktan kolay ayrılan, içi dolgun ve beyaz renkli olan yerli ceviz çeşididir. Eylül sonlarında hasatı yapılmaktadır. Tozlayıcıları Yalova-1, Yalova-3 ve Şebin yerli ceviz türleridir (Anonim, 2011).

2.4.2. Yabancı Ceviz Türleri

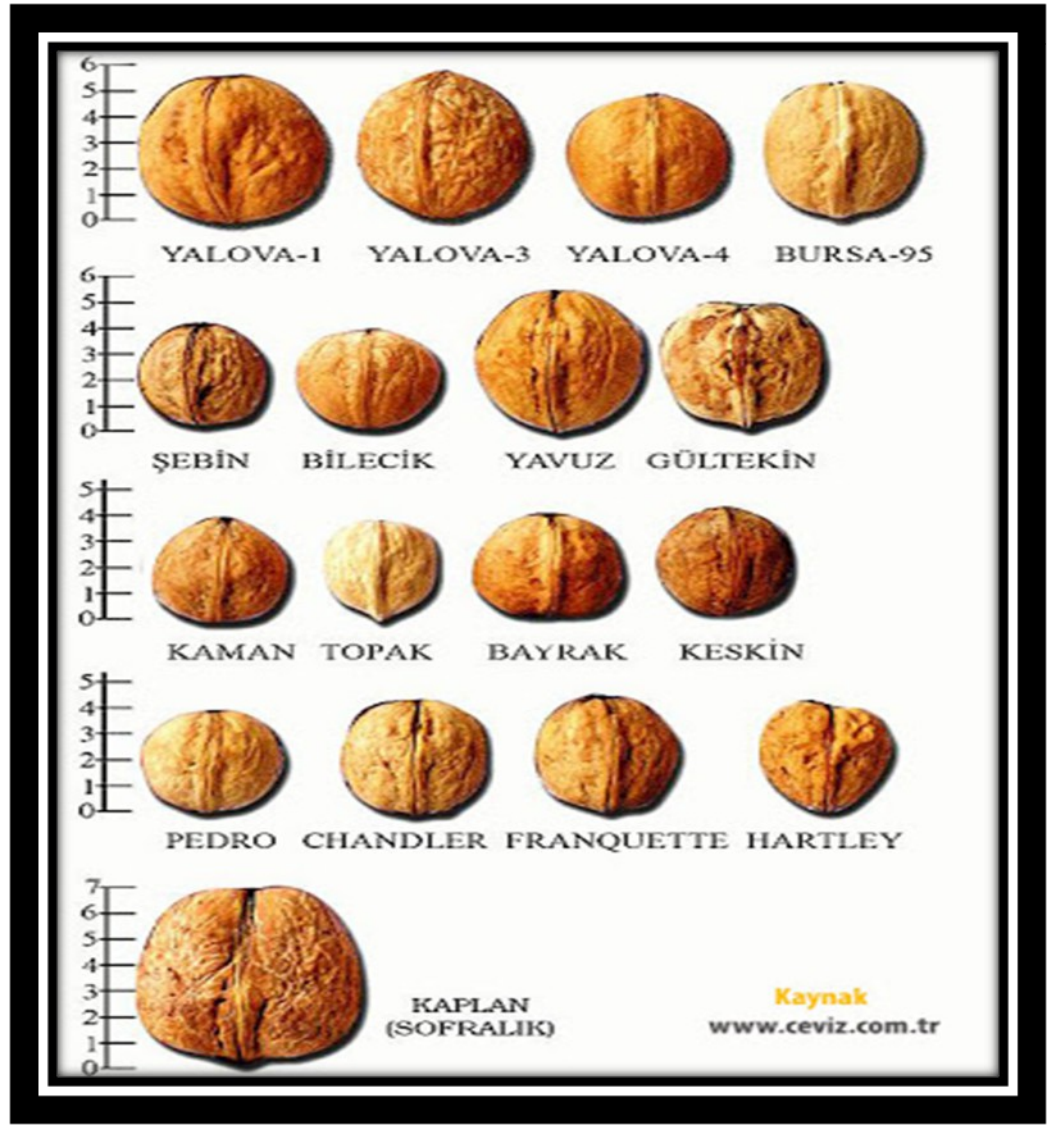
- **Payne:** Kaliforniya ceviz yetiştirilicisinde büyük öneme sahip bu tür ürün verimliliğinden dolayı günümüzde de tercih edilmektedir. Meyve iriliği

küçük-orta arasındadır. Eylül ayının ortasında hasatı yapılmaktadır. Meyve şekli ovaldir (Anonim, 2021a).

- **Hartley:** Yan dallarda meyve verme oranı oldukça düşüktür. Bu türün en önemli özelliği içinin dolgun ve renginin çok açık renkte olmasıdır. Meyvesi kalp şeklindedir. Hasat zamanı mevsim ortalarında. Dölleyecisi Franquette türüdür (Tosun İ. ve Akçay E.M., 2005).
- **Franquette:** Eski bir Fransız çeşidi olan Franquette Kaliforniya' da çok yaygın olarak yetiştirilmiş bir çeşittir. Diğer yabancı türlere göre yan dallarında daha meyve vermesinden dolayı çok tercih edilmemeye başlanmıştır. İlkbaharın soğuklarında ve yağmurların sık olduğu bölgelerde yetiştirilmesi önerilmektedir. Tozlayıcıları Chandler ve Hartley türleridir (Anonim, 2011).
- **Fernor:** Franguetta X Lara melezidir. Geç çiçeklenen Fransa orijinli bir çeşittir. Kesinlikle ilkbahar Geç donlarının problem olduğu ekolojilere tavsiye edilmelidir. Fernette ile tozlanır. Verimli bir çeşittir.
- **Fernette:** Franguetta X Lara melezidir. Fransız orijinli verimli bir çeşittir. Geç çiçeklenir. Fernor ile tozlanır. Karasal iklimin hakim olduğu ekolojilere tavsiye edilir (Anonim, 2020b).
- **Serr:** Ekolojik şartlara ve sulamaya bağlı olarak ürün verimi düşük-yüksek oranlarda değişim gösterir. %30-50 arasında yan dallarında meyve veren bu tür hasat zamanı erken-orta periyottadır.
- **Ashley:** Verimli çeşitlerden birisi olan Ashley 1960 yıllarından beri yetiştirilmektedir. İç kurdu ve bakteriyel yanıklığa duyarlıdır. Bu türün iç ceviz özelliği dahil birçok özelliği Payne ceviz türüne benzerdir (Anonim, 2021b).
- **Sunland:** Çok verimli çeşit türü olan Sunland yan dallarında meyve verme oranı % 80-90'dır. İç kurdu hastalığına duyarlıdır.

- **Trinta:** Yan dallarında meyve verme oranı Sunland türü ile aynıdır. Verimli bir çeşittir. İri meyvelere sahip olmasına rağmen iç ceviz rengi çok iyi değildir.
- **Chico:** Bakteriyel yanıklığa ve iç kurduna duyarlı bu tür oldukça verimli bir çeşittir. Yan dallarında meyve verme oranı %90-100 arasındadır (Tosun İ. ve Akçay E.M., 2005).
- **Vina:** İç rengi mükemmel olan bu çeşidin yan dallarında meyve verme oranı %80-90 arasındadır. Türün ürün toplama zamanı erken-orta periyottadır.
- **Tehama:** İri meyvelere sahip olan bu tür yan dallarında meyve verme oranı %70-80 arasındadır. İyi bir ceviz rengine sahip olan bu çeşit hasat zamanı geciktiğinde zarar görebilir. Hasat zamanı sezon ortasıdır. Yanak kısımlarının birbirinden ayrılması sonucunda iç ceviz böceklerinden zara görmektedir (Anonim, 2011 ve Anonim, 2021b).
- **Amigo:** Chico türüne benzeyen bir tür olarak belirtilen Amigo iri meyveli, iç ceviz rengi açık olan yabancı ceviz çeşididir. İç ceviz kurduna dayanıklı olmadığından kullanımı elverişli değildir.
- **Tulera:** Orta mevsimde ürün toplamı yapılan bu türün yan dallarında meyve verme oranı %72'dir.
- **Pedro:** Sıcak bölgelerde yetişen meyve kaitesi oldukça düşük olan bu türün yan dallarında meyve verme oranı %65'dir. Conwaymayette x Payne melezidir. Erken çiçeklenen çeşitler için tozlayıcı bir çeşit olarak kullanılır. Payne'den 15 gün sonra yapraklanır. Geç çiçeklenir (Tosun İ. ve Akçay E.M., 2005).
- **Howard:** Meyvesi dört köşeli, yuvarlak, kabuk yapışması olan bu türün yan dallarda meyve verme oranı %80-90 arasındadır. Hasat zamanı ise Hartleyden hemen öncedir. Verim ve meyve iriliğini stabil ve sağlıklı tutabilmek için iyi bir budama yapılmaktadır (Anonim, 2011).

- **Chandler:** Ceviz yetiştiriciliği için uygun olan bu tür yan dallarında meyve verme oranı %80-90'dır. Kaliforniya'da ceviz yetiştiriciliği alanında geleceği parlak bir türdür. Amerikan cevizi türlerindendir. Chandler ceviz fidanı, geç yapraklandığı için meyveleri bakteriyel yanıklardan etkilenmez. Chanler ceviz fidanının tozlayıcıları; Franquette ve Fernettedir (Anonim, 2020b ve Anonim, 2021b).
- **Midland:** Erken çiçeklenen çeşitler için tozlayıcı bir çeşit olarak kullanılır. Çok verimli bir çeşittir. Yan tomurcuklarda meyve verme oranı %75'dir. Geç çiçeklenen bir çeşittir. Sıcak bölgelerde meyve kalitesi düşüktür. Ağacı küçük olup gelişme gücünü koruyabilmek için ağır bir budamaya gereksinim duyar (Anonim, 2020b).
- **Cisco:** Meyveleri küçük olan bu ceviz çeşidinin yan dallarında meyve verme oranı %77'dir.
- **Rego:** Portekiz çeşitlerinden biri ola bu türün yan dallarında meyve verme oranı % 80-90'dır. İç renginin kalitesi ortadır (Anonim, 2021b ve Tosun İ. ve Akçay E.M., 2005).



Verimli ve kaliteli ceviz çeşit seçiminde göz önünde bulundurulması gereken en önemli özellikler; tozlayıcılarının biyolojileri, yapraklanma zamanları, vejetasyon süreleri, özellikle soğuğa ve kurağa karşı dayanıklı olması, ağaç tacının düzgün

Resim 2. 4. Yerli ve yabancı ceviz türlerinin dış görünüşleri ve boyutları

(Anonim, 2006).

gelişmesi, üstün verimli ve kaliteli meyveler oluşturmaları, meyvelerinin ince kabuklu ve iç kısmının kabuktan kolay ayrılması, meyve ağırlığının en az 10 gram, iç randımının ise % 50'nin üzerinde olması, her yıl meyve vermesi, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı olmasıdır (Anonim, 2020b).

2.5. Ceviz (*Juglans regia* L.) Temel Bileşenleri

Ceviz (*Juglans regia* L.), temel besin öğeleri yönünden incelendiğinde: %13.6-22.3 oranında protein, %56.4-70.6 oranında yağ ve %2 civarında kül içerdiği

bildirilmektedir (Şahin İ. ve Akbaş H., 2001). Biyolojik kalitesi yüksek (lisin/arjinin oranı düşük) ve kolay hazım edilebilen protein içermesi sebebiyle vejeteryan beslenmede önemli bir yer sağlamıştır. Vejeteryan beslenmede, baklagillerle birlikte ceviz kullanıldığında ihtiyaç duyulan proteinlerin büyük bir kısmının karşılandığı bildirilmektedir (Serrano A. ve ark., 2005; Reiter R.J. ve ark., 2005; Anonim, 2005a). Cevizi işlevsel yapan en önemli öğelerinden biri içerisinde bulunduğu yağıdır. Özellikle yağın, yüzdesel olarak çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olması beslenmedeki kıymetini daha da arttırmaktadır. Ceviz yağının %72 çoklu doymamış yağ asidi (% 59 linoleik [n-6], %13 α -linolenik [n-3]), %18 tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve %10 doymuş yağ asidi içerdiği bilinmektedir (Lavedrine F. ve ark., 1999).

Ceviz içinin temel içeriklerinde yağda çözünen vitaminlerden A ve E vitaminleri, suda çözünenlerden C, B1, B2, folik asit, pantotenik asit ve niasin, minerallerden; demir, çinko, bakır, magnezyum ve fosfor bulunmaktadır. Cevizin iyi bir manganez ve bakır kaynağı olduğu; bu iki mineralin antioksidan korumasındaki önemli enzimlerde temel mineraller olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Anonim, 2005a; Anonim, 2005b). Bu niteliğine ilaveten lif bileşeni sayesinde insan sindirim sistemine fayda sağlamaktadır (Anonim, 2005c; Serrano ve ark., 2005). Aşağıdaki listede cevizin bilinen 60 bileşeni sunulmuştur (USDA Nutrient Database, 1987).

A. Su (total ağırlığının %4'üdür.)

B. Makro besin öğeleri (total ağırlığının %94'üdür.)

1. Yağ (LNA ve LA gibi esansiyel yağ asitlerini de içeren altı değişik yağ asidinin bileşimidir.)

Çizelge 1.1. Cevizdeki yağ asitleri (USDA Nutrient Database, 1987).

Yağ Asidi	Toplam Yağ asidinin yüzde dağılımı
Doymuş yağ asitleri, total	% 8.67
Palmitik asit	% 6.52
Stearik asit	% 2.15
Tekli Doymamış Yağ Asidi, total	% 20.28
Gadoleik asit	% 0.12
Oleik asit	% 20.16
Çoklu Doymamış Yağ Asidi(PUFA), total	% 71.05
Linoleik asit	% 62.99
Linolenik asit	% 8.05

2. Protein

Ceviz protein açısından bakıldığında içerisinde 18 aminoasitten meydana gelmektedir.

Çizelge 2.2. Cevizdeki aminoasitler (USDA Nutrient Database, 1987).

Amino Asitler	Cevizin 100 gramındaki miktar(mg)
İsolösin	566
Lösin	922
Lizin	388
Metionin	280
Sistin	345
Fenilalanin	628
Tirozin	439
Treonin	488
Tritofan	139
Valin	723
Arjinin	2103
Histidin	359

Çizelge 2.2.'in devamı

Alanin	609
Aspartik asit	1475
Glutamik asit	2809
Glisin	755
Prolin	553
Serin	782
Total Esansiyel Amino Asitler	6676
Total Esansiyel Olmayan Amino Asitler	7767

Total Amino Asitler	14443
---------------------	-------

3. Karbohidrat

4. Diyetle alınan lifler

C. Mikro besin öğeleri-Mineraller (Toplam ağırlığın %1'i kadardır.)

- ❖ Kalsiyum
- ❖ Demir
- ❖ Magnezyum
- ❖ Fosfor
- ❖ Potasyum
- ❖ Sodyum
- ❖ Çinko
- ❖ Bakır
- ❖ Manganez
- ❖ Selenyum

D. Mikro besin öğeleri-Vitaminler (total ağırlığın %0.3'üdür.)

- ❖ Vitamin C
- ❖ Tiamin
- ❖ Riboflavin
- ❖ Niasin
- ❖ Pantotenik Asid
- ❖ Vitamin B6
- ❖ Folik Asit
- ❖ Vitamin A
- ❖ Vitamin E (alfa-tokoferol)
- ❖ Vitamin E (delta-tokoferol)
- ❖ Vitamin E (gamma-tokoferol)
- ❖ Vitamin K

E. Bitki Sterolleri (Total ağırlığın %0.6'ıdır.)

- ❖ Stigmasterol
- ❖ Campesterol
- ❖ Beta-sitosterol

F. Diğer Maddeler (Total ağırlığın %0.1'idir.)

- ❖ Melatonin
- ❖ Beta-karoten
- ❖ Lutein
- ❖ Zeaksantin
- ❖ Ellajik asit
- ❖ Gallik asit

2.6.Cevizin İnsan Sağlığı Açısından Önemi

Cevizin temel bileşenleri içerisinde yer alan fitosterol, polifenoller ve vitamin E gibi birçok antioksidanlar cevizin fonksiyonel besin grubu içerisinde yer almasına olanak sağlamaktadır. Bu bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerine bakıldığında kardiyovasküler hastalıklar, belirli kanser hücreleri ve yaşlılıkla birlikte görülen olumsuz nedenlere karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir. Vitamin E' nin kötü kolesterol olarak adlandırılan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL, Low Density Lipoprotein) kolesterol seviyesini azaltıldığı bildirilmiştir. Bu sayede atardamarlarda tıkanmayı önleyerek kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaktadır (Rietjens I.M. ve ark., 2002). Ceviz polifenollerinin, antioksidan özelliği göstererek immün sistemi kuvvetlendirici fonksiyona sahip olduğu belirtilmiştir. Bu fonksiyonel özellik sayesinde, kardiyovasküler rahatsızlıklar ve karsinogenezi engellediği klinik çalışmalar ile desteklenmiştir. En fazla polifenoller ceviz meyvesinin en dış katmanını oluşturan kahverengi kabuk kısmının içerisinde bulunduğu bildirilmiştir (Anderson K.J. ve ark., 2001). Lavedrine ve arkadaşları tarafından 1999 yılında yapılan *in vitro* çalışmada cevizin polifenolce zengin ekstraktı ile ellajenik asidin plazma ve LDL oksidasyonunu engelleyici yetenekleri araştırıldığında polifenollerin *in vitro* plazmada LDL oksidasyonunu kuvvetle önlediği bildirilmiştir. Bunun sonucunda damarlarda %64 oranında elastikliği arttırarak damar sertliğini önleyici özellik göstermiştir (Anonim, 2005b ve Lavedrine F. ve ark., 1999).

Cevizin yüksek miktarda α - tokoferol (24-46 mg/100g) içerdği belirtilmektedir. Ayrıca cevizde, serbest radikallerle savaşan antioksidan özelliği olduğu bilinen melatoninin varlığı da saptanmıştır (Reiter R.J. ve ark., 2005). Melatonin hormonu, insan beyninde salgılanarak bireyin biyolojik saatinin ayarlanması ve uyku periyodunun düzenlenmesinden sorumlu hormondur (Anonim, 2016b). Cevizdeki melatonin hormonu insan vücudunda kullanıma uygun formdadır. Bu hormonun üretimi vücut yaşlandıkça azalmakta ve bu azalma sonucunda sadece uyku bozukluğuna ve kalitesinin azalmasının yanı sıra antioksidan eksikliği ile meydana gelen serbest radikallere bağlı rahatsızlıkların da artmasına sebep olmaktadır. Ceviz tüketiminin kandaki melatonin oranını yükselttiği ve uyku düzensizliği gibi hastalıkların yok olmasına olanak sağladığı belirtilmiştir (Reiter R.J. ve ark., 2005).

Cevizde çok fazla miktarda bulunan L-arginin amino asiti kronik yüksek tansiyon hastalığı açısından büyük bir öneme sahiptir. Damar tıkanıklığı üzerindeki olumlu etkisine bakıldığında L-arginin vücutta nitrikoksit (NO_2) dönüşerek, iç duvarlardaki sertliği azaltır. Bu sayede damarların rahatlamasını sağlar ve vasküler sistem rahatsızlıkların riskini de azaltmaktadır (Anonim, 2005d). Nitrik asit düzeylerinin normal olduğu dönemde açığa çıkan hipertansiyonun, kronik şeker hastalığı veya kardiyovasküler hastalıktan kaynaklandığı bildirilmektedir. Böylece, bu tip hastaların diyetlerine ilaveten tüketecekleri ceviz, büyük önem taşımaktadır (Anonim, 2005b).

Kuruyemişler içerisinde yer alan badem, fındık, yer fıstığı tekli doymamış yağ asitlerini (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA) daha fazla miktarda içermektedir. Ceviz ise çoklu doymamış yağ asitlerince (PUFA) daha zengindir. Cevizin n-6 ve n-3 PUFA'ların her ikisini de bir arada bulundurması, cevizi sert kabuklu meyvelerden ayıran en önemli nitelgidir. Ayrıca diğer sert kabuklu meyveler ile kıyaslandığında; ceviz en yüksek Omega 3 yağ asidi miktarına sahiptir. MUFA ve PUFA'ların doymuş yağ asitleri yerine tüketildiğinde, toplam plazma ve LDL kolesterol konsantrasyonunu azalttığı ifade edilmiştir (Dattilo A.M. ve ark., 1992; Willet W.C. ve ark., 1995). Çoklu doymamış yağ asitlerinin kardiyovasküler rahatsızlıkları engellediği; anti-inflamatuar, anti-hipertansif olduğu, özellikle kandaki yağ oranını azaltıcı, tromboz ve damar tıkanıklığını engellediği bildirilmektedir (Carrero J.J. ve ark., 2004). Ceviz içerisinde bulunan yağ asitleri tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalarının sağlığı açısından beslenme düzenlerinde kullanılması önerilmektedir.

Cevizin bileşenleri arasında yer alan esansiyel yağ asitlerden Omega 6 ve Omega 3'ün son on yılda 4:1 oranında kullanılması tavsiye edilmektedir. Bu özellikten dolayı ceviz fonksiyonel bir besin grubu olarak tanımlanmaktadır (Franz M.J.ve ark., 2002; Patel G., 2005).

Esansiyel yağ asitleri olan Omega 6 ve Omega 3 vücutta üretilmemesi sebebiyle dışarıdan besin takviyesi veya farmasötik olarak alınması gereklidir. Sahip olduğu bu karakteristik niteliğinden dolayı cevizin kullanımını vazgeçilmez kılmıştır (Heidal K. ve ark., 2004).

Anne karnındaki bebeğin gelişimi sırasında yeteri kadar Omega 3 ve Omega 6 takviyesi sağlanmadığı durumlarda bebeklerde doğum sonrasında kalıcı olarak zeka geriliği ve duyuşal motor fonksiyonlarında değredasyona neden olmaktadır (Crawford M.A., 1993). Ayrıca yeterli oranda Omega-3 almayan çocukların aşırı derecede hiperaktif olduğu, öğrenme zorluğu çektiği ve davranış bozukluklarına sahip olduğu belirtilmiştir. Çocuklarda uyku düzensizliği ve davranış bozukluklarının büyük çoğunluğunun nedeni Omega 3 eksikliğine bağlanmıştır (Anonim, 2005b). Yapılan araştırmalar sonucunda doymamış yağlardan birisi olan Omega 3; arterlerdeki kan basıncını azaltarak yüksek tansiyonun düzenlenmesini, damarlarda oluşan krampın azaltılmasını, karsinogenezi bloklayıcı, enfeksiyonöz rahatsızlıklar, alerjik astım, immün sistemi ve nörolojik hastalıkları iyileştirici niteliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Simopoulous A.P., 1991; Tatar O.ve ark., 2001).



Resim 2. 5. Ceviz içi ve beynin görüntüsü (Anonim, 2016d).

Ceviz (*Juglans regia* L.) eczacılık ve alternatif tıpta, modern eczacılık çalışmalarında, kanın pıhtılaşmasını önlediği, kan dolaşımını düzenlediği, kan pıhtılarını bozduğu, antialerjik özellik gösterdiği, karaciğer fonksiyonlarını düzenlediği, protein sentezini teşvik ettiği, serum kolesterolünün azalmasını sağladığı bağışıklık fonksiyonlarının korunması ve anormal antikor oluşumunun engellediği bildirilmektedir (Anonim, 2005a).

Tarihte insanlar cevizi, bazı rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla kullanmışlardır. Ceviz içi; idrar söktürücü, taş düşürücü, kolesterol azaltıcı, astım, kronik öksürük, anemi, gebelikte kusmayı önleyici, kilo aldırıcı ve sakinleştirici olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Anonim, 2005e). Ayrıca ceviz içindeki yağ; kalın bağırsak iltihaplanma ağrılarında ve adet periyodundaki değişiklik, saç kuruluğu, kepeklenme ve saçtaki yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Cevizin dış kabuğu suda kaynatılarak kullanıldığında bağırsak inflamasyonuna ve fungus hastalıklarında iyileştirici etki göstermektedir. Cevizin yeşil kabuğu anemi, mide inflamasyonuna, irinleri, göz kapağı inflamasyonunu tedavisinde kullanılmaktadır. Bu özelliklere ilaveten baş ve vücut parazitlerini ve kıl kurdu inflamasyonuna, aynı zamanda sivilce ve uçukların tedavisinde de etkili olduğu bildirilmektedir. Hatta, ceviz yapraklarının el ve ayak ter bezleri üzerinde inhibisyon etkisi olduğu belirtilmektedir (Yiğit A.ve ark., 2005).

2.7. Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılmasına neden olan onkogenlerle (kontrolünü kaybetmiş protein kodlayan genler), tümör baskılayıcı genlerin karşılıklı etkileşimi sonucun oluşan kalıtsal bir hastalıktır (Blackadar C.B., 2016).

Kanserle ilişkili genomik değişimler; tek bir nükleotidin yer değiştirmesinden, büyük ölçüde kromozomların yeniden düzenlenişleri, çoğalmaları ve delesyonlarına kadar uzanmaktadır. Ancak diğer genetik hastalıklardan farklı olarak, genellikle somatik hücrelerde meydana gelen mutasyonlar kansere yol açmaktadır. Kanserlerin yaklaşık %1 'i zigotun oluşumundan itibaren, hücre bölünmesi ve germ-line (dokuların meydana gelişi) sırasında gerçekleşen ve kişilerin yatkınlıklarını arttıran mutasyonlarla ilgilidir.

Kanserin diğer genetik hastalıkların bir diğer farkı ise kanserin nadiren tek bir mutasyonla oluşmasından ziyade genellikle çok sayıda mutasyondan kaynaklanmasıdır (Baykara O., 2016).

2.7.1. Kanser Tarihçesi

Kanser terimi, tıbbın babası olarak bilinen Yunan fizikçi Hippocrates (MÖ 460-370) tarafından oluşturulmuştur. Kanser yunanca yengeç anlamına gelen 'karkinos' kelimesinden türetilmiştir. Hipokratın tümör görünümünü referans aldığı düşünülmektedir. Tümörün asıl kısmı yengecin vücut kısmını oluşturmakta, tümörden çıkan uzantılar ise yengecin kısıkaç ve bacaklarına benzetilmektedir. Hippocrates carcinos ve carcinoma terimlerini ülser oluşturan ve ülser oluşturmayan tümörler için kullanmıştır (Berk V., 2014).

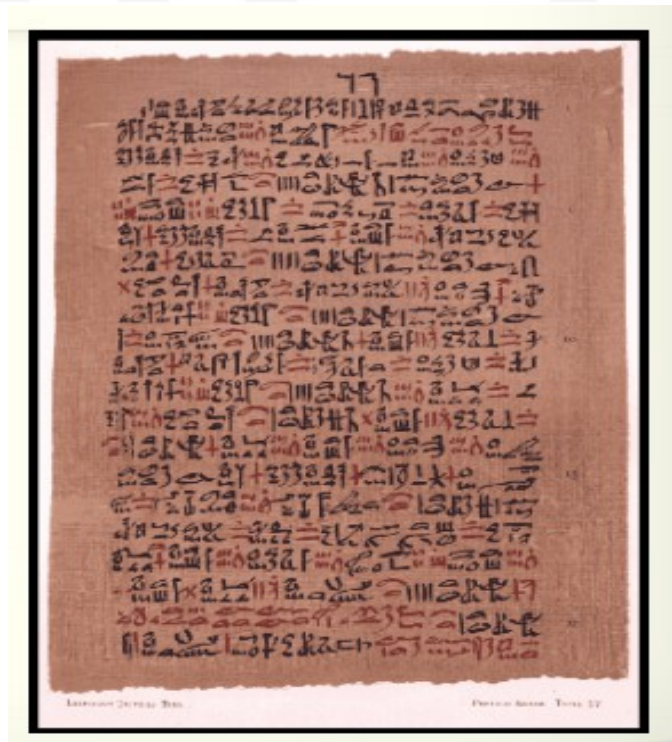
Kelime anlamı olarak kanser, bir organ veya dokudaki hücrelerin kontrolsüz olarak bölünüp çoğalmasıyla beliren kötü huylu tümörlere denir. Başka bir Yunan doktor olan Galen (MS 130-200) oncos (yunanca şişme) kelimesini tümörleri tanımlamak için kullandı. Hipokrat ve Celsus'un yengeç benzetmesi hala kötü huylu tümörleri

tanımlamak için kullanılsa da, Galen'in terimi artık kanser uzmanları- onkologlar için adın bir parçası olarak kullanılmaktadır (Korkut E., 2018).



Resim 2. 6. Hipokrat'ın yengeç ve kanser hücresinin görünüm benzetmesi (Berk V., 2014).

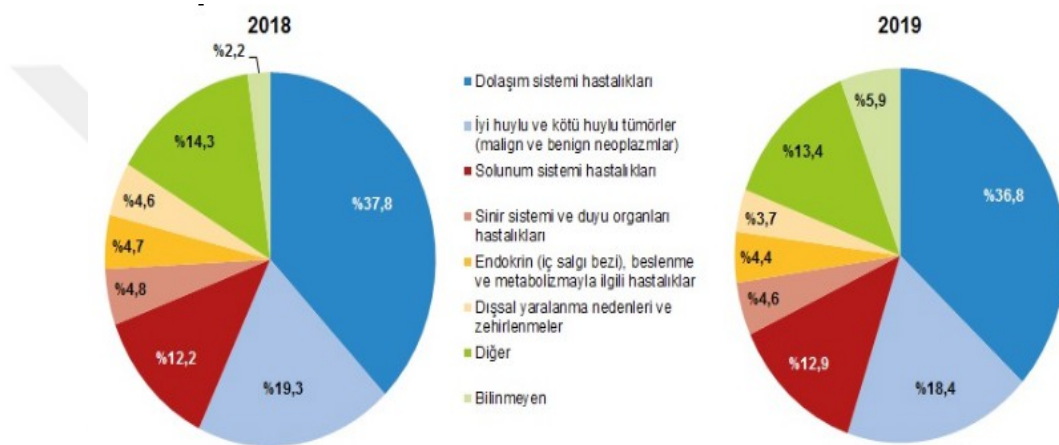
İlk yazılı kanser M.Ö. 3000 Edwin Smith papirüsünde rastlanılmaktadır. Bu yazılı metinde meme tümörü olan 8 hasta tanımlanmakta ve tedavisinin olmadığı söylenmektedir (Anonim, 2018a).



Resim 2. 7. İlk yazılı kanser belgesi (Anonim, 2018c).

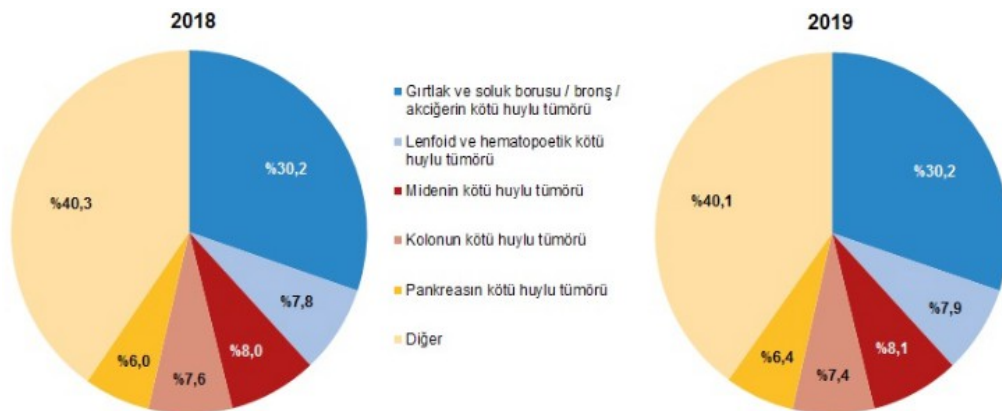
2.7.2. Kanser Epidemiyolojisi

Kanser epidemiyolojisi kanser olgularının toplumdaki sıklığını inceleyen, kanserlerin ortaya çıkış nedenlerini bulmaya çalışan ve halk sağlığı disiplininin içinde yer alan bir araştırma ve uygulama alanıdır. Kanser epidemiyolojisine bakıldığında başlıca ölüm nedenlerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır.

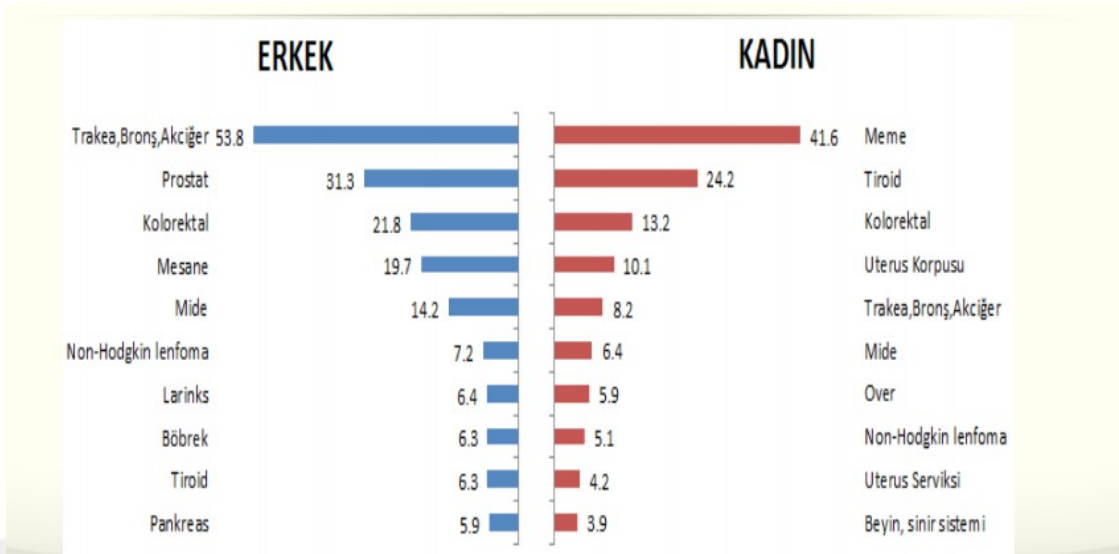


Şekil 2. 2. 2018 ve 2019 yıllarında hastalıklarının görülme oranları (Anonim, 2020c).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) tarafından 24 Temmuz 2020 yılında yayınlanan istatistik sonuçlarına bakıldığında kanser hastalığının 2.sırada yer aldığı görülmektedir (Anonim, 2020c).



Şekil 2.3. Kanser hastalığının 2018 ve 2019 yıllarında görülme oranı (Anonim, 2020c).

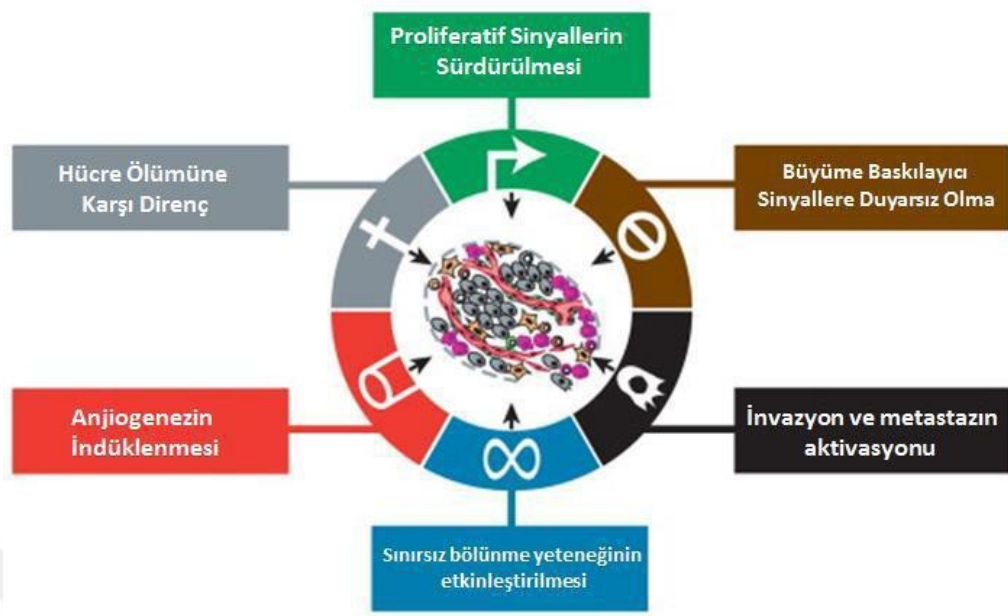


Şekil 2.4. Türkiye’de kanser çeşitlerinin cinsiyet dağılımı (Anonim, 2018b).

2.7. 3. Kanser Hücresinin Fonksiyonel Özellikleri

2000 yılında, kanser biyologları Robert Weinberg ve Douglas Hanahan “The Hallmarks of Cancer” başlıklı makalede kanserli hücre fizyolojisiyle ilişkili 6 önemli değişikliği yayınlamıştır. Bunlar;

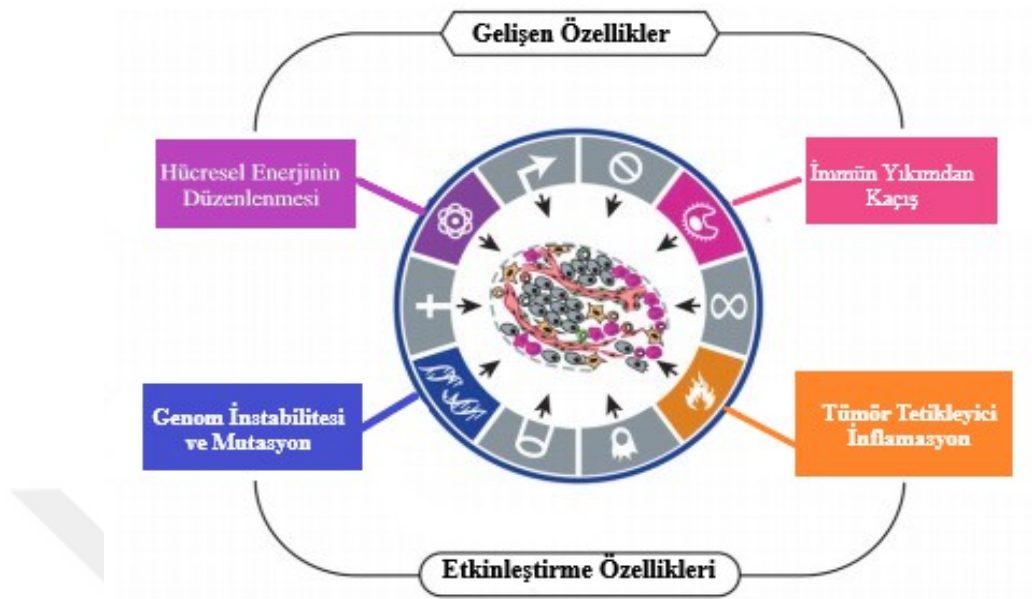
- I. Büyüme sinyallerinde kendine yeterlilik
- II. Büyümeyi inhibe edici sinyallere bağımsızlık
- III. Programlı hücre ölümünden (apoptoz) kaçma
- IV. Sınırsız bölünme potansiyeli
- V. Anjiyogenez
- VI. İnvazyon ve metastaz (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Kanserın temel özellikleri (Hanahan D. ve Weinberg R., 2000).

2011 yılında kanser biyologları bu değişikliklere, kanserli hücre fizyolojisiyle ilişkili 4 fonksiyonel özellik daha eklemiştir;

- I. Hücresel enerji metabolizmalarının yeniden düzenlenmesi
 - II. İmmün yıkımdan kaçış
 - III. Genom instabilitesi ve mutasyon
 - IV. Tümör tetikleyici inflamasyon (Tümör mikroçevresinin desteklenmesi)
- (Şekil 2.6.)



Şekil 2.6. Kanserın temel özelliklerine eklenen 4 yeni fonksiyonel özellikler
(Hanahan D. ve Weinberg R., 2011).

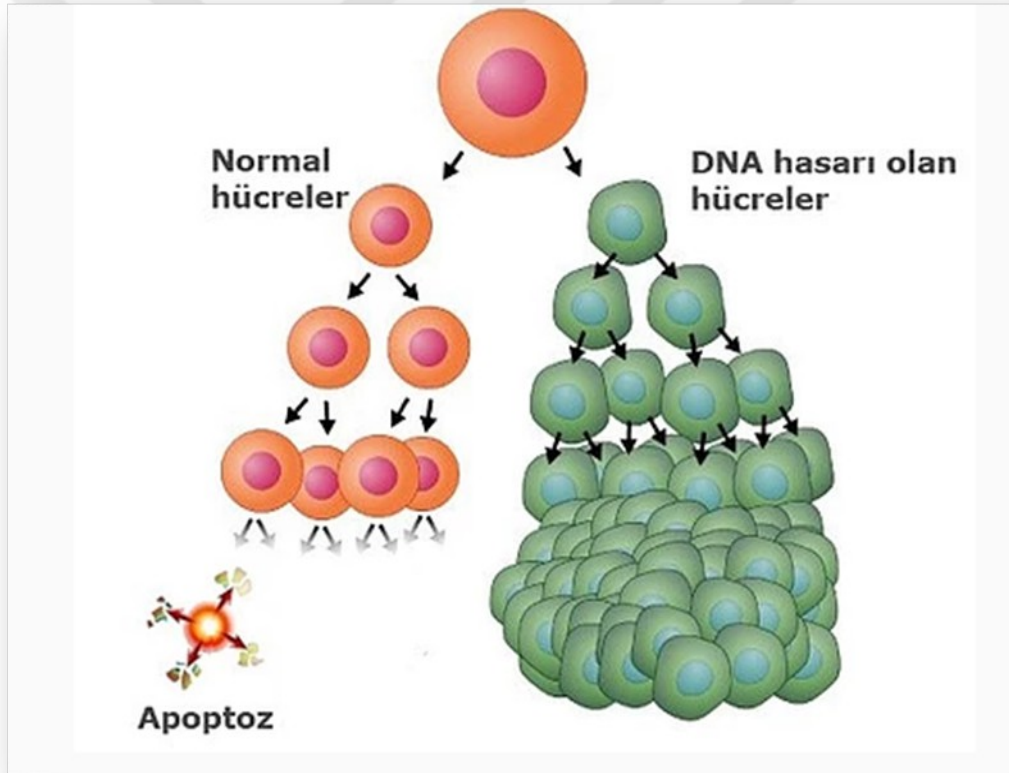
2.7.4. Kanser Hücresinin Moleküler Mekanizması

Kanser hücresi belirli bir zaman diliminde, hücre genomunda birbirinin ardı sıra gelen mutasyonların (ya da epigenezi değişikliklerin) birikimi sonucunda ortaya çıkan bir patolojidir. Çok kademeli (multi-step) bir olaydır ve klinik kanser tablosunun meydana gelmesi uzun süreli bir latent period gerektirir. Bu yüzden kanser hücresinin mekanizmasını anlayabilmek için öncesinde normal hücrenin mekanizmasını bilmek gereklidir (Spector D. ve ark., 1978).

Normal hücreler bölünebilmek için genellikle dışarıdan (sistem, vücut, vb. dışından) gelen etken veya maddeler tarafından uyarılmaya ihtiyaç duymaktadır. Kanser hücreleri ise çoğu zaman böyle dış uyarılar olmaksızın kendi bölünme mesajlarını kendileri oluşturarak çoğalabilirler. Normal hücrelerde büyüme faktörlerinden (ligand) başlayan uyarı sisteminin membrandaki reseptörlere bağlanması ve daha sonra bu büyüme uyarısının sitoplazmadaki diğer aracı molekülleri vasıtasıyla çekirdeğe iletilerek hücre çoğalmasını sağlayan genlerin uyarılması şeklinde işleyen

süreç (sinyal iletim sistemi) kanser hücrelerinde iletim sisteminde yer alan herhangi bir genin (ve bu genin sentezlediği proteinin) değişikliğe (mutasyon) uğraması ile aktif hale geçerek (iletim sisteminde kendinden önceki basamaklardan gelen uyarılardan bağımsız iletim) DNA hasarına neden olmaktadır (İçli F. ve ark., 2014).

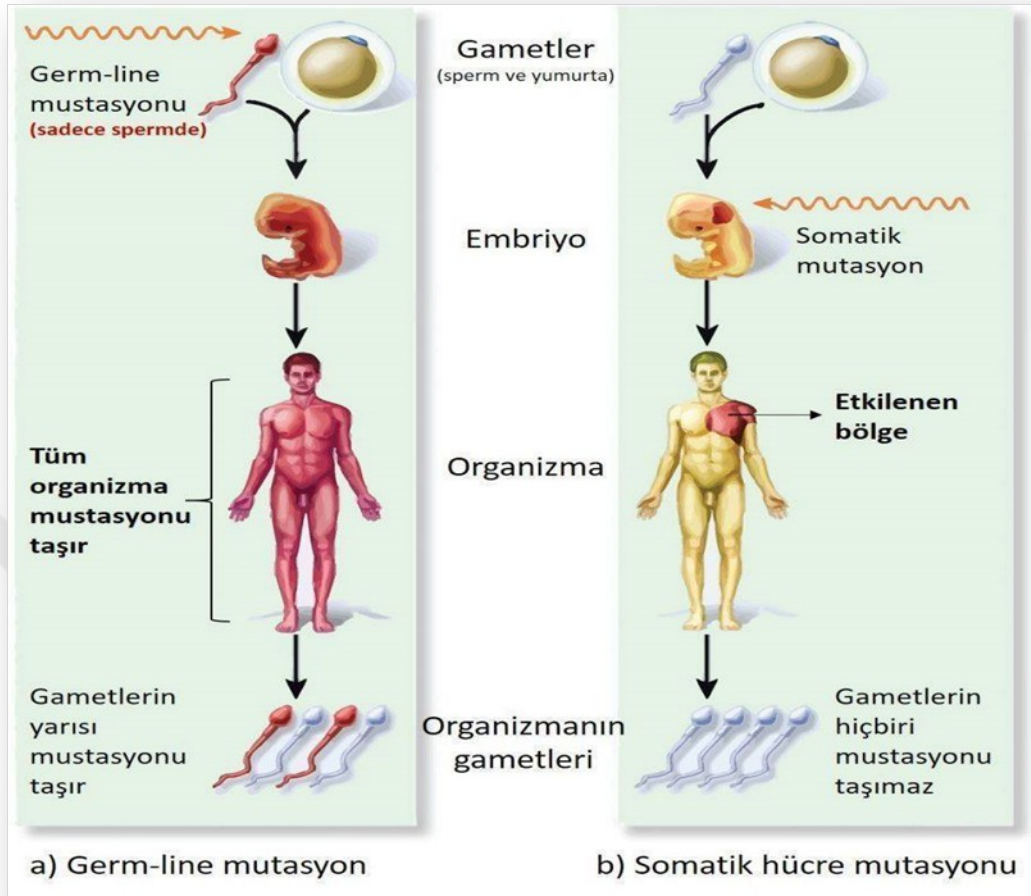
Normal hücreler tamir edilemeyecek duruma geldiğinde belli bir kısmı apoptoz (programlı hücre ölümü) yaparken, apoptozdan kaçan diğer hücreler ise mikroçevreden yararlanarak immün sistem elemanlarına karşı kendini koruma altına alırlar. Bu sayede otonomi kazanarak çekirdekten bölünme emri almadan sınırsız sayıda çoğalarak tümör meydana gelmektedir.



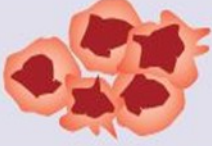
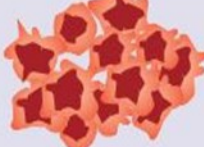
Şekil 2.7. Normal hücrelerde ile kanser hücrelerde hücre bölünmesi (Anonim, 2015).

Sağlıklı hücrenin DNA'sında görülen değişiklikler(mutasyon) 2 gruba ayrılır:

- **Germ-line mutasyon:** Eşey hücrelerin birleşmesiyle gamet oluşmaktadır. Gametlerde görülen kalıtsal değişiklikler yavru döllere aktarılmaktadır. Bu durumda mutasyonlar vücuttaki her bir hücrede görülür. [Genetiksel](#) nedenlerden kaynaklı meydana gelen kanser genler aracılığıyla yavru döllere aktarılmasıdır. Örneğin, BRCA1 ve BRCA2 genlerinde meydana gelen eşey hücrelerindeki kalıtsal modifikasyonlar meme ya da yumurtalık kanseri riskini artırmaktadır. Tüm kanser vakalarının yüzde 10 kadarını genetiksel kanserler meydana getirmektedir.
- **Somatik mutasyon:** Vücut hücrelerinde görülen kalıtsal değişikliklerdir. Yavru döllere aktarılan bu hasarlar düzeltilememektedir. Ortaya çıkan bu genlerdeki kalıtsal değişiklikler insanın yaşamı boyunca vücudunda yer almaktadır. Yaşam tarzı (obezite, korunmasız güneş, sigara, enfeksiyon ajanları gibi) bu tip mutasyonların meydana gelmesinde en önemli etkenler arasında yer almaktadır. Sigara kullanımı, güneşin ultraviyole radyasyonu (UV ışınlar), viral etkenler ve yaşın ilerlemesi gibi faktörler hücrelerdeki gen modifikasyonuna yol açmaktadır. Vücut hücrelerinde görülen kalıtsal değişiklikler nedeniyle oluşan kanserlere sporadik kanserler denilmektedir. Tüm kanser vakalarının yüzde 80'ini oluşturmaktadır.



Resim 2. 8. a) germ-line mutasyon, b) somatik hücre mutasyonu (Anonim, 2015).

Normal Hücreler	Normal Hücreler ile Kanserli Hücrelerin Farkları	Kanserli Hücreler
	Kanserli hücrenin normal hücreye göre daha büyük ve farklı şekillerde hücre çekirdeği bulunur.	
	Kanserli dokuda normal dokunun aksine çok sayıda bölünen hücre ve düzensiz hücre dizilimleri mevcuttur.	
	Kanserli hücrenin boyutunda farklılıklar görülür. Hücre içindeki organellerin şekilleri düzensizdir.	
	Kanserli hücrelerin sayısı artmış ve şekilleri bozulmuştur.	

Resim 2.9. Normal hücre ile kanserli hücre arasındaki farklar (Anonim, 2018d).

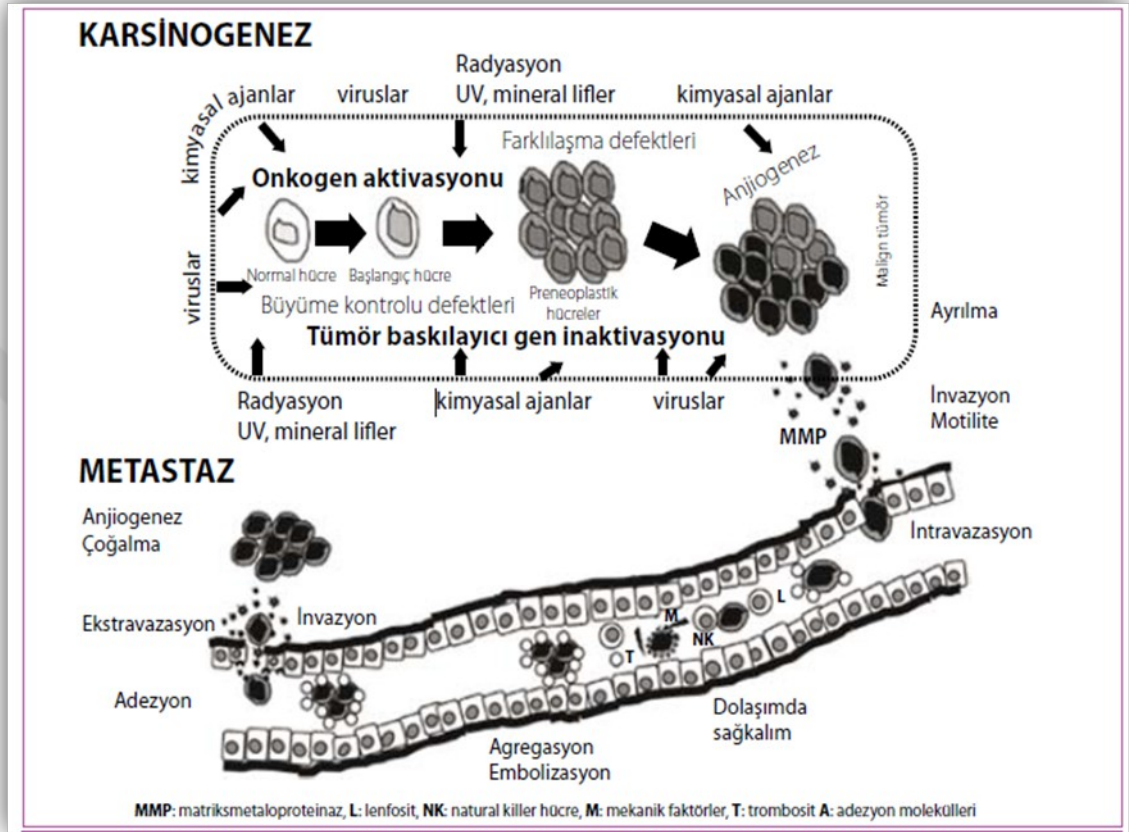
Kanser gelişiminde rol oynayan faktörler

- ❖ Kimyasal karsinojenler
 - Alkilleyici ajanlar
 - Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
 - Aromatik aminler
- ❖ Fiziksel karsinojenler
 - Güneş ışını ve ultraviyole
 - Radyasyon
- ❖ Viral karsinojenler
- ❖ Hormonlar
- ❖ Genetik nedenler

Kansere neden olan maddelere “karsinojen” denir. Normal hücrenin kanserleşmesi için geçmesi gereken basamakların tümüne “karsinogenez” denir. Bir dokuda çok farklı çeşitte hücre bulunmaktadır. Dolayısıyla bir dokudan çok farklı tipte kanser gelişebilir (Kerbel R. S. ve ark., 2008). Ayrıca her bir hücreden gelişen tümör dokusu da kendi içinde farklılıklar gösterir. Karsinogenez 4 aşamadan meydana gelmektedir:

- 1) **İnisiyasyon:** Karsinogenezin ilk aşamasıdır. Tek bir hücrede mitoz sırasında inisiyator maddelerin etkisiyle rastlantısal olarak genetik mutasyon meydana gelir. İnisiyator maddelere en iyi örnek olarak sigara kullanımı verilebilir.
- 2) **Promosyon:** Karsinogenezin ikinci evresidir. Histon kaybı, DNA metilasyonu ve kromatinin yeniden modellenmesi gibi birçok epigenezi değişikliği bu aşamada meydana gelmektedir. Hücreler selektif büyüme özelliği kazanırlar. Selektif büyüme özelliği kazanan hücreler küçük hücre popülasyonlarını oluşturmaktadır. Oluşan küçük hücre topluluğu promotörler ile daha hızlı büyüyen hücre grupları haline dönüşmektedir. Promotör maddelere hormonlar ve diyetle alınan yağlar örnek verilebilir (Dalay N. ve ark., 2000).
- 3) **Progresyon:** Bu aşamada devam etmekte olan genetik mutasyonlar geri dönüşümsüz ve zarar verici özellik taşımaktadır. Ekstra karsinojenlerle tümör hücrelerinde spontan mutasyonlar meydana gelmektedir. Hücre içinde bulunduğu dokunun hücrelerinden farklı ve bağımsız hareketmeye başlamaktadır. Özet olarak bu aşamada kanser hücresi, çoğalma yeteneğini kazanmış, kendi besin kaynakları için gerekli yolları oluşturmuş farklı genotipik özelliklere sahip ve metastatik özellik kazanmış bir hücredir.
- 4) **İnvazyon ve Metastaz:** İnvazyon, kanserin etrafında bulunan dokulara yayılabilmesidir. Metastaz yapacak olan hücre ilk olarak, çevresindeki hücrelerle olan bağlantısını kaybeder ve hareket yeteneği kazanmaktadır. Kanser hücreleri kan veya lenf dolaşımına katılabilmek için damar duvarına yayılım göstermektedir. Kanser hücrelerinin kan veya lenf damarları içine girmesine “intravazasyon”, Kanser hücrelerinin farklı dokuda damar içinden çıkması olayına “ekstravazasyon”, Kanser hücresinin dolaşımdan çıkıp farklı

bir dokuda yeniden koloni oluşturmaya “kolonizasyon” denir (Song Y. ve ark., 2008)



Şekil 2. 8. Karsinogenez oluşumu (İçli F. ve ark., 2014).

2.7.5. Kanser Hücresinin Sınıflandırılması

Kanser hücresinin tanı ve tedavisinde tümörlerin sınıflandırılması oldukça önemlidir. Kanser hücrelerini davranışlarına göre ilk kez sınıflandıran Hippocrates' tir. Hippocrates' e göre tümörler zarar vermeyen ve öldürücü veya tehlikeli tümörler olarak sınıflandırılmaktadır (Bachem M. G. ve ark., 2005). Kanserli hücreler davranışlarına göre ikiye ayrılmaktadır:

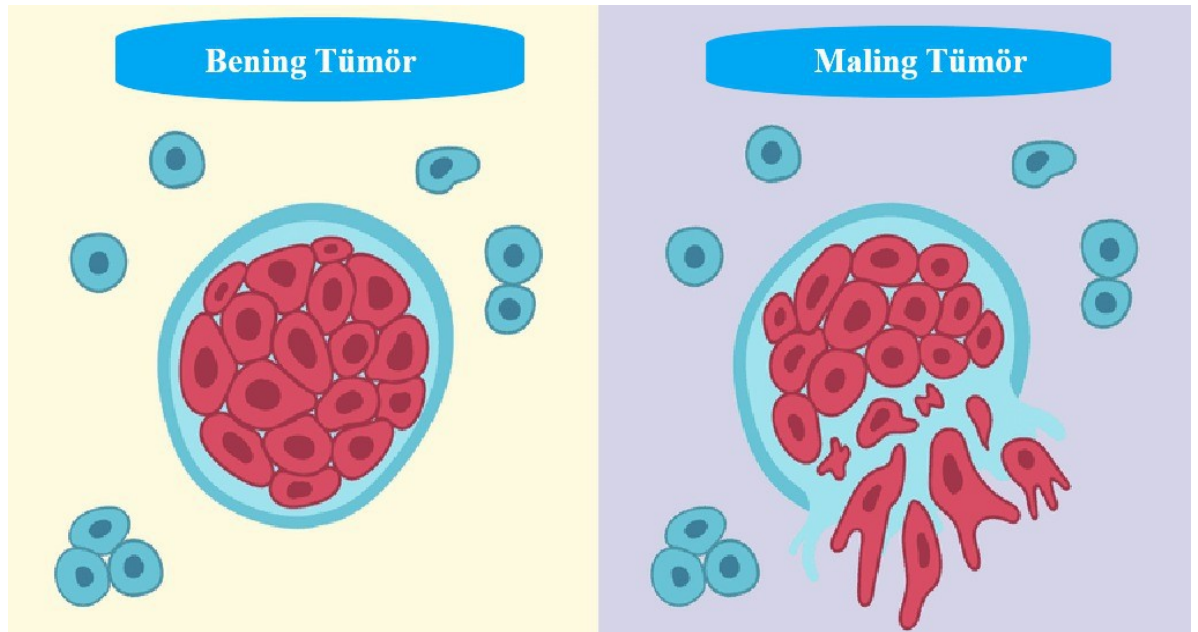
A) Benign tümör: “Benign” kelimesi latince “iyimser” anlamına gelmektedir. “Selim tümör” veya “iyi huylu ur” olarak da isimlendirilmektedir. Kanserleşmemiş tümör türüdür. Bunlar genellikle yavaş büyür ve invazyon kabiliyetleri sınırlıdır.

Genellikle bir kapsülle çevrili olduklarından komşu dokularla doğrudan bağlantıda değildirler. Benign tümörler komşu doku ve organlara yayılmaz. İyi huylu tümörler bazen kendiliklerinden küçülüp kaybolabilirler veya büyümeleri durabilir. Ama bazen de habis (kötü huylu) tümörlerin tetikçisi olabilmektedir (Sierra, A. ve ark., 2000).

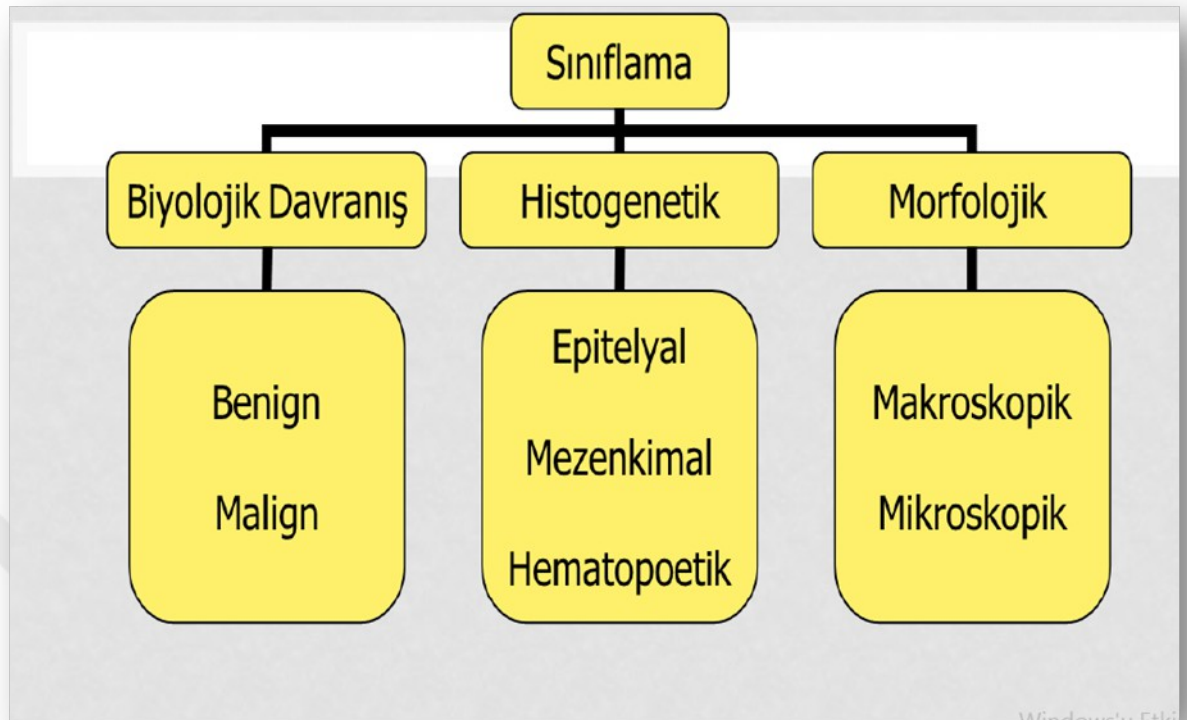
A) Malign tümör: “Malign” kelimesi Latince “kötü huylu” anlamına gelmektedir. “Habis tümör” veya “kötü huylu ur” olarak da adlandırılmaktadır. Kansereleşmiş hücrelerdir. Kapsülleri yoktur, büyürken sınır tanımazlar, çevresindeki dokuların ve damarların içine girerler. Metastaz yaparak çevresindeki doku ve organlara yayılım gösterirler (Demiray A., 2007).

Malın ve Benign tümörlerin ayırımında önemli olan maddeler:

- Diferensiyasyon ve anaplazi
- Büyüme hızı
- Lokal invazyon
- Metastazdır.

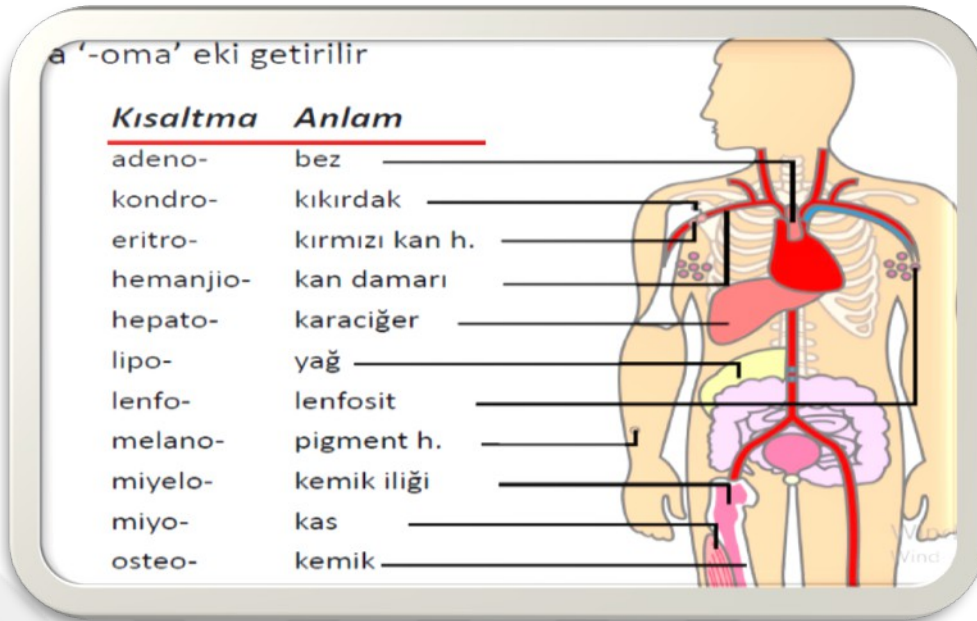


Resim 2.10. Benign ve Malign tümör hücrelerinin görüntüleri (Anonim, 2021b).



Şekil 2.9. Kanser hücrelerinin şematik olarak sınıflandırılması (Anonim, 2018f).

Tümörler isimlendirilirken bulundukların organ veya dokunun adına ek ifade alarak tanımlanmaktadır. Benign tümörler bulundukların bölge isimlerinin sonuna “-om” eki alırken, malign tümörler yunanca etki anlamına gelen “-sar” ekini almaktadır.



Şekil 2.10. Kanser kısaltmaları lokalizasyonu (Berk V., 2014).

Çizelge 2. 3. Epitelyal kökenli benign ve malign tümörlerin isimlendirilmesi (Anonim, 2018e).

Tümörlerde Adlandırma		
Köken Aldığı Doku	BENİGN	MALİGN
Epitelial Doku		
Çok katlı yassı epitel (skuamoz hücre)	Skuamoz hücreli papilloma	Skuamoz hücreli karsinoma
Deri ve adnekslerin Bazal hücreleri	-----	Bazal hücreli karsinoma
Epitel ile döşeli Duktus veya glandlar	Adenoma, Kistadenoma	Adenokarsinoma, Kistadenokarsinoma
Solunum yolu	Bronşiyal adenoma	Bronkojenik karsinoma
Renal epitel	Renal tübüler adenoma	Renal hücreli karsinoma
Karaciğer hücresi	Kc hücreli adenoma	Hepatosellüler karsinoma
Nöroektoderm (melanosit)	Nevüs	Malign melanoma

Çizelge 2.4. Mezenşimal kökenli benign ve malign tümörlerin isimlendirilmesi
(Anonim, 2018e).

Mezenşimal Doku		
Bag dokusu ve türevleri		
Fibröz doku	Fibroma	Fibrosarkoma
Yağ dokusu	Lipoma	Liposarkoma
Kıkırdak dokusu	Kondroma	Kondrosarkoma
Kemik dokusu	Osteoma	Osteosarkoma
Kas dokusu		
Düz kas	Leiomyoma	Leiomyosarkoma
Çizgili kas	Rhabdomyoma	Rhabdomyosarkoma
Endotel ve ilgili dokular		
Kan damarları	Hemangioma	Angiosarkoma
Lenfatik damarlar	Lenfangioma	Lenfangiosarkoma
Mezotel	-----	Mezotelyoma
Beyin zarları	Meningioma	İnvaziv meningioma
Kan hücreleri ve ilgili hücreler		
Hematopoetik hücreler	-----	Lösemiler (hematopoetik sistemin malignitesi)
Lenfoid doku	-----	Lenfomalar (immün sistem hücrelerinin malignitesi)
Sinir dokusu		
Sinir kılıfı	Nörofibroma Nörolemmoma (Schwannoma)	Nörofibrosarkoma Nörolemmosarkoma
Gonadlardaki veya embriyonik artıklardaki totipotent hücreler	Benign teratoma (dermoid kist)	Teratokarsinoma

Kumar, Ihsen ve O'Connor'dan düzenleme

Tümörlerin isimlendirilmesinde “oma” eki kullanılan kanserleşmemiş lezyonlar yer almaktadır. Bunlar daha çok, tümör izlenimi veren, fakat tümörle ilgisi olmayan kitleler için kullanılmaktadır. Bunlar hematoma, granuloma, hamartoma ve koristoma'dur.

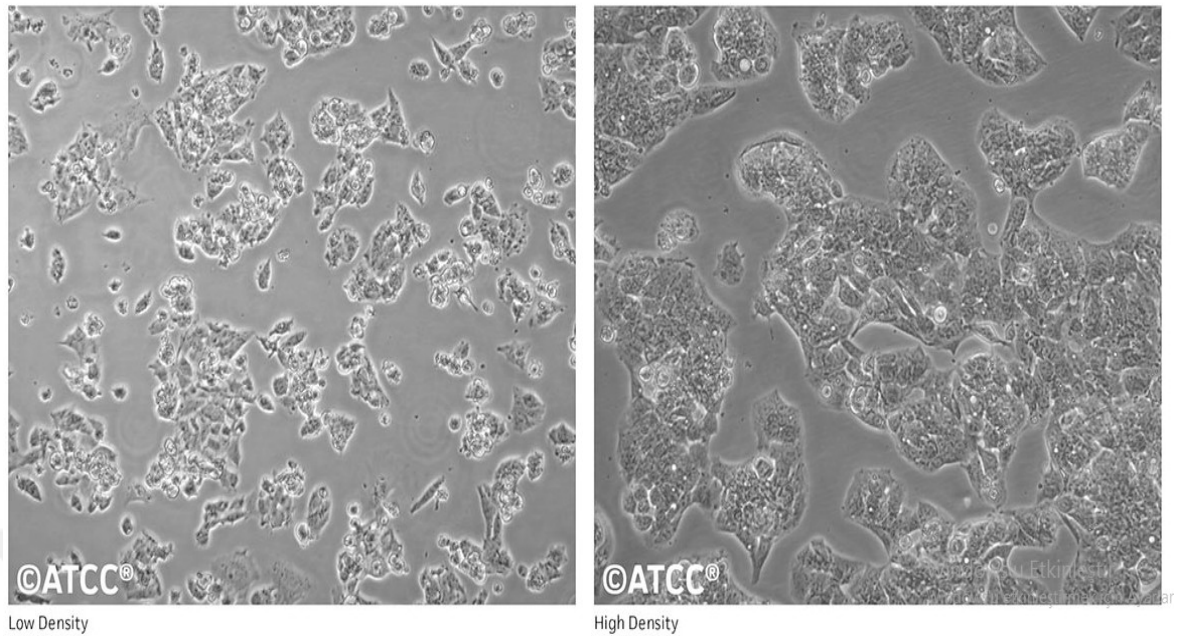
Hamartoma geliştiği organda normal olarak mevcut bulunan oluşturuıcı unsurlarla anormal bir karışımdan oluşan tümör görünümlü bir doku malformasyonudur (kusurlu oluş). Bu doku normal bir görünümde olsa da fonksiyonları değişiktir. Koristoma ise normalde olması gereken yer dışında meydana gelen tümör görünümlü kitlelerdir (Berk V., 2014).

Yetişkinlerde en sık görülen kanser çeşitleri

- Akciğer kanseri
- Beyin tümörü
- Böbrek kanseri
- Karaciğer kanseri
- Meme kanseri
- Prostat kanseri
- Mide kanseri
- Kolorektal kanseri
- Larinks kanseri gibi çeşitlerdir.

2.7.6. Hepatosellüler Karsinom

Hepatosellüler Karsinoma (HSK) karaciğerin en sık görülen hastalıklarından birisi olan primer malign tümördür. 1975' te Arjantin'den iyi diferansiye hepatosellüler karsinomu olan 15 yaşındaki bir Kafkas erkeğinin karaciğer dokusundan türetilmiş ölümsüz bir hücre hattıdır. Dünya genelinde en çok görülen kanser türlerinden erkeklerde beşinci, kadınlarda yedinci sıradadır ve yarım milyondan fazla yeni vaka tespit edilmiştir (Burley M.R. ve Roth C.M., 2017). Hepatoma hücreleri hem karaciğer kanseri fenotiplerini hem de sağlıklı ve hastalıklı durumlarda hepatosit hücrelerin fenotipini anlamakta kullanılan en yaygın hücrelerdir. İnsan hepatoma hücre hatları arasında, HepG-2 hücreler en iyi karakterize edilendir (Mittal S. ve ark., 2013).



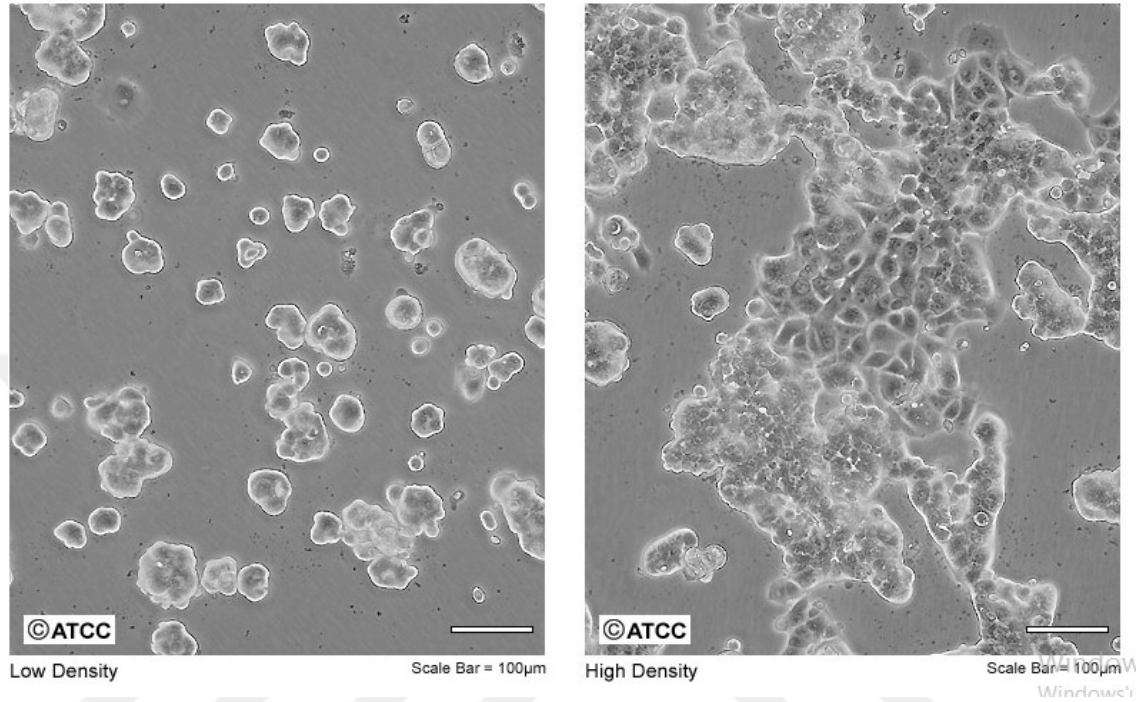
Resim 2.11. HepG-2 hücre hattının düşük ve yüksek yoğunluktaki görüntüleri
(Anonim, 2016e).

2.7.7. Meme Karsinoma

Meme hücrelerinin kontrolsüz olarak çoğalmasıyla oluşan kanser çeşitidir. Akciğer kanserinden sonra, dünyada görülme sıklığı en yüksek olan kanser türüdür. Her 8 kadından birinin hayatının belirli bir zamanında meme kanserine yakalanacağı bildirilmektedir. Erkeklerde de görülmekle birlikte, kadın hastalarda erkek hastalardan 100 kat daha fazla görülmektedir. MCF-7, ilk olarak 1970 yılında 69 yaşındaki Kafkasyalı bir kadının göğüs dokusundan izole edilen bir hücre hattıdır. Aldığı iki mastektomiden (memenin alınması) ilki, çıkarılan dokunun iyi huylu olduğunu ortaya çıkardı. Beş yıl sonra, ikinci bir ameliyat, sonunda MCF-7 hücre hattına yol açacak olan dokunun alındığı bir plevral efüzyonda malign bir adenokarsinom meydana gelmiştir (Venugopal K. ve ark., 2017).

Genetik olarak, MCF-7 hattı ilk izole edilmiş klon ile tam olarak aynı değildir. Başlangıçta, 85 kromozom içeren bir karyotipe sahip olduğu ve o zamandan beri 16 kromozom azaltılmış olduğu tanımlandı. Günümüzün MCF-7 hücre hattının, modal kromozom numarası 82'dir. Ayrıca, Michigan Cancer Foundation'dan MCF-7

hücre hattı ile ATCC hücre hattı arasında genetik farklılıklar vardır. Bu, ATCC hücre hattının diğer MCF-7 hücre hatlarından farklı bir kaynaktan geldiğini gösterir (Fagan D.H. ve ark., 2017).



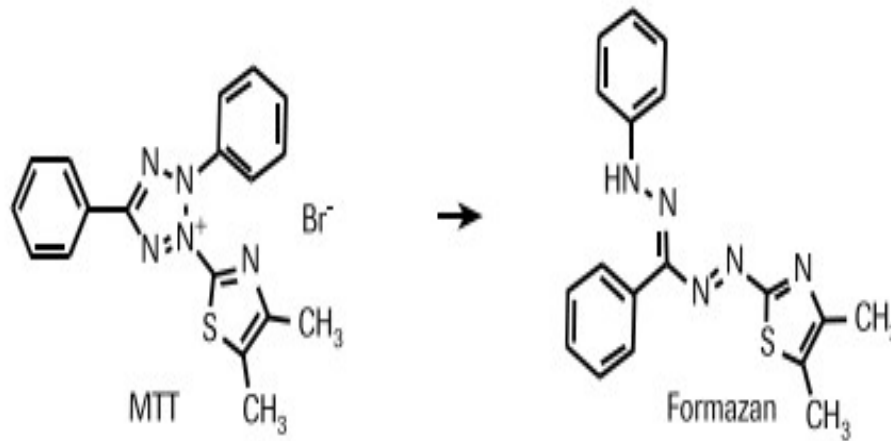
Resim 2.12. MCF-7 hücre hattının düşük ve yüksek yoğunluktaki görüntüleri (Anonim, 2016e).

2.8.Sitotoksiste

Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, laboratuvar ortamında özel olarak tasarlanmış kaplarda, ısı, nem, besin gibi ortam şartlarının kontrol edilerek kontaminasyondan uzak bir şekilde yaşatılmasıdır. İnsan da dâhil olmak üzere herhangi bir canlıdan alınan hücrelerin yapay ortamda canlılığının devam ettirilebilmesi, herhangi bir doku ya da organdan alınan hücrelerin kullanılabilmesi ve birçok etik kaygıyı gidermesi, hücre kültürü çalışmalarının tercih sebepleri arasında yer almaktadır (Zucco F.ve ark., 1998). Hücre kültürünün sıkça tercih edildiği alanlar kanser, aşı çalışmaları, ilaç geliştirilmesi ve in vitro sitotoksiste çalışmalarıdır. Sitotoksik terimi, hücre ölümüne neden olan anlamına gelmektedir. Sitotoksiste araştırmaları, morfolojik olarak hücresel hasarın gözlenmesi, hücresel hasarın çeşitli ölçüm yöntemleri ile belirlenmesi, hücresel büyümenin belirlenmesi,

hücrel metabolizmadaki herhangi bir değişikliğin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır (Gilbert D.F. ve Boutros M., 2016).

Tetrazolyum tuzları, heterosiklik organik yapıdaki bileşiklerdir. Tetrazolyum tuzlarının elektron alarak indirgenmeleri, formazan denilen yapıya dönüşmelerini sağlayarak, renk değişikliğini beraberinde getirir (Altman F.P., 1976). Tetrazolyum halkası ancak aktif mitokondri tarafından kırılabilir ve böylece renk reaksiyonunu yalnızca canlı hücreler meydana getirebilirler (Mossman T., 1983). Ölü hücreler ise tetrazolyum bileşiklerini indirgeme kabiliyetlerini kaybeder ve herhangi bir renk değişimine neden olmazlar (Riss T.L.ve Moravec R.A., 2006). Bu değişimin, in vitro ortamda yalnızca canlı hücreler tarafından yapılabilmesi, tetrazolyum bileşiklerini biyolojik anlamda oldukça önemli kılmıştır (Altman F.P., 1976). Mossman (1983) tarafından geliştirilen MTT testinden sonra, XTT, MTS, WST-1, WST-8 gibi farklı özelliklere sahip tetrazolyum bileşikleri geliştirilerek kolorimetrik metodlara eklenmişlerdir (Mossman T., 1983; Paull K.D. ve ark., 1988; Tominaga H. ve ark., 1999)

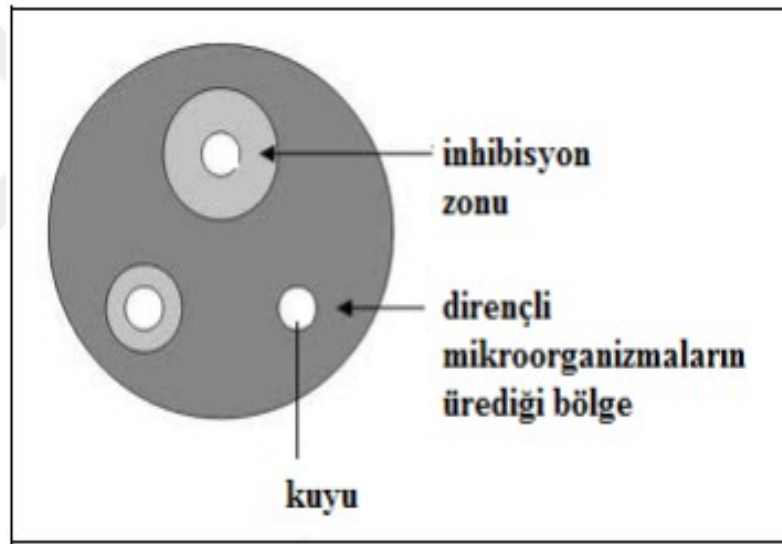


Şekil 2.11. [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] MTT' in formazana dönüşümü (Anonim, 2021b).

2.9.Biyolojik aktivite

2.9.1. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite; araştırılan maddenin patojen mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkisi veya inhibe düzeyinin belirlenmesidir. Agar disk difüzyon yöntemi, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi olarak bilinmektedir. Belirli miktarlarda araştırılan madde emdirilmiş diskler, patojen mikroorganizmalar üzerine yerleştirilerek zon oluşturup oluşturumamasına bakılarak analizi yapılmaktadır. Direnç gösteren mikroorganizmalar zon oluşturmazken duyarlı olan mikroorganizmalar da zon meydana gelmektedir.

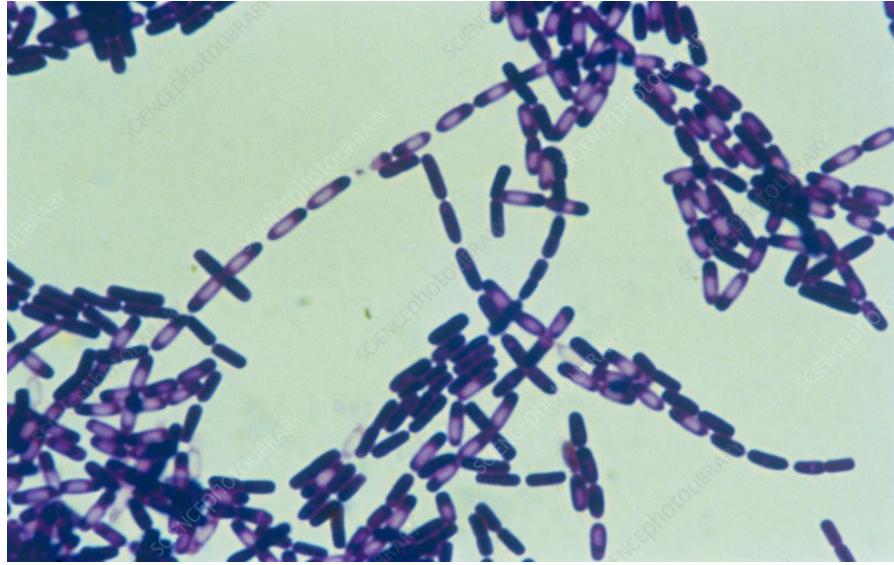


Şekil 2.12. Dirençli ve duyarlı mikroorganizmalarda zon oluşumu (Nathan ve ark. , 1978).

Antimikrobiyal aktivitede kullanılan patojen mikroorganizmalar:

***Bacillus subtilis*:** İlk olarak *Vibrio subtilis* olarak bilinen bu bakteri 1835 yılında Christian Gottfried Ehrenberg tarafından keşfedildi. 1872'de Ferdinand Cohn tarafından yeniden adlandırıldı. Ayrıca saman basili, ot basili veya *Bacillus globigii* olarak da bilinir. “*Bacillus*” kelimesi, bakterilerin (çubuk şeklindeki) şeklini ifade eder ve “*subtilis*” ince, ince anlamına gelir. *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), Gram pozitif, aerobik bir bakteridir. Çubuk şeklindedir ve katalaz pozitifdir (Cawoy

ve ark, 2011). *B. subtilis*, toprakta ve geviş getirenlerin ve insanların gastrointestinal kanalında bulunur. *B. subtilis* genellikle bağırsak bozukluklarının tedavisinde veya önlenmesinde probiyotik bir preparat olarak kullanılır. Ayrıca antibiyotik üretiminde, mantar ilacı olarak ve alternatif tıpta kullanılır. Uzayda en uzun süre, bir NASA uydusunda 6 yıl hayatta kalma rekorunu elinde tutan bir mikroorganizmadır (Anonim, 2021c).



Resim 2.13. *Bacillus subtilis* görüntüsü (Anbu S. ve ark. , 2017).

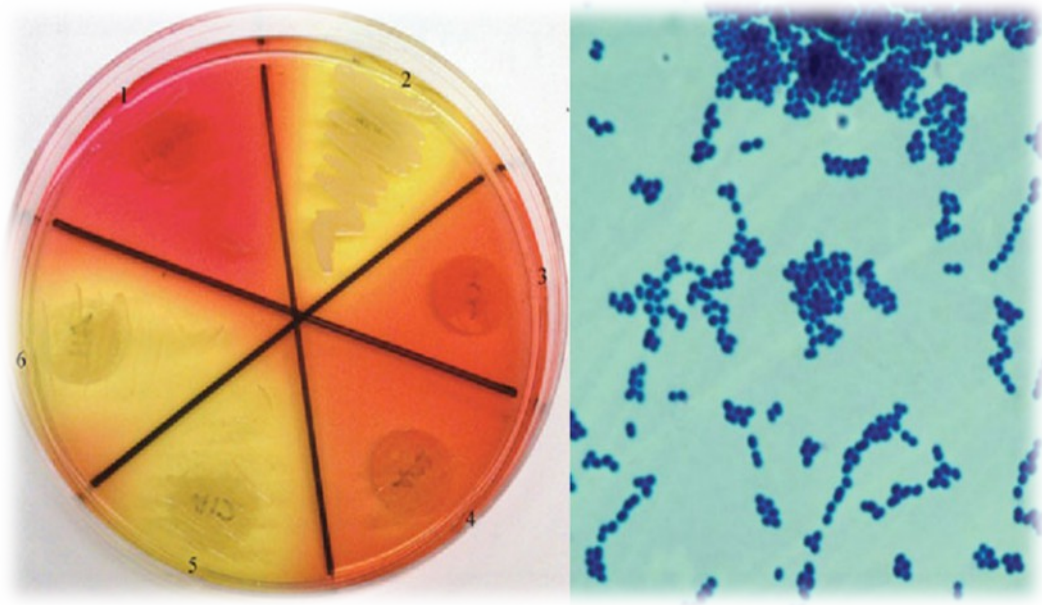
Staphylococcus aureus: *S. aureus*, 1880’li yıllarda keşfedilen insan ve hayvanların deri, üst solunum sistemi, alt ürogenital sistem ve sindirim sistemi mukozalarında kommensal olarak bulunabilen *Staphylococcus* cinsi içinde yer alan patojen mikroorganizmalardandır (Sasidharan S. ve ark., 2011). Gram pozitif küre şekilli, 0.5-1.5 μm çapında, sporsuz, genellikle kapsülsüz, fakültatif anaerobik bakterilerdir. Optimal üreme sıcaklıkları 30-37 °C’ dir. *S.aureus* hafif deri infeksiyonlarından, pnömoni ve menenjit gibi yaşamı tehdit eden hastalıklara kadar farklı yelpazedeki hastalıklardan sorumlu çok yönlü bir patojendir (Şeker E. ve Garipçin M., 2013). *S. aureus* sıklıkla süt hayvanlarında subklinik mastitise neden olup, süt ve süt ürünlerinde kontaminasyonlara neden olmaktadır. Mastitis özellikle inek, koyun ve keçilerde görülen akut veya kronik seyirli bir infeksiyondur. Hastalık sığırlarda sporadik ve koyunlarda ise enzootik karakterdedir. Akut seyirli stafilokokal

mastitisler ölümlere yol açarken, kronik seyirli olanlar ise oldukça hafif seyirlidir (Deurenberg R. H. ve ark., 2008).



Resim 2.14. *Staphylococcus aureus* ' un petri ve mikroskoptaki görüntüsü (Anonim, 2020d).

***Enterococcus faecalis*:** 1984'ten önce enterokoklar “*Streptococcus*” cinsinin üyeleri idi; bu nedenle *E. faecalis*, *Streptococcus faecalis* olarak biliniyordu. *Streptococcus* D grubunda yer almaktaydı. Taksonomik olarak *Enterococcaceae* ailesinde *Firmicutes* şubesi içinde yer almaktadır. İnsanların gastrointestinal yollarında yaşayan Gram-pozitif, [kommensal bir bakteridir](#). *E. faecalis* çoğu sağlıklı bireyde bulunur, ancak insanlarda endokardit ve sepsis, idrar yolu enfeksiyonları (İYE), menenjit ve diğer enfeksiyonlara neden olabilir. Birkaç virülans faktörünün *Enterococcus faecalis* enfeksiyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Jacobson R.A. ve ark., 2020).

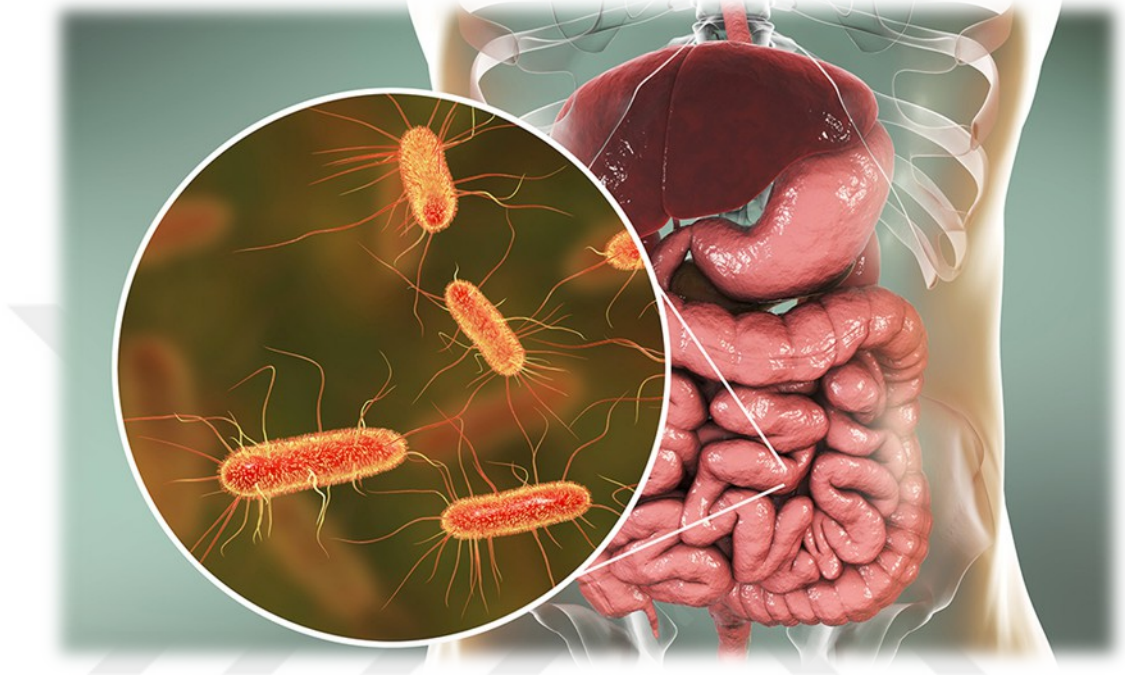


Resim 2.15. *Enterococcus faecalis* ' in petri ve mikroskoptaki görüntüsü (Anonim, 2021d).

***Escherichia coli*:** Pediyatrist ve bakteriyolog olan Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarında keşfedilmiştir ve adını ondan alır; *coli*, “kalın bağırsaktan” demektir. Gram (-) basil yapısında olan ve insanlarda doğumdan birkaç saat sonra gastrointestinal sisteme yerleşerek normal flora elemanı olan bir mikroorganizmadır. *E. coli* üriner sistem enfeksiyonu, barsak enfeksiyonları, turist ishali, sepsis, neonatal menenjit, bakteriyemi, menenjit, pnömoni gibi çok farklı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bunun temelinde doğal olarak *E.coli* 'nin normal bağırsak florası elemanı olması gelmektedir (Özsan M. ve ark, 1993). *E.coli* 'lerin sahip oldukları adhezinler bakterilerin mukozada kolonize olmalarını sağlamakta ve burada enfeksiyon oluşturmaya sebep olmaktadır. Ayrıca bu enfeksiyonlarda kronikleşme ve çeşitli komplikasyonlar da ortaya çıkabilmektedir (Bilgehan H., 1993).

E.coli 'nin aside dayanıklı olması sindirim sisteminde canlılığını korumasını sağlayabilmekte ve mevcut salgınlardan elde edilen verilere göre, çok az sayıdaki hücrenin (<100) zehirlenmeye neden olduğu bildirilmektedir (Takikawa A. ve ark., 2002; Friedman M. ve ark., 2004). Pastörize edilmemiş süt ürünleri, meyve suları ile yetersiz pişirilmiş et ürünleri, iyi yıkanmamış salatalar ve sular genellikle *E. coli*

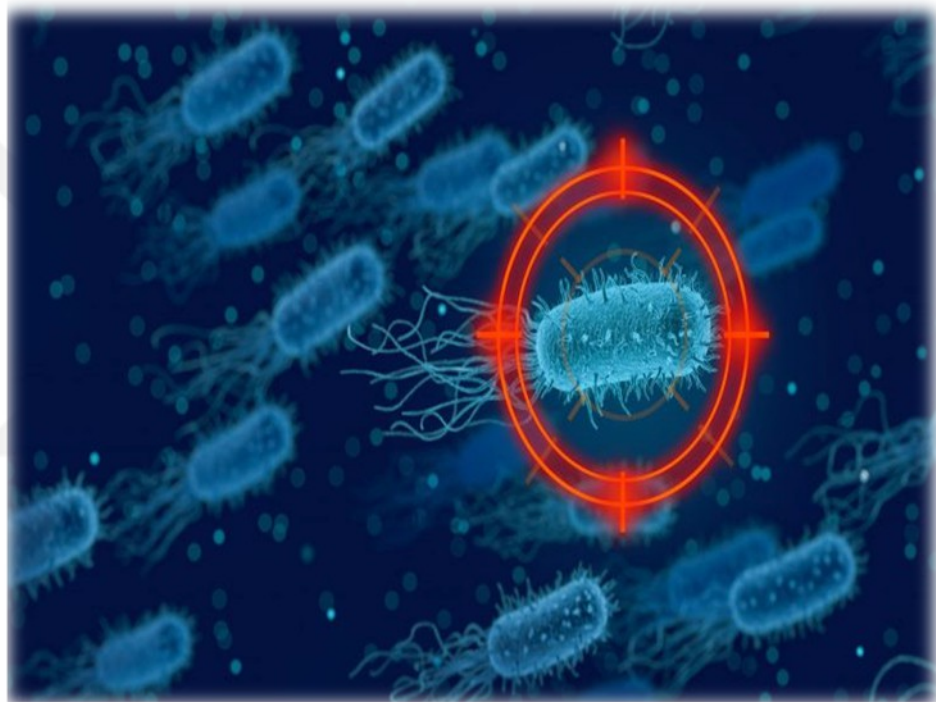
kaynaklı zehirlenmeler için riskli gıdalardır (Kim H.O. ve ark., 2004). A.B.D.’nde *E. coli* O157: H7’nin neden olduğu yılda yaklaşık 20.000 adet zehirlenme vakası ve buna bağlı gelişen çeşitli komplikasyonlara bağlı ölümler rapor edilmektedir. Optimum gelişme sıcaklığı 37 °C olan patojen bakteridir (Temelli S., 2002).



Şekil 2. 13. Bağırsak mikrobiyomunda *Escherichia coli* (Anonim, 2006).

***Pseudomonas aeruginosa*:** *Pseudomonas*, Yunanca “sahte birim” demektir. Sahte manasına gelen “pseudo” ve birim manasına gelen “monas” kelimelerinden türetilmiştir. *Pseudomonadaceae* familyasına bağlı *Pseudomonas* cinsi bakteriler Gram (-) negatif çomaklardır. Çoğu toprak ve suda bulunmaktadır. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan fakat fermentasyon yapmayan bakterilerdir. Katalaz (+), insan patojeni, gram (-), sitrat (+), metil kırmızısı (-), aerobik, polar flagellası (0,5*1,5-3 mikron boyutlarında) ile hareket edebilen çubuk şekilli bakterilerdir. Ekseriye tek hücreler halinde görünürler, fakat bazen üreme esnasında birkaç hücre bitişik kalarak kısa zincirler ifade ettikleri görülmektedir. Genç kültürler, üzerinde büyüebildiği ortamlarda genellikle mavi-yeşil bir pigment çıkarır (Erdem B., 1999; Bilgehan H., 2000). Kültür yaşlandıkça bu renkler kahverengine dönmektedir. *P. aeruginosa* özellikle, bağışıklık yetersizliği olan hastalarda solunum ve idrar yollarının, yanıkların ve açık yaraların fırsatçı patojenidir aynı zamanda

kanda da enfeksiyonlar yapabilir. Hastahane kaynaklı (Nozokomial) enfeksiyonların onda biri *P. aeruginosa* sebebiyledir. Kistik fibröz hastaları *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına özellikle yatkındır. *P. aeruginosa* kirli küvet ve jakuziler gibi su kalitesinin düşük olduğu durumlara maruz kalındığında dermatite sebep olabilirler. *P. aeruginosa* suşları ise temelde 2 çeşit pigment üretirler: Piyosiyanin (mavi) ve piyoverdin (veya fluorescein-sarı-yeşil). Bu pigment alkali pH'da mavi veya yeşilimsi renk oluşturduğu için “aeruginosa” adı verilmiştir (King A. ve Philips I.,1978 ; Bilgehan H., 2000).



Resim 2.16. *Pseudomonas aeruginosa* görüntüsü (Anonim, 2020e).

***Candida albicans*:** Endojen florada yer alan, tomurcuklanarak çoğalan maya tipi bir mantar türüdür. En sık görülen kandidoz etkeni *C. albicans*’ tır ve bu mantar türü mukozal kolonizasyondan çoklu organ tutulumuna kadar geniş bir yelpazede yer alan enfeksiyonlara yol açabilir. Ağız ve boğaz kandidozu, genital ve penil kandidoz, deri kandidozu, onikomikoz, paronişi, kronik mukokutanöz kandidoz, kandidemi, menenjit, beyin apsisi vemetastatik ensefalit, endokardit, miyokardit, trombofilebit, renal kandidoz oluşturabilirler. Bununla birlikte *C. albicans*’ ın antifungal ajanlara artan oranlarda direnç geliştirdiği bildirilmektedir (Fidel P.L. ve ark., 1999).

Optimum gelişme normları 30-37°C ve 5-7 pH olan maya orijinli bu patojen mikroorganizma sıcak, nemli ve düşük oksijenli ortamları sevmektedir. Bununla birlikte glikoz ile maltozu fermente edebilmekte, laktozu fermente edememektedir. *C.albicans* toprak, hava ve sudan bulaşabilmektedir (Tümbay E. ve Ustaçelebi S., 1999). Memeli canlıların normal vücut florasında bulunmakta ancak vücutta çoğalmasına neden olan değişiklikler olduğunda özellikle ağızda, kadın genital organlarında, deride (koltuk altı, meme altlarında), uzun süre temizlik ve çamaşır yıkama ile uğraşan kişilerin elleri ile tırnaklarında bulunabilmekte, tüberküloz ya da kanser gibi hastalıklarda akciğer enfeksiyonlarına ve kontrol edilemeyen lösemi vakalarına neden olabilmektedir. Şekerli ortamlarda da çok rahat çoğalabilen *C.albicans'* in obezite ile yakın ilişkisi tespit edilmiş ve obezitenin dolaylı nedenlerinden birisi olarak gösterilmiştir (Topçu A.W. ve Çerikçioğlu N., 2002).

Yapılan araştırmalar *C.albicans'* in süt ineklerinde mastitise neden olan mikroorganizmalar arasında olduğunu göstermiştir. Süt endüstrisinde özellikle pastörizasyon işleminin yeterli düzeyde yapılmaması neticesinde bakteri proteolitik enzimi sayesinde süt proteinlerini parçalayarak istenmeyen tat ve aromaların oluşmasına sebep olabilmektedir (Kavas G. ve ark., 2015).



Resim 2.17. *Candida albicans* görüntüsü (Anonim, 2019b).

2.9.2. Prebiyotik Aktivite

Probiyotik kelimesi “yaşam için” anlamına gelen yunanca kökenli terimdir. Probiyotikler konağın sağlığına faydalı olan mikroorganizmlardır. Probiyotiklerin, insan sağlığına olumlu etkileri ilk defa 1908 yılında Rus araştırmacı Elie Metchnikoff aracılığıyla açığa çıkmıştır. Probiyotik terimi ilk kez 1965 yılında, Lilly ve Stelwell adlı araştırmacılar tarafından, diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeler olarak tanımlanmıştır. Bu tarihten günümüze kadar probiyotik kelimesi, etki mekanizmalarına ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilere bağlı olarak çok değişik anlamlarda kullanılmıştır (Kesepara E.C., 2018).

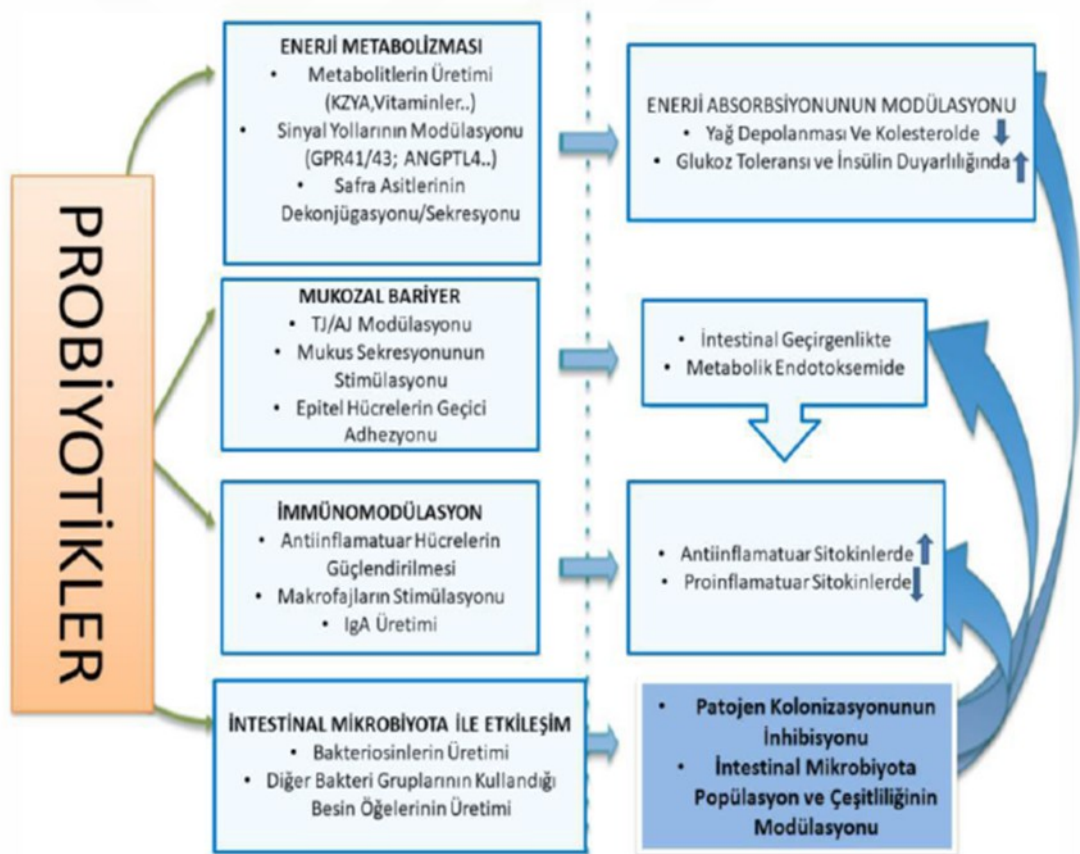
Bağırsaklar günümüzde ikinci beyin olarak kabul edilmektedir. Bağırsaklarımızda 400-500 metrekairelik bir alanda 500’den fazla yararlı ve patojen bakteriler bulunmaktadır. Bağırsaklarımızda, farklı türlerde birçok mikroorganizma bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar konak metabolizması ve beslenmesinde aktif rol oynarlar (Alp D., 2018).

Konakçı bağırsak mikroflorası genelde fakültatif anaerob ve zorunlu anaeroblardan oluşup; %95’i *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* türlerinin içinde bulunduğu zorunlu anaerob, %1-10’unda ise *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Bacillus* türlerinin olduğu fakültatif anaeroblar bulunmaktadır (Damar R.M., 2018). Hipokrat’ın değindiği gibi “Bütün hastalıklar bağırsakta başlar. Bağırsaklar hasta ise vücudun geri kalan kısmı da hastadır” sözüyle probiyotiklerin önemini vurgulamaktadır. Mide-bağırsak sistemi dengesinde oluşan düzensizliklere “disbiosis” denilmektedir. Bu sindirim sistemindeki düzensizliği onaranlara “probiosis” yani “probiyotik mikroorganizmalar” olarak adlandırılmaktadır (Petrof E.O., 2009).

Nisan 2004 İnternational Probiotics Workshop (IPW) bazı bilimciler tarafından probiyotikler; bakteriyel/mikrobiyal tedavi edici, bakteriyel immün sistem düzenleyici maddeler olarak tanımlanması önerilmiştir.

Probiyotik mikroorganizmalarda bulunması gereken özellikler; konakçı için güvenilir olmalı, immün sistemi düzenlemeli, kullanılacağı konakçının türünden elde edilmiş olmalı, tanımlama ve tiplendirmesinin iyi yapılmış olmalı, patojen ve toksik özelliklerinin bulunmamalı (enterotoksin ve sitokin yapımı, enteroinvazivite, patojenik adhezyon, hemoliz, antibiyotik direnç geni taşıma dahil), mide asidi ve safra pankreatik asitlerine dirençli olmalı, antimikrobiyal maddeler salgılayabilmeli, besin katkı maddelerine dirençli olmalıdır (Alp G., 2009).

Probiyotik olarak kullanılan gıdalar; boza, turşu, şalgam, bira, şarap, bitter çikolata, soya ürünleri, peynir, yoğurt, kefir, süt ve süt ürünleri örnek olarak verilebilir (Kıray E. ve ark., 2015).



Şekil 2.14. Probiyotiklerin etki mekanizması (Le Barz ve ark. , 2015).

Probiyotik mikroorganizmalar olarak en sık kullanılan bakteri suşları şunlardır; (Iqbal ve ark. , 2014; Fijan, 2014).

- *Lactobacillus* türleri (*L.acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri* vb.)
- *Bifidobacterium* türleri (*B.animalis*, *B. bifidum*, *B.longum*, *B. infantis* vb.)
- Diğer türler (*P. pentosaceus*, *B. subtilis*, *Leuconoctoc mesentoroides*, *Saccharomyces boulardii*, *Streptococcus thermophilis*, *E. faecium*, *L. lactis* vb.)

Prebiyotikler, bağırsaktaki bir ve\veya birden fazla bakterinin çoğalmasını, aktivitesini sağlayarak konakçıya yararlı sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak tanımlanır (Harman ve Knol, 2006). Bir gıda içeriğinin prebiyotik olarak tanımlanabilmesi için; yıkıma uğramaması, emilememesi, yararlı mikroorganizmaların selektif olarak oluşumunu sağlaması, magna intestinumdaki mikrobiyal kümelenmelerini yararlı yönde değişimini sağlamalıdır (Gibson G.R. ve Robertfroid M.B.,1995). Bir gıda içerisinde hem probiyotik hem de prebiyotik bulunuyorsa simbiyotik olarak tanımlanmaktadır (Akman C., 2009).

Çizelge 2. 5. Prebiyotik Gıda Bileşenleri

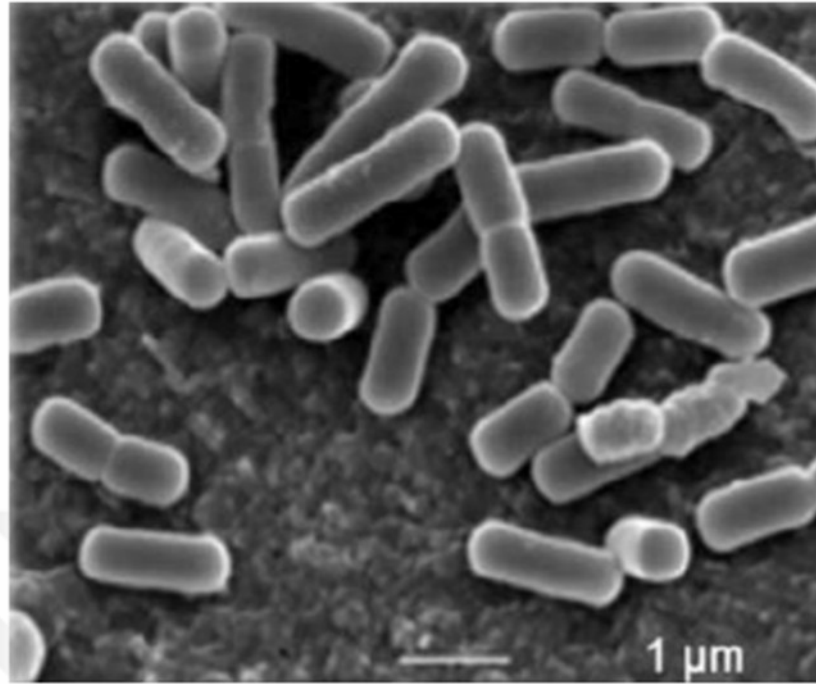
Frukto- oligosakkaritler
Gluko- oligosakkaritler
Galakta- oligosakkaritler
Transgalaktaoligosakkaritler
İzomalto- oligosakkaritler
Ksilo- oligosakkaritler
Raftilin
Raffinoz
Soya fasülyesi oligosakkaritler
Gentioligosakkaritler
Dirençli nişasta
Laktuloz
Laktosukroz
Palatinoz
Polidekstroz
Pirotoktrin
İnülin

Bağırsak florasındaki Laktik asit bakterileri (LAB) asidofiliktir (optimum büyüme pH: 3,5-6,5). Bulundukları ortama adapte olduklarından ve asidik ortama dayanabildiklerinden, toksin ve endojen kaynaklı mutajenik maddelere karşı korunabilme yeteneklerinden dolayı probiyotik olarak tercih edilmektedirler (Alp D., 2018). Laktik asit bakterileri metabolik aktivite olan glikoliz evresinde anaerobik koşullarda laktik asit üretirler. Fermente yeteneği gelişmiş olan laktobasiller laktozun yanı sıra şeker grubu olan fruktoz, glukoz ve galaktozuda kullanabilir (Krieg ve ark., 1984; Wood ve ark.,1995; Ebrahimi, 2013).

Laktik asit bakterileri (LAB), glikozu fermente etme çeşitlerine bağlı olarak iki ana gruba ayrılmaktadır; homofermantatif ve heterofermantatif (Drinan ve ark., 1976; Zoral, 2013).

2.9.3. *Lactobacillus* sp.

Lactobacillaceae familyasından *Lactobacillales* takımındaki *Bacilli* sınıfının *Firmicutes* bölümüne ait *laktobacilluslar*, fakültatif anaerob sporsuz, gram (+), katalaz (-) basil görünümde bakterilerdir (Kesepara E.C., 2018). Üreme sıcaklıkları 5-55 derece arası değişebilmekte olup uygun üreme sıcaklıkları 30-40 derece olarak kabul edilir. Ana metabolik son ürünü olan laktik asiti, karbonhidrat fermantasyonu sayesinde üretirler (Chikindas M., 2012).



Resim 2.18. *Lactobacillus* elektron mikroskop görüntüsü (Kılıç Y.,2003).

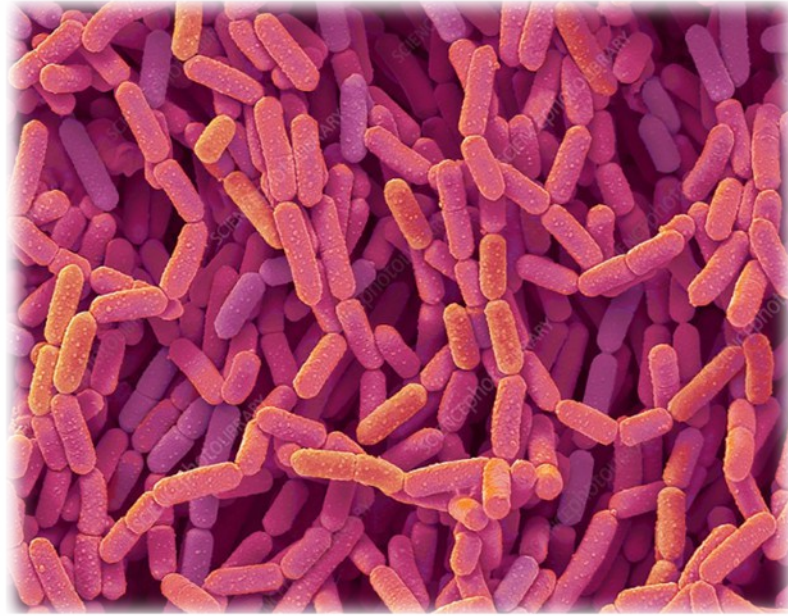
2.9.3.1. *Lactobacillus rhamnosus*

L.rhamnosus süt ürünlerinde hızlı üreyebilme yeteneğinde olan bir *lactobacillus* çeşitidir. Laktobasiller içerisinde antibakteriyel özellik gösteren fakültatif heterofermentatif özelliktedir ve 5 karbonlu şekerleri, glukogonları mayalama özelliğine sahiptir (Arslan S., 2010).

L. rhamnosus GG (53103 ATCC) a, [suşu](#) sağlıklı bir insanın bağırsak 1983 yılında izole edildi; 17 Nisan 1985 tarihinde Sherwood Gorbach ve Barry Goldin tarafından patent başvurusu yapılan “GG”, soyadlarının ilk harflerinden türemiştir (Wuyts S. ve ark., 2017). Patent, 53103 erişim numaralı American Type Culture Collection (ATCC) ile bir “*L. acidophilus* GG” suşuna atıfta bulunmaktadır; daha sonra *L. rhamnosus* suşu olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Patent, *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103) suşunun asit ve safra stabil olduğunu, insan bağırsak mukozal hücreleri için büyük bir aktiveye sahip olduğunu iddia ediyorlardı (Liu D.D. ve Gu C.T., 2020). *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103) suşunun keşfedilmesinden bu yana, çeşitli sağlık yararları üzerinde kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır ve şu anda *L. rhamnosus* GG

(ATCC 53103) suşu, 800'den fazla bilimsel çalışma ile dünyanın en çok çalışılan probiyotik bakterisidir.

Lactobacillus rhamnosus GG' nin (ATCC 53103) genom dizisinin kodu 2009'da çözüldü. *L. rhamnosus* ATCC 53103' ün genomu, 2,834 13 protein kodlayan gen içeren ve plazmid içermeyen halkasal bir 3,005,051 baz çifti kromozomundan oluşmaktadır. Bu suş diğer *Lactobacillus*larla karşılaştırıldığında taşıma ve savunma sisteminde görevli yüksek sayıda protein barındırmaktadır (Biswas S. ve Biswas I., 2016).



Resim 2.19. *L.rhamnasus* SEM görüntüsü (Anonim,2021 f).

2.9.3.2. *Lactobacillus reuteri*

20. yüzyılın başlarında, yanlışlıkla *Lactobacillus fermentum* bir üyesi olarak gruplandırılmış olsa şuan da laktik asit bakterilerinden olan *L. reuteri* olarak bilimsel sınıflandırmada kaydedilmiştir. 1960'larda, [mikrobiyolog Gerhard Reuter'in](#), türün sonunda adını aldığı Reuterin daha fazla çalışma yapılarak, türleri *L. fermentum* biyotip II olarak yeniden sınıflandırmıştır (Athalye J .G., ve ark. , 2015) Biyotip II ve diğer *L. fermentum* biyotipleri arasında, 1980'de ayrı bir tür olarak tanımlandığı ve biçimsel tür kimliği olan *L. reuteri*' nin önerildiği noktaya kadar önemli farklılıklar bulundu.

Nisan 2020’de *L. reuteri*, *Limosilactobacillus* yeniden cinsinin üyesi olmuştur (Zheng J. ve ark., 2020). *L.reuteri* adında görüldüğü antimikrobiyal madde olan reuterin üretmektedir. Bu reuterin bazı patojen Gram (-) ve Gram (+) bakterilerin yanı sıra funguslar, mayalar ve protozoanın büyümesini ve gelişmesini engellemektedir. Bazı çalışmalar, *L. reuteri*’nin sağlığı geliştirici aktivitesi için reuterin üretiminin gerekli olup olmadığını araştırmaktadır. Bir antibiyotik madde üretim araştırmaları çok sayıda bilimsel araştırmaya yol açmaktadır. 2008 yılının başlarında, *L. reuteri*’nin gastrointestinal sistemde reuterin üretebildiği ve *E. coli*’nin büyümesini inhibe etme kabiliyetini geliştirdiği doğrulanmıştır (Wang B. ve ark., 2010). *L. reuteri*, çeşitli doğal ortamlarda bulunur. Et ve süt ürünleri başta olmak üzere birçok gıdadan izole edilmiştir. Hayvanlar aleminde ve her yerde, esas olarak mide-bağırsak yollarında ve sağlıklı insanların dışkı, koyun , tavuk , domuz ve [kemirgenler](#) görünmektedir. Test yapılan konakçı hayvanların her birinin bağırsaklarında bulunan *Lactobacillus* türlerinin ana bileşenini oluşturan tek türdür. Her konakçının kendine özgü spesifik *L. reuteri* suşunu barındırdığı görülmektedir (Savino F. ve ark., 2010).

2.9.4. Antioksidan Aktivite

Organizmada meydana gelen serbest radikaller, hücrenin savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılır. Bu savunma sistemine antioksidanlar adı verilir. Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi bir denge halindedir. Yani serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızları birbirine eşittir. Bu duruma oksidatif denge denir. Oksidatif denge var olduğu sürece, metabolizma serbest radikallerden etkilenmemektedir. Fakat bazı durumlarda antioksidanların savunma kapasitesini aşan serbest radikal oluşumu söz konusu olabilir. Çeşitli endojen ve eksojen faktörlerin etkisiyle artan radikal oluşumu veya azalan antioksidan savunması, var olan oksidatif dengeyi bozar. Antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması ve serbest radikallerin yüksek miktarlara ulaşması sonucu oluşan bu duruma oksidatif stres denir (Keha E. ve Küfrevioğlu Ö.İ., 2004; Halliwell B. ve Gutteridge M.C., 1990). Antioksidan savunma sistemine rağmen, serbest radikallerin hücrelere değişik düzeyde zarar vermesi kaçınılmazdır. Şiddetli oksidatif stres, hücrede hasara ve hücre ölümüne yol açar. Oksidatif stresin vereceği zarar, stresin

şiddetine, etkilenen molekülün türüne, antioksidan savunmanın kapasitesine göre değişir (Akkuş İ., 1995). Oksidatif stres; proteinler, membran lipitleri, DNA gibi önemli birimlerde hasara sebep olur. Özellikle DNA üzerinde nükleik asitleri hasara uğratmakta ve kansere sebep olabilmektedir. Düşük seviyedeki oksidatif stresin etkileri çok uzun bir süreç sonucunda ortaya çıkarken (yaşlanma vb.) , yüksek şiddetteki oksidatif stresin etkileri kısa sürede ve ciddi hastalıklar olarak gözlemlenmektedir. Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarı sebebiyle birçok kronik hastalığın ortaya çıktığı belirtilmektedir. Bu hastalıkların bazıları arteroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, karsinogenezis, Parkinson, Down sendromu, iskemi-reperfüzyon injürisi olarak sayılabilir (Keha E. ve Küfrevioğlu Ö.İ., 2004; Keser G., 2005; Bowler R.P. ve Crapo J.D., 2002).

Serbest radikaller veya oksidanlar, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom, iyon veya moleküllerdir (Choi W. ve ark., 2004). Bilindiği gibi organizmada enerji açığa çıkması, metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucudur. Aktarılma esnasında elektron transfer zincirinden sızan elektronların oluşturduğu oksiradikaller hücrelerde bütünlük ve geçirgenlik bozuklukları oluşturmaktadır (Fang Y.Z. ve ark., 2002).

Oksidatif stres kavramı, Profesör Helmut Sies tarafından "Tehlikeye yol açma durumu bulunan oksidantlar ile antioksidantlar arasındaki dengesizlik" olarak tanımlanmıştır. Normal şartlarda kullanmış olduğumuz oksijenin yaklaşık %2'si reaktif oksijen türlerine dönüştürülmektedir. Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktifleri yüksek molekül veya atomlar serbest radikal olarak adlandırılır. Radikal eşlenmemiş elektronun atomik ya da moleküller orbitali kendi başına işgal etmesidir.



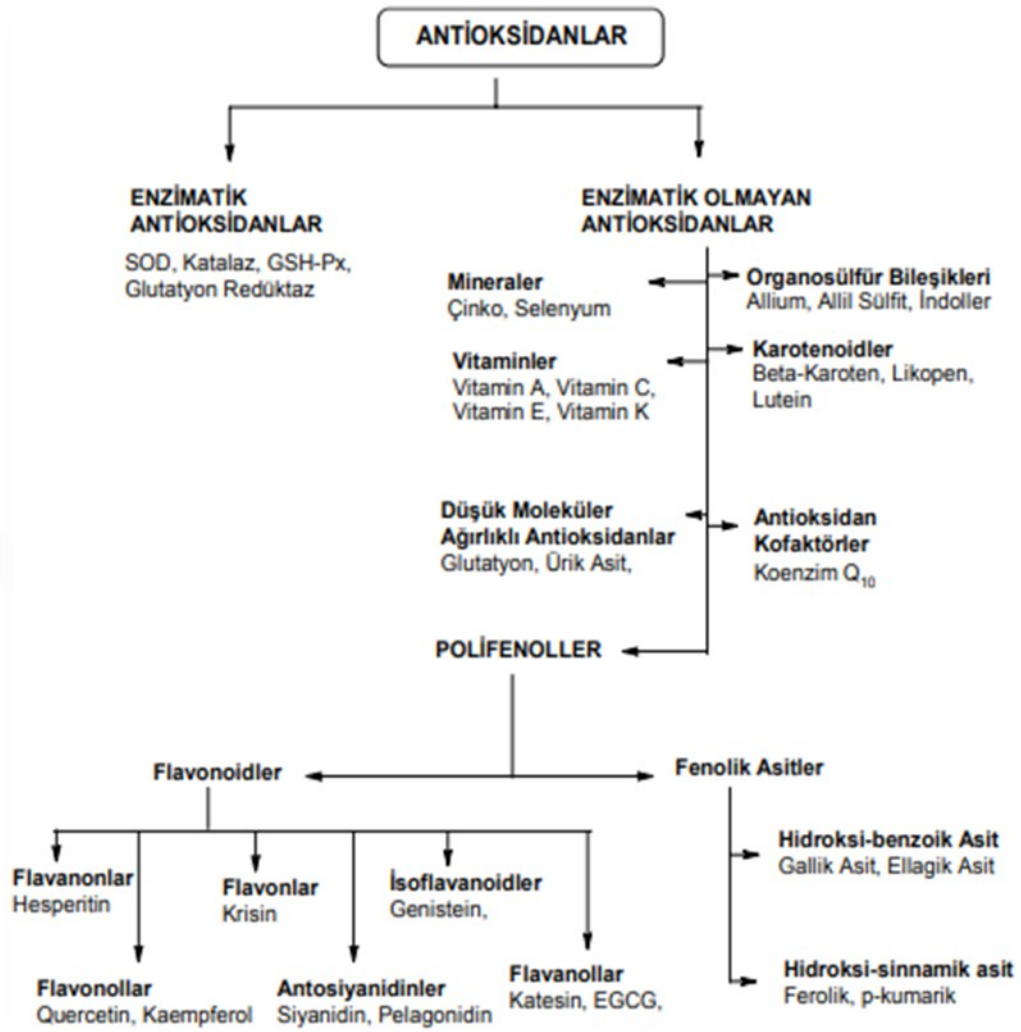
Şekil 2.15. Oksidatif denge (Özcan O. ve ark. , 2015).

Canlıların serbest radikallerin etkisinden korunması için antioksidatif korunma sistemine sahip oldukları bilinmektedir. Bazı durumlarda antioksidatif koruyucu sisteminin iyi çalışmaması sonucunda, serbest radikallerin sayısının vücutta arttığı görülür. Bu durum vücutta bazı hasarlara yol açar. Serbest radikallerin miktarı arttıkça hücresel yaşlanma hızlanır, önce hücre ölümü daha sonra doku ölümü gerçekleşir. Buna bağlı olarak beyin damarlarının tahribatına varan hasarlar oluşur (Bilaloğlu G.V. ve Harmandar M., 1999). Serbest radikaller, dış orbitallerinde bulunan elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerler. Böylece somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran ve kanser, diyabet, alerji, katarakt, nörodejeneratif hastalıklar, arterioskleroz gibi birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan moleküllerdir (Hurst R. ve ark., 1997; Jornot L. ve ark., 1998; Mills E.M. ve ark., 1998). Yine canlıların hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı ve hipoksi, inflamasyon, ısı, iskemi, travma v.b. gibi durumların radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olduğu ileri sürülmektedir (Aslan R.ve ark., 1995; Wickens A.P., 2001). Oksidatif stres ile ilgili savunma mekanizmaları; bu mekanizmaların engellenmesi, onarımı, fiziksel savunma ve antioksidan savunmayı kapsamaktadır. Hücrenin antioksidan

savunmasında görev alan enzimlerin düzenleyici etkileri olduğu gösterilmiş olup, kardiyovasküler hastalıklarda oluşan oksidatif stresin iyileştirilmesinde kullanılan antioksidanların yeni terapötik yaklaşımlara ışık tutabileceğini belirtmiştir (Sayın O. ve ark., 2008).

Antioksidanlar, oksijenin tahrip edici reaksiyonuna (oksidasyon) karşı koruyucu özellik gösteren maddelerdir. Organizma gerek iç (sindirim, solunum, hastalık, yaralanma vb.) ve gerekse dış (çevresel faktörler) etkenlerin uyarımlarıyla sürekli baskı altındadır. Bu baskılar sırasında ve sonrasında oluşan oksidan moleküller hücrelere ve dokulara saldırarak tahribata neden olur). Organizmada, reaktif oksijen türlerini ve diğer prooksidanları, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimlerle sürekli etkisizleştiren bir sistem mevcuttur. Reaktif oksijen türlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (Ritola O. ve ark., 2002; McLean J.A. ve ark., 2005).

Antioksidanları üretildikleri bölgeye göre, doğal ya da yapay oluşlarına ve etki mekanizmalarına göre pek çok sınıfta toplamak mümkündür. Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet ile dışarıdan da alınabilirler. Şekil 2.16.' da antioksidanların sınıflandırılması verilmektedir.



Şekil 2.16. Antioksidanların sınıflandırılması (Özkaya A., 2007).

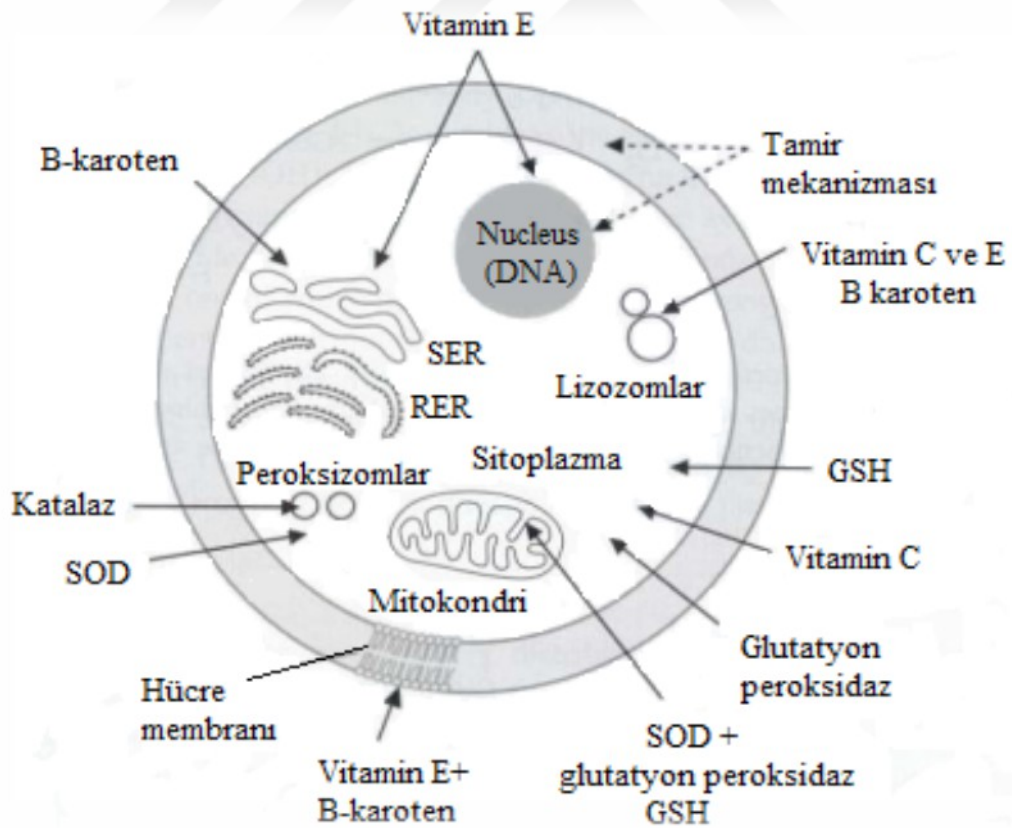
Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler: (Temür N., 2006)

I. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:

- Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırma etkisi.
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki.
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

II. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

- Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha az reaktif olan yeni bir moleküle çevirme “toplayıcı” etkidir. Antioksidan enzimler (SOD, katalaz, GSH-Px vb.) bu şekilde etkilidir.
- Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme “bastırıcı” etkidir. Askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), flavonoidler (kuersetin, kateşin vb.) bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincir reaksiyonlarını kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki “zincir kırıcı” etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin, albumin gibi bileşikler bu şekilde etki ederler.
- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması “onarıcı” etkidir.



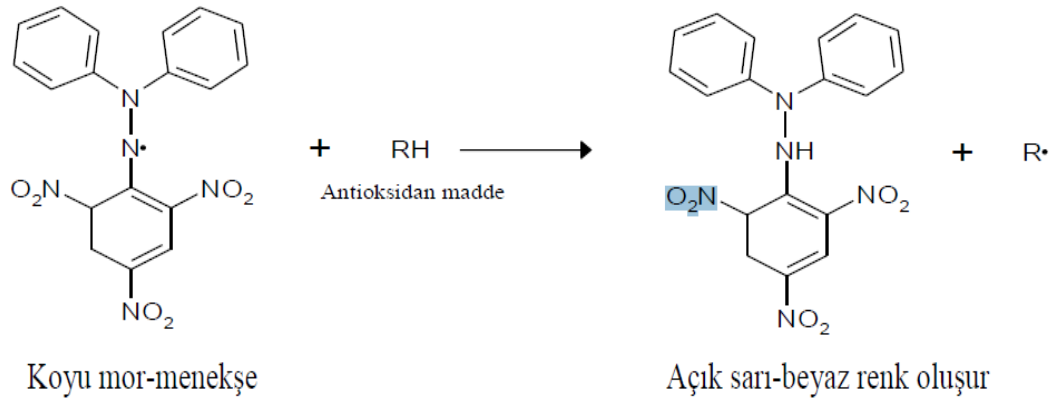
Şekil 2.17. Hücrede antioksidan mekanizmaları (Gürbüz D.G., 2008).

2.9.5. Antioksidan Tayin Etme Yöntemleri

2.9.5.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi

Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi olan bu yöntem ilk olarak Brand-Williams ve arkadaşları tarafından 1995 yılında geliştirilmiş olup sonrasında Sanchez ve arkadaşları tarafından 1998 yılında değiştirilerek kullanılmaya başlanmıştır (Ali ve ark., 2008). DPPH ticari olarak elde edilebilen stabil organik nitrojen radikalidir (Huang D. ve ark., 2005). DPPH radikal süpürme kapasitesi analiz yöntemleri doğal ekstraktların antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla kullanılan bir yöntemdir (Mot C.A. ve ark., 2011). Bu yöntem de temel olarak antioksidan tarafından DPPH serbest radikaline proton transferi reaksiyonu 517 nm’de absorbansın azalmasına sebep olmaktadır. Bu süreç görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilmesine dayanmaktadır (Albayrak S. ve ark., 2010). DPPH radikali metanolik çözeltide okside formunda yaklaşık 520 nm de maksimum absorbansa sahip bir kimyasaldır. Bu metot basit, hızlı ve birçok örneğin radikal süpürme aktivitesini izlemek için farklı örneklerin çözünürlüklerine elverişli bir metot olarak tarif edilir. Ancak ışığa, oksijene ve kirliliğe olan hassasiyeti bu metodun kullanımda belli oranda sınırlamalara neden olmaktadır (Mot C.A. ve ark., 2011). Antioksidan-DPPH radikali reaksiyon mekanizması aşağıda olduğu gibidir.





Şekil 2.18. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin indirgenmesi (Huang ve ark., 2005).

DPPH, koyu mor renkte bir radikaldır. Antioksidandan bir proton alarak renksiz α, α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür. Antioksidan madde tarafından indirgenmesi sonucu rengi açılır. Bu metodun dezavantajı ise büyük antioksidan moleküllerin sterik engellenmeye maruz kalmaları nedeniyle inaktif olarak test edilmeleridir (Pokorny J. ve ark., 2001; Huang ve diğ., 2005).

2.9.6.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Yöntemi

Normal koşullarda, iç veya dış kaynaklı etkenlerden oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif strese karşı savunma yapan kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Bu yöntem sayesinde vücudun total antioksidan miktarı belirlenerek antioksidan savunma sisteminin seviyesi belirlenmektedir. Ticari kit kullanılarak hesaplanmaktadır.

3.MATERYAL-METOT

3.1.MATERYAL

3.1.1.Araştırmanın yeri

Bu araştırma Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji / Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Örneklerin temini

Tez çalışma numunesi olan Ceviz (*Juglans regia* L.) sütü için kullanılan cevizler Çorum ilinin Oğuzlar ilçesinden temin edildi. Sitotoksikite testi için kullanılan sağlıklı fare fibroblastı (L929), meme kanseri (MCF-7) ve karaciğer karsinoma (HepG-2) hücre hatları ticari olarak temin edildi. Antimikrobiyal aktivite ve prebiyotik etkinlik deneylerinde kullanılan mikroorganizmalar Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edildi.

3.1.3.Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

- Dulbecco's Modified Eagle Medium (Cat no: F1218, Biochrom GmbH, Germany)
- L-glutamin (Cat no: K0283, BIOCHROM AG, Germany)
- Penisilin- Streptomisin (10,000U/ml) (Cat no: A2210, BIOCHROM AG, Germany)
- Tripsin/EDTA Solusyonu (Cat no: L2143, Biochrom GmbH, Germany)
- Tripan mavisi (Sigma Aldrich, USA)
- Dimetil sülfoksit (DMSO) (Cat no: A3672, Applichem GmbH, Germany)
- Etanol
- Fosfat tamponlu tuz çözeltisi pH 7-4 (1X) (PBS) (kalsiyum klorür/Magnezyum klorü)
- %10 fetal sığır serumu (Fetal bovine serum- FBS)

- 0,22 ve 0,45 µm filtreler
- Inverted Mikroskop (Zeiss)
- CO₂'li İnkübatör (Esco)
- Santrifüj (Nüve CN 180)
- Vorteks (DragonLab mx-f)
- Hücre Kültür Kabini (Class II-ESCO)
- Mikropipet Takımı (Dragonlab)
- 25 cm² ve 75 cm² Flasklar
- 15 ml ve 50 ml Falconlar
- Hematositometre
- Otomatik Hücre Sayımı (Bio-Rad)
- Işık Mikroskobu (Olympus)
- Derin Dondurucu (-20°C)(Uğur)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Derin Dondurucu (-80°C)(Wisecryo)
- Hassas Terazî (Rodwag)
- Otoklav (Alp)
- Manyetik Karıştırıcı (Mtops)
- pH Metre Cihazı (Mettler Toledo)
- Spektrofotometre (Biochrom)
- Homojenizatör (KA T 25 Digital Ultra Turrax)
- ELISA Mikroplate Okuyucu (Rayto RT-3100)

3.1.4. Araştırmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanışı

Lactobacillus suşlarının aktifleştirilmesi için Man Ragosa Sharp (MRS), patojen mikroorganizmaların aktifleştirilmesi için NB (Nutrient Broth) ve antimikrobiyal çalışmalar için Müller Hilton Agar (MHA) besiyeri kullanıldı.

Çizelge 3. 1. MRS Broth besiyeri hazırlama

MRS BROTH HAZIRLAMA	MİKTAR
Peptone	2,5 gr
Beef Extract	2,5gr
Yeast Extract	1,25 gr
Dextrose	5 gr
Na. Asetat 3.H ₂ O	1,25 gr
Tri Amonyum Sitrat	0,50 gr
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 gr
MnSO ₄ .4H ₂ O	0,0125 gr
Na ₂ HPO ₄	0,5 gr
Tween 80	0,25 ml

3.2. METOT

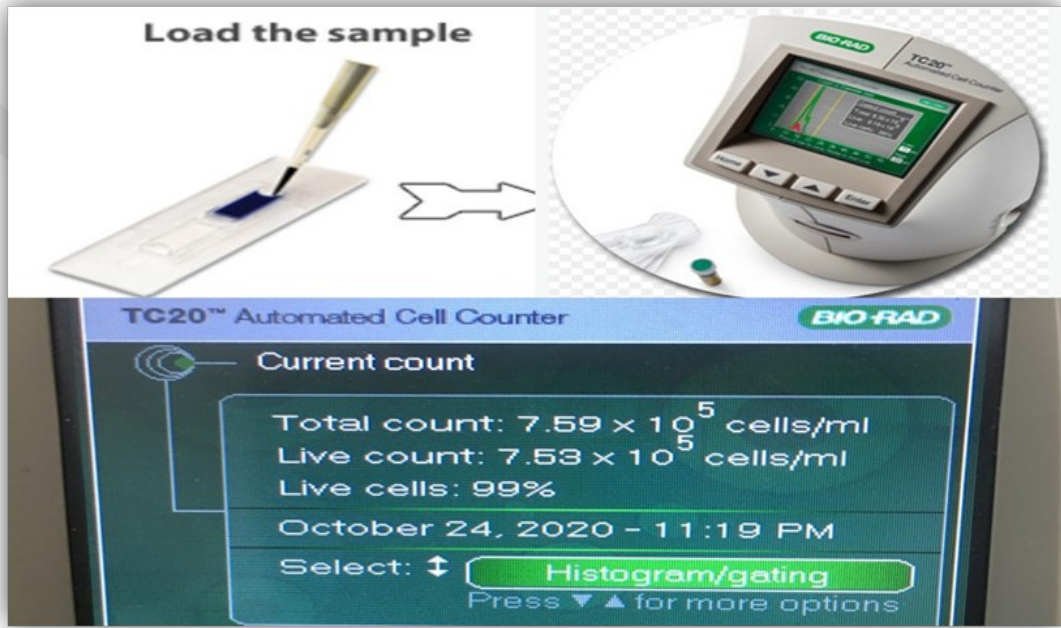
3.2.1. Ceviz (*Juglans regia* L.) Sütü Elde Etme Yöntemi

Yaklaşık 80 gr ceviz içini 40-50 °C’de distile su içerisinde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası ceviz içleri dış kabuklarından ayrıldı ve soyulan ceviz içi 1:1 oranında olacak şekilde distile su eklenerek 1000 Watt gücündeki blenderdan geçirildi. Elde edilen ceviz sütü müslin bezle 2 kere süzülerek steril cam şişelere aktarılır. Deneyler için alikotlama yapılarak steril falkonlara bölünmüştür. +4 °C’ de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2.Hücre Kültürü

Ticari olarak elde edilen L929, MCF-7 ve HEPG-2 hücre hatları kullanılmak üzere flasklarda çoğaltıldı. Hücrelerin idame ettirilmesi için %10 fetal sığır serumu (Fetal bovine serum- FBS) ve %1 Penisilin-streptomisin ile desteklenmiş Dulbecco's Modified Eagle Medium low-glucose (L-DMEM 1 g/L glucose, 4.0 mM L Glutamine)’den oluşan kültür ortamı kullanıldı. Hücreler 37°C’de %5 CO₂ içeren inkübatörde çoğaltıldı. Flasklar içerisinde idame ettirilen hücreler deneysel uygulama için yeterli hücre sayısına ulaştığında hücre ortamı uzaklaştırılıp hücre yüzeyi PBS ile yıkandı. Yıkama sonrası PBS de uzaklaştırılıp hücrelerin üzerine Tripsin-EDTA

eklenilir 3-5 dakika CO₂ inkübatöründe (37°C'de) enzimin aktive olması ile hücrelerin birbiriyle olan bağlantıları inhibe edildi. Bu süre sonunda enzim aktivitesini durdurmak için FBS içeren complete medium eklendi. Steril ependorfe 20 µl hücre complete ve 20 µl tripan blue boyası eklenilir. Pipetaj yapılarak 10 µl Neubauer lamına yüklenerek otomatik hücre sayım cihazında canlı hücre hesaplaması yapıldı. BIO-RAD TC 20 cihazında Neubauer lamı ile canlı ve ölü hücrelerin belirlenmesi.



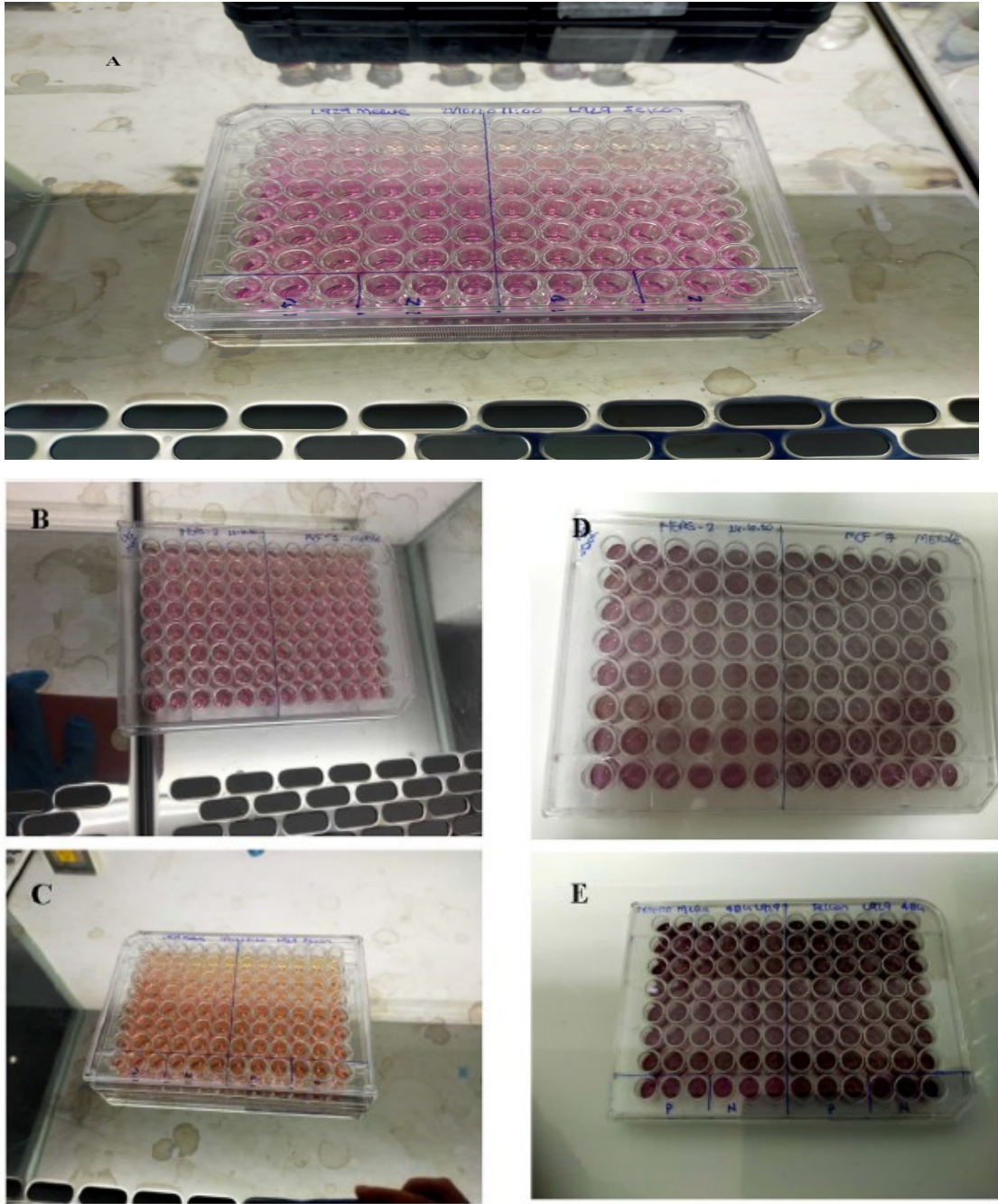
Resim 3.1. BIO-RAD TC 20 cihazında Neubauer lamı ile canlı ve ölü hücrelerin belirlenmesi.

48'lik platlerin 45 kuyucuğuna her kuyucukta 5×10^3 hücre olacak şekilde 100 µl ekim yapıldı. Plate tablosunda negatif kontrol olarak H4, H5 ve H6 kuyucuklarına 100 µl complete medium ekildi. 24 saat %5 CO₂ inkübatöründe inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler kuyucuklara tutundukları için mediumları uzaklaştırıldı. 0,20 µm filtreden geçirilerek steril edilen ceviz sütü farklı konsantrasyonlarda (500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81 µg/ml) 3 paralel set olacak şekilde 100 µl her kuyucuğa ekildi. Negatif kontrol olan complete medium atıldıktan sonra tekrar 100 µl yeni complete medium ekimi yapıldı. 18-24 saat %5

CO₂ inkübatöründe inkübe edildi ve inkübasyon sonunda hazırlanan MTT solüsyonundan 10 µl tüm kuyucuklara ekim yapıldı. 4 saatlik 37°C’de inkübasyon sonunda 100 µl Dimetil sülfoksit (DMSO) eklenilerek ELISA cihazında 570 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Her hücre için 24 ve 48 saat olacak şekilde çalışıldı. *Juglans regia* L. sütünün hücre hatları üzerindeki % canlılık oranları Excell (2016) programıyla hesaplandı. GraphPad Prism 9 proglamıyla IC₅₀-EC₅₀ (yarım en yüksek inhibitör konsantrasyon-yarım maksimal etkili konsantrasyon) değeri belirlenerek istatistiksel hesaplamalar yapıldı.



Resim 3.2. MTT için kullanılan blue tetrazolium.

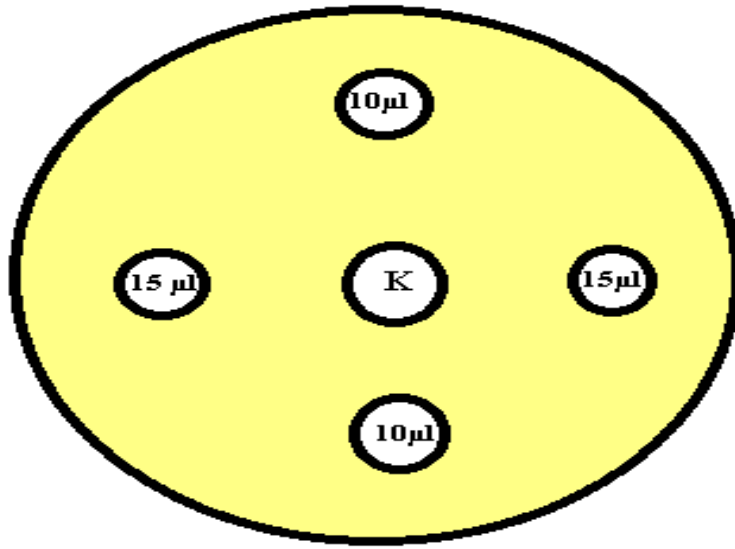


Resim 3. 3. A) Hücreli complete mediumun platelere yüklenmiş hali (renk: açık pembe) **B)** Ceviz sütü konsantrasyonlarının sırasıyla yüklenmiş görüntüsü (renk: bulanık pembe) **C)** Ceviz sütü üzerine MTT solüsyonun yüklemiş hali (renk: sarı-pembe) **D)** MTT solüsyonun 37°C’ de 4 saat inkübasyon sonundaki hali (renk: koyu pembe) **E)** İnkübasyon sonunda DMSO eklendikten sonraki hali (renk: koyu mor).

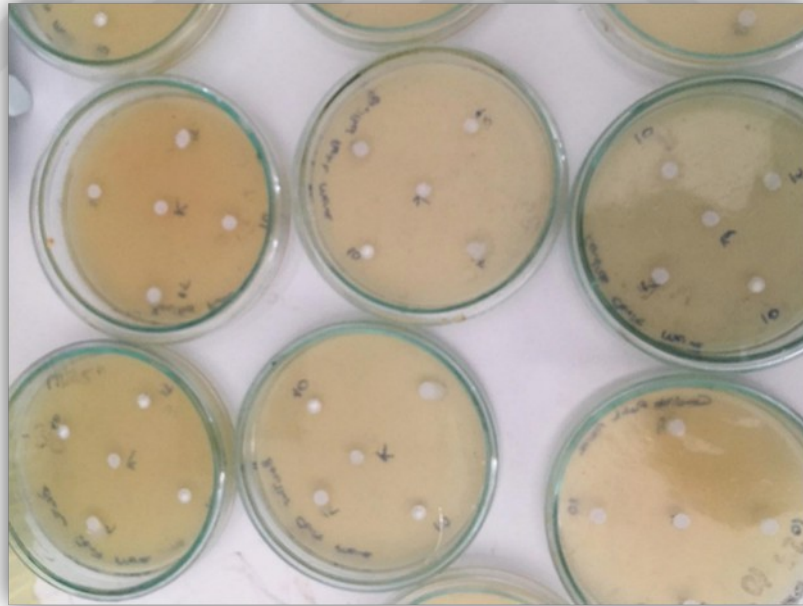
3.2.3. Antimikrobiyal aktivite testi

5ml'lik tüplere hazırlanan NB sıvı besiyerlerine patojen olan *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalar aktifleştirildi. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 42 °C' de diğer mikroorganizmalar 37°C' de 24 saat etüvde inkübe edildi. 24 saat sonunda kültürlerin saflığı Gram boyama yöntemi ile ışık mikroskopunda kontrol edildi. Saf olduğu belirlenen patojen mikroorganizmalar temiz NB besiyerlerine ekildi. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 42 °C' de diğer mikroorganizmalar 37°C' de 18-24 saat etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların yoğunlukları (Optik dansite, O.D.) spektrofotometre cihazı kullanılarak 600 nm dalga boyunda absorbans değeri 0,600'e ayarlanır.

O.D' si ayarlanan mikroorganizmalar MHA (Müller Hilton Agar) besiyerine yayma yöntemi ile ekimi yapıldı. Daha sonra, Whatman kağıdınan elde edilen steril diskler yerleştirildi ve steril disklere kontrollü olarak 10 µl ve 15 µl olacak şekilde 0,40 µm filtreden geçirilerek steril edilen saf ceviz (*Juglans regia* L.) sütü eklendi. Negatif kontrol olarak 10-15 µl distile su kullanıldı. Ekimleri yapılan plakalar 37°C' de inkübasyona bırakıldı. *B. subtilis* ATTC 6633 deneyleri için 42 °C' de inkübasyon sağlandı. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonu oluşup oluşmadığı belirlendi ve oluşan zon çapları mm olarak hesaplandı. Tüm deneyler eş zamanlı 2 paralelli olarak çalışıldı.



Şekil 3.1. Antimikrobiyal testi petri ekim şablonu



Resim 3.2. Petrilerin inkübasyon öncesi görüntüsü.

3.2.4. Antioksidan aktivite testleri

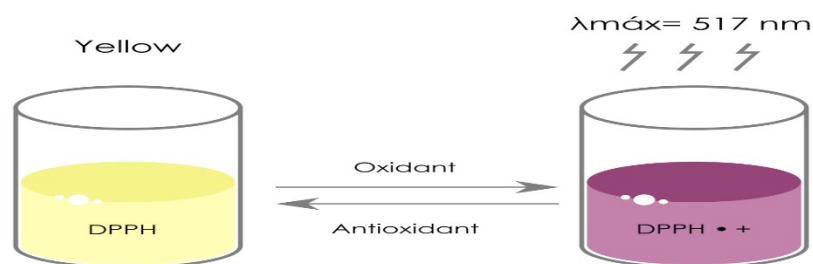
3.2.4.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali (DPPH) testi

Standart hazırlama:

DPPH testi için çözücü distile su ve etil alkol olmak üzere 2 ayrı standart hazırlandı. Standart içerisinde 1:1 oranında BHT (Bütil hidroksi tolüen) bulunan 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160 mg/ml konsantrasyonlar hazırlandı ve spektrofotometre cihazında 517 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.

Örneklerde:

0,1 milimolar DPPH çözeltisi hazırlandı. 1 ml saf ceviz sütü içerisinde 3 ml DPPH çözelti eklendi ve 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda spektrofotometre cihazında 517 nm dalga boyunda ölçüm yapılır. İkinci defa 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra spektrofotometre cihazında 517 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.



Şekil 3.2. DPPH'in renk değişim reaksiyonu.

3.2.4.2. Total Antioxidant Status (TAS) testi

Total Antioxidant Status (TAS) testi için Rel-Assay Diagnostics ticari kit kullanıldı. Çalışmada üreticinin talimatları uygulandı ve spektrofotometre cihazında 600 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.



Resim 3.3. Total antioksidan miktarını belirlemek için kullanılan (TAS) Rel-Assay Diagnostics kiti.

3.2.5. Prebiyotik aktivite

Lactobacillus rhamnasus ATCC 53103 ve *Lactobacillus reuteri* DSMZ 17938 suşları 5 ml'lik steril MRS sıvı besiyerinde 24 saat 42 °C' de inkübe edildi. Saf olan probiyotik bakteriler spektrofotometre cihazında 600 nm dalga boyunda absorbans değeri 0,600'e ayarlandı. % 2 oranında steril ceviz sütü ve her bir *Lactobacillus* suşlarının MRS sıvı besiyerine ekildi. Negatif kontrol olarak MRS besiyerine steril ceviz sütü ekildi. Ekimi yapılan sıvı besiyerleri 24 saat 42 °C' de etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda spektrofotometre cihazında 600 nm dalga boyunda absorbans değerleri hesaplanır.



Resim 3.4. Ceviz sütü ve *Lactobacillus* suşlarının ekim görüntüsü.

3.2.6. İstatiksel analiz

İstatiksel analizler ve sonuçların hesaplamaları SPSS ve Graphpad Prism (9.0) uygulamalarından hesaplanmış, yorumlanmış ve eklenmiştir. Tüm deney parametreleri tekrarlı ve kontrollü setler dahilinde tasarlandı.

4.BULGULAR

4.1. Ceviz (*Juglans regia* L.) sütü elde etme verileri

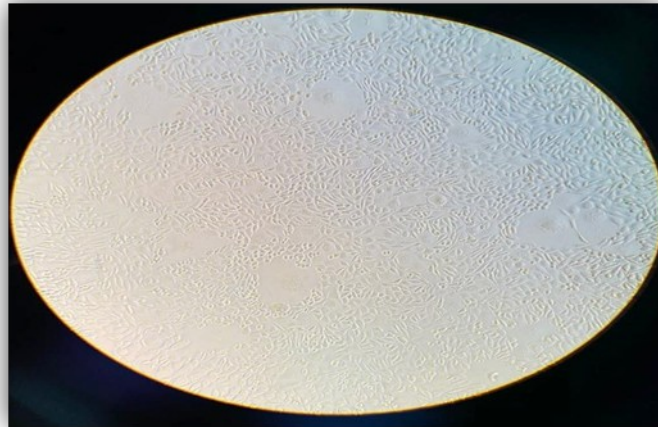
Yaklaşık 80 gr ceviz içinden, süt elde etme prosedürü uygulandıktan sonra yaklaşık olarak 600 ml ceviz sütü elde edildi.



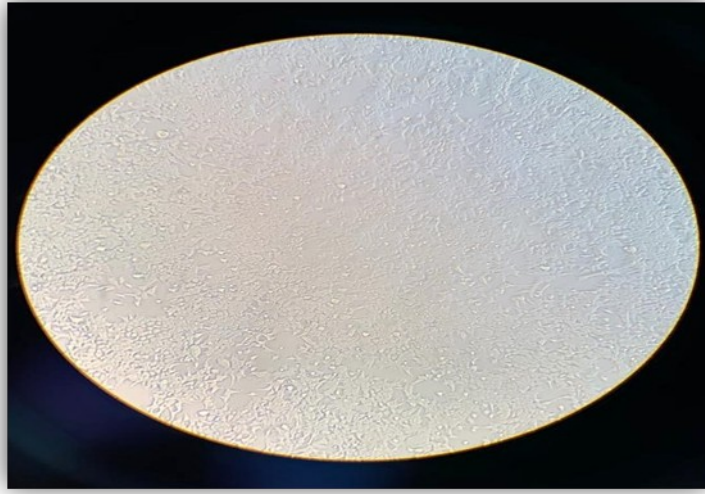
Resim 4.1. Elde edilen ceviz sütünün görünümü.

IV.2. Hücre kültürü verileri

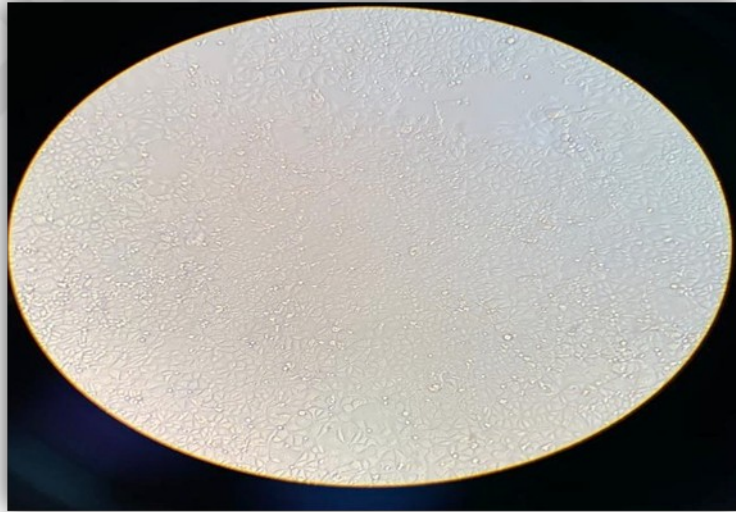
%10 fotal sıgır serumu (Fetal bovine serum- FBS) ve %1 Penisilin-streptomisin ile desteklenmiş Dulbecco's Modified Eagle Medium low-glucose (L-DMEM 1 g/L glucose, 4.0 mM L Glutamine)'den oluşan kültür ortamında L929 (Resim 4.1.), HepG-2 (Resim 4.2.) ve MCF- (Resim 4.3.) hücre hatlarının proliferasyonu sağlandı.



Resim 4.2. L929 hücre hattının inverter mikroskop görüntüsü(100X).



Resim 4.3. HepG-2 hücre hattının inverter mikroskop görüntüsü(100X).

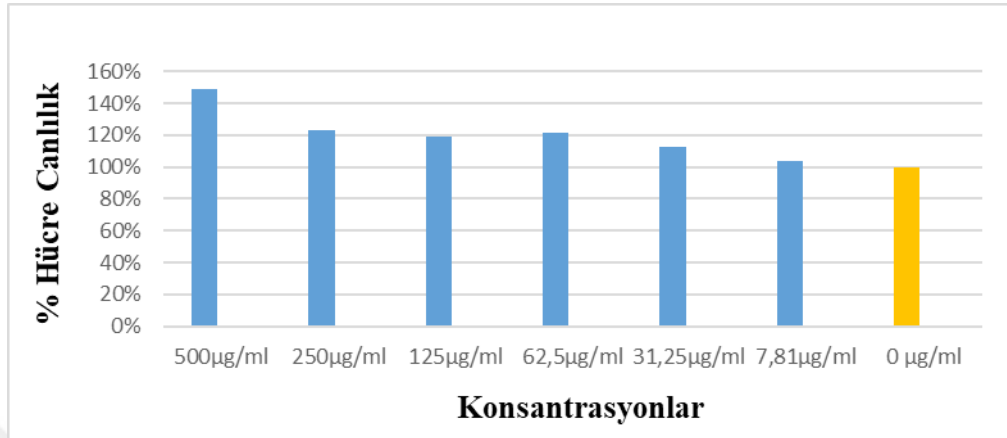


Resim 4.4. MCF-7 hücre hattının inverter mikroskop görüntüsü(100X).

4.3. Ceviz (*Juglans regia* L.) sütünün hücre kültüründe canlılık üzerine etkileri

L929 sağlıklı fare fibroblastı hücre hattının 24 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksite testi bulgularında 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 7,81 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonların sırasıyla % hücre canlılık oranları %149, % 124, % 119, % 122, % 113, % 104 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile % hücre canlılık oranlarına karşılaştırıldığı ceviz

sütünün L929 sağlıklı fare fibroblastı hücre hattı üzerinde konsantrasyonlarla pozitif bir korelasyona sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.1.).



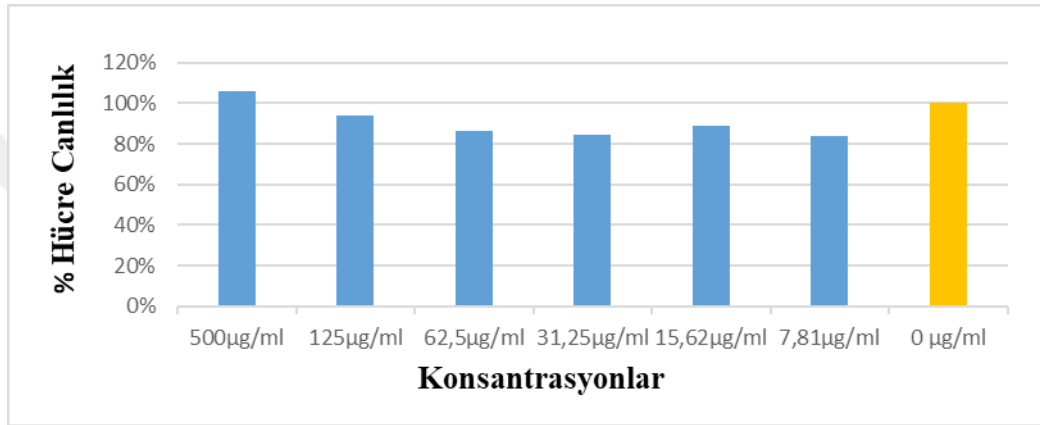
Şekil 4.1. *Juglans regia* L. sütünün 24 saat sonunda L929 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.

L929 sağlıklı fare fibroblastı hücre hattının 48 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksik testi bulgularında 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 7,81 µg/ ml konsantrasyonların sırasıyla % hücre canlılık oranları % 116,50, % 85, % 78,50, % 88, %90,50, % 86,50 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile mukayese edildiğinde 500 µg/ ml en yüksek konsantrasyon proliferatif etki gösterirken diğer konsantrasyonlar anti-proliferatif etki göstermiştir. Maksimum sitotoksik konsantrasyon 125 µg/ ml’ dir. Minimum sitotoksik konsantrasyon ise 31,25 µg/ ml’ dir (Şekil 4.2.).



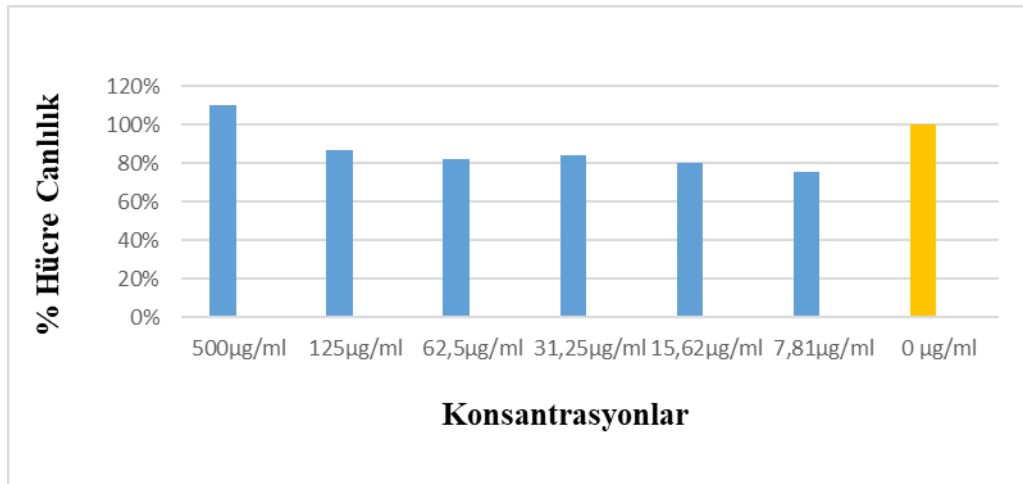
Şekil 4.2. *Juglans regia* L. sütünün 48 saat sonunda L929 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.

HepG-2 hepatoselüler karsinoma hücre hattının 24 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksite testi bulgularında 500, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonlarının sırasıyla % hücre canlılık oranları % 106, % 94, % 86, % 85, % 89 ve % 84 olarak belirlenmiştir. Kontrol ile mukayese de ceviz sütünün 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonu proliferatif etki göstermiştir. Diğer konsantrasyonlar anti-proliferatif etki göstermiştir. Maksimum sitotoksik konsantrasyon 7,81 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' dir. Minimum sitotoksik konsantrasyon ise 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' dir (Şekil 4.3.).



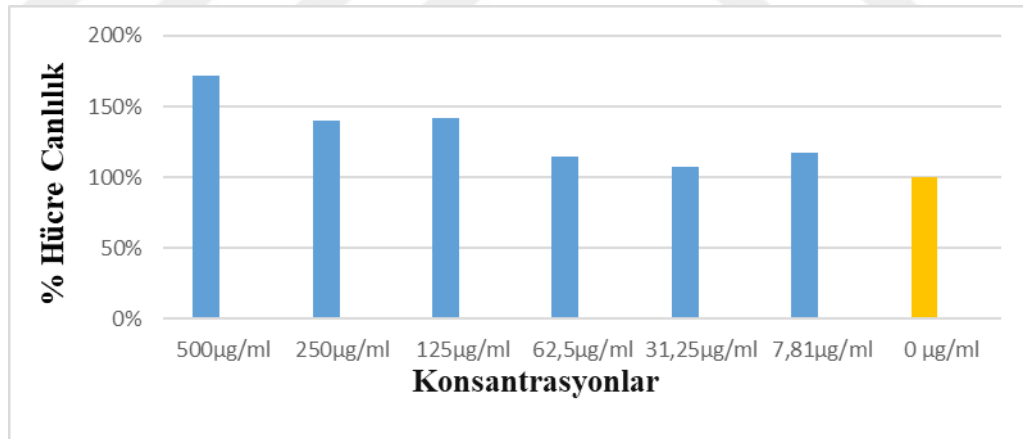
Şekil 4.3. Ceviz sütünün 24 saat sonunda HepG-2 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.

HepG-2 hepatoselüler karsinoma hücre hattının 48 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksite testi bulgularında 500, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonlarının sırasıyla % hücre canlılık oranları % 110, % 87, % 82, % 84, % 80 ve % 75 olarak belirlenmiştir. Kontrol ile mukayese de ceviz sütünün 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olan en yüksek konsantrasyonu proliferatif etki göstermiştir. Diğer konsantrasyonlar anti-proliferatif etki göstermiştir. Maksimum sitotoksik konsantrasyon 7,81 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' dir. Minimum sitotoksik konsantrasyon ise 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' dir (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. *Juglans regia* L. sütünün 48 saat sonunda HepG-2 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.

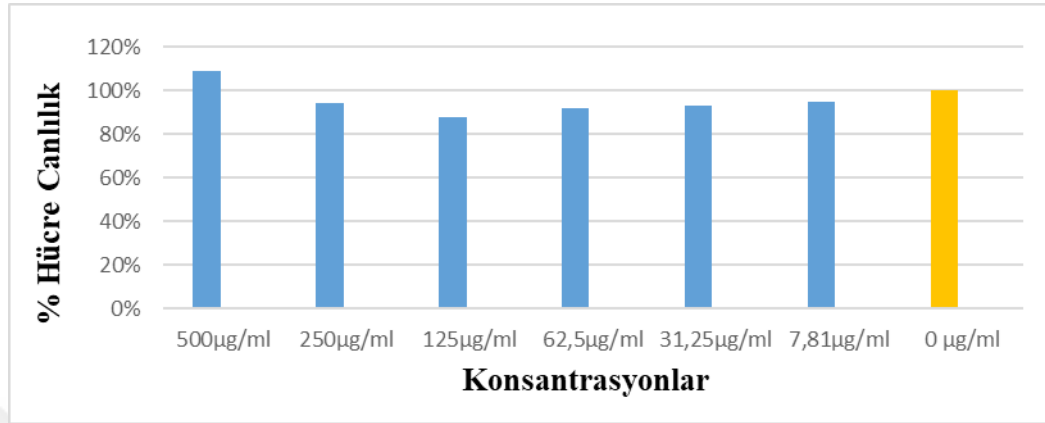
MCF-7 meme karsinoma hücre hattının 24 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksite testi bulgularında 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 7,81 µg/ ml konsantrasyonlarının sırasıyla % hücre canlılık oranları % 172, % 140, % 142, % 115, % 107 ve % 118 olarak belirlenmiştir. Kontrol ile mukayese de tüm konsantrasyonlarda ceviz sütü MCF-7 meme karsinoma hücre hattı üzerinde proliferatif etki göstermiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. *Juglans regia* L. sütünün 24 saat sonunda MCF-7 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.

MCF-7 meme karsinoma hücre hattının 48 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksite testi bulgularında 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 7,81 µg/ ml konsantrasyonlarının sırasıyla % hücre canlılık oranları % 109, % 94, % 88, % 92, % 93 ve % 95 olarak belirlenmiştir. Kontrol ile mukayese de ceviz sütünün en yüksek konsantrasyonu proliferatif etki göstermiştir. Diğer konsantrasyonlar anti-proliferatif etki

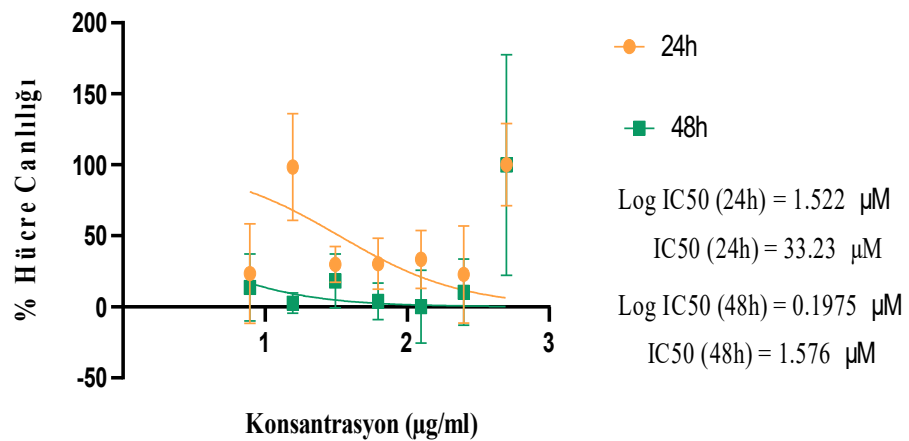
göstermiştir. Maksimum sitotoksik konsantrasyon 125 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Minimum sitotoksik konsantrasyon ise 62,5 $\mu\text{g/ml}$ 'dir (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. *Juglans regia* L. sütünün 48 saat sonunda MCF-7 hücre hattının canlılığı üzerine etkisi.

4.4. Sitotoksite verileri

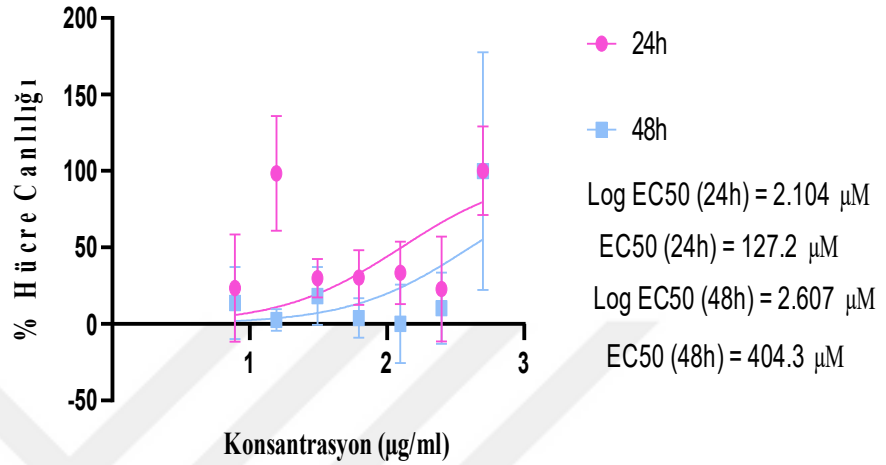
L929 hücre hattı üzerinde *Juglans regia* L. sütünün konsantrasyonlarının (250, 125, 62,5, 31,25 $\mu\text{g/ml}$) 24 saat IC_{50} değerleri sırasıyla 100, 52, 25, 13 $\mu\text{g/ml}$ ve 48 saat IC_{50} değerleri 147, 79, 35, 17 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplandı. *Juglans regia* L. sütünün L929 hücre hattı üzerinde inhibisyon etkisi en yüksek 24 saatte görüldü.



Şekil 4.7. L929 hücre hattının *Juglans regia* L. IC_{50} değer grafiği

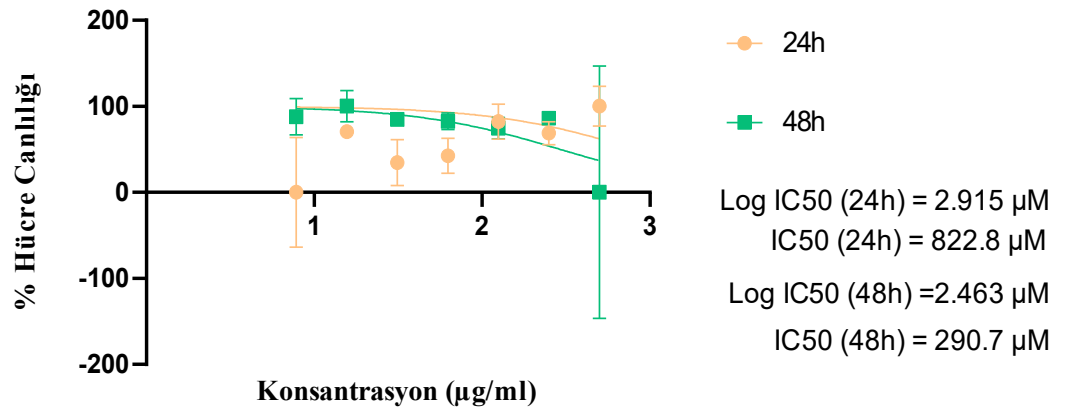
(Konsantrasyonlar 500- 250-125-62,5-31,25-15,62-7,81 $\mu\text{g/ml}$)

Sağlıklı olan L929 fibroblast hücre hattında *Juglans regia* L. sütünün inhibe etmesi değil stimüle etmesi beklendi. Fakat bazı kuyucuklarda sütün yoğunluk oranına bağlı olarak ters etki gözlemlenmiş ve inhibe ettiği belirlenmiştir.



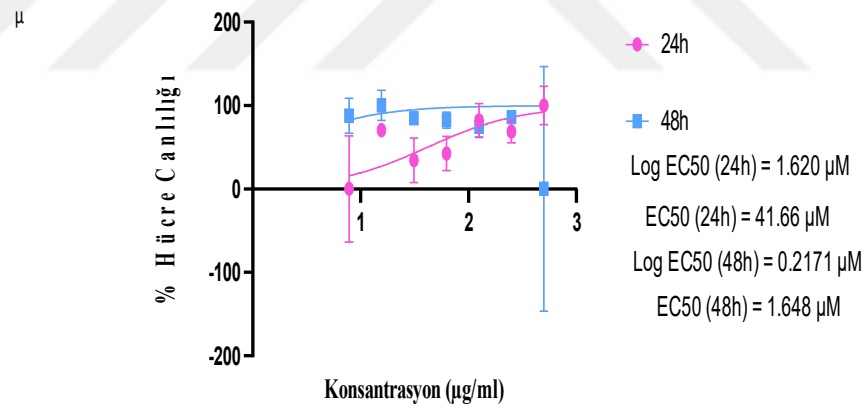
Şekil 4.8. L929 hücre hattının *Juglans regia* L. EC50 değer grafiği
 (Konsantrasyonlar 500- 250-125-62,5-31,25-15,62-7,81 μ g/ml)

MCF-7 hücre hattı üzerinde *Juglans regia* L. sütünün konsantrasyonlarının (500, 250, 125, 62,5, 31,25 μ g/ml) 24 saat IC50 değerleri sırasıyla 145, 89, 44, 27, 14 μ g/ml ve 48 saat IC50 değerleri 229, 132, 71, 33, 16 μ g/ml olarak hesaplandı. *Juglans regia* L. sütü L929 hücre hattı üzerinde inhibisyon etkisi 24 saatte görüldü. Fakat 48 saat IC50 değerlerinde *Juglans regia* L. sütünün MCF-7 hücre hattı üzerinde stimüle etkinlik gösterdiği belirlendi.



Şekil 4.9. MCF-7 hücre hattının *Juglans regia* L.IC₅₀ değer grafiği

(Konsantrasyonlar 500- 250-125-62,5-31,25-15,62-7,81 µg/ml)



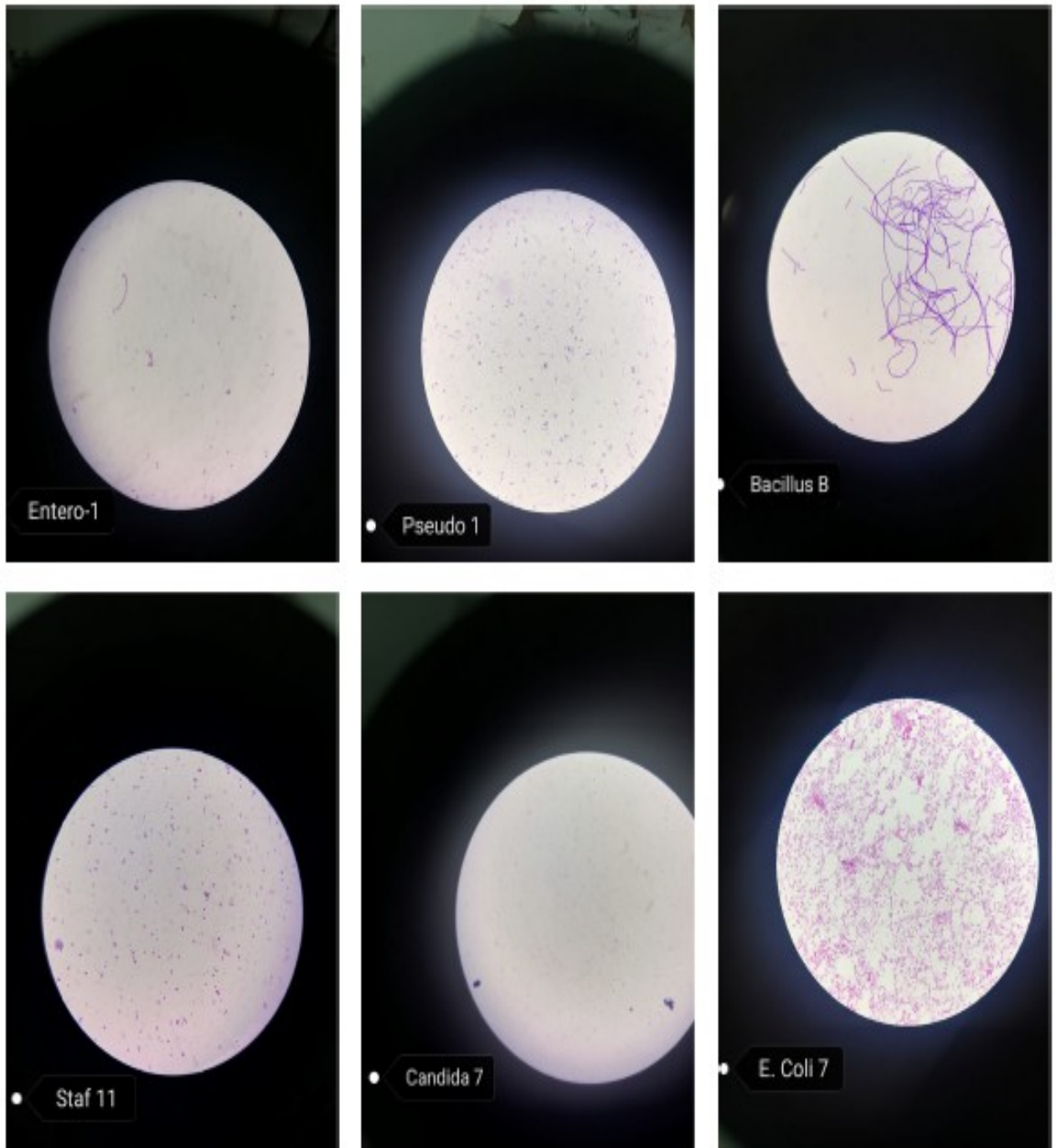
Şekil 4.10. MCF-7 hücre hattının *Juglans regia* L.EC₅₀ değer grafiği

(Konsantrasyonlar 500- 250-125-62,5-31,25-15,62-7,81 µg/ml)

4.5. Biyolojik etkinlik verileri

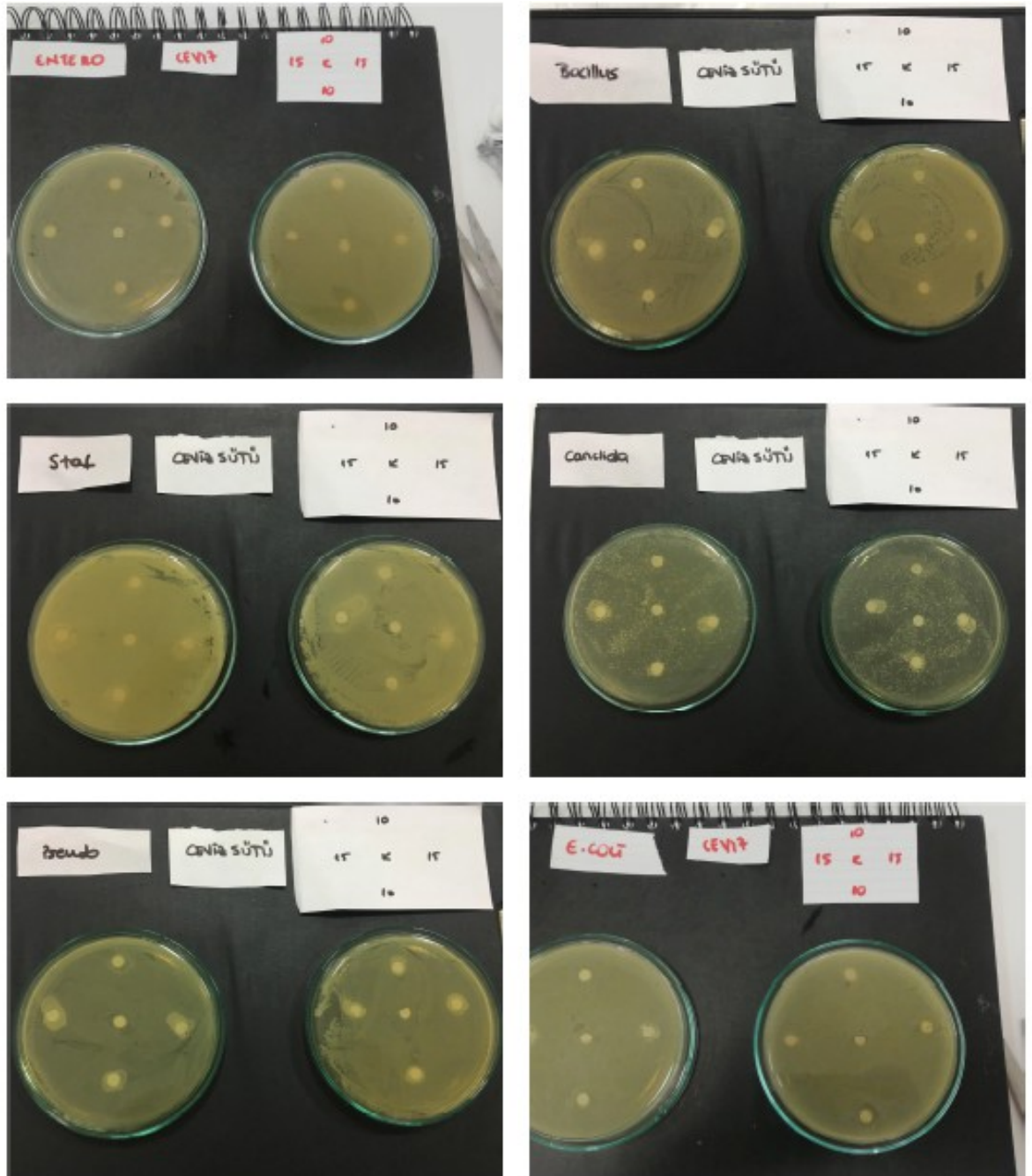
4.4.1. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

Laboratuvar rutininde belirlenen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10231, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 patojen mikoorganizmlara NB besiyerinde aktifleştirilerek kullanıldı (Resim 4.4.).



Resim 4.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922 ışık mikroskobu görüntüsü (100X).

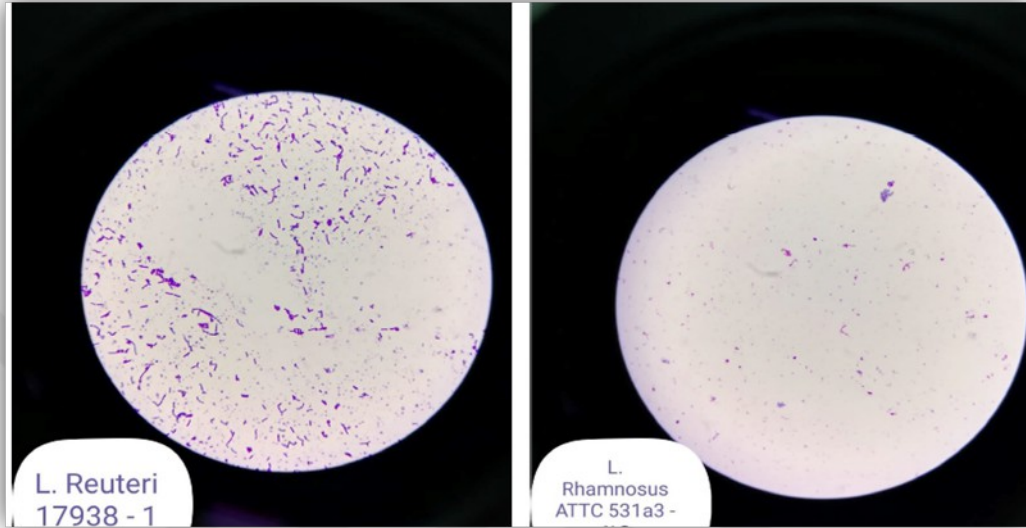
Steril saf *Juglans regia* L. sütünün antimikrobiyal testi sonuçlarına bakıldığında *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231 patojen mikroorganizmalar üzerinde bir zon oluşturmamıştır (Resim 4.5.).



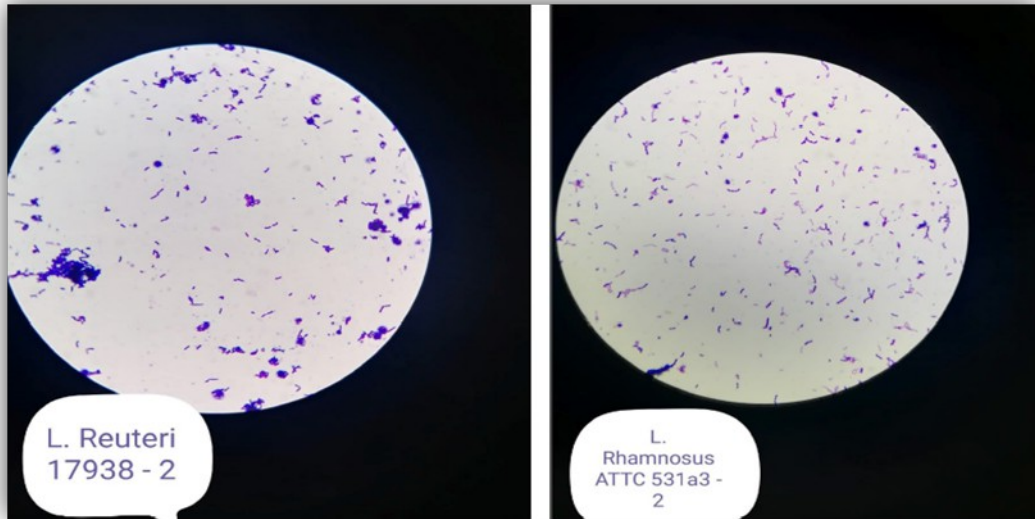
Resim 4.2. Anti-mikrobiyal testinin inkübasyon sonundaki görüntüleri.

4.5.2. Prebiyotik aktivite verileri

Prebiyotik aktivite çalışmalarında kullanılan *L.rhamnosus* ATCC53103 ve *L.reuteri* DSMZ 17938 probiyotik suşları MRS besi ortamında aktifleştirilerek kullanıldı.

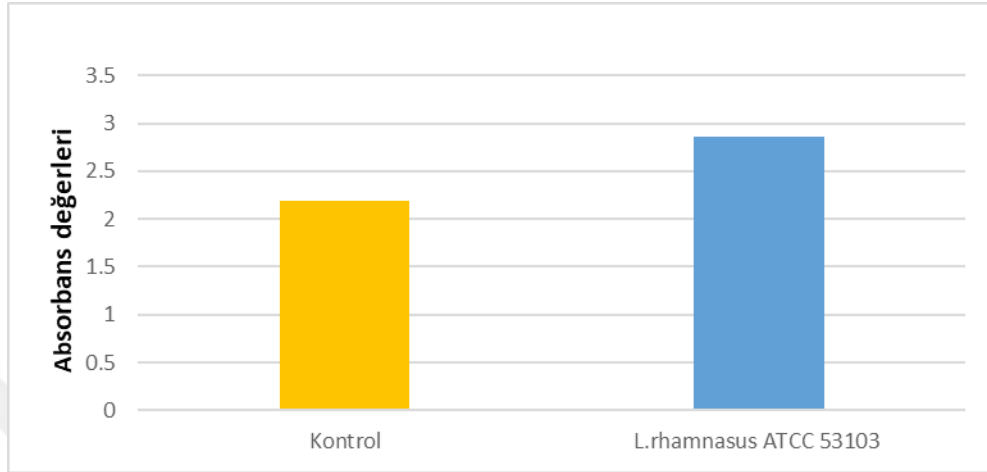


Resim 4.3. *Lactobacillus* suşlarının 1.aktiflik görüntüleri (100X).



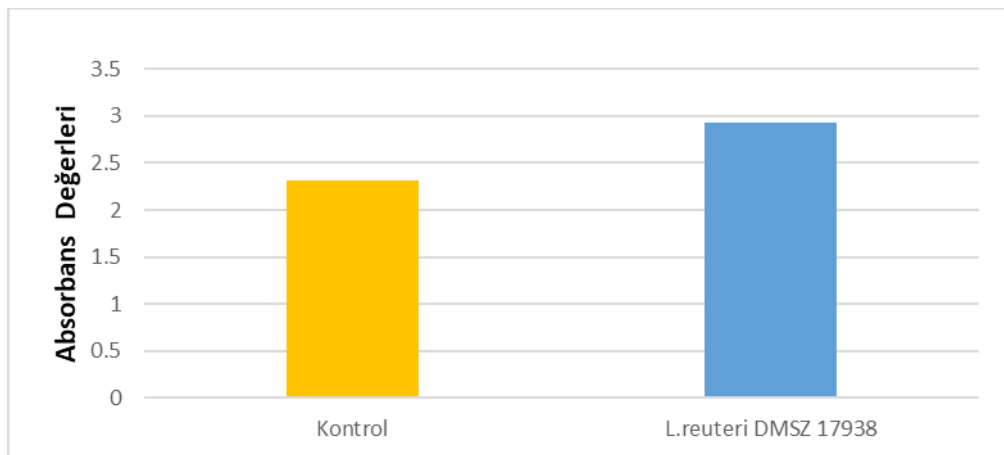
Resim 4.4. *Lactobacillus* suşlarının 2.aktiflik görüntüleri (100X).

Saf ceviz sütü kontrol ile karşılaştırıldığında *L. rhamnasus* ATCC 53103 proliferatif etki gözlemlenmiştir. *L.rhamnasus* ATCC 53103 % 30,50 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.11. Ceviz (*Juglans regia* L.) sütünün *L. rhamnasus* ATCC 53103 suşu üzerinde prebiyotik etkisi.

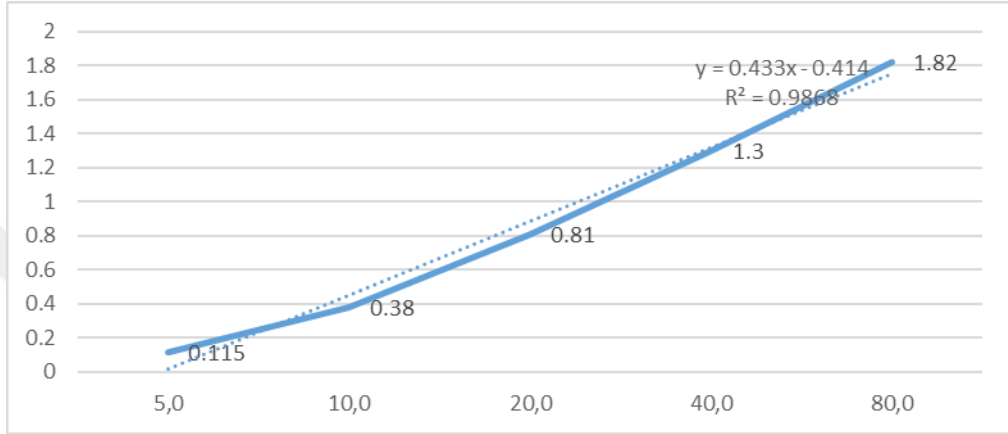
Saf *Juglans regia* L. sütü kontrol ile karşılaştırıldığında *L. reuteri* DSMZ 17938 suşunun iki paralelinde de pozitif korelasyon gözlemlenmiştir. *L.reuteri* DSMZ 17938 %29,5 oranında artış göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda saf *Juglans regia* L. sütünün *L.reuteri* DSMZ 17938'in üzerinde prebiyotik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8.).



Şekil 4. 12. Ceviz (*Juglans regia* L.) sütünün *L. reuteri* DSMZ 17938 suşu üzerinde prebiyotik etkisi.

4.5.3. Antioksidan aktivite verileri

DPPH standart verilerine göre antioksidan kapasite belirlendi. Antioksidan kapasitesi 30 dk inkübasyon 8,89 mg/ml ve 60 dk inkübasyonda 3,75 mg/ml olarak hesaplandı (Şekil 4.9.).



Şekil 4.13. DPPH standart eğri grafiği

Ceviz (*Juglans regia* L.) sütünün Total Antioxidant Status (TAS) miktarı Rel-Assay diagnostic kit aracılığıyla 1,9 mmol/L olarak tespit edildi. Çizelge 4.1.' de belirtilen referans değerlerine göre total antioksidan seviyesi normal olarak belirlendi.

Çizelge 4. 1. TAS referans seviyeleri (Rel Assay Diagnostics kiti).

TAS REFERANS SEVİYELERİ (mmol/L)		
>2,0		Çok iyi
1,45	2,00	Normal
1,20	1,45	Orta
1,00	1,20	Düşük
<1,20		Çok düşük

5.TARTIŞMA

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılmasına neden olan onkogenlerle (kontrolünü kaybetmiş protein kodlayan genler), tümör baskılayıcı genlerin karşılıklı etkileşimi sonucun oluşan kalıtsal bir hastalıktır.

Hepatosellüler Karsinoma (HSK) karaciğerin en sık görülen hastalıklarından birisi olan primer malign tümörüdür (Burley M.R. ve Roth C.M, 2017). Primer karaciğer kanseri olan hepatosellüler karsinoma (HSK), primer karaciğer kanserlerinin %85-90'ını oluşturur. Dünya genelinde beşinci sıklıkta görülen kanserdir ve kanser nedeniyle ölümden üçüncü sırayı alarak, yılda 500.000'den fazla kişinin ölümüne yol açar. HSK insidansı coğrafik bölgeler, etnik gruplar ve cinsiyetler arasında farklılık gösterir (Parkin D.M., 2000). Ülkemizde 2003 yılındaki Sağlık Bakanlığı verilerine göre HSK sıklığı 0,85/100.000, 2009 yılında ise erkeklerde 2,1/100.000, kadınlarda 1,2/100.000 olarak saptanmıştır (Tözün A.N., 2012).

Birçok araştırmacı ceviz kabuğu ekstraktı, ceviz içinin etil alkol ve saf su ile hazırlanmış ekstraktını veya ceviz yaprağı ekstraktı gibi cevizin farklı formlarını sitotoksite çalışmalarında, birçok kanserli hücreler üzerinde kullanmıştır. Bu tez çalışmasında literatürdeki sitotoksite çalışmalarından farklı olarak yerli Oğuzlar ceviz sütünün karaciğer ve meme kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkinliği sağlıklı hücre hattı ile eş zamanlı olarak karşılaştırılarak incelenmiştir.

Araştırmamız sonucunda elde edilen verilerin literatürdeki bazı çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda ceviz sütünün HepG-2 hücre hattı üzerinde 24 saat inkübasyon sonunda 500 µg/ml konsantrasyon haricindekiler antiproliferatif etki göstermiştir. 48 saat sonunda ise en yüksek konsantrasyon haricinde antitümoral etkinlik belirlendi. Maksimum sitotoksik etki 24 saatte 7,82 µg/ml ve 48 saatte 15,62 µg/ml konsantrasyonlarında elde edildi. Literatürde HepG-2 hücre hattı sitotoksite çalışmalarında Arvind Singh Negi ve arkadaşları 2011 yılında yaptığı çalışmada çiğ cevizin kloroform ve etil asetat ekstraktlarının hücre üzerinde anti-proliferatif etki gösterdiğini ifade etmektedir (Arvind S.N. ve ark., 2011). Dangel ve arkadaşların 2021 yılında yaptığı çalışmada 25 µg/ml ceviz kabuğu ekstraktının hücre üzerinde sitotoksik etki görüldüğünü saptamışlardır (Dangel F. ve ark., 2021). Çalışmamızda

48 saat inkübasyonla bu sonuçlar uyumlu olmasada 24 saat inkübasyon sonrasında antiproliferatif etki görülmüştür.

Meme kanseri, hücrelerinin kontrolsüz olarak çoğalmasıyla oluşan ve tüm dünyada sık karşılaşılan bir kanser çeşididir. Akciğer kanserinden sonra, dünyada görülme sıklığı en yüksek olan kanser türüdür. Her 8 kadından birinin hayatının belirli bir zamanında meme kanserine yakalanacağı bildirilmektedir (Venugopal K. ve ark. , 2017). Meme kanseri, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de kadınlarda en sık görülen ve yaşam kaybına neden olan kanser türüdür. Kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık %25’ini meme kanseri oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’ne (DSÖ) bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Merkezi (IARC), 180 dünya ülkesinin 140’ında meme kanserinin kadınlarda en yaygın görülen kanser olduğunu belirlemiştir (Anonim, 2019c). Çalışmamızda ceviz sütünün MCF-7 hücre hattı üzerinde 24 saat inkübasyon sonrası elde edilen veriler doğrultusunda proliferatif etki gösterdiği belirlendi. 48 saat sonrasında maksimum konsantrasyon haricindekiler antitümoral etkinlik göstermiştir. Benzer şekilde, John ve arkadaşlarının 2016 yılında MCF-7 hücre hattı sitotoksite çalışmalarında cevizin temel bileşenleri olan alfa-linolenik asit (ALA) ve sitosterol biyoaktif moleküllerin MCF-7 hücre hattı üzerinde proliferasyon azaltıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (John P. ve ark. , 2016). Wenzhen ve arkadaşları Şubat 2016 yılında yayınlanan makalesinde geliştirilmiş antiproliferatif yetenek ve azaltılmış toksisiteye sahip bir ceviz peptidleri-çinko kompleksinin (WP1-Zn) ROS tarafından tetiklenen mitokondriyal aracılı yol ve hücre yüzeyi reseptör aracılı yol aracılığıyla MCF-7 hücre apoptozunu indüklediğini gösterilmiştir (Wenzhen L.ve ark. 2016). Dangel ve arkadaşları 2021 yılında yaptığı çalışmada ceviz kabuğu ekstratının MCF-7 hücre hattında sitotoksik etki görülmediğini saptamışlardır (Dangel F. ve ark. , 2021). Ceviz ise çoklu doymamış yağ asitlerince (PUFA) daha zengindir. Diğer sert kabuklu meyveler ile kıyaslandığında; ceviz en yüksek Omega 3 yağ asidi miktarına sahiptir. Yapılan araştırmalar sonucunda doymamış yağlardan birisi olan Omega 3; karsinogenezi bloklayıcı özellik göstermektedir. Çalışmamız sonucunda literatürdeki çalışmalar cevizin farklı formlarını kullanmış olsa da sonuçlara bakıldığında genel olarak antiproliferatif etkisi saptanmaktadır. Ceviz sütünün literatürde kadınlarda ve erkeklerde östrojen seviyelerini düzenleyen fitoöstrojenler bulundurduğu

bildirilmektedir. Bu fitoöströller meme kanseri hücre hatlarının (MCF-7) büyümelerine neden olan östrojen reseptörlerinin bloke edilmesini sağlıyor. Ceviz sütünün kanserli hücrelerin metastaz ve invazyon üzerinde inhibisyon etkinliğinden dolayı kanser hastalığının oluşumunu önlemek ve tedavi etmek amacıyla kullanılabilir.

Antimikrobiyal bir ajan, bakteriler, mantarlar ve virüsler dâhil olmak üzere mikroorganizmaların büyümesini inhibe etme veya toksik etkiye sahip bir maddedir.

1954 yılında Lagrange tarafından yapılan çalışmada cevizin taze yaprakların sulu ekstratından üretilen, serbest juglonun, fareler için toksik olmadığı belirtilen bir çalışmada *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae* için çok güçlü; *Vibrio comma*, *Bacillus subtilis*, *Pneumococci*, *Streptococci*, *Micrococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *S. typhimurium* ve *S. dysenteriae* için zayıf etkili bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve *Mycobacterium tuberculosis* için inaktif olduğu tespit edilmiştir (Lagrange E. , 1954). Lagrange 1954 yılında yaptığı çalışmaları baz alarak 1955 yılında yaptığı çalışmada *Juglans regia* yapraklarının sulu ekstratı ve saflaştırılmış juglon, tetanoz ve difteri toksinlerini in vitro ortamda nötralize ettiği, in vivo ortamda ise bunun gözlenmediği yönündedir (Lagrange E., 1955).

Ahmad ve arkadaşları tarafından 1973 yılında *J. regia* L. üzerinde yaptıkları çalışmada ceviz kabuğunun antifungal aktiviteye sahip olduğunu belirtilmiştir. *J. regia*'nın alkollü ekstraktının dermatofite karşı etkisi; vücudun, derinin, saçın ve tırnağın keratinize olmuş alanlarının yüzeysel inflamasyonlara neden olduğu iyi bilinen 13 mantar türüne karşı araştırılmıştır. Ceviz kabuğunun ekstratı *Mycrosporum vanbreuseghemii*' ye etki gösteremezken *Mycrosporum gypseum* ve *M. audouini*' ye karşı maksimum etki göstermiş ayrıca *Trichophyton*, *Sporotrichum*, ve *Candida* türlerine de *M. gypseum* ve *M. audouini*' ye gösterdiğine göre çok az olmak üzere antifungal aktivite göstermiştir. Patojen olmayan mantar çeşitleri olan *Aspergillus*, *Fusarium*, ve *Helminthosporium*'e karşı etki göstermemiştir. Ancak, *Aspergillus niger*' in *Juglans*a çözeltisinin yüzeyinde üremiş olmasının, seçici bir 72 fungistatik aktiviteye sahip olduklarını gösterdiği belirtilmiştir (Ahmad S. ve ark., 1973).

Alkhawajah 1997 yılında yaptığı çalışmada, ceviz (*Juglans regia* L.) özütlerinin antimikrobiyal aktivitesini araştırmıştır. Bu çalışmada, cevizden hazırlanan özütleri çeşitli konsantrasyonlarda (10-50-100-200-300 µg/ml) ve çeşitli antibiyotikleri (tobramycin, gentamycin, spectinomycin, erythromycin, doxyecyline, ampicilin ve cholorampicilin) kullanarak *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeroginosa*, *S. aeroginosa*, *S. mutans* ve *C. albicans* bakteri ve mayalar üzerinde etkilerini belirlemiştir. İnhibisyon zonları 0.20-3.1 cm arasında değişmektedir. Sadece uygulanan ceviz özütleri *S. typhimurium* türünde etki göstermemiştir (Alkhawajah, A.M.,1997). Lopez ve arkadaşları (2001) yaptıkları çalışmada, Kolombiya’da yetisen tıbbi bitkilerinin antiviral ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Kolombiyada yetişen ceviz (*Juglansa neotropica*) ve diğer bitki türlerinden metanolle hazırlanan ekstratları virüs olarak HSV ve RNA polivirüs, gram pozitif bakteriler *B. subtilis*, *S. faecelis*, *S. aureus* methiciline dirençli, gram negatif bakteriler *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeroginosa* (wild), *S. typhimurium*, *M. phlei* ve maya türü olarak *C. albicans* üzerindeki etkileri incelemiş, ceviz mayalar ve bakteriler üzerinde geniş bir anitmikrobiyal ve antiviral etki göstermiştir.

Pereira 2007 yılında yaptığı çalışmayı göz önünde bulundurarak 2008 yılında yaptığı çalışmasında Portekiz’de yetişen 5 ceviz (*Juglansa regia* L.) türünün (Franquette, Lara, Marbot, Mayette, Mellanaise ve Parisienne) patojen mikroorganizmalar üzerindeki aktivitesi araştırılmıştır. Bunlara ek olarak Gram (+) (*B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*) ve Gram (-) bakteriler (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) ve mantarlara (*C. albicans*, *C. neoformans*) karşı ve farklı mikroorganizmalara karşı aktiviteleri kontrol edilmiştir (Pereira J. ve ark., 2008). Dangelı ve arkadaşları tarafından 2021 yılında yapılan çalışmada ceviz kabuğunun ekstratının anti-bakteriyel, anti-viral ve anti-fungal etkileri araştırılmaktadır. *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde etkilerine bakıldığında Gram (+) bakterilerin Gram (-) bakterilere göre daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Antiviral etkisinde ise HSV-1 ve HSV-2 virüsleri üzerinde inhibisyon etkisi olmadığı belirlenmiştir. Antifungal etkisinde kullanılan *Candida albicans* türünde inhibisyon etki göstermiştir (Dangelı F. ve ark. , 2021). Literatürde cevizin farklı formlardaki antimikrobiyal çalışmaları bulunması nedeniyle benzer veriler elde edilememiştir. Çalışmamızda ceviz sütü *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis*

ATCC 6633 ve *C. albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarında bir zon oluşturmamıştır. Çalışmamız doğrultusunda ceviz sütünün antibakteriyal ve antifungal etkinliğinin olmadığı düşünülmektedir.

Bağırsaklar günümüzde ikinci beyin olarak kabul edilmektedir. Bağırsaklarımızda 400-500 metrekairelik bir alanda 500'den fazla yararlı ve patojen bakteriler bulunmaktadır. Bağırsaklarımızda, farklı türlerde birçok mikroorganizma bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar konak metabolizması ve beslenmesinde aktif rol oynarlar (Alp D., 2018). Konakçı bağırsak mikroflorası genelde fakültatif anaerob ve zorunlu anaeroblardan oluşup; %95'i *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* türlerinin içinde bulunduğu zorunlu anaerob, %1-10'unda ise *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Bacillus* türlerinin olduğu fakültatif anaeroblar bulunmaktadır (Damar R.M., 2018).

Probiyotik kelimesi “yaşam için” anlamına gelen yunanca kökenli terimdir. Probiyotikler konağın sağlığına faydalı olan mikroorganizmlardır (Kesepara E.C., 2018). Probiyotikler, bağırsaktaki bir ve/veya birden fazla bakterinin çoğalmasını, aktivitesini sağlayarak konakçıya yararlı sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak tanımlanır (Harman ve Knol, 2006). Son yıllarda bilim insanları ceviz sütü, badem sütü vs. gibi besin grubunun probiyotik içeren yoğurt, kefir, süt gibi gıdalar içerisinde yer alan ürünler araştırılmaktadır.

Boycheva ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yapılan bir araştırma % 10 ceviz parçaları, % 10 fındık parçaları ve %10 ceviz parçaları+ %5 bal olacak şekilde belirlenen 3 grup ürün, inek sütünden yapılmış içerisinde *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* bakterileri yoğurtlara ekimi yapılmıştır. 24 saat ve 10 gün sonra olarak belirlenen zamanlarda bakterilerin büyümesini araştırmıştır. Bu araştırma sonucunda Boycheva ve arkadaşları 24 saat sonucunda % 10 ceviz parçaları ve % 10 fındık parçaları içeren yoğurtlarda bakterilerin sayısında çok fazla bir değişim olmamıştır. 10 gün sonrasında ise bu yoğurtlarda %20 oranına yakın bir bakteri inhibisyonu belirlenmiştir. %10 ceviz parçaları ve %5 bal içeren yoğurtlarda hem 24 saat hem de 10 gün sonra bakteri sayısına bakıldığında başlangıçtaki bakteri sayısının 3 katına kadar çıktığı belirlenmiştir (Boycheva S. ve ark. , 2010). Ertem ve Çakmakçı

tarafından 2016 yılında yapılan akademik çalışmada probiyotik yoğurttaki Gobdin *Lactobacillus acidophilus*'un hayatta kalması ve yoğurt özellikleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Gobdin kuru beyaz dut ile ceviz ezmesinin karıştırılmasıyla oluşan Erzurum yöresine ait besindir. *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* içeren %0, %5, %10 Gobdin bulunan ve *L.bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* içeren %0, %5, %10 Gobdin bulunan 6 farklı yoğurt üretilmiştir. Bu yoğurtların saklama günleri 1, 7, 14 ve 21 gündür. Bu çalışma sonucunda *Lactobacillus acidophilus* en yüksek 7.gün %5' te Gobdin içeren yoğurtta olduğu belirlenmiştir (Ertem H. ve Çakmakçı S. , 2016). Öztürkoğlu-Budak ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan bir araştırmada kuruyemiş takviyesinin yoğurdun fonksiyonel, fizikokimyasal, dokusal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Kuruyemiş olarak badem, fıstık, fındık ve ceviz kullanılmıştır. Saklama günleri 1, 7,14 ve 21 gün olarak belirlenmiştir. *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* içeren yoğurta %5 oranında öğütülmüş ceviz ilave edilmiştir ve bu çalışma sonucunda ceviz 7. Günde her iki bakteride artış göstermeye başlarken 21. güne geldiğinde her iki bakterinin sayısında azalma görülmüştür. Bunun sebebini cevizde bulunan antimikrobiyal ve fenolik ajanların probiyotik bakterilerin büyümesi üzerindeki inhibitör etkisi olduğu söylemektedir (Öztürkoğlu-Budak S. ve ark. , 2016). Bu araştırmalar sonucunda hem etken maddesi hem de mikroorganizma bakımından çalışmamız literatürden farklılık göstermektedir. Çalışmamızda ceviz sütü *L. rhamnus* ATCC 53103 ve *L. reuteri* DSMZ 17938 suşlarında proliferatif etki göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda ceviz sütünün prebiyotik etkinliğine sahip olduğu söylenebilir.

Organizmada meydana gelen serbest radikaller, hücrenin savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılır. Bu savunma sistemine antioksidanlar adı verilir. Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi bir denge halindedir. Yani serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızları birbirine eşittir. Bu duruma oksidatif denge denir. Oksidatif denge var olduğu sürece, metabolizma serbest radikallerden etkilenmemektedir (Keha E. ve Küfrevioğlu Ö.İ. , 2004).

Antioksidanlar, oksijenin tahrip edici reaksiyonuna (oksidasyon) karşı koruyucu özellik gösteren maddelerdir. Antioksidanları üretildikleri bölgeye göre, doğal ya da

yapay oluşlarına ve etki mekanizmalarına göre pek çok sınıfta toplamak mümkündür. Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet ile dışarıdan da alınabilirler (Ritola O. ve ark. , 2002). Oliveira ve arkadaşları tarafından 2008 yılındaki çalışmada 5 farklı yeşil ceviz kabuğun antioksidan kapasitelerini özelliklerini araştırmışlardır. Solvent olarak sadece suyun kullanıldığı çalışmada yüksek toplam fenolik bileşiğin 74.08 mg GAE/g olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte antioksidan kapasitenin hem DPPH hem de indirgeyici güç için EC50 değerinin 1 mg/L den az olduğu belirlenmiştir (Olivera I. ve ark. , 2008). Fernandez-Agullo ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada ceviz yeşil kabukları üzerine farklı solventlerle (su, etanol, metanol, %50 etanol- su, %50 metanol- su) elde ettikleri fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri üzerine çalışmışlardır. Araştırmacılar en yüksek biyo-aktif potansiyelin, etanol-su solventinin kullanıldığı ekstraktlarda görüldüğünü bildirmişlerdir (Toplam fenolik madde içeriği 84.46 mg GAE / g., İndirgeyici güç için EC50 değeri 0.95 mg/mL, DPPH için EC50 değeri 0.33 mg/mL).

Zoral ve Turgay tarafından 2014 yılındaki araştırmada çeşitli bitkisel atıkların toplam fenolik madde içeriklerini, antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada Ceviz yeşil kabuklarından asteton, etanol, etilasetat, kloroform, metanol, saf su elde edilen ekstraktların sırasıyla toplam fenolik madde içerikleri (mg GAE/100g) 607.4, 618.4, 570.3, 544, 664.3, 904.7 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca ceviz yeşil kabuklarından etanol kullanılarak elde edilen ekstraktın DPPH EC50 değerinin 30 µg/mL'den fazla olduğunu bildirmişlerdir (Zoral F.B. ve Turgay Ö. , 2014).

Literatürdeki cevizin farklı formlarından yapılan antioksidan araştırmaları çalışmamızı desteklemektedir. Çalışmamızda DPPH 30 dk sonrasında 8,896 ve 60 dk sonunda 3,748 mg/ml olarak belirlendi. Ceviz sütünün DPPH sonunda serbest radikallerin %50'sinden fazlasını süpürdüğünü belirlendi. Çalışmamızda total antioksidan miktarı 1,9 mmol/l olarak belirlendi. Kullanılan kitin referans değerlendirmesinde iyi olduğunu ifade etmektedir. DPPH ve TAS sonuçlarında bakıldığında ceviz sütünün antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

6.SONUÇ VE ÖNERİ

Bu araştırma *in vitro* tanımlayıcı bir çalışma olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadaki amacımız; Oğuzlar Ceviz sütünün meme karsinoma (MCF-7) ve hepatoselüler karsinoma (HepG-2) hücre hatları üzerinde MTT yöntemi ile kontrol grubu sağlıklı hücre hattı (L929) ile eş zamanlı olarak sitotoksik etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmamızda, ceviz sütünün DPPH ve TAS yöntemi ile antioksidan aktivitesi ve *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 10231 mikroorganizmaları kullanılarak antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Aynı zamanda, *L.rhamnosus* ATCC 53103 ve *L. reuteri* DSMZ 17938 probiyotik mikroorganizmalarında ceviz sütünün prebiyotik aktivitesi araştırılmıştır. Çalışma verilerimiz değerlendirildiğinde;

1. MCF-7 ve HepG-2 kanser hücreleri üzerinde ceviz sütünün farklı konsantrasyon ve inkübasyon sürelerine bağlı olarak sitotoksik etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.
2. Sağlıklı hücre hattı (L929) üzerinde farklı inkübasyon süre ve konsantrasyonlara bağlı olarak proliferatif etki gösterdiği belirlenmiştir.
3. Ceviz sütünün *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde antimikrobiyal etkinliği gözlenmemiştir.
4. Ceviz sütünün *L.rhamnosus* ATCC 53103 ve *L.reuteri* DSMZ 17938 probiyotik mikroorganizmaları belirli oranlarda üzerinde prebiyotik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.
5. DPPH miktarının yüksek olması serbest radikalleri süpürme özelliğinin yüksek olduğunu ifade etmektedir. Bu sayede vücutta serbest radikallerden kaynaklanan hasarlara karşı önleyici etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.
6. Total antioksidan miktarının iyi olması ceviz sütünün oksidatif strese karşı engelliyici özelliğe sahip olduğu göstermektedir.
7. Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler doğrultusunda ceviz sütünün farklı konsantrasyonlarının bazı kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkinlik gösterirken, değişen süre-konsantrasyonlara bağlı olarak istenmeyen proliferatif etkinlik gösterebileceği de gözlenmiştir. Yine elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, Oğuzlar ceviz sütünün prebiyotik ve antioksidan

aktiviteye sahip olduğu ve oksidatif strese karşı vücutumuzda sağlığı destekleyici rol oynayabileceği düşünölmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen veriler bilimsel olarak etkinliği kanıtlanmamış bitkisel ürünlerin tıbbi kontrol dışı kullanılması beklenmeyen etkilerin ortaya çıkmasına sebep olabilir. Bu nedenle bitkisel ürünlerin kullanımı için daha fazla akademik araştırmalarla desteklenmelidir.



7.KAYNAKÇA

- Ağaoğlu Y.S., Çelik H., Çelik M., Fidan Y., Gülşen Y., Günay A., Halloran N., Köksal A.İ., Yanmaz R.,** (2012). Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Yayınları No:253. Yayın No: 1579, Ders Kitabı: 531. Ankara Üniversitesi Basımevi. 369 s.
- Ahmad S., Wahid M., Bukhari Q.,** (1973). Fungistatic action of *Juglans*. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*; 3(3), 436-438.
- Akkuş İ.,** (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları.
- Akman E.,** (2009). Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A.,** (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(4), 401-409.
- Alkhawajah A.M.,** (1997). Studies on the antimicrobial activity of *Juglans regia*, *American Journal of Chinese Medicine*, Vol.XXV,. No.2:175-180.
- Alp G., Aslım B.,** (2009). İnsan Bağırsak Sisteminde Probiyotik Olarak Bifidobakterilerin Önemi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi Cilt/Vol.:10-Sayı/No: 2 : 343-354.*
- Alp D.,** (2018). Doğal Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Özelliklerinin Araştırılması ve İn-Vitro Bağırsak Modelinde Patojenlerin Tutunmasını Engelleme Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Altman F.P.,** (1976). Tetrazolium salts and formazans. *Prog Histochem Cytochem*, 3-6.
- Anderson K. J., Teuber S.S., Gobeille A., Cremin P., Waterhouse A.L., Steinberg F.M.,** (2001). Walnut polyphenolics inhibit *in vitro* human plasma and LDL oxidation. *The Am. J. Nutr.*, 131, 2837- 2842.

Anonim, (2005a). www.forshang.org/012foodnhealth/foodn_healthwalnute.htm

Anonim, (2005b). www.whfoods.com.

Anonim, (2005c). Walnut Nutrition. www.walnut.org/nutrition.html

Anonim,

(2005d). Walnut. www.globalherbalsupplies.com/herb_information/walnut.htm

Anonim, (2005e). Walnut. www.florahealth.com/lora/home/canada/healthinformatin/encyclopedias/Black.

Anonim, (2006a). <http://www.canimdogu.com/faydalibilgiler/categoryID05.htm>
[2006_qebnhm](http://www.canimdogu.com/faydalibilgiler/categoryID05.htm)

Anonim,

(2006b). <https://www.thecanadianencyclopedia.ca/en/article/hamburgerdi>
[see#](https://www.thecanadianencyclopedia.ca/en/article/hamburgerdi).

Anonim, (2011). <https://www.bahcebitkileri.org/ceviz-yetistirciligi.html>

Anonim, (2014). http://ceviz.ksu.edu.tr/?page_id=31

Anonim, (2015). <https://kokhucregentr.wordpress.com/2015/07/30/hello-world/>

Anonim, (2016a). <https://docplayer.biz.tr/11554811-Ceviz-yetistirciligi.html>.

Anonim, (2016b). [https://tr.wikipedia.org/wiki/Parkinson_hastal%C4%B1%C4%9F%C4%B1\(F\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Parkinson_hastal%C4%B1%C4%9F%C4%B1(F))

Anonim, (2016c). <http://www.gidahareketi.org/beyin-dostu-gida-ceviz-624-yazisi.aspx>

Anonim, (2016d). https://www.google.com.tr/search?q=ceviz+ve+beyin&rlz=1C1CHWA_trTR616TR617&espv=2&biw=1517&bih=714&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjY7aPQyv_rMAhUBXRQKHTZGATsQ_AUIBigB&dpr=.9#imgsrc=U2ozm9yyUHPtMM%3A

Anonim, (2016e). https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/HB_8065.aspx?geo_country=tr.

Anonim, (2018a). <http://www.piramithaber.com/faydali-bilgiler/ceviz-in-tarihcesi-ve-hakkinda-bilinmesi-gerekenler-h39022.html>.

Anonim,

(2018b).https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/yayinlar/sunular/ulusal_kanser_haftasi_2018/Dr._Dyt._NURAL_ERZURUM_ALiM.pdf.

Anonim, (2018c). <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer/what-is-cancer.html>.

Anonim, (2018d). <https://www.canlibilimi.com/hucre-dongusunun-kontrolu/>.

Anonim, (2018e). <https://slideplayer.biz.tr/slide/11990373/>.

Anonim, (2018f). https://yildizsozluk.com.tr/ceviz_6510

Anonim, (2019a). https://www.arkeotekno.com/pg_410_ceviz-in-arkeolojisi#:~:text=Arap%C3%A7a'dan%20dilimize%20'ceviz',vas%C4%B1tas%C4%B1yla%20Yunan'a%20ge%C3%A7ti%C4%9Fini%20bildirir.

Anonim, (2019b). <https://www.hurriyet.com.tr/kelebek/saglik/candida-mantari-nedir-41123523>.

Anonim, (2019c). <https://www.ntv.com.tr/saglik/meme-kanseri-dunyada-her-yil-2-1-milyon-kadini-etkiliyor,hpmAGtGjJk6o0VEcL6YSEg>.

Anonim, (2020a). <https://ada-koop.com/oguzlar-ceviz-dogal -2020>.

Anonim,

(2020b).<https://www.tarimorman.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/Projeler/CEVIZ%20BAHCESI%20TESISI%20dijital%20V8.pdf>

Anonim, (2020c). <https://tuikweb.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=33710>.

- Anonim, (2020d). <https://microbenotes.com/biochemical-test-of-staphylococcus-aureus/>.
- Anonim, (2020e). <http://www.bilimseli.com/2020/05/27/bakteriler-uzayli-besinler-uzerinde-cogalabilir/>.
- Anonim, (2020f). <https://www.dogrulukpayi.com/dogrulama/ceviz-agacinin-sulfur-gazi-salgilayarak-ozon-tabakasini-tamir-ettigi-iddiasi>.
- Anonim, (2020g). <https://turkcenedemek.com/arama/ceviz/>
- Anonim, (2021a). <https://www.cevizfidanikoop.com/yabanci-ceviz-fidanlari/122-payne-ceviz-fidani.html>.
- Anonim, (2021b). https://tr.wikipedia.org/wiki/COVID-19_pandemisi
- Anonim, (2021c). <https://tr.approby.com/malign-ve-benign-tuemoerler-arasindaki-farklar/>.
- Anonim, (2021d). https://en.wikipedia.org/wiki/MTT_assay.
- Anonim, (2021e). https://tr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis.
- Anonim, (2021f). <https://microbenotes.com/biochemical-test-of-enterococcus-faecalis/>.
- Anonim, (2021g). <https://www.sciencephoto.com/media/886862/view/lactobacillus-rhamnosus-bacteria-sem>.
- Arvind S.N., Suaib L., Suchita S., Vinay K., **Namita G.**, Mahendra P.D., (2011). *Juglans regia* meyve özlerinin antiproliferatif ve antioksidan aktiviteleri. Sayfalar 669-673.
- Aslan R., Şekeroğlu R., Bayıroğlu F., (1995). Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *YYÜ Sağ. Bil. Ens. Derg.*, 2 ,137-142.
- Athalye-Jape G.; Rao S.; Patole S., (2015). Preterm Yenidoğanlar İçin Bir Probiyotik Olarak *Lactobacillus reuteri* DSMZ 17938: Suşa Özgü Sistematik Bir İnceleme. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 40 (6): 783–94.

- Bachem M.G., Schunemann M., Ramadani M., Siech M., Beger H., Buck A.,** (2005). Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells. *Gastroenterology*, 128(4):907–21.
- Bati B.,** (2013). Etil Alkol İle Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Ceviz İçinin (*Juglans Regia* L.) Karaciğer Koruyucu Ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi. Sayfa 133 Van.
- Batirel S., Yılmaz A. M., Şahin A., Perakakis N. , Özer N. K., Mantzoros C.S.,** (2017). Özofagus adenokarsinom hücrelerinde ceviz yağının antitümör ve antimetastatik etkileri. Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Marmara University, Istanbul.
- Bayazıt S., Tefek H.,** (2016). *Türkiye’de Ceviz (Juglans regia L.) Araştırmaları Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11 (1):169-179, ISSN 1304-9984, Derleme.
- Baykara O.,** (2016). *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi* cilt: 5 sayı: 154-162 Derleme.
- Blackadar C.B.,** (2016). Historical review of the causes of cancer. *World J Clin Oncol.*;7(1):54-86.
- Bilaloğlu G.V., Harmandar, M.,** (1999). Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti. p.336-343, İstanbul.
- Bilgehan H.,** (1993). Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve bakteri infeksiyonları. İzmir.
- Bilgehan H.,** (2000). Non-fermentatif gram olumsuz basiller. Editör: Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyoloji*, İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, s 175-197.
- Biswas S., Biswas I.,** (2016). *Lactobacillus rhamnosus* Suşu LRB'nin Tam Genom Dizisi". *Genom Duyuruları*. 4 (6).

- Bowler R. P., Crapo J.D.,** (2002). Oxidative stres in allergic respiratory diseases. *J Allergy Clin. Dimmunol.*, 110(3): 349-356.
- Boycheva S., Naydenova N., Mihaylova G., Dimitrov T., Pavlov D.,** (2010). Quality characteristics of yogurt supplemented with nuts. Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Agriculture, Trakia University, 6000 Stara Zagora, Bulgaria. *Agricultural Science And Technology*, Vol. 2, No 4, pp 221 - 226, 2010.
- Burley M.R., Roth C.M.,** (2017). Effects of Retinoik Acid on Proliferation and Differentiation of HepG-2 Cells. *The Open Biotechnology Journal*;1: 47-51.
- Carrero J. J., Baro L., Fonolla J., Gonzalez-Santiago M., Martinez-Ferez A., Castillo R., Jimenez J., Boza J.J., Lopez-Huertas E.,** (2004). Cardiovascular effects of milk enriched $\omega 3$ polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia. *Nutrition* 20: 521-527.
- Carvalho M. , Ferreira P.J., Mendes V.S., Silva R., Pereira J.A., Jerónimo C., Silva B.M.,** (2009). Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. a CEBIMED, Faculty of Health Sciences, University Fernando Pessoa, Porto, Portugal .
- Cawoy H., Bettiol W., Fickers P. Ongena M.,** (2011). *Bacillus*-Based Biological Control of Plant Diseases, Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management, 273-302.
- Choi W., Benzie F., Collins A., Hannigon M., Strain J.,** (2004). Vitamin C and E: Acut interactive effects on biomarkers of antioxidant defance and oxidative stress. *Mutation Research*. 551: 109-117.
- Crawford M. A.,** (1993). The role of essantial fatty acids in neural development: Implications for perinatal nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57 (Supps) 703-710.(F)
- Cruz-Vega D., Verde-Star M., Salinas-Gonzalez N., RosalesHernandez B., Estrade-Garcia, et al.,** (2008). Antimycobacterial activity of *Juglans*

regia, *Juglans mollis*, *Carya ilinoensis* and *Bocconia frutescens*. *Phytotherapy Research*. 22: 557-559.

Dalay N., Topuz E, Aydiner A, Karadeniz A.N., (2000). Kanser Biyolojisi. Klinik Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları; 48-53.

Damar R.M., (2018). Simbiyotik Kullanımının Bağırsak Mikrobiota Üzerine Etkisi.Yüksek Lisans Tezi, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Dangeli F., Malfa G.A., Garozzo A., Volti G.L., Genovese C., Stivala A., Attanasio F., Bellia F., Ronsisvalle S., ve Acquaviva R., (2021). *Juglans regia* L. Pellicle Ekstresinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Aktiviteleri. *Antibiyotikler (Basel)* ; 10 (2): 159.

Dattilo A. M., Kris-Etherton P.M., (1992). Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins. *A meta- analysis. Am. J. Clin. Nutr.* 56: 320-328.

Delgado-Zamarreño M.M., Bustamante-Rangel M., Sánchez-Pérez A., Carabias- Martínez R., (2004). Pressurized liquid extraction prior to liquid chromatography with electrochemical detection for the analysis of vitamin E isomers in seeds and nuts. *J. Chromatogr. A*, 1056: 249-252.

Demiray A., (2007). Küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücre dizisi üzerinde pten tümör baskılayıcı geninin invazyon, proliferasyon ve apoptoz üzerindeki olası etkilerinin mekanizmaları ile araştırılması. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

Deurenberg R. H., Stobberingh E. E., (2008). The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*. 8: 747- 763.

Dönmez T., (2006). Fındık ve Cevizin Sıçanlarda Serum Lipidleri Aterosklerotik Lezyonlar ve Prooksidan-Antioksidan Denge Üzerine Etkisi. (Yüksek lisans tezi). İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Erdem B., Ustaçelebi Ş. ve ark, (1999). Pseudomonaslar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Kitabevi, s 551-566.

Ergun M., Sütyemez, M., (2008). Sağlıklı bir yaşam tarzı için ceviz. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 11(1):138-141.

Ertem H., Çakmakçı S., (2016). *Lactobacillus acidophilus* ve Gobdin ile üretilen probiyotik yoğurdun raf ömrü ve kalitesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi.

Fagan D.H., Fettig L.M., Avdulov S., Beckwith H., Peterson M.S., Ho Y.Y., Wang F., Polunovsky V.A., Yee D., (2017). MCF-7 Meme Kanseri Hücrelerinde Kazanılmış Tamoksifen Direnci, eIF4F Aracılı Translasyonun Hiperaktivasyonunu gerektirir. *Horm Cancer*.

Fang Y.Z., Yang S., Wu G., (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18: 872-879.

Fernandez-Agulloa A., Pereirab E., Freire M.S., Valentaoc P., Andradec P.B., Gonzalez-Alvareza J., Pereirab J.A., (2013). Influence of Solvent on the Antioxidant and Antimicrobial Properties of Walnut (*Juglans Regia* L.) Green Husk Extracts. *Industrial Crops and Products*. 42 126– 132.

Fidel P.L., Vazquez J.A., Sobel J.D., (1999). *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, clinical disease with comparison to *C.albicans*. *Clin Microbiol Rev*; 12: 80-96.

Franz M. J., Bantle J.P., Beebe C.A., Brunzell J.D., Chiasson J.L., Garg A., Holzmeister L.A., Hoogwerf B., Mayer- Davis E., Mooradian A.D., Purnell J.Q., Wheeler M., (2002). American diabetes association. Evidence-Based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. *Diabetes Care*, 25: 148-198.

Friedman M., Henika P.R., Levin C.E. and Mandrell R.E., (2004). Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6042-6048.

- Gibson G. R., Robertfroid M. R.,** (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition*, Volume 125, Issue 6, 1 June 1995, Pages 1401–1412.
- Gilbert D. F., Boutros M.,** (2016). A protocol for a highthroughput multiplex cell viability assay. *Methods Mol Biol*, 1470, 75-84.
- Grieger J. Z., Jerry T. T.,** (2012). Mechanistic Examination of Walnuts in Prevention of Breast Cancer, *Nutrition and Cancer*, 64:7, 1078-1086.
- Gürbüz D.G.,** (2008). Demir Eksikliği Anemisinde İntravenöz Demir Tedavisinin Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisi. (Yükseklisans tezi), Sağlık Bakanlığı, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 3. İç Hastalıkları Kliniği.
- Hanahan D., Weinberg R.A.,** (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100:57-70.
- Hanahan D., Weinberg R.A.,** (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5):646-74.
- Halliwell B., Gutteridge M.C.,** (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : An overview. *Methods in Enzymology*, 186: 1-85.
- Heidal K., Lewis N., Evans S.,** (2004). Survey of omega 3 fatty acid intakes and omega 3 food selections in cardiac patients living in a section of the midwestern United States. *Nutrition Research*, 741-747.
- Hiçyılmaz H.,** (2007). Ratlarda Diyet Ceviz Alımının Hipokampus NMDA Reseptör Subünit Konsantrasyonları Üzerine Etkisi (tıpta uzmanlık tezi). SDÜ, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Isparta.
- Huang D., Ou B., Prior R.L.,** (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53:4303- 4310.
- Hurst R., Bao Y., Jemth P., Mannervi B., Williamson G.,** (1997). Phospholipid hydroperoxide, glutathione, peroxidase activity of rat class theta glutathione transferase T2-2. *Biochem. Soc. Trans.*, 25: 559.

İçli F., Akbulut H., (2005). Onkolojiye Giriş. İn.iliçin G,Biberoğlu K, Süleymanlar G ve ark.; eds.İç Hastalıkları.Güneş Kitapevi; 2005:2007- 2014.

Jacobson R.A.,Wienholts K., Williamson A. J., Gaines S., Hyoju S., Van G.H., Zaborin A., Shogan B. D., Zaborina O., Alverdy J. C. (2020). *Enterococcus faecalis*, aşırı kolajenolizi yönlendirmek için insan fibrinolitik sisteminden yararlanır: bağırsak iyileşmesi ve uyuşturulabilir hedeflerin tanımlanmasındaki etkiler. *Amerikan Fizyoloji Dergisi. Gastrointestinal ve Karaciğer Fizyolojisi.* 318 (1): G1 – G9.

John P., Vanden H., Benjamin J. B., Dan B. H., Penny M. K., Jessica W.L., Liao T. L., Luying C., Junning F., Sreeprasad T., Jiaoyan R., (2016). Bir Ceviz Peptidinin - Çinko Kompleksinin Sentezi ve Karakterizasyonu ve Apoptoz İndüksiyonu Yoluyla İnsan Meme Karsinom Hücrelerine Karşı Antiproliferatif Aktivitesi. *J Agric. Food Chem*, 64, 7, 1509–1519

Jornot L., Petersen H., Junod A.F., (1998). *Biochemistry J*, 335: 85-94.

Kavas G., Çelikel N., Kınık Ö., (2015). *Candida albicans*: Süt Teknolojisindeki Önemi.<http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=352>.

Keha E., Küfrevioglu Ö.İ., (2004). Biyokimya. Erzurum: Aktif yayınevi.

Kerbel R.S., Ellis L.M., (2008). Angiogenezis. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA; eds. Cancer. 8 th ed. Philadelphia: Lippicott-Williams&Wilkins.103-116

Kesepara E.C., (2018). Viral Gastroenteritlerin Bağırsaktaki Probiyotik Bakteriler Üzerindeki Etkileri.Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.

Keser G., (2005). Nasturtium officinale R. Br.’de Kursunun Strese Bağlı Enzimlerin Aktivitelerine, Gelişmeye, Mineral ve Klorofil İçerigine Etkileri. Çukurova Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Keskin D., Ceyhan N., Uğur A., (2012). Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia*) green husks and leaves

from West Anatolia, *Journal of Pure and Applied Microbiology Volume* 6, Issue 2, June 2012, Pages 583-588.

- Khorrami S., Zarrabi A., Khaleghi M. , Danaei M. , Mozafari M.R.,** (2018). Yeşil sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin MCF-7 tümör hücre hattına karşı seçici sitotoksitesi ve gelişmiş antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri. *Int J Nanotıp*, 13: 8013–8024.
- Kılıç Y.,** (2003). *Laktobacillus* ve *Bifidobacterium* Cinsi Bakterilerin Beta-Galaktosidaz Enzim Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kim H.O., Park S.W., Park H.D.,** (2004). Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology*, 21, 105-110.
- King A., Philips I.,** (1978). The Identification of *Pseudomonas* and *Related Bacteria* in a Clinical Microbiology. *I. Medical Microbiology*, 11:165-175.
- Lagrange E.,** (1954). Bactericidal action of extract of the leaves of the walnut, *Juglans regia*. *Comptes Rendus Society Biology*, 148: 2097-2098.
- Lagrange E.,** (1955). Antagonizing actions of extracts of walnut leaves. *Comptes Rendus Society Biology*, 149: 593-594.
- Lavedrine F., Zmirou D., Ravel A., Balducci F., Alary J.,** (1999). Blood cholesterol..and walnut consumption: *A cross-sectional survey in France*. *Preventive Medicine*, 28: 333-339.
- Liu D. D., Gu C. T.,** (2020). Erratum: *Lactobacillus pingfangensis* sp. , *Lactobacillus daoliensis* sp., *Lactobacillus nangangensis* sp. , *Lactobacillus daowaiensis* sp. , *Lactobacillus dongliensis* sp. , *Lactobacillus songbeiensis* sp. ve *Lactobacillus kaifaensis* sp. , geleneksel Çin turşusundan izole edilmiş. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (12): 6414–6417.

- McLean J. A., Karadaş F., Surai P.F., McDevitt R.M., Speake B.K., (2005).** Lipid- soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comp. Biochem. Phys.*, 141: 366-372.
- Mills E.M., Takeda K., Yu Z.X., (1998).** Nerve growth factor treatment prevents the increase in superoxide produced by epidermal growth factor in PC12 cells. *Biol Chem.*, 273: 221-658.
- Mittal S., El-Serag B.H., (2013).** Epidemiology of HCC: Consider the Population. *J Clin Gastroenterol*, 47(0):2-6.
- Mossman T., (1983).** Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65, 55-63.
- Mot C.A., Dumitrescu S.R., Sarbu C., (2011).** Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-VIS spectroscopic data, *Journal of Food Composite and Analysis*, 24:516-522.
- Nathan P., Law E.J., Murphy D.F., MacMillan B.G., (1978).** A laboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds. *Burns*, 4:177- 187.
- Oliveira I., Sousa A., Ferreira C., Bento A., Estevinho L., Pereira J., (2008).** Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia L.*) green husks. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2326-2331.
- Özkaya A., (2007).** Oksidatif strese maruz kalan ratların bazı biyokimyasal parametrelerine hesperetin ve ellagik asidin etkisi, Doktora tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Özsan M., Aksoy A.M., Karaarslan A., (1993).** Üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*; 23: 3.

- Patel G.,** (2005). Essential fats in walnuts are good for heart and diabetes. *J. Am. Diet. Assoc.*, 105(7): 1096-1097.
- Parkin D.M.,** (2000). Global cancer statistics in the year. *Lancet Oncol*, 2:533– 543.
- Paull K.D.Ç., Shoemaker R.H., Boyd M.R., Parsons J.L., Risbood P.A., Barbera W.A., Sharma M.N., Baker D.C., Hand E., Scudiero D.A., Monks A., Alley M.C., Grote M.,** (1988). The synthesis of XTT: A new tetrazolium reagent that is bio-reducible to a water-soluble formazan. *J Heterocyclic Chem*, 25, 911-914.
- Pereira J., Oliveira I., Sousa A., Valentao P., Andrade P.,** (2007). Walnut (*Juglans regia L.*) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 2287-2295.
- Pereira J., Oliveira I., Sousa A., Ferreira I., Bento A., Estevinho L.,** (2008). Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia L.*) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2103-2111.
- Petrof E.O.,** (2009). Probiotics and Gastrointestinal Disease: Clinical Evidence and Basic Science. Department of Medicine, GIDRU and Division of Infectious Diseases, Queen's University, Kingston, on Canada.
- Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M.,** (2001). Antioxidants in food, CRC Press, USA.
- Reiter R.J., Manchester L.C., Tan D.,** (2005). Melatonin in walnuts: Influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition 21*, 920-924.
- Rietjens I.M.C.M., Boersma M.G., Spenkelink L.H.B., Awad H.M., Cnubben N.H.P., Zanden J.J, Woude H., Alink G.M., Koeman J.H.,** (2002). The prooxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 11:321-333.

- Riss T.L., Moravec R.A.**, (2006). Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. In *“Cell Biology”*, Ed; *Celis JE, Elsevier Academic Press*, Burlington.
- Ritola O., Livingstone D.R., Peters L.D., Lind P.S.**, (2002). Antioksidant processes are affected in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water. *Aquaculture*, 210: 1-19.
- Rosengarten F.**, (1984). *The Book of Edible Nuts*. Walker, New York.
- Sasidharan S., Prema B., Yoga L. L.**, (2011). Antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 130- 132.
- Savino F., Cordisco L., Tarasco V., Palumeri E., Calabrese R., Oggero R., Roos S., Diego M.**, (2010). *Lactobacillus reuteri* DSMZ 17938 in Infantile Colic: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Pediatrics*, 126 (3); e526–e533.
- Sayın O., Arslan N., Güner G.**, (2008). Resveratrol and cardiovascular system. *Turk. J. Biochem.*, 33 (3) : 117-121.
- Serrano A., Cofrades S., Ruiz-Capillas C., Olmedilla-Alonso B., Herrero-Barbudo C., Jimenez-Colmenero F.**, (2005). Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science* 70, 647-654.(i)
- Sharma R., Mishra V., Singh R., Seth N., Babu C.**, (2008). Antifungal activity of some Himalayan medicinal plants and cultivated ornamental species. *Fitoterapia*, 79 (7-8): 589-591.
- Shytayeh A., Yaghmour R., Faidi Y., Salem K., Al-Nuri M.**, (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 265- 271.
- Sierra A., Castellsague X., Escobedo A., Lloveras B., Garcia-Ramirez M.**, (2000). Bcl-2 with loss of apoptosis allows accumulation of genetic

alteration: a pathway to metastatic progression in human breast cancer. *International Journal of Cancer*, 89, 142-147.

Simopoulous A. P., (1991). Omega 3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 438-463.

Song Y., Samulski T.D., Van Dyke T.A., (2008). Cancer. İn: DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA; eds.Cancer. 8 th ed. Philadelphia: Lippicott- Williams&Wilkins;2008:3-12.

Spector D., Varmus H.E., Bishop J.M., (1978). Nucleotide sequences related to the transforming gene of avian sarcoma virus are present in DNA of uninfected vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*, 75 (9):4102-4106.

Şahin İ., Akbaş H., (2001). Farklı Yöre ve Çeşitlerden Cevizlerin Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması. Türkiye 1. Ulusal Ceviz Sempozyumu, 5-8 Eylül 2001, Tokat, 104-114.

Şeker E., Garipçin M., (2013). İnsanlarda ve Hayvanlarda Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) Enfeksiyonları. Elektronik *Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 11(1): 44- 60.

Şen S.M., (1986). Ceviz Yetiştiriciliği. Samsun: Eser Matbaası, 229s.

Şen S.M., (2011). Ceviz yetiştiriciliği ve besin değeri folklorü (4.Baskı). Ankara: ÜÇM Yayıncılık.

Şimşek M., (2015). Ceviz ve Beyin. [http:// www.diyarbakirsoz. com/ yazarlar/ msimsek/ ceviz-ve-beyin-8474](http://www.diyarbakirsoz.com/yazarlar/msimsek/ceviz-ve-beyin-8474).

Takikawa A., Keiko A., Yamamoto M., Ishimaru,S., Yasui M., Okubo Y., Yokoigawa K., (2002). Antimicrobial activity of nutmeg against *Escherichia coli* 0157. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94 (4), 315-320.

Tatar O., Hıslal Y., Dönmez M., (2001). Bazı balık yumurtalarında omega 3 yağ asitlerinin araştırılması. *Dünya Gıda*, 10: 61-64.

- Taviano M.F., Miceli N., Acquaviva R., Malfa G.A., Ragusa S., Giordano D., Cásedas G., Les F., López V. (L.) R. Br. Biol., (2020). 9:163. doi: 10.3390 / biology9070163.**
- Temelli S., (2002).** Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157:H7 ve önemi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Hekimliği Dergisi*, 21 p. 133-138.
- Temür N., (2006).** Çam, kavak, söğüt ve armut ağaçları üzerinde yetişen ökse otu (*viscumalbum* L.) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tokat.
- Tominaga H., Ishiyama M., Ohseto F., Sasamoto K., Hamamoto T., Suzuki K., Watanabe M., (1999).** A watersoluble tetrazolium salt useful for colorimetric cell viability assay. *Analytical Communications*, 36, 47- 50.
- Topçu A.W., Çerikcioğlu N., (2002).** Candida türleri Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri,; 1797- 1808.
- Tözün A. N., (2012).** Türkiye’de viral hepatitler ve hepatoselüler kanser. IV. Hepatoloji Okulu Konuşma Özetleri Kitabı. Bodrum.
- Tümbay E., Ustaçelebi S., (1999).** Candida türleri. Kitap:. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1081- 1086.
- USDA Nutrient Database., (1987).** Handbook 8 (i)
- Venugopal K., Ahmed H., Manikandan E., Thanigai A. K., Kavitha K., Moodley M.K., Rajagopal K., Balabhaskar R., Bhaskar M. J., Photochem P.B., (2017).** Antikanser aktivitesinin *Beta vulgaris* özütü üzerindeki etkisi, insan göğsü (MCF-7), akciğer (A549) ve farenks (HepG-2) kanser hücre hatlarına karşı biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküller (ag-NP'ler) aracılığıdır. 173: 99-107.
- Wang B., Mao YK., Diorio C., Pasyk M., Wu R.Y., Bienenstock J., Kunze W.A., (2010).** Luminal administration ex vivo of a live *Lactobacillus* species

moderates mouse jejunal motility within minutes. *FASEB J.* 24 (10), 4078–88.

Wickens A.P., (2001). Ageing and free radical theory. *Respiration Physiology*, 128: 379- 391.

Willet W.C., Sacks F., Trichopolou A., (1995). Mediterranean diet pyramid: A cultural for healthy eating. *Am. J. Clin.Nutr.*, 61 (6): 1402-1407.

Wuyts S., Wittouck S., De B.I., Allonsius C.N., Pasolli E., Segata N., Lebeer S., (2017). *Lactobacillus casei* [Grubunun Büyük Ölçekli Filogenomikleri Taksonomik Tutarsızlıkları Vurguluyor ve Clade İle İlişkili Yeni Özellikleri Ortaya Çıkartıyor](#) . *mSystems* . 2 (4): mSystems.00061–17, e00061–17.

Yılmaz H., Sütçü N.,Vural R., Delibaş H. N., (2007). Ratlarda diyetle ceviz katılmasının serum lipid profili ve nitrik oksit düzeylerine etkisi. *Türk Klin. Biyo. Derg.*, 5(3): 97-101.

Yiğit A., Ertürk Ü., Korukluoğlu M., (2005). Fonksiyonel bir gıda: Ceviz. *Bahçe Ceviz*, 34 (1): 163–169.(f)

Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C.M., ; Harris H.M.B., Mattarelli P., Toole P.W., Pot B., Vandamme P., Walter J., Watanabe K., (2020). *Lactobacillus* cinsine ilişkin taksonomik bir not: 23 yeni cinsin tanımı, *Lactobacillus Beijerinck* 1901 cinsinin değiştirilmiş açıklaması ve *Lactobacillaceae* ve *Leuconostocaceae*'nin birleşimi . *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (4): 2782–2858.

Zoral S., (2013). İnsan kaynaklı *Lactobacillus* suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir.

Zoral F.B., Turgay Ö., (2014). Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması. *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 17(2).

Zucco F., Angelis D.I., Stammati A., (1998). Cellular Models for In Vitro Toxicity Testing. In “Animal Cell Culture Techniques”, Ed; Clynes M, Springer Verlag, Germany.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı- soyadı: Merve GİDEMEN

Uyruğu: T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2019
Lise	İskenderun Lisesi	2015

Yabancı Dil

İngilizce