**PROBİYOTİK MENŞEİLİ EKZOPOLİSAKKARİTLERİN RESVERATROL VE KURKUMİN İLE KOMBİNASYONLARININ OLASI GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN *in vitro* ARAŞTIRILMASI**

**Elif Pınar GÜNDÜZ**

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# PROBİYOTİK MENŞEİLİ EKZOPOLİSAKKARİTLERİN RESVERATROL VE KURKUMİN İLE KOMBİNASYONLARININ OLASI GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN *in vitro* ARAŞTIRILMASI

Elif Pınar GÜNDÜZ
0009-0000-1719-5295

Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ
(Danışman)

Prof. Dr. Serap Çelikler KASIMOĞULLARI
(2. Danışman)

YÜKSEK LİSANS
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2026
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ ONAYI

Elif Pınar GÜNDÜZ tarafından hazırlanan "PROBİYOTİK MENŞEİLİ EKZOPOLİSAKKARİTLERİN RESVERATROL VE KURKUMİN İLE KOMBİNASYONLARININ OLASI GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN *in vitro* ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Başkan** | **:** | | İmza |
| **Üye** | **:** | Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ<br>0000-0002-5187-9380<br>Uludağ Üniversitesi,<br>Sağlık Bilimleri Fakültesi,<br>Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı | İmza |
| **Üye** | **:** | Doç. Dr. Didem SEVEN<br>0000-0003-3406-5905<br>Yeditepe Üniversitesi,<br>Tıp Fakültesi,<br>Tıbbi Genetik Anabilim Dalı | İmza |
| **Üye** | **:** | Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM<br>0000-0002-1459-5485<br>Uludağ Üniversitesi,<br>Fen-Edebiyat Fakültesi,<br>Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı | İmza |

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Ali KARA**
**Enstitü Müdürü**
**../../….**

**B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**06/05/2026**

**Elif Pınar GÜNDÜZ**

**TEZ YAYINLANMA**
**FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI**

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezin/raporun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma izni Bursa Uludağ Üniversitesi'ne aittir. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet hakları ile tezin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları tarafımıza ait olacaktır. Tezde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığını ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederiz.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında, yönerge tarafından belirtilen kısıtlamalar olmadığı takdirde tezin YÖK Ulusal Tez Merkezi / B.U.Ü. Kütüphanesi Açık Erişim Sistemi ve üye olunan diğer veri tabanlarının (Proquest veri tabanı gibi) erişimine açılması uygundur.

| | |
|---|---|
| Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ<br>Tarih | Elif Pınar GÜNDÜZ<br>Tarih |
| İmza<br>Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum anladım yazmalı ve imzalanmalıdır. | İmza<br>Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum anladım yazmalı ve imzalanmalıdır. |

**BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**
**LİSANSÜSTÜ TEZ TANITIMI**
**ÖĞRENCİ VE DANIŞMAN FORMU**

**FR 3.4.6_27**


**ÖĞRENCİ**
**Adı SOYADI : Elif Pınar GÜNDÜZ**
**ÜNVANI : Diyetisyen**
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ABD
E-POSTA : 502239013@ogr.uludag.edu.tr
PROGRAMI: YÜKSEK LİSANS
ORCID : 0009-0000-1719-5295
TÜBİTAK ID: TBTK-0224-4419
WOS RESEARCHER ID : PGG-0059-2026
SCOPUS AUTHOR ID :
Google Scholar ID : L8w4gPIAAAAJ

**DANIŞMAN**
**Adı SOYADI : Metin GÜLDAŞ**
**ÜNVANI : Prof.Dr.**
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ABD
E-POSTA : mguldas@uludag.edu.tr
YÖKSİS ARAŞTIRMACI ID : 122783
ORCID : 0000-0002-5187-9380
TÜBİTAK ID : TBTK-0007-7116
WOS RESEARCHER ID : U-1332-2019
SCOPUS AUTHOR ID : 35617778500
Google Scholar ID : P0m3i5kAAAAJ


**BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ YÜKSEK LİSANS EĞİTİMİ BOYUNCA BİLİMSEL ÇALIŞMALARI VE FAALİYETLERİ***

1. Güldaş, M., Gündüz E.P., Çelikler S, Vardar E. (2025). *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus acidophilus* Probiyotik Bakteri Suşlarından Elde Edilen Ekzopolisakkarit Kimyasal Profillerinin Karşılaştırılması (Yayınlanmamış performansa dayalı destek projesi). Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
2. Güldaş M., Gündüz E.P., Çelikler S., Vardar E. (2025). Probiyotik Menşeili Ekzopolisakkaritlerin Resveratrol ve Kurkumin ile Kombinasyonlarının Olası Genotoksik/Antigenotoksik Etkilerinin *in vitro* Araştırılması (Yüksek Lisans Tez Projesi). Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

BİRLEŞMİŞ MİLLETLER SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ

☐ 


☐ 


■ 


3.16.1399Curcumin,1.43.245 5 Anti-Cancer Agents, 1.264.1102Resveratrol, 1.119.454Breast Cancer Incidence

☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 


☐ 

# ÖZET


Yüksek Lisans

PROBİYOTİK MENŞEİLİ EKZOPOLİSAKKARİTLERİN RESVERATROL VE KURKUMİN İLE KOMBİNASYONLARININ OLASI GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN *in vitro* ARAŞTIRILMASI

**Elif Pınar GÜNDÜZ**

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ
**2. Danışman:** Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI

Kanser; henüz kesin tedavisi keşfedilememiş, mortalite oranları yüksek ve prognozu ağır hastalıklarda ilk sıralarda yer almaktadır. Bu nedenle başta tıp, moleküler biyoloji ve genetik, biyoteknoloji gibi bilim alanlarının üzerinde en çok çalıştığı konulardan biri olmuştur. Meme kanseri de özellikle kadınlarda hem prevalansı hem de mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle bilimsel çalışmaları üzerinde yoğunlaştırmaktadır. Kanserin tedavisinde uygulanan kemoterapi ve radyoterapi hem hayat kalitesini olumsuz etkilemekte hem de sağlıklı hücrelere zarar verme olasılığı taşımaktadır. Bu sebeple güncel kanser tedavisi yaklaşımlarında biyolojik canlılardan elde edilebilen ve sağlığa olumlu katkısı bulunan doğal moleküller ve kombinasyonlarının araştırılması büyük ölçüde önem kazanmıştır. Bu çalışmada, *Lactobacillus Acidophilu*s LA-5 suş kökenli ekzopolisakkaritlerin (LA-5 EPS), resveratrol ve kurkumin ile kombinasyonlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarındaki etkileri sitotoksisite ve genotoksisite açısından incelenmiştir. Çalışma bulgularına göre her iki hücre hattında da tek tek uygulamalarına kıyasla en fazla antiproliferatif etki EPS, kurkumin ve resveratrolün üçlü kombinasyon uygulaması sonucunda gözlemlenmiştir fakat hesaplamalar sonucunda üçlü kombinasyon da dahil diğer tüm kombinasyonların antagonistik etki potansiyeli taşıdığı görülmüştür (CI>1). Bunun yanı sıra LA-5 EPS'nin DNA hasarı oluşturma potansiyelinin MDA-MB-231 hücre hattında da resveratrol ve kurkumin ile üçlü kombinasyonlarına göre daha yüksek olduğu ($p<0,001$), MCF-7 hücre hattında ise EPS'nin tek başına uygulanması ile üçlü kombinasyon uygulamalarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. MDA-MB-231 hücrelerinde EPS'nin oluşturduğu hasarlı hücre oranı MCF-7 hücrelerine kıyasla benzer iken genetik hasar indeksi MDA-MB-231 hücrelerinde daha düşüktür. LA-5 EPS'nin meme kanseri ve sağlıklı meme hücreleri üzerindeki etkilerinin ileride yapılabilecek mekanistik çalışmalarla aydınlatılması ile, meme kanseri tedavisi için destekleyici ajan geliştirmede önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir.



**Anahtar Kelimeler:** Ekzopolisakkarit, Meme kanseri, Resveratrol, Kurkumin, DNA Hasarı

**2026, xvii + 88 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc Thesis

*In vitro* INVESTIGATION OF THE POTENTIAL GENOTOXIC/ANTIGENOTOXIC EFFECTS OF PROBIOTIC-DERIVED EXOPOLYSACCHARIDES IN COMBINATION WITH RESVERATROL AND CURCUMIN

**Elif Pınar GÜNDÜZ**

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology

**Supervisor:** Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ
**Co-supervisor:** Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI

Cancer is among the leading diseases with high mortality rates, poor prognosis, and no definitive cure. Therefore, it has become one of the most extensively studied subjects in medicine, molecular biology, genetics, and biotechnology. Breast cancer, in particular, attracts considerable scientific attention due to its high prevalence and mortality rates among women. Conventional cancer treatments such as chemotherapy and radiotherapy may negatively affect quality of life and damage healthy cells. Consequently, natural bioactive compounds and their combinations have gained importance as potential supportive therapeutic agents.

In this study, the effects of exopolysaccharides derived from the Lactobacillus acidophilus LA-5 strain (LA-5 EPS), alone and in combination with resveratrol and curcumin, were investigated in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines in terms of cytotoxicity and genotoxicity. The results demonstrated that the triple combination of EPS, curcumin, and resveratrol exhibited the strongest antiproliferative effect in both cell lines compared to individual treatments. However, combination index analyses indicated that all combinations, including the triple combination, showed antagonistic potential (CI > 1). Furthermore, in MDA-MB-231 cells, LA-5 EPS alone induced significantly higher DNA damage than the triple combination ($p < 0.001$), whereas no statistically significant difference was observed in MCF-7 cells. Future mechanistic studies may clarify the effects of LA-5 EPS on breast cancer and healthy breast cells and support its potential use as a complementary therapeutic agent in breast cancer treatment.



**Key words:** Exopolysaccharide, Breast cancer, Resveratrol, Curcumin, DNA damage

**2026, xvii + 88 pages.**

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması FYL-2025-2157 proje kodu ile, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

Tezimin tüm aşamalarında bana her konuda destek olan danışmanım sayın Prof. Dr. Metin GÜLDAŞ'a; çalışmama yön vermenin yanı sıra manevi desteklerini de esirgemeyen eş danışmanım sayın Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI'na içten teşekkürlerimi sunarım.

Deney aşamalarında paylaştıkları bilgiler ve sundukları imkanlarla destek oldukları için sayın Prof. Dr. Özgür VATAN'a, sayın Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN'a, sayın Doç. Dr. Mehmet SARIMAHMUT'a ve sayın Dr. Elif UZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerini hiç sakınmadan benimle paylaşan, zor anlarda motivasyonumu arttıran, emekleri çok kıymetli olan sevgili çalışma arkadaşlarım Dr. Merve DEMİRBAĞ'a ve sevgili Ece VARDAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne gelmemi sağlayan annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme ve en çok, her zor anımda sevgi ve sabırla yanımda duran, her başarımda gururla elimi tutan, en kıymetli destekçim sevgili eşim sayın Oğuzhan GÜNDÜZ'e kalpten teşekkürlerimi sunarım.

Elif Pınar GÜNDÜZ
04/05/2026

# İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... viii
ABSTRACT ..... ix
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR ..... x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ ..... xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... xv
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... xvii
1. GİRİŞ ..... 1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI ..... 4
2.1. Kanserin Tanımlanması ve Tedavi Yolları ..... 4
2.1.1. Temel kanser oluşum mekanizması ..... 4
2.1.2. Kanser tedavilerinde güncel yaklaşımlar ..... 7
2.2. Meme Kanseri ..... 9
2.2.1. Meme kanseri epidemiyolojisi ..... 9
2.2.2. Meme kanseri risk faktörleri ..... 10
2.2.3. Meme kanserinde moleküler prognostik biyobelirteçler ..... 12
2.2.4. Meme kanseri moleküler sınıflandırması ve hücre tipleri ..... 15
2.2.5. Meme kanseri tedavisinde doğal bileşenlerin kullanımı ..... 17
2.3. Ekzopolisakkaritler (EPS) ..... 18
2.3.1. Ekzopolisakkaritlerin biyosentezi ..... 19
2.3.2. Bakteriyel ekzopolisakkaritlerin antikanserojenik etkileri ..... 21
2.4. Resveratrol ..... 26
2.4.1. Resveratrolün genel özellikleri ..... 26
2.4.2. Resveratrolün antikanserojenik etkileri ..... 26
2.5. Kurkumin ..... 28
2.5.1. Kurkuminin genel özellikleri ..... 28
2.5.2. Kurkuminin antikanserojenik etkileri ..... 29
3. MATERYAL ve YÖNTEM ..... 31
3.1. Probiyotik Bakteri ve Antioksidan Madde Temini ..... 32
3.2. Ekzopolisakkarit (EPS) İzolasyonu ve Karakterizasyonu ..... 32
3.3. EPS ve Antioksidan Maddelerin Sitotoksik Analizleri ..... 34
3.3.1. Hücre kültürü temini, besiyeri ve büyüme koşulları ..... 34
3.3.2. Hücrelerin çözdürülme, pasajlanma ve dondurulma koşulları ..... 34
3.3.3. EPS ve antioksidan maddelerin çözdürülmesi, stoklanması ve filtrelenmesi ..... 35
3.3.4. Sitotoksik aktivitelerin belirlenmesi ..... 35
3.4. EPS, Kurkumin ve Resveratrol'ün Genotoksik/Antigenotoksik Potansiyelinin *in vitro* Belirlenmesi ..... 38
3.4.1. *In vitro* alkali komet testi ..... 38
3.5. İstatistiksel Analiz ..... 41
4. BULGULAR ..... 42
4.1. EPS Fiziksel Özellikleri ve Kimyasal Profili ..... 42
4.2. Sitotoksisiste Analizi Sonuçları ..... 43
4.2.1. EPS sitotoksisite analiz sonuçları ..... 43
4.2.2. Resveratrol sitotoksisite analizleri ..... 45
4.2.3. Kurkuminin sitotoksik analizleri ..... 46
4.2.4. Siklofosfamidin (SF) sitotoksik analizleri ..... 48

4.2.5. EPS-Resveratrol-Kurkumin kombinasyonlarının sitotoksik analizleri ..... 49
4.3. Alkali Komet Testi Bulguları ..... 52
4.3.1. MCF-7 hücre hattı alkali komet testi bulguları ..... 52
4.3.2. MDA-MB-231 hücre hattı alkali komet testi bulguları ..... 58
4.3.3. İki hücre hattında komet analiz parametrelerinin karşılaştırılması ..... 64
5. TARTIŞMA ve SONUÇ ..... 70
KAYNAKLAR ..... 78
ÖZGEÇMİŞ ..... 88

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler | Açıklama |
|---|---|
| w/v | Ağırlık/hacim |
| v/v | Hacim/hacim |
| rpm | Revolutions per minute |
| pH | Potansiyel Hidrojen |
| kDa | Kilodalton |
| µg | Mikrogram |
| µl | Mikrolitre |
| mg | Miligram |
| ml | Mililitre |
| mM | Milimolar |
| nm | Nanometre |
| °C | Santigrat Derece |
| Σ | Sigma |
| % | Yüzde |

| Kısaltmalar | Açıklama |
|---|---|
| Abs | Absorbans |
| AP-1 | Activator Protein 1 |
| AMPK | Adenosine Monophosphate Activated Protein Kinase |
| ATP | Adenozin Trifosfat |
| AR | Androjen Reseptör |
| ATM | Ataxia Telangiectasia Mutated |
| BARD1 | BRCA1 Associated RING Domain 1 |
| BRIP1 | BRCA1 Interacting Protein C-Terminal Helicase 1 |
| BRCA1 | Breast Cancer Gene 1 |
| BRCA2 | Breast Cancer Gene 2 |
| CDH1 | Cadherin 1 (E-cadherin) |
| CEA | Carcinoembryonic Antigen |
| CHEK2 | Checkpoint Kinase 2 |
| MRS broth | De Man, Rogosa and Sharpe broth |
| DNA | Deoksiribonükleik Asit |
| DNMT | DNA metiltransferaz |
| EPS | Ekzopolisakkarit |
| EGFR | Epidermal Growth Factor Receptor |
| ER | Estrogen Receptor |
| Erα | Estrogen Receptor Alpha |
| Erβ | Estrogen Receptor Beta |
| ERRγ | Estrogen-Related Receptor Gamma |
| ERK | Extracellular Signal-Regulated Kinase |
| FBS | Fetal Bovine Serum |
| FoF1-ATP | $F_oF_1$-ATP Synthase |
| GRAS | Generally Recommended As Safe |
| Glc | Glikoz |
| Glc-6-P | Glikoz-6-fosfat |

| | |
|---|---|
| Glc-1-P | Glikoz-1-fosfat |
| GTF | Glikoziltransferaz |
| GLOBOCAN | Global Cancer Observatory |
| HCl | Hidroklorik Asit |
| HPLC | High Performance Liquid Cromatography |
| HMGB1 | High Mobility Group Box 1 |
| Her2 | Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 |
| $IC_{50}$ | Half Maximal Inhibitory Concentration |
| $CO_2$ | Karbondioksit |
| Ki67 | Ki-67 Proliferation Index |
| LA-5 EPS | *Lactobacillus acidophilus* LA-5 suşu ekzopolisakkariti |
| LAB | Laktikasit Bakterileri |
| LAB-EPS | Laktikasit Bakterileri kökenli EPS |
| LMP | Low Melting Point |
| MMP | Matriks metalloproteinaz |
| mTOR | Mechanistic Target of Rapamycin |
| MAPK | Mitogen-Activated Protein Kinase |
| NMP | Normal Melting Point |
| NF-κB | Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells |
| ODTÜ | Orta Doğu Teknik Üniversitesi |
| PALB2 | Partner and Localizer of BRCA2 |
| PDX | Patient Derived Xenogreft |
| PTEN | Phosphatase and Tensin Homolog |
| PBS | Phosphate-Buffered Saline |
| PIK3CA. | Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit α |
| PR | Progesteron Receptor |
| ROS | Reactive Oxygen Species |
| RecQ | RecQ Helicase Family |
| RNA | Ribonükleik Asit |
| RPMI | Roswell Park Memorial Institute medium |
| STAT3 | Signal Transducer and Activator of Transcription 3 |
| SIRT7 | Sirtuin 7 gen ve proteini |
| NaOH | Sodyum hidroksit |
| SRB | Sulforhodamine B |
| TCA | Trichloroacetic Acid |
| P53 | Tumor Protein p53 |
| TSGF | Tumor-Specific Growth Factor |
| UV | Ultraviyole |
| UDP-Glc | Üridin difosfat glikoz |
| VEGF | Vascular Endothelial Growth Factor |
| VEGFR2 | Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 |

# ŞEKİLLER DİZİNİ


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| Şekil 2.1. | Normal hücre ile kanserde hücre oluşumu ve yaşam döngüleri | 4 |
| Şekil 2.2. | Kanserin ayırt edici özellikleri | 5 |
| Şekil 2.3. | Güncel kanser tedavi stratejileri | 7 |
| Şekil 2.4. | Dünya'da tüm cinsiyetlerde insidansı en yüksek kanser türleri | 8 |
| Şekil 2.5. | Dünya'da sadece kadınlarda insidansı en yüksek kanser türleri | 9 |
| Şekil 2.6. | Meme kanserinin temel moleküler sınıflandırması | 16 |
| Şekil 2.7. | En sık kullanılan ekzopolisakkaritler ve kimyasal yapıları | 18 |
| Şekil 2.8. | Ekzopolisakkaritlerin sentezinde yer alan biyosentetik yollar | 20 |
| Şekil 2.9. | Laktik asit bakterilerinden elde edilen ekzopolisakkaritlerin antikanserojenik etkileri | 24 |
| Şekil 2.10. | Kanser ile mücadelede resveratrolün etkin olduğu bilinen mekanizmalar | 26 |
| Şekil 2.11. | Kurkuminin antikanser etki mekanizmaları | 29 |
| Şekil 3.1. | Komet testi sonucu görsel genetik hasar sınıflaması | 39 |
| Şekil 4.1. | Lactobacillus acidophilus LA-5 suşundan elde edilen liyofilize EPS | 41 |
| Şekil 4.2. | Lactobacillus acidophilus LA-5 suşundan elde edilen ekzopolisakkarit örneğine ait FTIR analizi sonucu | 42 |
| Şekil 4.3. | LA-5 EPS'nin uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları | 43 |
| Şekil 4.4. | LA-5 EPS'nin uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları | 4 |
| Şekil 4.5. | Resveratrolün uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları | 45 |
| Şekil 4.6. | Resveratrolün uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları | 45 |
| Şekil 4.7. | Kurkuminin uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları | 46 |
| Şekil 4.8. | Kurkuminin uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları | 47 |
| Şekil 4.9. | Siklofosfamidin uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları | 48 |
| Şekil 4.10. | Siklofosfamidin uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları | 48 |
| Şekil 4.11. | EPS-Resveratrol-Kurkumin farklı kombinasyonlarına göre MCF-7 hücre hattındaki canlılık oranları | 49 |
| Şekil 4.12. | EPS-Resveratrol-Kurkumin farklı kombinasyonlarına göre MCF-7 hücre hattındaki canlılık oranları | 50 |
| Şekil 4.13. | EPS, kurkumin ve resveratrolün farklı kombinasyonlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerindeki canlılık oranı karşılaştırması | 51 |

Şekil 4.14. MCF-7 hücre hattı deney gruplarında çeşitli komet testi parametreleri ölçümleri 57
Şekil 4.15. MDA-MB-231 hücre hattı deney gruplarında çeşitli komet testi parametreleri ölçümleri 63
Şekil 4.16. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları komet veri karşılaştırmaları 64
Şekil 4.17. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında genetik hasar indeksi ve hasarlı hücre oranları ile iki hücre hattının karşılaştırılması 67
Şekil 4.18. MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hattında tüm gruplara ait komet analizi görüntüleri 68

# ÇİZELGELER DİZİNİ


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| Çizelge 2.1. | Meme kanseri oluşumu için risk faktörleri | 10 |
| Çizelge 2.2. | Meme kanseri teşhisinde kullanılan biyobelirteçler ve fonksiyonları | 12 |
| Çizelge 3.1. | Deneylerde kullanılan malzeme ve ekipmanlar ile marka-model bilgileri | 30 |
| Çizelge 3.2. | MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine uygulanan etken maddeler ve dozları | 35 |
| Çizelge 3.3. | Her iki hücre hattında IC50 dozlarında uygulanan EPS, kurkumin ve resveratrolün kombinasyon modelleri | 37 |
| Çizelge 4.1. | Chou-Talalay metoduna göre MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında kullanılan kombinasyonların kombinasyon indeks değerleri ve etki tanımlamaları | 52 |
| Çizelge 4.2. | MCF-7 hücrelerinde komet testi ortalama ve standart hata değerleri ile negatif kontrol grubu ve EPS grubuna göre fark analizleri | 54 |
| Çizelge 4.3. | MDA-MB-231 hücrelerinde komet testi ortalama ve standart hata değerleri ile negatif kontrol grubu ve EPS grubuna göre fark analizleri | 60 |
| Çizelge 4.4. | MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarında genetik hasar indeksi ve hasarlı hücre oranları | 66 |

# 1. GİRİŞ

Günümüzde, tedavisi ve önlenmesi üzerinde en çok çalışma yapılan hastalıklardan biri kanser hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre kanser, vücudun hemen hemen her organında veya dokusunda anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi, normal sınırlarının ötesine geçerek vücudun diğer kısımlarını istila etmesi ve/veya diğer organlara yayılmasıyla başlayabilen geniş bir hastalık grubudur. Bu yayılma sürecine metastaz denir ve kanserden kaynaklanan ölümlerin başlıca nedenidir (Global Cancer Observatory [GLOBOCAN], 2022). Başka bir tanımla kanser, doğal seçilim yoluyla evrime tabi olan, dönüşmüş hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize bir hastalıktır (Brown ve diğerleri, 2023). Moleküler biyoloji alanındaki keşif ve çalışmaların ilerlemesiyle birlikte, kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasına, farklılaşma yeteneklerini kaybetmelerine ve normal dokularda kolay bir şekilde invazyonuna yol açan bir dizi sürücü mutasyona maruz kaldığı anlaşılmıştır (Rane ve diğerleri, 2023). Bu çerçevede kanser, genlerin bir hastalığı olarak kavramsallaştırılmıştır. Bu yaklaşımda mutasyonlar büyük ölçüde standart tetikleyici olarak görülmektedir. (Brown ve diğerleri, 2023).

Kanserin erken teşhisi, uygun biyobelirteçlerin test edilmesi, patolojik incelemelerin detaylandırılması gibi unsurlar hastalığın hem prognozu hem de tedavi protokol ve içeriklerinin belirlenmesinde önemli kriterlerdir. Geleneksel tedavi yöntemleri cerrahi müdahaleler, kemoterapi ve radyoterapi uygulamalarıdır ancak; kanserin geleneksel tedavi yöntemlerinde hayat kalitesi de olumsuz etkilenmektedir ve sağlıklı hücreler de bu tedaviler sonucunda zarar görebilmektedir. Bu sebeple güncel tedavi yaklaşımlarında geleneksel uygulamalardan bağımsız ya da kombine halde immünoterapi, kök hücre tedavisi uygulamaları da artış eğilimi göstermektedir. Sağlığa zararlı olmadığı bilinen doğal moleküllerin ve bunların kombinasyonlarının antikanser etkilerinin keşfi de bu noktada önem kazanmış ve son dönem kanser araştırmalarının birçoğuna konu olmuştur. Bu araştırmalar içinde en yeni keşiflerden biri de probiyotik özellikteki bakterilerin postbiyotik adı verilen metabolitlerinden olan ekzopolisakkaritlerin anti-kanser etki potansiyelidir.

Ekzopolisakkaritler mikroorganizmaların yaşamları boyunca üretip dış ortama salgıladıkları yahut bünyelerinde barındırdıkları aynı tür ve/veya farklı türlerde çok sayıda sakkarit yapıdaki moleküllerin bir araya gelerek oluşturduğu yapılardır. Kozmetik, ilaç ve gıda sanayii başta olmak üzere birçok endüstriyel alanda fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanılan ekzopolisakkaritlerin son yıllarda sağlık üzerindeki olumlu etkilerine dair çalışmalar dikkat çekmiştir. Özellikle probiyotik bakterilerin ürettiği ekzopolisakkaritler, sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin yanı sıra *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gözlemlenen dolaylı ya da direkt antikanser etkileri ile dikkat çekmekte ve yeni nesil kanser tedavilerinde potansiyel yardımcı ajan olarak nitelendirilmektedirler. Ne varki, probiyotik bakteri kökenli ekzopolisakkaritlerin kansere karşı koruyucu etkileri ve sağlıklı hücreler üzerindeki olumlu etkileri çalışmalarla incelense de, kanser hücreleri üzerindeki genotoksik/antigenotoksik etkileri üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Öte yandan, diğer antikanser etkisi olduğu bilinen doğal moleküllerle kombine etkisinin kanser hücreleri üzerinde ne yönde olacağına dair bilgiler de kısıtlıdır. Bu kapsamda, probiyotik bakteri kökenli ekzopolisakkaritlerin sağlıklı hücrelerin yanı sıra kanserli hücreler üzerindeki tek başına ve diğer antikanser etkili doğal moleküller ile kombinasyonlarının sitotoksisite ve genotoksisite açısından etkilerinin incelenmesi, meme kanseri tedavisinde yeni yardımcı terapötik ajan arayışlarına ışık tutmak açısından oldukça önemlidir.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda probiyotik özellikteki *L. acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen ekzopolisakkaritin (LA-5 EPS) hem tek başına hem de resveratrol ve kurkumin ile kombinasyonlarının meme kanseri hücre hatları MCF-7 ve MDA-MB-231 üzerindeki etkilerinin sitotoksisite ve genotoksisite açısından incelenmesi amaçlanmıştır. LA-5 EPS'nin kimyasal yapıları FTIR yöntemi ve HPLC yöntemleri kullanılarak analiz edilmiş olup; sitotoksik aktivitenin belirlenmesinde Sulforodamin-B (SRB) testi ve olası genotoksik/antigenotoksik aktivitenin belirlenmesinde Komet analiz yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen veriler, LA-5 EPS'nin resveratrol ve kurkumin ile kombinasyonlarının antiproliferatif etkileri bakımından ileri çalışmalarla incelenmesinin meme kanseri tedavisi için klasik yöntemlere alternatif/destekleyici doğal molekül arayışında yol gösterici olabileceğini ve LA-5 EPS'nin bu hücre hatları üzerinde

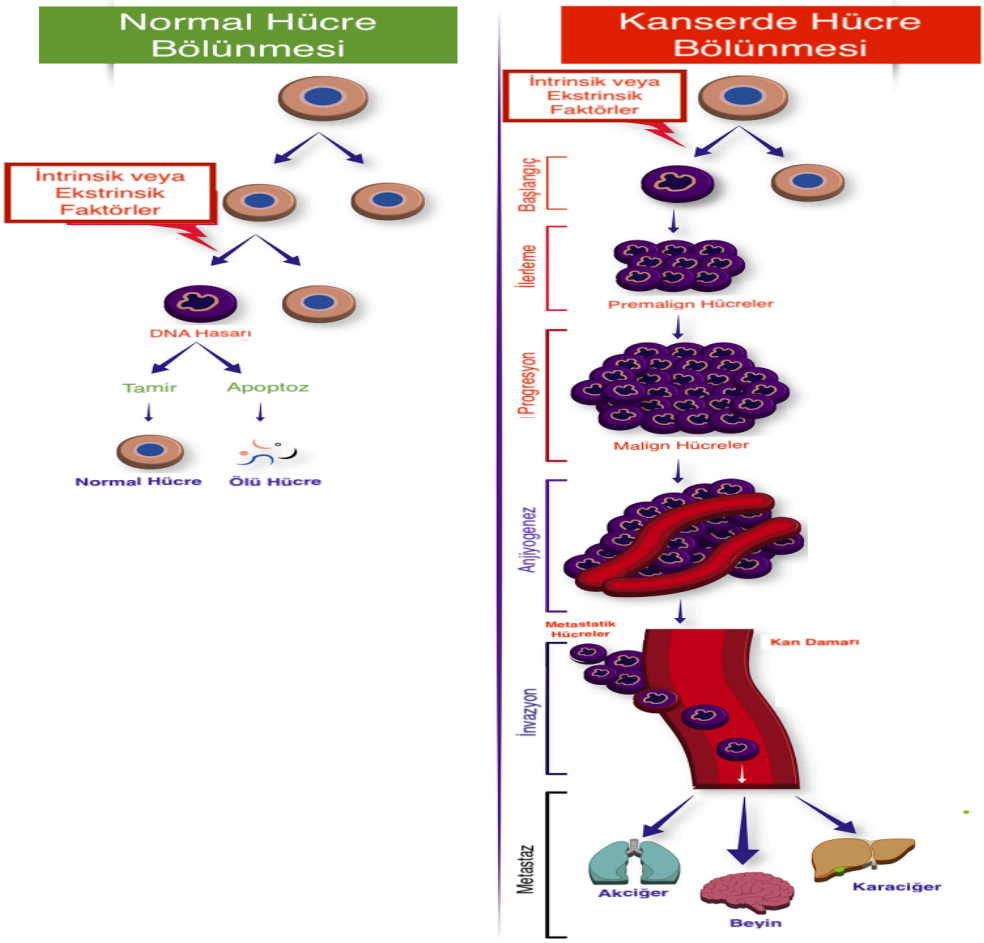
oluşturduğu DNA hasarı etkisinin sağlıklı hücre hatlarında da değerlendirilmesi ile birlikte genotoksisite çalışmalarına daha fazla ışık tutabileceği sonucuna varılmıştır.

# 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

## 2.1. Kanserin Tanımlanması ve Tedavi Yolları

### 2.1.1. Temel kanser oluşum mekanizması

Hücresel DNA'daki kodlanmış bilginin bozulması sonucu ortaya çıkan kanser genetik bir hastalıktır ve bu durum anormal gen ekspresyonu örüntülerine yol açabilmektedir. Bu durumun sonucunda, büyüme, hayatta kalma ve hareketlilik, hücre tipine özgü işlevler gibi normal hücresel aktiviteleri kontrol eden genlerin etkileri artarken diğer yandan bu etkileri baskılayan genlerin etkileri azalır (Nenclares ve Harrington, 2019). İntrinsik veya ekstrinsik faktörlerle DNA molekülünde oluşan hasarlar sonucunda normal hücrelerde DNA tamir mekanizmaları ya da apoptoz gibi doğal hücresel süreçler oluşur. Fakat kanserli hücrelerde bu doğal süreçler bozulur ve anormal hücre bölünmesi başlar. Bu hücreler çoğalarak progresyon adı verilen hızla çoğalma sürecine girer, anjiyogenez ile damarlı yapılar oluşur, metastatik özellik kazanmış bu hücreler invazyon sürecinde kan dolaşımına geçer ve bu şekilde köken aldığı dokudan çıkıp diğer organlara ulaşarak metastazı gerçekleştirir. Şekil 2.1'de normal hücrelerin oluşumu ve yaşam döngüsü ile kanser hücrelerinin oluşum ve yaşam döngüsü gösterilmektedir. Normal hücrelerde ekstrinsik veya intrinsik faktörler nedeniyle oluşan DNA hasarları, DNA tamir mekanizmaları ile düzeltilerek hücrenin normal şekilde yaşam sürmesi sağlanır; yahut hücre apoptoza girer ve canlılığını yitirir. Kanserli hücre oluşumunda ise tamir mekanizmları ya da apoptoz devre dışı kalır ardından hasarlı DNA'ya sahip hücre sırasıyla progresyon, anjiyogenez, invazyon ve metastaz süreçlerine girer (Mahmoud ve Abdelrazek, 2019).



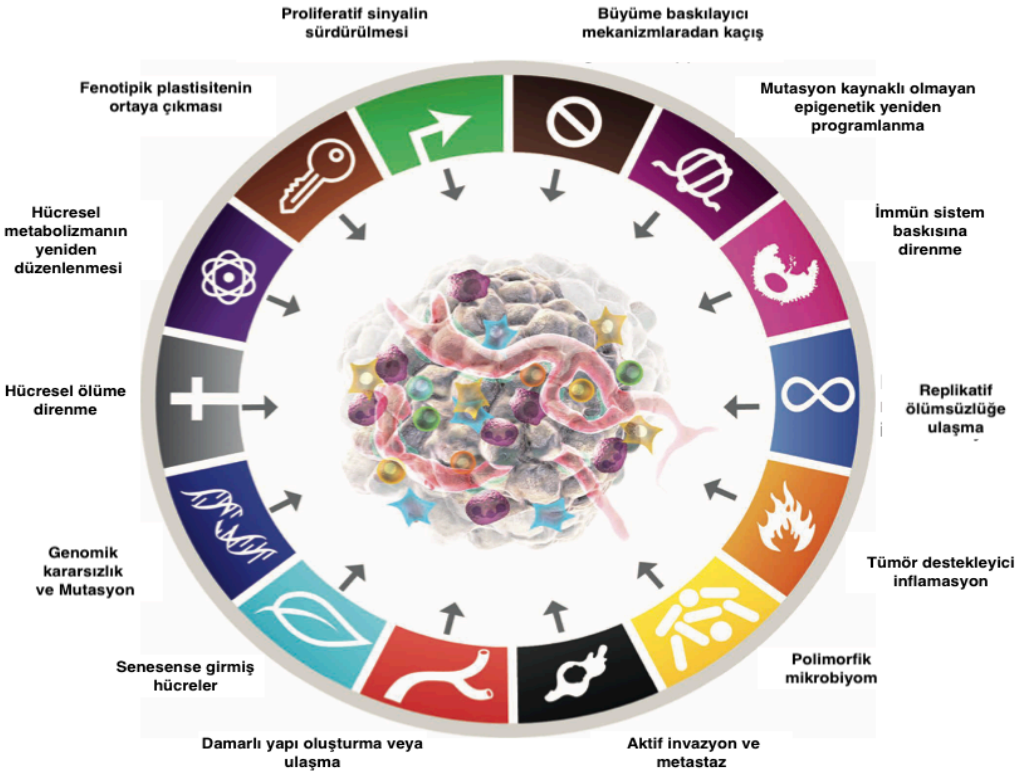

**Şekil 2.1.** Normal hücre ile kanserde hücre oluşumu ve yaşam döngüleri (Mahmoud ve Abdelrazek, 2019 çevirisi)

Hücresel DNA'da oluşan değişikliklerin temel mekanizması mutasyonların birikimidir; ancak mutasyon dışında epigenetik mekanizmalardan olan DNA metilasyonu gibi bazı süreçlerin de bu değişikliklerde merkezi bir rol oynadığı kabul görmektedir. Anormal gen ekspresyonu, kanser hücreleri içinde biyolojik süreçlerde köklü değişikliklere neden olur ve bunlar kanserin karakteristik ayırt edici özelliklerini oluştururlar (Nenclares ve Harrington, 2019).

İnflamasyon ve genomik kararsızlığın kanser oluşumunu mümkün kılabileceğinin belirtilmesinin yanı sıra; asıl kanserin ayırt edici özellikleri güncel olarak aşağıdaki gibi sıralanmıştır (Nenclares ve Harrington, 2019; Hanahan, 2022):

- Büyüme faktörlerinden bağımsızlık veya kendi kendine büyüme
- Büyüme karşıtı sinyallere duyarsızlık
- Programlanmış hücre ölümüne (apoptoza) girmeme
- Kendine ait bir kan damarları ağı oluşturabilme (anjiyogenez)
- Telomerazın yeniden aktive edilmesiyle ölümsüzleşme
- Komşu normal dokulara invazyon ve uzak bölgelere metastaz yapabilme
- Enerji metabolizmasının yeniden programlanması
- Bağışıklık sistemi tarafından yok edilememe

Son iki özellik olan enerji metabolizmasının yeniden programlanması ve bağışıklık sistemi tarafından yok edilememe, daha önce ayırt edici özellik olarak kabul edilmezken, 2011 yılından bu yana ayırt edici özellikler arasına katılmıştır. Şekil 2.2'de kanserin ayırt edici sekiz özelliği ve kanser oluşumunu mümkün kılabilen iki özelliğin yanı sıra ileride de ayırt edici özellik olarak kabul edilmesi ön görülen dört özelliğin yer aldığı güncel parametreler gösterilmektedir (Hanahan, 2022).




**Şekil 2.2.** Kanserin ayırt edici özellikleri (Hanahan, 2022)

Tüm bu özelliklere karşı geliştirilmiş ve geliştirilmekte olan biyolojik, fiziksel ve kimyasal güncel tedavi ajanları ile tedavilere yardımcı ajanlar, bilinen moleküler yolaklar aracılığı ile büyük ölçüde kanserli hücrelerin DNA yapısına müdahale ederek apoptozu indüklemeyi, proliferasyonu ve invazyonu azaltmayı ve/veya engellemeyi amaçlamaktadır (Swift ve Golsteyn, 2014). Bu amaç doğrultusunda seçilen ajanların doğal ve sağlıklı hücrelere zarar vermediği bilinen biyolojik canlılar veya bunlardan elde edilen moleküller olması son yıllarda giderek önem kazanmaya başlamıştır.

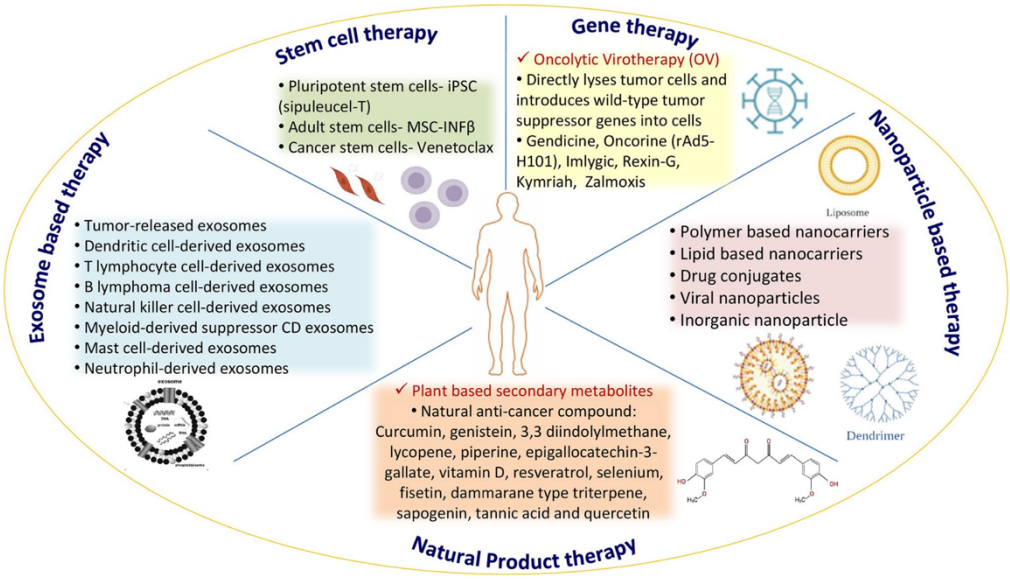
### 2.1.2. Kanser tedavilerinde güncel yaklaşımlar

Geleneksel kanser tedavilerinde kullanılan yöntemler; tümörün cerrahi müdahale ile çıkarılması ve bunu takiben X-ışınları kullanılan radyoterapi veya kemoterapi uygulamalarıdır (Arruebo ve diğerleri, 2011). Ancak bu uygulamalar bazı dezavantajlara da sahiptir. Örneğin cerrahi işlemler, kanserin yalnızca erken evrelerde teşhis edilmesi durumunda en etkili tedavi yöntemidir. Radyoterapinin dezavantajı ise, sağlıklı hücrelere, dokulara ve organlara zarar vermesidir. Kemoterapinin ölüm oranı daha düşük olsa da, neredeyse her kemoterapötik ajan özellikle hızlı bölünen sağlıklı hücrelere de zarar verebilmektedir (Moses ve diğerleri, 2003). Kemoterapiyle ilişkili en önemli sorunlardan biri de ilaç direncidir. Bu durum, kanser hücrelerinin baskılanmasında başlangıçta olumlu etki gösteren antikanser tedavinin zamanla bu ajana karşı etkisiz hâle gelmesiyle ortaya çıkar. Ayrıca, ilaç emiliminin azalması ve ilaç effluksu olarak tanımlanan ilaçların hücre dışına atılması bu durumun başlıca nedenleri arasındadır (Shapira ve diğerleri, 2011). Geleneksel kemoterapötik yöntemlerin diğer dezavantajları da; doz seçimiyle ilgili zorluklar, seçiciliğin azalması, ilacın hızlı metabolizması ve ortaya çıkarabildiği yan etkilerdir (Kaur ve diğerleri, 2023).

Bu tedavi yöntemlerine ek olarak, tümör hücrelerini yok eden hastanın kendi bağışıklık sistemi hücrelerini özel olarak uyararak tedavi eden yeni tedavi yöntemleri de geliştirilmiştir (Gonzales Carazas ve diğerleri, 2021). Günümüzde immünoterapi, kanser hastalarını tedavi etmenin en etkili yollarından biri olarak kabul edilmektedir. Kanseri tedavi etmek için immünoterapinin türleri, bağışıklık yanıtını engelleyen inhibitörler, T hücresi transfer tedavisi, monoklonal antikorlar, tedavi aşıları ve bağışıklık sistemi modülatörleri olarak sınıflandırılabilir (Gonzales Carazas ve diğerleri, 2021). Bağışıklık,

doğuştan gelen ve edinsel olmak üzere iki ana başlık altında incelenir. Kanser immünoterapisi için üzerinde çalışılan birçok yeni stratejinin prensibi, konakçının tümör hücrelerine karşı kendi bağışıklık yanıtını güçlendirmeye dayanmaktadır. Bu bağlamda, farklı bitkisel, kimyasal ve biyokimyasal bileşenler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Onur ve diğerleri, 2022).

Bunların yanısıra hastaya özgü gözlemler ve tedavi stratejileri geliştirmek amacıyla hastanın kendisinden elde edilen ksenogreft (PDX) ve organoid adı verilen üç boyutlu kültürler ile görüntüleme ve analiz teknikleri üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır ancak en geniş analiz imkanını sunan ileri genomik dizilemeler dahi henüz kesin tedavi imkanı sunamamaktadır (Kaur ve diğerleri, 2023). Nitekim, güncel tedavi yaklaşımlarında, sağlık üzerinde olumsuz etkilere sahip olmayan doğal moleküllerin keşfi üzerinde durulması ile bireysel analizlerin en doğru şekilde yapılabilmesi ve değerlendirilmesi için farklı alanlardan uzmanların yer aldığı moleküler onkoloji kurullarının oluşturulması da önerilmektedir (Van De Haar ve diğerleri, 2019). Şekil 2.3'de bilinen güncel kanser tedavi stratejileri gösterilmiştir.

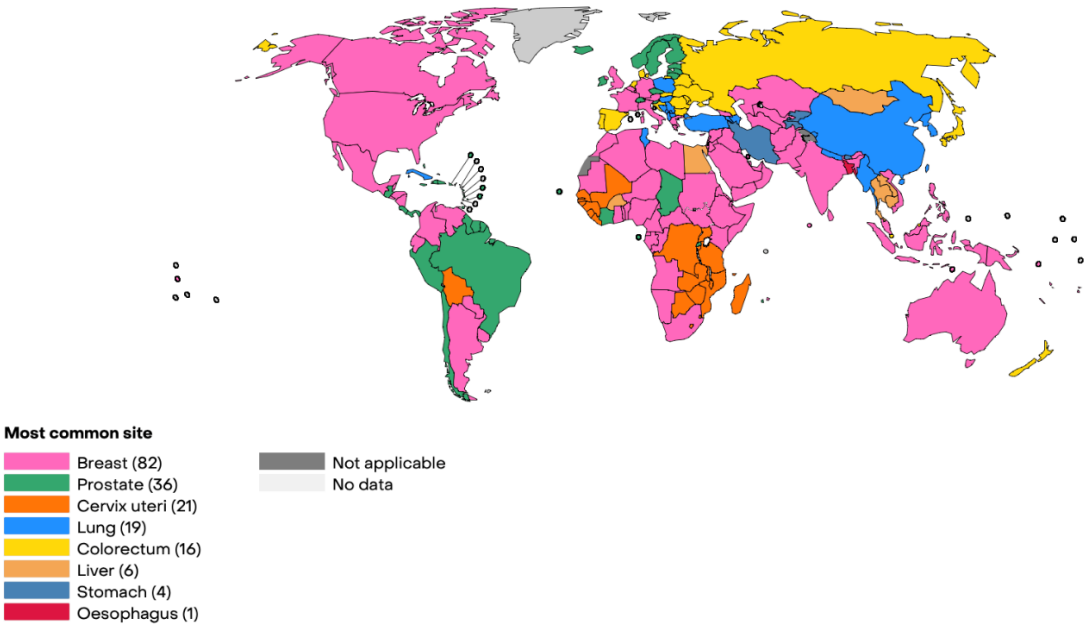



**Şekil 2.3.** Güncel kanser tedavi stratejileri (Kaur ve diğerleri, 2023)

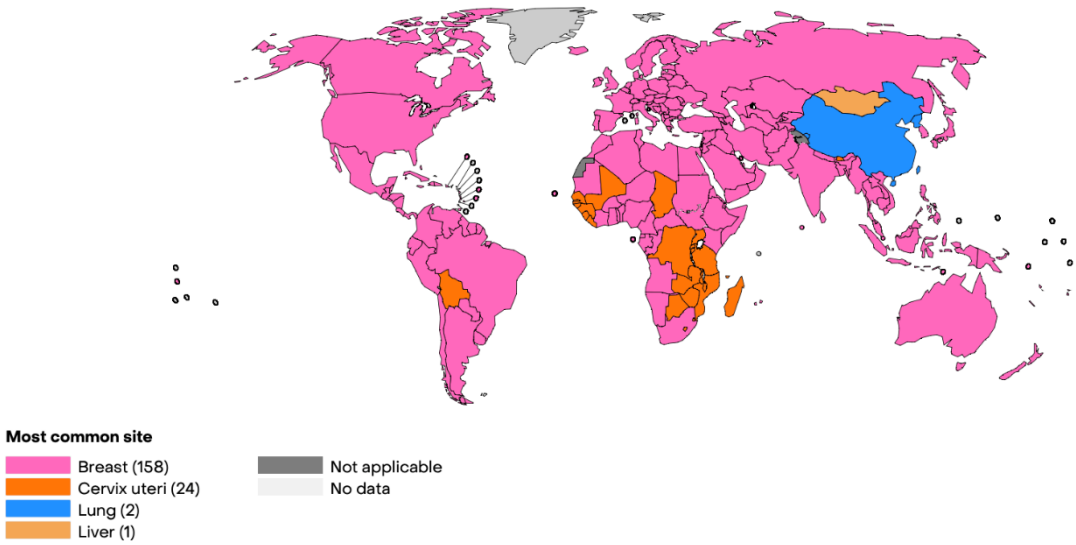
## 2.2. Meme Kanseri

### 2.2.1. Meme kanseri epidemiyolojisi

Küresel Kanser Gözlemevi 2022 verilerine göre meme dokusunda oluşan kanser, tüm Dünya'da ve Türkiye'de kadınlarda birinci sırada, kadın ve erkek toplam vakalarda ise ikinci sırada yer almaktadır. Aynı istatistiklerde ülkemizde ölümle sonuçlanan kanser vakalarında meme kanserinin kadınlarda ilk sırada yer aldığı belirtilmiştir (Global Cancer Observatory [GLOBOCAN], 2022). Şekil 2.4'de tüm cinsiyetlerde Dünya ülkelerine göre en sık görülen kanser türleri gösterilmiştir. Bu verilere göre tüm Dünya'da en yüksek kanser insidansı meme kanserinin; Türkiye'de en yüksek kanser insidansı ise akciğer kanseridir. Şekil 2.5'de ise yine Dünya ülkelerine göre sadece kadınlarda en sık görülen kanser türleri gösterilmiştir. Bu verilere göre de hem tüm Dünya kadınlarında hem de Türkiye'deki kadınlarda kanser insidansı en yüksek olan, meme kanseridir. Sadece kadınlarda tüm Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de meme kanseri insidansı ilk sırada yer almaktadır (GLOBOCAN, 2022).




**Şekil 2.4.** Dünya'da tüm cinsiyetlerde insidansı en yüksek kanser türleri (GLOBOCAN, 2022)




**Şekil 2.5.** Dünya'da sadece kadınlarda insidansı en yüksek kanser türleri (GLOBOCAN,2022)

### 2.2.2. Meme kanseri risk faktörleri

Meme kanserinin türü, kanserin kaynağı olan hücrenin türüne bağlıdır. Meme kanseri, memenin farklı bölgelerinden kaynaklanabilir. Meme dokusunun temel bileşenleri üç ana kısmı içerir: lobüller, kanallar ve bağ dokuları. Süt üreten bezler aslında lobüllerdir ve burada üretilen süt, küçük tüpler aracılığıyla (kanallar) meme ucuna doğru ulaşır. Yağlı ve lifli dokular, her şeyi yerinde tutan ve saran bağ dokularını oluşturur. Meme kanserinin çoğunlukla başladığı bölge kanallar veya lobüllerdir (Smolarz ve diğerleri, 2022).

Bilinen gen mutasyonları dışında, karsinogenezin kesin nedeni henüz ortaya konmamış olmakla birlikte, meme kanserinin gelişimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörleri olduğu bilinmektedir. Epidemiyolojik verilerin de gösterdiği gibi, en önemli faktörler arasında cinsiyet, yaş ve ilgili ülkenin ekonomik gelişmişlik düzeyi yer almaktadır. En az bunlar kadar önemli olan diğer etkenler ise başlıca östrojenlere maruz kalma süresiyle ilişkili hormonal faktörler ile doğurganlıkla bağlantılı faktörlerdir ki bunlar arasında doğurulan çocuk sayısı, ilk doğum yaşı ve emzirme durumu bulunmaktadır (Smolarz ve diğerleri, 2022).

Meme kanserinin gelişiminde genetik faktörler, hormon replasman tedavisinin kullanımı, sağlıksız beslenme ve buna bağlı obezite büyük önem taşımaktadır. Meme kanseri gelişimi için anlamlı risk faktörleri arasında ayrıca hormonal kontraseptiflerin kullanımı, alkol tüketimi ve genç yaşta iyonize radyasyona maruz kalma da sayılmaktadır (Kudela ve diğerleri, 2019). Meme kanseri için risk faktörleri Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

**Çizelge 2.1.** Meme kanseri oluşumu için risk faktörleri (Smolarz ve diğerleri, 2022).

| | |
|---|---|
| **Hormonal ve Üreme Fonksiyonlarına Bağlı Faktörler** | Erken yaşta mensturasyon |
| | Geç yaşta menopoz |
| | İlk gebeliğin 30 yaş ve üzerinde olması |
| | Gebeliğin hiç olmaması |
| | Postmenopozal durum |
| | Oral kontraseptif kullanımı |
| | Hormon replasman tedavisi almış olmak |
| **Fizyolojik Faktörler ve Sağlık Durumu ile İlgili Faktörler** | İleri yaş (35 yaş ve sonrası yüksek risk) |
| | Aile öyküsünde meme kanseri bulunmak |
| | Geçirilmiş meme, over veya endometrium kanseri |
| | Atipik hiperplazi ile birlikte memede görülen benin değişiklikler |
| | İyonlaştırıcı radyasyon |
| | Adölesan çağda hızlı büyüme |
| | Onkogenik virüs enfeksiyonu (ör: Epstein-Barr) |

**Çizelge 2.1.** Meme kanseri oluşumu için risk faktörleri (devamı)

| | |
|---|---|
| **Beslenme Alışkanlıkları** | Batı tipi diyet |
| | Yağların ve özellikle hayvansal kaynaklı yağların fazla tüketimi |
| | Kırmızı et ve kızartılmış etin fazla tüketimi |
| | Yüksek düzeyde demir alımı |
| | Menopoz sonrası kilo alımı ve obezite |
| | Taze meyve ve sebzelerin az tüketilmesi |
| | Fitoöstrojenlerin düşük düzeyde alımı (izoflavonlar, vb.) |
| **Yaşam Tarzına Bağlı Diğer Faktörler** | Düzenli olarak orta/yüksek düzeyde alkol tüketimi |
| | Düşük düzeyde fiziksel aktivite |
| | Gece çalışma |

### 2.2.3. Meme kanserinde moleküler prognostik biyobelirteçler

Meme kanseri teşhisinde görüntüleme tekniklerine ilave olarak analiz edilen bazı biyobelirteçler de hastalığın prognozu hakkında önemli ölçüde fikir vermektedir. Bu biyomoleküller, dokularda veya vücut sıvılarında bulunur ve kanser hücreleri tarafından ya da kansere yanıt olarak normal hücreler tarafından üretilir. Biyobelirteç testleri; kanser tanısı, prognozun belirlenmesinin ötesinde hassas tıp kapsamında tedavinin yönlendirilmesi, ilaç yanıtının öngörülmesi veya kanserin izlenmesine yönelik bilgi sağlamak amacıyla tümör dokusu ya da vücut sıvılarında DNA, RNA, proteinler veya diğer biyomoleküllerdeki değişikliklerin saptanmasını içermektedir (Sarhadi ve Armengol, 2022).

Meme kanserine yönelik çeşitli biyobelirteç çalışmaları, Her2, ER ve Ki67 gibi proteinler; ERα, ERβ ve ERRγ gibi hormonlar; CEA ve TSGF gibi enzimler ve miR-10b, miR- 21, miR-145 ve miR-155 gibi mikroRNA'lar dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal biyobelirteçlerin meme kanseri hastalarının tespiti ve izlenmesi için tanı amacıyla kullanılabilir olduğunu göstermektedir (Neves Rebello Arves ve diğerleri, 2023; Duffy

ve diğerleri. 2017). Çizelge 2.2'de, meme kanserine yönelik bildirilen biyobelirteçler ve meme kanseri ile ilişkileri gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Meme kanseri teşhisinde kullanılan biyobelirteçler ve fonksiyonları (Neves Rebello Arves vd, 2023)

| BİYOBELİRTEÇ | MEME KANSERİ İLİŞKİSİ | KAYNAK |
|---|---|---|
| **Ki-67** | Bu proteinin varlığı, yüksek agresiflik ve proliferasyon belirtisi sayılmaktadır | Menon ve diğerleri, 2019<br><br>Rakha ve diğerleri, 2022 |
| **ER** | Ligand ile aktive olan, transkripsiyon faktörü olarak görev yapan bir nükleer reseptördür. Erα, başlıca izoformu, hücre sağkalımı ve proliferasyonu ile ilişkilidir | Mills ve diğerleri, 2018<br><br>Fuentes ve diğerleri, 2019 |
| **PR** | Ligand ile aktive olur, transkripsiyon faktörü olarak görev yapan nükleer reseptörlerdendir. Hücre döngüsü ve proliferasyonla ilişkili genlerin ifadesi ile bağlantılıdır. | Hilton ve diğerleri, 2018<br><br>Cenciarini ve Proietti, 2019 |
| **HER2** | Bu reseptör, tümör büyümesi ve proliferasyonu, hücre adhezyonu, hücre sağkalımı ile metastaza yol açar. | Nicolini ve diğerleri, 2018 |
| **p53** | Önemli bir tümör baskılayıcı proteindir. Hücre döngüsünün durdurulması, farklılaşma, senesens, apoptoz, hücre büyümesi ve DNA onarımında rol alır. Bu proteinin yıkımı, tümör oluşumu, ilerlemesi ve metastaz ile ilişkilidir. | Shahbandi ve diğerleri, 2020<br><br>Xu ve diğerleri, 2021 |
| **BRCA1, BRCA2** | DNA onarımında temel rol oynayan tümör baskılayıcı genler ve proteinleridir. Bu genlerin işlevlerini yitirmesi halinde DNA onarımı yetersiz kalır ve mutasyon oranlarının artışıyla tümör gelişiminin önü açılır. | Ben Ayed-Guerfali ve diğerleri, 2021 |

**Çizelge 2.2.** Meme kanseri teşhisinde kullanılan biyobelirteçler ve fonksiyonları (devamı)

| | | |
|---|---|---|
| **PTEN** | Bir tümör baskılayıcı gendir. Bu gendeki delesyonlar ya da mutasyonlar, proliferasyon, invazyon ve metastaz ile ilişkilendirilmektedir. | Carbognin ve diğerleri, 2019 |
| **CHEK2** | Bir tümör baskılayıcı gendir. DNA hasarının onarımında rol alan serin/treonin CHK2 kinaz proteinini kodlar. | Boonen ve diğerleri, 2022<br>Greville-Heygate ve diğerleri, 2020 |
| **ATM** | DNA çift sarmal kırıklarının onarım mekanizmasında rol alan bir gendir. DNA onarımı ve hücre döngüsünün düzenlenmesine katılan proteinleri kodlar. | Toss ve diğerleri, 2021<br>Cunha ve diğerleri, 2021 |
| **PALB2** | Tümör baskılayıcı bir gendir ve BRCA2'nin çekirdek konumundan ve DNA hasarının onarımından sorumludur. | Nepomuceno ve diğerleri, 2017 |
| **BRIP1** | Tümör baskılayıcı işlevi olan bir gendir. Kodladığı RecQ DEAH helikaz ailesine ait bir protein, BRCA1 ile etkileşime girerek hasarlı DNA'nın onarımına yardımcı olur. | Khan ve Khan, 2021<br>Moyer ve diğerleri, 2020 |
| **CDH1** | Tümör baskılayıcı genlerdendir. Kodladığı e-kaderin hücre–hücre adezyon proteini, tümör hücrelerinin göçünü engelleyerek kanserin ilerlemesini ve metastazı önler. | Bücker ve Lehmann, 2022 |
| **BARD1** | BRCA1 ile etkileşen, DNA hasarının onarımıyla ilişkili bir proteindir. Yüksek ekspresyonu, kötü prognoz ile ilişkilendirilir. | Zheng ve diğerleri, 2021<br>Zhu ve diğerleri, 2018 |
| **PIK3CA** | Bu genin kodladığı PI3K proteini; protein sentezi, hücre proliferasyonu, sağkalım, glukoz homeostazı ve DNA onarımı gibi çeşitli hücresel süreçlerde görev alır. | Reinhardt ve diğerleri, 2022<br>Thorpe ve diğerleri, 2015<br>Venetis ve diğerleri, 2020 |

### 2.2.4.Meme kanseri moleküler sınıflandırması ve hücre tipleri

Meme kanseri hücre hatlarını sınıflandırmanın birkaç yolu vardır; ancak son yıllarda en sık kullanılan sınıflama stratejisi, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve androjen reseptörü (AR) gibi farklı hormon reseptörlerini tanımak için immünohistokimya yöntemlerini kullanmaktır. İmmünohistokimya, dokuda belirli antijenleri tespit etmek için çeşitli tipte antikorların kullanıldığı bir tekniktir (Subik ve diğerleri,2010). İmmünohistokimya, HER2 ve Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) gibi tirozin kinaz reseptörleri ile meme kanseri hücre hatlarının fenotipine göre ekspresyonu ayırt etmek için de kullanılmıştır (Subik ve diğerleri, 2010).

Bazı araştırmacılar, tamoksifenle hedeflenebilecek Luminal A ile ilişkili olan meme kanserlerinin yaklaşık %2–8'ini kapsayan normal-benzeri (normal-like) bir alt tipi de sınıflandırmaya dahil etmektedir. Ek olarak, HER2 ekspresyonunun fazla olması ve ER downregülasyonu ile bağlantılı olması nedeniyle HER2+ alt tipi ile yakından ilişkili olan ara bir alt tip, Luminal HER2+, bulunmaktadır (Subik ve diğerleri, 2010).

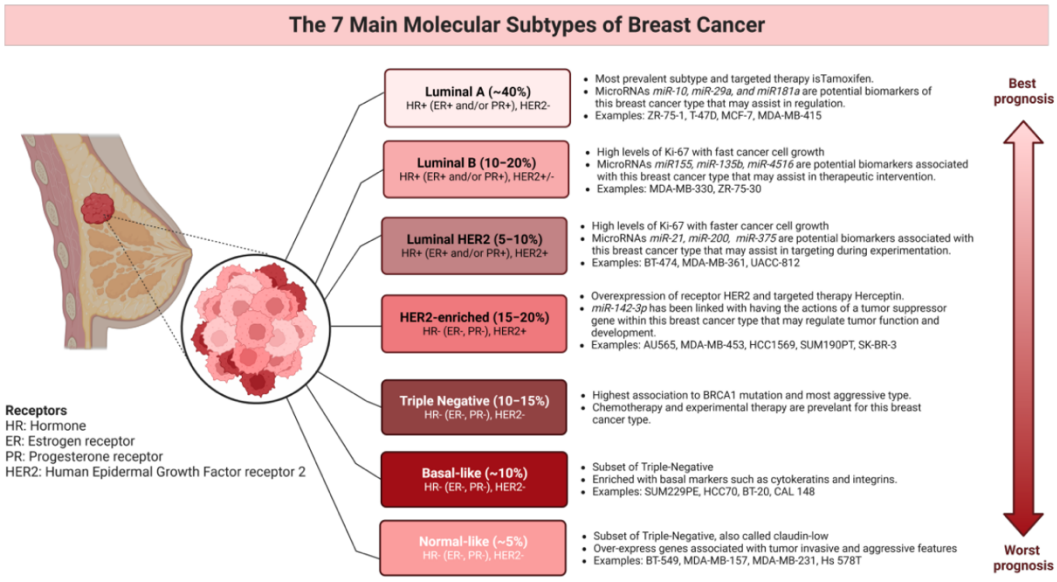
Yapılan çalışmalarda östrojen, progesteron ve androjen hormonlarının meme kanseri dokusunda daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Hastalardan elde edilen doku ile oluşturulan meme kanseri hücre hatları, farklı meme kanseri türlerini tedavi etmek ve genel olarak meme kanseri riskini azaltmak için daha ileri testler yapmak amacıyla kullanılmıştır (Lumachi ve diğerleri, 2015; Li ve diğerleri, 2022).

Hormonal reseptörler, birçok hücrede ya fosfolipid çift tabaka içine gömülü olarak ya da sitoplazmada serbest halde bulunabilir ve östrojen, progesteron veya androjenin bağlanmasına izin vererek işlev görür. Bağlanma sonrasında reseptör, çekirdeğe taşınabilir veya bir enzim kaskadını tetikleyerek önemli genlerin susturulmasını veya aktive edilmesini sağlar ve böylece meme kanserinin ilerlemesini sağlayan genlerin üretilmesine yol açar (Witt ve Tollefsbol, 2023).

Birçok meme kanseri hücre hattının adı, hücre hattını izole eden bilim insanlarının isimlerinden türetilmiştir. Örneğin, ZR-75-1 Zeyda Rae'den, T-47D ise Tel Aviv Üniversitesi'nde 47. petri kabında Iafa Keydar tarafından oluşturulmuştur (Witt ve Tollefsbol, 2023).

Diğer bazı meme kanseri hücre hattının isimleri ise kurum isimlerinden gelmektedir: MD Anderson-Metastatik Meme serisi için "M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute", SUM serisi için "Streamlined University of Michigan", HCC1569 ve HCC70 için "Hamon Cancer Center" gibi. Bazı hücre hatları ise belirli bir kaptan çoğalan hücre sayısına göre adlandırılmıştır; örneğin BT serisi (BT-20, BT-549, BT-474) ilk türetilen meme kanseri hücre hattını içerir ve bu hücreleri izole eden araştırmacı Etienne Y. Lasfargues tarafından adlandırılmıştır. UACC-812 ise "University of Arizona Cancer Center" araştırmacıları tarafından Arizona Üniversitesi Hücre Kültürü serisini oluşturmak amacıyla isimlendirilmiştir (Witt ve Tollefsbol, 2023).

MCF-7 hücre hattı, türetildiği kurum olan "Michigan Cancer Foundation"dan adını almıştır. AU565 adı ise "Adenocarcinoma Unknown 565"den gelmektedir. SK-BR-3, Memorial-Sloan Kettering Cancer Center'dan, daha özel olarak Sloan-Kettering Meme Kanseri Hücre Hattı 3'ten türetilmiştir. CAL148 hücre hattı, adını Centre Antoine Lacassagne'den almıştır. Hs 578T meme kanseri hücre hattı ise ismini Homo sapiens veya Human sarcoma terimlerinden türetmiştir. Şekil 2.6'da karakteristik özellikleriyle birlikte örnek hücre hatlarının belirtildiği temel meme kanseri moleküler sınıflaması gösterilmiştir. Bu güncel sınıflamaya göre 7 moleküler tip Luminal A, Luminal B, Luminal HER2, HER2-enriched, Triple Negative, Basal-like ve Normal-like olarak verilmiştir. Ayrıca, meme kanseri hücre hattı örnekleri ve ek özellikler de belirtilmiştir (Witt ve Tollefsbol, 2023).




**Şekil 2.6.** Meme kanserinin temel moleküler sınıflandırması (Witt ve Tollefsbol, 2023)

### 2.2.5.Meme kanseri tedavisinde doğal bileşenlerin kullanımı

Günlük yaşamda çoğumuzun maruz kaldığı UV ışınları, kirlilik ve tütün dumanı, vücudumuzun çoğunlukla oksidanlar ve serbest radikaller olmak üzere reaktif moleküller üretmesine yol açar ve bu moleküller kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığa neden olabilir. Terapötik ilaçlar, hücrelerimizdeki mitokondri ve peroksizomlar ve klasik fizyolojik aerobik aktiviteler sırasında da bu molekülleri üretilir (Pucci ve diğerleri,2019, Sert ve Küçükkılınç, 2022). Oksidatif stres ve radikal oksijen türleri, DNA ve diğer biyomakromoleküllere zarar vererek transkripsiyon faktörlerinin düzenlenme şeklini ciddi şekilde değiştirebilir (Kaur ve diğerleri, 2023).

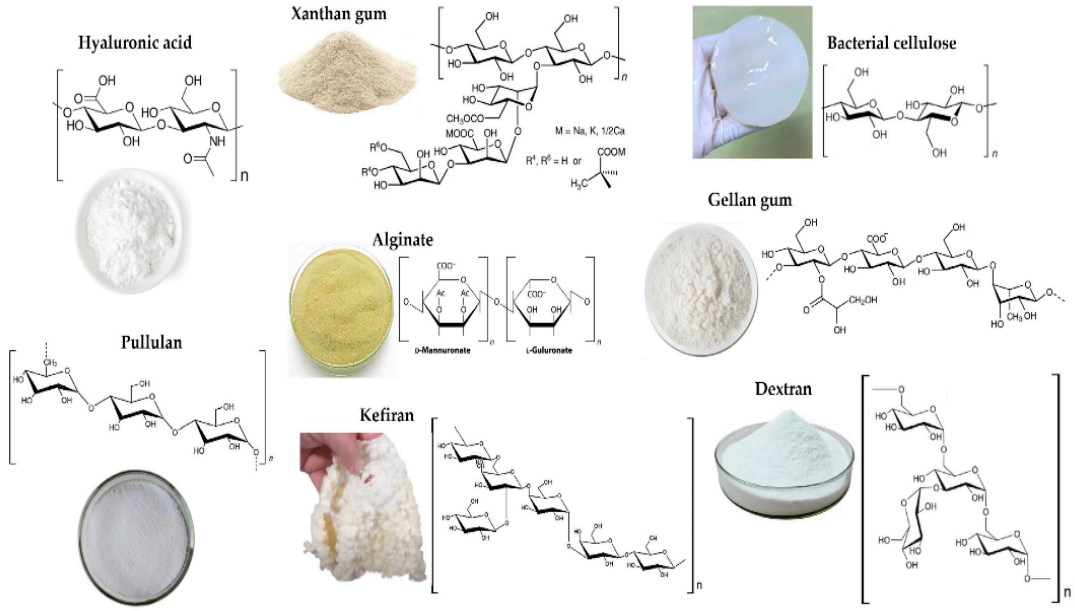
Vitaminler, polifenoller ve bitkilerden elde edilen biyolojik aktif bileşikler, vücudu zararlı kimyasallardan korumak için doğal antioksidan ve antiinflamatuvar ajanlar olarak işlev görür. Anti-proliferatif ve pro-apoptotik özellikleri anlaşıldıktan sonra; kemoterapi, radyoterapi ve carrahi işlemler gibi klasik tedavi yöntemlerine ilave olarak bu bileşikler kanser tedavisine dahil edilmiştir. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda test edilen doğal antioksidanlar arasında alkaloidler, flavonoidler, karotenoidler, vitaminler, berberin, quercetin ve kurkumin gibi maddeler bulunur (Chikara ve diğerleri, 2018). Son yıllarda

probiyotik özelliktekiler başta olmak üzere mikroorganizmaların ürettikleri doğal moleküllerin kanserle mücadeledeki etkisi dikkatleri üzerine çekmiştir. Özellikle de mikrobiyal ekzopolisakkaritlerin kanser hücre çalışmalarında gözlemlenen güçlü baskılayıcı etkileri, günümüzde birçok araştırmacıyı ekzopolisakkaritlere yönlendirmiştir (Ramamoorthy ve diğerleri, 2018).

## 2.3. Ekzopolisakkaritler (EPS)

Bakteri, maya, mantar, alg gibi mikroorganizmalardan elde edilebilen çoklu sakkarit molekülleri olan ekzopolisakkaritler, son yıllarda başta antikanserojen etki olmak üzere insan sağlığını olumlu yönde etkileme potansiyelleri ile dikkat çekmiştir. İlk kullanım alanları daha çok besin endüstrisi ve kozmetik alanlar olan ekzopolisakkaritler daha sonraki zamanlarda terapötik ajan olarak ya da taşıyıcı sistem ajanı olarak ilaç endüstrisinde de kullanılmaya aday gösterilmiştir (Ates, 2015; Kuzucu ve Dogan, 2023).

Mikroorganizmalarda hücre içinde bulunan çoklu sakkarit türlerine endopolisakkarit; hücre yüzey yapısında bulunan ya da hücreden dışarı salgılanan türlerine ise ekzopolisakkaritler denmektedir. Ekzopolisakkaritler tek tip bir monosakkaritten oluşabilen; ya da farklı tipteki monosakkaritlerden yahut farklı moleküllerin de yapısına katılabildiği gruplardan oluşan çoklu şekerlerdir. Tek tip monosakkarit içeren türü homopolisakkarit, diğer türü ise heteropolisakkarit olarak adlandırılmaktadır (Nguyen ve diğerleri, 2024; Mouro ve diğerleri, 2024). Şekil 2.7'de en sık kullanılan ekzopolisakkaritler ve kimyasal yapıları gösterilmiştir.




**Şekil 2.7.** En sık kullanılan ekzopolisakkaritler ve kimyasal yapıları (Mouro ve ark, 2024)

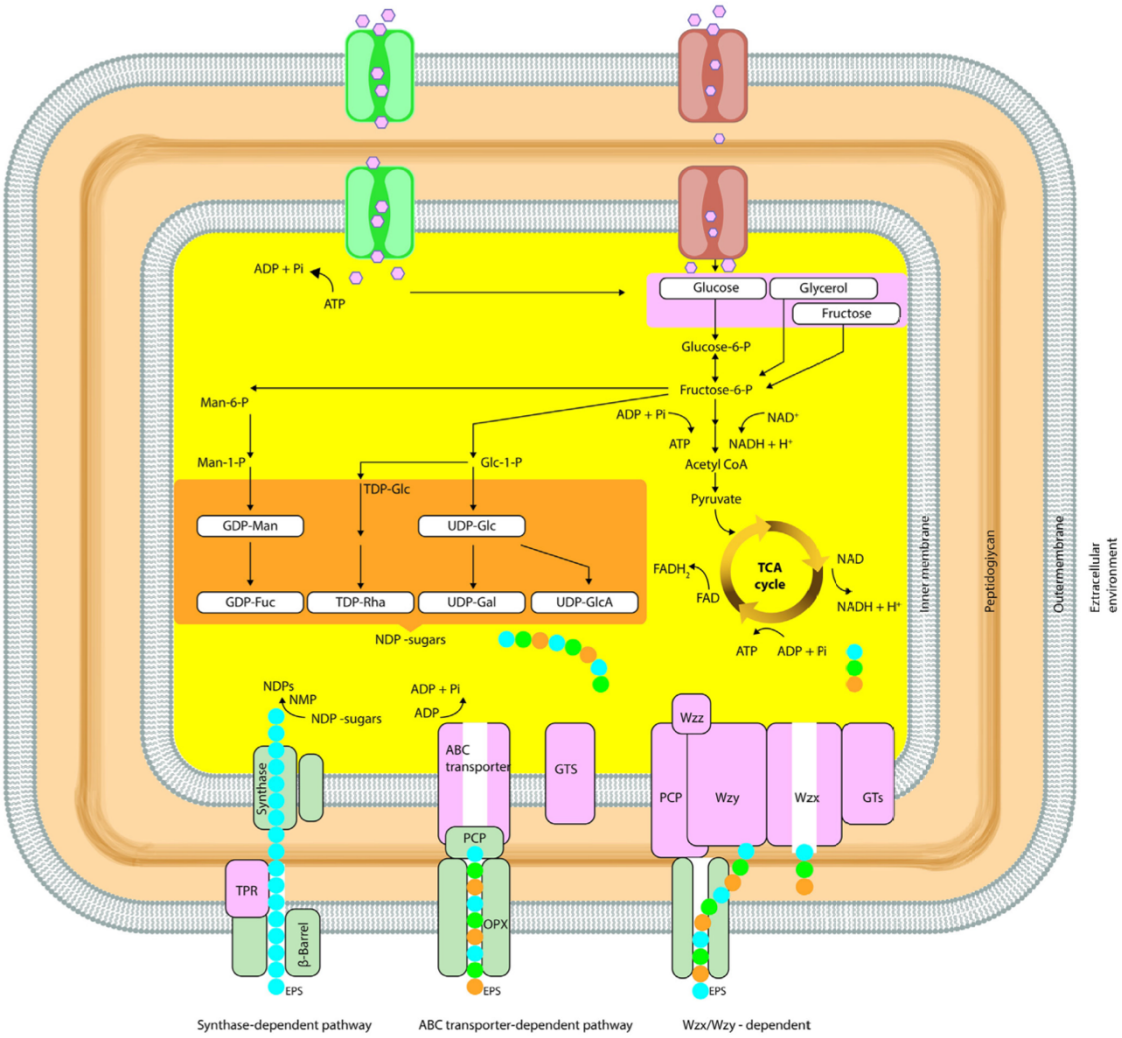
Bakterilerin sentezlediği ekzopolisakkaritler, kimyasal yapı ve konfigürasyonları bakımından çok çeşitli olup yapısal çeşitlilikleri, gıda üretimi, tarım, su arıtma, kozmetik, ilaç ve biyomedikal gibi endüstrilerde çözümler geliştirmeyi mümkün kılmaktadırlar (Guerrero ve diğerleri, 2024; Netrusov ve diğerleri, 2023). Son yıllarda doğal ekzopolisakkaritler üzerinde yapılan modifikasyonlar sayesinde kullanım alanları genişlemiş ve çeşitli fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri geliştirilmiştir. Bu EPS türevlerinin insan sağlığı üzerindeki antioksidan potansiyeline ve fonksiyonel rolüne ilişkin yeni keşifler de yapılmaktadır. Modifiye EPS'lerin antioksidan özellikleri, doğal formlara kıyasla faaliyetlerinde önemli bir artış göstermektedir (Netrusov ve diğerleri, 2023). Bu modifikasyonlar, potansiyel faydalar ve terapötik uygulamalar için güçlü bir vaat sunmaktadır. EPS'nin işlevsel faydalarla dolu kimyasal türevleri, özellikle endüstriyel ve biyomedikal bağlamlarda potansiyel hidrokolloidler olarak EPS kullanımını teşvik edebileceği vurgulanmaktadır (Shah ve diğerleri, 2024).

### 2.3.1.Ekzopolisakkaritlerin biyosentezi

Bakteriyel EPS'ler, dekstran, levan ve mutan gibi homopolisakkaritler dışında çoğunlukla hücre içinde üretilir ve hücre dışı ortama taşınır. Bu homopolisakkaritler ise, substratı

polimere dönüştüren ve hücre dışına salgılanan enzimlerin etkisiyle hücre dışında sentezlenir. EPS sentezinde görev alan enzimler hücrenin farklı bölgelerinde bulunur ve dört ana gruba ayrılabilir (Ates ve diğerleri, 2024).

Birinci grup, glikozu (Glc) glikoz-6-fosfata (Glc-6-P) fosforile eden hekzokinaz gibi hücre içi enzimlerdir. Bu enzimler aynı zamanda diğer hücresel metabolik süreçlerde de rol alır. İkinci grup, şeker nükleotitlerinin dönüşümünü katalizlemek için gereklidir. Bu sınıfa, Glc-1-P'nin UDP-Glc'ye dönüşümünü katalizleyen ve EPS sentezinde kilit moleküllerden biri olan üridin-5′-difosfat (UDP)-glukoz pirofosforilaz örnek olarak verilebilir. Bir diğer enzim grubu, hücrenin periplazmik zarında yer alan glikoziltransferazlardır (GTF'ler). Şeker nükleotitleri, GTF'ler tarafından glikozil taşıyıcı lipide bağlı tekrarlayan birimlere aktarılır. GTF'lerin enzimatik işlevleri, yapıları ve bu enzimleri kodlayan genlerin tanımlanması yoğun şekilde araştırılmış olup, amino asit dizi benzerliklerine dayanarak 94'ten fazla GTF ailesi rapor edilmiştir. Son sınıf enzimlerin ise makromoleküllerin polimerizasyonunda görev aldığı ve hücre zarı ile hücre duvarının dışında konumlandığı düşünülmektedir (J. Li ve Wang, 2012). Şekil 2.8'de EPS'lerin sentezlenmesine ait biyolojik moleküler yolaklar özetlenmiştir.




**Şekil 2.8.** Ekzopolisakkaritlerin sentezinde yer alan biyosentetik yollar (Ates, 2015). OPX: dış zar polisakkariti; PCP: polisakkarit kopolimeraz; TPR: tetratrikopeptit tekrar proteinleri.

### 2.3.2.Bakteriyel ekzopolisakkaritlerin antikanserojenik etkileri

Mikrobiyal polisakaritlerin fizyolojik fonksiyonları son derece çeşitlidir ve bunlar, yapılarına ve bileşimlerine bağlı olarak değişir. Bu polisakaritler, prebiyotik, kanser karşıtı, ülser önleyici, immünomodülatör ve kolesterol düşürücü etkileri sayesinde insan sağlığına katkıda bulunabileceğine dair çalışmalar giderek çoğalmaktadır (Ruas-Mediedo ve diğerleri, 2002).

Bakteriyel hücrelerde, EPS'ler, floklar ve biyofilm gibi kompleks mikrobiyal toplulukların oluşumu ve sürdürülebilirliğinde önemli bir rol oynar. Mikroorganizma hücrelerini çevreleyen biyofilm tabakasının oluşumuna katkıda bulunurlar. EPS'ler, polisakarit zincirleri arasındaki etkileşimleri düzenleyerek biyofilm stabilitesini etkiler. Bu yönüyle EPS'ler, hücrelerin katı yüzeylere, örneğin bağırsak mukozasına, adhezyonunu da artırırlar (Yegorenkova ve diğerleri, 2011). Bu durum probiyotik bakterilerin bağırsak mukozasına tutunması açısından bir avantaj oluşturmaktadır.

EPS'lerin bir diğer uygulama kategorisi ise, ilaç, probiyotik vb. terapötik ajan taşıyıcıları ve taşıma nano ve mikrosistemleri olarak potansiyel kullanımıdır (Moscovici, 2015). Çeşitli fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri, yapışma ve su bağlama kapasiteleri ve hidrojel oluşturma özellikleri gibi, biyobozunur ve güvenli olmaları nedeniyle, hem koruyucu hem de kontrollü salınım sistemi olarak rol oynarlar. EPS'lerin umut verici uygulamaları ise, türev formlarında antijen taşıyıcıları olarak ya da aşı hazırlıklarında adjuvan sistemler olarak, gen terapisi için gen taşıyıcı vektörleri olarak (W.Khan ve diğerleri, 2012; Zhang ve diğerleri, 2013), ve hücre stabilitesini ve canlılığını artırmak için kapsülleme ajanları olarak kullanımlarıdır. Örneğin, fibroblast hücrelerini kapsüllemek için aljinat boncukları ve probiyotik bakteri suşları gibi uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Albadran ve diğerleri, 2018).

Bazı bakteriyel EPS'ler güçlü bir bağışıklık yanıtı sergilemekte ve iltihap ve tümörlerle mücadelede büyük bir potansiyel göstermektedirler. Özellikle Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin Genellikle Güvenilir Olarak Tanımlanmış (GRAS) mikroorganizmalar listesinde yer alan ve probiyotik özelliğe sahip laktik asit bakterilerinden elde edilen ekzopolisakkaritler kanser tedavisi ile ilgili çalışmalarda olumlu etkiler göstermektedir (Lu ve diğerleri, 2023). Laktik asit bakterileri, genellikle doğal fermentasyonlarda yer alan ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan belirli bir gram-pozitif bakteri grubudur. Çoğu, çeşitli biyolojik işlevlere sahip ekzopolisakkaritler üretebilirler. Laktobasillerden elde edilen ekzopolisakkaritler, kansere karşı potansiyel olarak tamamlayıcı ve alternatif ilaç adayları olarak gösterilmektedir. Çünkü bu moleküller bağırsak, karaciğer, meme vb. çeşitli tümör hücreleri üzerinde anti-proliferatif etkiler göstermektedir. Apoptozun indüklenmesi, hücre döngüsünün durdurulmasının yanı sıra

antimutajenik, antioksidatif, antianjiyogenez ve antiinflamatuar etkiler de dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla tümörlerin büyümesini inhibe etmektedirler (Wu ve diğerleri, 2021; Tukenmez ve diğerleri, 2019).

Büyük ölçüde laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin (LAB-EPS) biyoaktiviteleri, monosakkarit bileşimi, glikozidik bağlar ve moleküler ağırlık gibi yapılarıyla yakından ilişkilidir. Mükemmel fizikokimyasal özellikleri sayesinde bu ekzopolisakkaritler, süt ürünleri, unlu mamuller ve et ürünlerinde stabilite, emülgatörlük, koyulaştırma ve jel oluşturma açısından ürün iyileştiricisi olarak kullanılır (Berthold-Pluta ve diğerleri, 2019). Gıda endüstrisinde kullanımlarının ötesinde, özellikle *Lactobacillus, Leuconostoc ve Streptococcus sp.* tarafından üretilen EPS'ler, özgül yapıları nedeniyle farklı immünomodülatör özellikler gösterirler. LAB-EPS, antikanser, antioksidan, bağırsak bariyerini onarma, antimikrobiyal, antiviral ve kolesterol düşürücü etkiler gibi diğer sağlık yararlarına da sahiptirler (J. Zhang ve diğerleri, 2023).

Kanser tedavilerinde kemoterapi, en yaygın kullanılan terapötik yöntemlerden biri olmasına karşın şu anda kemoterapide kullanılan çoğu antikanser ilacı normal hücrelere sitotoksik etkilidir ve hemopoetik baskılama ve immünotoksisite gibi çoklu organ toksisitesine neden olur. Bu durum, kemoterapi tedavisinde kullanılan antitümör ajanlarının güçlü aktiviteye sahip olsalar da, güvenilirlikleri ve yan etkileri hakkında şüphelere yol açar. Bu bağlamda, kolon kanseri başta olmak üzere diğer kanser türleri üzerinde de eşşiz etkileri nedeniyle anti-tümör ajan olarak mikrobiyal EPS'lerin kullanılabileceği ve sentetik anti-tümör ajanlara karşı alternatif olabileceği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Kuzucu ve Doğan, 2023).

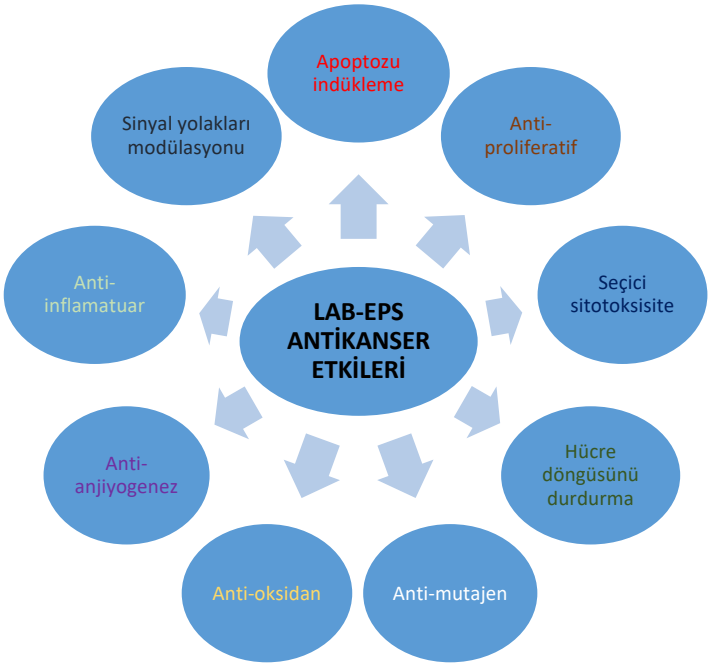
Yapılan bir çalışmada; *Lactobacillus acidophilus* ekzopolisakkaritlerinin kolon kanseri hücre hatlarında tümör anjiyogenezi ile ilgili gen ifadelerini baskıladığı ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Deepak ve diğerleri, 2016). Yapılan bir başka çalışmada da kolon kanseri oluşturulmuş farelere *Lactobacillus acidophilus* bakterilerinden elden edilen ekzopolisakkaritler farklı iki dozda 15 hafta boyunca haftada 1 kez verilmiş. Bu süreçte kolon kanserli farelerin antioksidan enzim seviyelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiş ve 15 hafta sonunda kanser oluşumu ile olumsuz etkilenen

tüm değerlerin neredeyse eski haline geldiği gözlemlenmiştir (El-Deeb ve diğerleri, 2018).

Meme ortamındaki bakterilerin meme kanseri hücreleriyle etkileşime girip girmediği ve bu etkileşimin kanser ilerlemesine nasıl etki ettiği hakkında çok az şey bilinmektedir. Günümüzde uygulanmakta olan kanser tedavilerinin ardından, tümör hücrelerinin çoğalmasına ek olarak, göğüs kanseri kök hücrelerinin hayatta kaldığı, bu kök benzeri hücrelerin tümörü yeniden oluşturduğu ve nükse yol açtığı düşünüldüğünden, meme kanseri tedavileri için önemli bir zorluk olarak ortaya çıkmaktadır. Komensal bakteri ve / veya bakteri ürünlerinin meme kanseri hücrelerinin büyümesini ve metastazını değiştirip değiştirmediğini ve nasıl değiştirdiğini açıklamaya çalışan araştırmalar mevcuttur. Çeşitli bakterilerin ürettiği ekzopolisakkaritler, antitümör etki sağlamaya uygundur; bunlar, tümör nekroz faktörü, interferon ve interlökin olarak sitokinin enflamatuar aracılarını salgılayan makrofajların, T-lenfositlerin ve doğal öldürücü hücrelerin canlandırılmasını içerir (El Deeb ve diğerleri, 2018). Ekzopolisakkaritler, tümör hücresinden hücreye yapışmasını kısıtlayan E-selektin proteini ve gen ekspresyonunu engelleyebildiği ifade edilmektedir. Diğer bir mekanizma ise; antiproliferatif etkilerini, hücre apoptozunu ve tümör hücrelerinin farklılaşmasını içerir. Bazı derleme çalışmaları bu mekanizmalar kullanılarak meme kanseri ve diğer birçok kanser hücrelerinin yok edilmesinin mümkün olabileceğini vurgulamaktadır (M.R.Nguyen ve diğerleri, 2023).

Yapılan bir çalışmada probiyotik bir bakteri olan *Bacillus subtilis*'in sentezlediği EPS'nin meme kanseri proliferasyonu üzerindeki etkisi *in vitro* ortamda hormon reseptörü pozitif ve negatif hatlar dahil olmak üzere çeşitli meme kanseri hücre hatları üzerinde incelenmiştir. Sonuçlarda, EPS'nin birden çok meme kanseri hücre dizisinin (T47D, MDA-MB-468, MDA- MB-453, HCC1428) çoğalmasını konsantrasyona bağlı bir şekilde bastırdığı ve diğer bazı hücre dizilerinin ise etkilenmediği gösterilmiştir (BT549, MDA-MB-231, ZR -75-30, MCF7). Araştırmada ilk mamografi sonuçlarına göre, EPS ile ön tedavinin T47D ve MCF7 hücrelerinde kanser kök hücre sağ kalımını artırdığını göstermektedir. Bu olumlu ve olumsuz çift yönlü etkiler dolayısıyla daha fazla çalışma yapılması gerektiği önerilmiştir (Nguyen ve diğerleri, 2023).

Büyük çoğunluğu probiyotik özellikte olan Laktik asit bakterilerinden elde edilen ekzopolisakkaritlerin antikanser etkileri Şekil 2.9'da gösterilmiştir.




**Şekil 2.9.** Laktik asit bakterilerinden elde edilen ekzopolisakkaritlerin antikanserojenik etkileri

Tüm bu özellikleri içinde özellikle seçici sitotoksik etkiye sahip olmaları dikkat çekmektedir. Laktik asit bakteri (LAB) ekzopolisakkaritleri (LAB-EPS) için $IC_{50}$ değeri, doksorubisin (Ismail ve Nampoothiri, 2013) ve florourasil (W.Li ve diğerleri, 2015) gibi geleneksel ilaçlara kıyasla çok daha yüksek olsa da, sitotoksisite değerlerinin çok daha düşük olması sebebiyle kanser tedavilerini destekleyici antitümör ajanlar olarak görülmektedirler. Standart ilaçlar, DNA ve RNA sentezini baskılayıcı özellikleri sebebiyle daha toksik olabilmektedirler. Yapılan çalışmalarda LAB kökenli EPS'lerin çoğunun, tümör hücreleri ile karşılaştırıldığında normal hücrelerde daha düşük sitotoksik etki gösterdiği ya da hiç sitotoksik etki göstermediği bildirilmiştir (Wu ve diğerleri, 2021). *Lactobacillus paracasei* ve *Lactobacillus brevis* kaynaklı 40 mg/mL EPS ile muamele edilen L929 hücrelerinde canlılık oranı %60'ın üzerinde iken, HT29 hücrelerinde bu oran %20'nin altındadır (Mojibi ve diğerleri, 2019).

Sağlıklı hücre ve kanserli hücre hatlarında LAB-EPS'lerin sitotoksik etkilerinin kıyaslanmasına dair çalışmalar son yıllarda yapılmış olsa da özellikle kanser hücre hatlarında genotoksik etkisine dair çalışmalar kısıtlıdır.

## 2.4. Resveratrol

### 2.4.1.Resveratrolün genel özellikleri

Stilbenler, doğal sekonder metabolitler olup, aynı zamanda fitokaleksinler olarak da bilinir. Stilbenoidler, stilbenlerin hidroksillenmiş türevleri olup, yapılarında iki benzol çekirdeği ve bunları bağlayan bir etilen köprüsüne sahiptir. Stilbenoidler, flavonoidler gibi biyosentezlenen polifenolik bileşikler kategorisinde yer alır. Fitokaleksin olarak rol aldıkları için, stilbenoidler bitkilerin patojenlere karşı savunmasında çok önemli bir yere sahiptir. Şu ana kadar, 1000'den fazla stilbenoid izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bunlar arasında en bilinenler doğal bileşikler olan resveratrol (3,5,4′-trihidroksi-stilben), piseid, piseatanol, pteros- stilben, astringin, viniferin, pallidol ve hopeafenol'dür (G.Kaur ve diğerleri, 2024).

Güçlü antioksidan ve antikanserojen etkiye sahip resveratrol, doğal olarak oluşan bir fitoaleksin olup toksinlere veya ultraviyole radyasyona yanıt olarak bitkiler tarafından bir savunma mekanizması olarak sentezlenen en önemli antimikrobiyal stilbenoiddir. Resveratrolün bilinen sağlık üzerindeki olumlu etkileri; tümör hücrelerinin yayılmasını sınırlayan sinyal yollarını modüle etmek, sinir hücrelerini hasardan korumak, antidiyabetik ve yaşlanma karşıtı etki göstermektir (Bejenaru ve diğerleri, 2024; Oh ve diğerleri, 2020). Resveratrol genellikle bir gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır ve özellikleri, birçok çeşitli deneysel modellerde *in vitro* veya *in vivo* olarak değerlendirilmiştir (Koushki ve diğerleri, 2018).

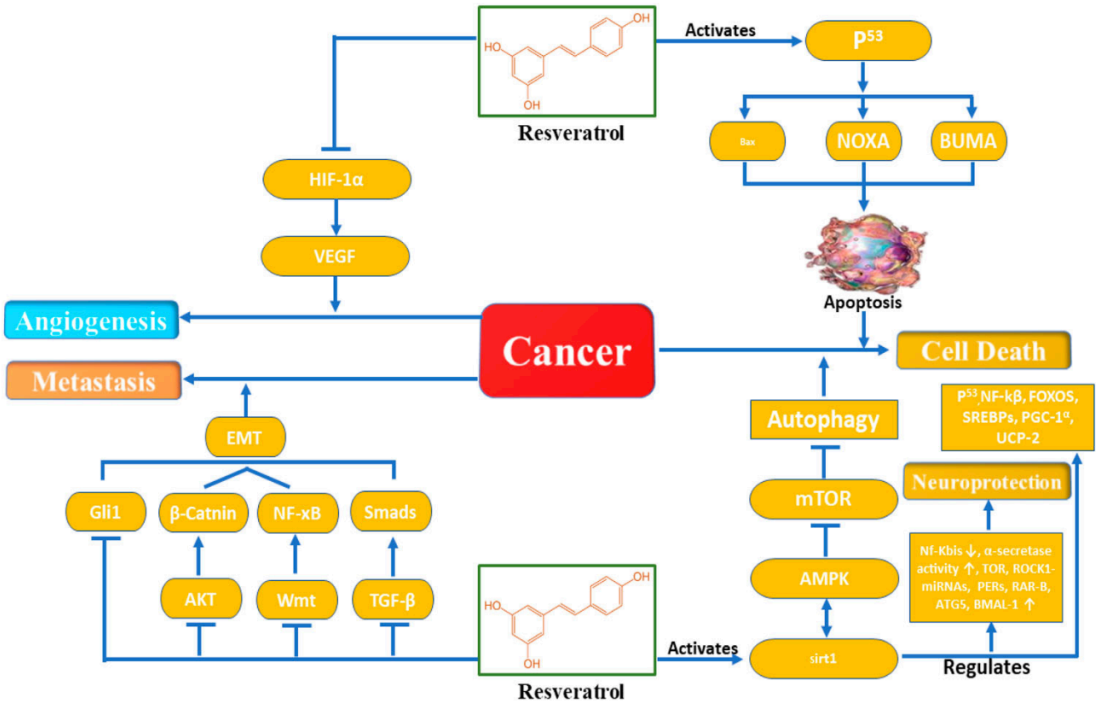
### 2.4.2.Resveratrolün antikanserojenik etkileri

Resveratrol, 1997 yılından bu yana kanser karşıtı özellikleri nedeniyle popülerlik kazanmıştır. Daha sonra, araştırmacılar ve bilim insanları, resveratrole kardiyo-protektif aktiviteler, tümör oluşumu ve iltihaplanma tedavisindeki önemli potansiyeli nedeniyle dikkat çekmeye başlamıştır. Şu anda resveratrolün geniş bir biyolojik etki yelpazesine sahip olduğu kabul edilmektedir; bu etkiler arasında anti-diyabetik, nöro-protektif,

kardiyo-protektif, antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-proliferatif aktiviteler yer almaktadır (Anwar ve diğerleri, 2023). Bu etkilerinin yanı sıra, kanser karşıtı ve yaşlanma karşıtı aktiviteler de göstermektedir (Jin ve diğerleri, 2022).

Yapılan bir çalışmada, içinde resveratrolün de yer aldığı polifenollerin meme kanserli hücre hatlarında DNA hipermetilasyonunu sağlayarak ve hücre farklılaşması ve göçü ile ilgili sinyal yolaklarındaki öncü moleküllerin gen ifadesini baskılayarak antikanserojen etki gösterdiği tespit edilmiştir (Kurzava Kendall ve diğerleri,2024).

Farklı sinyal yolaklarındaki çok çeşitli molekülü aktive ederek ya da baskılayarak antikanserojenik etki gösteren resveratrolün, farklı kanser büyüme aşamalarındaki etkileri Şekil 2.10'da ayrıntılı olarak gösterilmektedir (Anwar ve diğerleri, 2023).




**Şekil 2.10.** Kanser ile mücadelede resveratrolün etkin olduğu bilinen mekanizmalar (Anwar ve diğerleri, 2023)

Farklı teknikler ve tedaviler arasında, resveratrol çeşitli çalışmalarda meme kanserine karşı anti-kanser ve anti-neoplastik rolünü kanıtlamıştır (Anwar ve diğerleri, 2023). Resveratrolün insan meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi, pro-oksidan etkisiyle ilişkilendirilmektedir. Bu etkinin, kazein kinaz 2 aktivitesini inhibe ederek hücre canlılığı ve mitokondriyal fonksiyonu etkilediği yapılan çalışmalarda vurgulanmaktadır (Costa ve diğerleri, 2022).

Son yıllarda resveratrolün DNA hasarı üzerindeki etki mekanizmalarını ortaya koymaya yönelik çalışmalar da yürütülmektedir. Radyasyon kaynaklı kutanöz DNA hasarı üzerinde resveratrolün etki mekanizmasını ortaya koymaya yönelik yapılan bir çalışmada, resveratrolün cilt radyodirençliliğini öncelikle sirtuin 7 geni (SIRT7) yoluyla artırdığı gösterilmiştir. İyonlaştırıcı radyasyon tedavisi sırasında, resveratrolün, AMPK aracılığıyla SIRT7'yi dolaylı olarak fosforile ettiği ve aktive ettiği, bunun da keratinositlerin genom stabilitesinin korunması için kritik öneme sahip olduğu belirtilmiştir. İmmünopresipitasyon ve kütle spektrometrisi, HMGB1'in, RSV'nin radyoprotektif fonksiyonunu medyatör olarak sağlamak için SIRT7 ile etkileşen ana bileşik olduğunu belirlemiştir. Aynı çalışma, SIRT7'nin, transkripsiyonun düzenlenmesi ve nükleozom yapısının korunmasında önemli role sahip HMGB1 proteini ile etkileşime girerek onu asetilasyonundan arındırdığını ve hücre çekirdeğine yeniden dağıtarak DNA hasar onarımındaki fonksiyonunu açtığını ortaya koymuştur. Sonuç olarak bulgular, resveratrolün iyonlaştırıcı radyasyon ile indüklenen cilt DNA hasarını hafifletmek için radyoprotektif fonksiyonunu medyatör olarak taşıyan yeni bir AMPK/SIRT7/HMGB1 düzenleyici aksisi ortaya koymuş, bu sonucun da radyoterapi sırasında kutanöz yıpranması olan hastalar için etkin bir tedavi seçeneği olabileceği belirtilmiştir (Jin ve diğerleri, 2022).

## 2.5. Kurkumin

### 2.5.1.Kurkuminin genel özellikleri

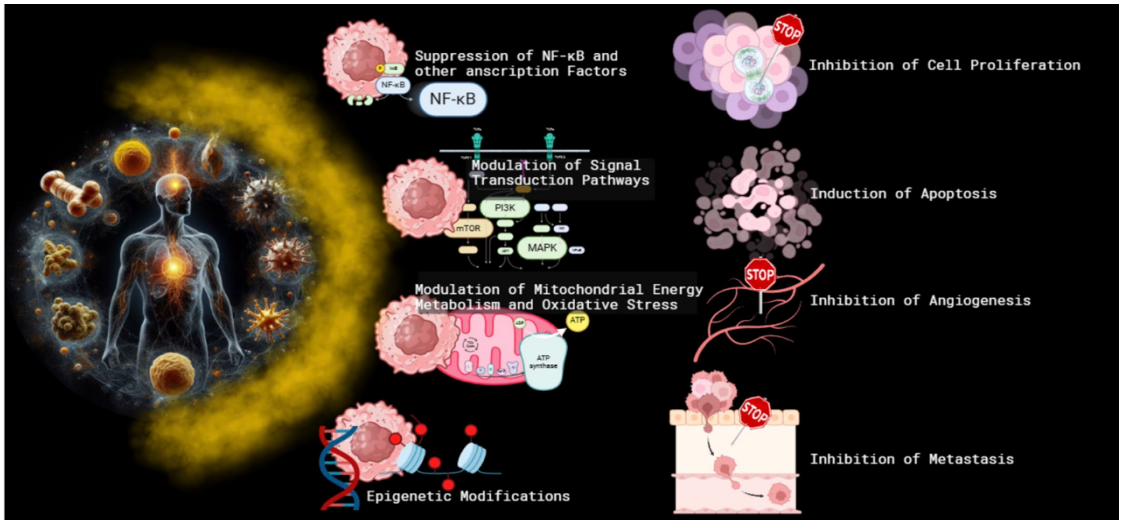
Kurkumin, Zingiberaceae familyasından bir tür olan zerdeçalın ana etken maddesidir (Sharifi-Rad ve diğerleri, 2020). Tarihsel olarak, kurkumin 19. yüzyılın başlarında zerdeçaldan izole edilmiştir ve bu tarihten sonra kurkumin sadece geleneksel bir boyar

madde ve baharat olarak kullanılmamış, artık tıbbi açıdan ilgi çeken bir molekülüe dönüşmüştür. Bitkisel tıp sistemlerinde, kurkumin yüzyıllar boyunca çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. (Sharifi-Rad ve diğerleri, 2020; Anas ve diğerleri, 2024). Kurkumin bileşiğinin modern tıbbi uygulamaları, anti-inflamatuar, serbest radikal temizleyici ve antitümör özelliklerine dayanmaktadır (Kabir ve diğerleri, 2021). Kurkuminin birden fazla sinyal molekülünü modüle etme yeteneği, onu tümör, Alzheimer hastalığı ve dolaşım sistemi sorunları gibi kronik hastalıklarla mücadelede değerli bir terapötik ajan haline getirmiştir. Ayrıca, hücre döngülerinin düzenlenmesi, apoptoz, anjiyogenez ve metastaz gibi kanser gelişimi için çok önemli olan çeşitli hücre sinyalizasyon yolları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu da yapılan çalışmalar doğrultusunda keşfedilmiştir. (Anas ve diğerleri, 2024).

### 2.5.2.Kurkuminin antikanserojenik etkileri

Kurkuminin, antioksidan, anti-inflamatuar ve kanser karşıtı özellikler dahil olmak üzere çok yönlü biyolojik aktiviteleri ile kanser tedavisinde önemli terapötik potansiyel gösterdiği yapılan birçok çalışmada vurgulanmaktadır (Kabir ve diğerleri, 2021). Kurkumin, çeşitli kanser türlerine karşı potansiyel terapötik etkilerini göstererek, özellikle gastrointestinal kanserlere karşı önemli kanser karşıtı özellikler sergilemektedir. Apoptozisi indükleyerek, hücre çoğalmasını inhibe ederek ve birden fazla hücre sinyal yolunu modüle ederek, kolon kanseri ve pankreas kanseri gibi gastrointestinal kanserler üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir (Amaroli ve diğerleri, 2024). Ayrıca kurkumin, büyüme faktörü reseptörlerinin ve kinazların aktivitesini de düzenleyerek tümör büyümesini ve çoğalmasını da engelleyebilmektedir (Sharifi-Rad ve diğerleri, 2020). Yapılan bir *in vitro* çalışmada, meme kanseri hücre hattında kurkuminin, meme kanseri ve çeşitli kanserler için tümör baskılayıcı rolü nedeniyle önemli bir kodlamayan RNA olan miR-15a-5p geninin ifadesini arttırarak kanserli hücre canlılığını baskıladığı ortaya konmuştur (Suer ve diğerleri, 2024). Şekil 2.11'de kurkuminin antikanser etkileri ve yolakları şematize edilmiştir. Hücre proliferasyonunun inhibisyonu, apoptozun indüklenmesi ve hücre döngüsünün durdurulması ile apoptotik proteinlerin modülasyonu dört temel etkisidir. Kurkumin; NF-κB, STAT3 ve AP-1 gibi temel transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini baskılar ve PI3K/Akt/mTOR ile MAPK/ERK gibi kritik sinyal iletim yollarına müdahale eder. Ayrıca VEGF, VEGFR2 ve matriks metalloproteinazların

(MMP'ler) aşağı regülasyonu yoluyla anjiyogenez ve metastazı inhibe eder. DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) ve histon deasetilazların (HDAC'ler) inhibisyonu aracılığıyla gerçekleşen epigenetik düzenlemeler de kurkuminin antikanser özelliklerine katkıda bulunur. Son olarak kurkumin, FoF1-ATP sentazı inhibe ederek mitokondriyal enerji metabolizmasını değiştirir ve oksidatif stresi azaltır; böylece ATP üretimini ve kanser hücrelerinin büyümesi ile proliferasyonu için kritik olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu etkiler.




**Şekil 2.11.** Kurkuminin antikanser etki mekanizmaları (Amaroli ve diğerleri, 2024)

Yapılan çalışmalar, kurkuminin meme kanseri tedavisinde de umut verici sonuçlar gösterdiğini, seçici davranarak kurkuminin kanser hücrelerinin apoptozunu indüklemek ve kanserli hücrelerin büyümesini hücre döngüsünü G2/M evresinde durdurmak suretiyle sağladığını ve metastazını engellediğini ortaya koymuştur (Song ve diğerleri, 2019; J. Zhu ve diğerleri, 2024). Farklı meme kanseri tiplerine ait hücre hatları üzerinde kurkuminin DNA hasarı üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada, belirgin olarak BRCA1 mutasyonuna sahip hücre hattında kurkuminin homolog rekombinasyon mekanizmasına aracılık ederek kanserli hücrelerin DNA hasarını indüklediği ortaya konmuştur. Bu sonuç doğrultusunda kurkuminin özellikle BRCA1 mutasyonuna sahip üçlü negatif meme kanseri tedavisinde yardımcı ajan olarak kullanımının faydalı olabileceği vurgulanmıştır (Guney Eskiler ve diğerleri, 2020).

## 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu tez çalışmasında *L. acidophilus* LA-5 suşundan ekstrakte edilen ekzopolisakkaritlerin resveratrol ve kurkumin ile kombinasyonlarının olası sitotoksik etkileri SRB (Sülforodamin-B Assay) yöntemi ve olası genotoksik/antigenotoksik etkileri geleneksel test yöntemlerinden Komet Test yöntemi ile belirlenmiştir. İzole edilen ekzopolisakkaritlerin kimyasal yapıları da FTIR ve HPLC test yöntemleri ile analiz edilmiştir.

Deneyler boyunca kullanılan malzeme ve ekipmanlar ile marka ve model bilgilerinin yer aldığı liste Çizelge 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Deneylerde kullanılan malzeme ve ekipmanlar ile marka-model bilgileri

| **Malzeme/Ekipman Adı** | **Marka-Model** |
|---|---|
| *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (liyofilize) | Chr-Hansen, Novonesis |
| Kurkumin ve resveratrol (liyofilize) | TTI Pharma, Dulylife, Bursa |
| MRS Broth | Condalab, Madrid |
| Otoklav Cihazı | NÜVE SteamArt, OT 90L |
| Laminer Akım Kabini | Class II Steril Kabin, Clean Air, PMV |
| Hassas Terazi | Shimadzu, AUW220D |
| Terazi | Sartorius |
| Su Banyosu | NÜVE BM302 |
| İnkübatör (Bakteri kültürü için) | N-BIOTEK, NB-201 |
| İnkübatör (Hücre kültürü için) | Steri-cycle i160, Thermo Scientific |
| Soğutmalı Santrifüj Cihazı | KUBOTA 3780 |
| Santrifüj Cihazı (Falkon uygun godeli) | NÜVE CN180 |
| Santrifüj Cihazı (Eppendorf uygun godeli) | DLAB, D2012Plus |
| Diyaliz Membran (12-14 kDa/MWO) | SERVAPOR, Serva Electrophoresis GmbH |
| pH Metre | pH50 Violab |
| Liyofilizatör | Christ, Alpha 2-4 LDPlus |

**Çizelge 3.1.** Deneylerde kullanılan malzeme ve ekipmanlar ile marka-model bilgileri (devam)

| | |
|---|---|
| DMEM | Lonza, Biowhittaker |
| RPMI 1640 | Capricorn Scientific |
| Anaerobik Jar | Anaerojar, AG25, Oxoid Ltd., Hampshire |
| Mikroskop | Euromex |
| Vortex Cihazı | VELP Scientifica |
| ELISA Mikroplaka Okuyucu | ALLSHENG, AMR100 |
| Elektroforez Cihazı | Cleaver Scientific, Consort EV261 |
| Floresan Mikroskop | Novel N-800M |
| Fotoğraflama Yazılımı | Kameram 21, Mikrosistem, İstanbul, Türkiye |
| Buzdolabı (-20°C ve +4°C) | Altus |
| Dondurucu (-80°C) | Karris |

## 3.1. Probiyotik Bakteri ve Antioksidan Madde Temini

Deneyler için probiyotik bakteri *Lactobacillus acidophilus* LA-5 suşu kullanılmıştır (Chr-Hansen, Novonesis). Kurkumin ve Resveratrol ekstreleri de liyofilize halde temin edilmiştir (TTI Pharma, Dulylife, Bursa).

## 3.2. Ekzopolisakkarit (EPS) İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Ekzopolisakkarit izolasyonu Amiri ve arkadaşlarının yöntemiyle (2019) bazı minör modifikasyonlarla elde edilmiştir. Öncelikle toz formda olan MRS Broth besiyeri üzerindeki talimatlara göre 52g/L olacak şekilde bir cam erlen içinde 500 ml distile su ile çözdürürüldü. EPS üretimini desteklemesi için, bu çözelti üzerine son konsantrasyonu 30g/L olacak şekilde, MRS Broth besiyerinin kendi içeriğinde bulunan glikoz miktarı da göz önünde bulundurularak 5 g α-d-glikoz eklendi. Hazırlanan çözelti 121°C'de 20 dk. otoklav cihazı ile steril edildi ve 4°C'de 1 gece muhafaza edildi. 100 mg liyofilize bakteri steril şartlarda tartılarak önceden hazırlanmış ve 37°C'ye ısıtılmış 40ml besiyerine ekimi yapıldı ve revivifikasyon için anaerobik jar içinde 37°C'de inkübatörde 18 saat inkübe

edildi. 18 saat sonunda canlanan bakteri 37°C'ye ısıtılan cam erlende kalan 460 ml besiyerine Bek alevi önünde eklendi ve toplam 500 ml'lik kültür inokülasyon için 48 saat 40°C'de anaerobik jar içinde inkübe edildi. 48 saat sonunda cam erlen içindeki kültüre steril koşullarda son konsantrasyonu %4 olacak şekilde trikloroasetik asit (TCA) eklendi ve homojenizasyon için 37 °C'de 30-40 dakika boyunca ara ara karıştırılarak inkübatörde bekletildi. Daha sonra çözelti 50 ml'lik falkon tüplere eş miktarda ayrılarak 4°C'de soğutmalı santrifüj cihazı ile 8000 ×g hızda 15 dakika santrifüj edildi, oluşan pelletler tüplerin dibinde bırakılarak süpernatan kısımları aspire edildi. Toplanan süpernatan üzerine oranı 1:2 olacak şekilde 2 katı kadar soğuk saf etanol eklendi ve 1 gece -20°C'de çökelti oluşumu için bekletildi. Ertesi gün oluşan çökelti ile birlikte tüm sıvı yine 50 ml'lik falkon tüplere eş miktarda aktarıldı ve 4°C'de soğutmalı santrifüj cihazı ile 10000 ×g hızda 20 dakika santrifüj edildi. Dipte oluşan pelletler toplanarak saflaştırma için %70 etil alkol ile tekrar yıkanarak aynı koşullarda santrifüj edildi. Son oluşan süpernatan atıldı ve toplanan tüm pellet üzerine çözdürme işlemi için 50 ml kadar distile su eklendi. pH7'de karıştırıcı üzerinde tam çözünme sağlandıktan sonra çözelti 12-14 kda/MWO özellikteki diyaliz membrana aktarıldı ve 4 °C'de çözeltinin 100 kat hacmi kadar olacak şekilde distile su içerisinde 48 saat boyunca günde 2 kez diyaliz suyu değiştirilerek kalıntılar uzaklaştırıldı. Diyaliz işlemi bittikten sonra çözelti liyofilizasyona uygun bir kap içinde önce -80°C'de donduruldu, liyofilizatör cihazına (Christ, Alpha 2-4 LDPlus) konarak main drying ve final drying olmak üzere iki aşamada toz haline gelinceye kadar liyofilize edildi. Liyofilize edilen EPS uzun süre deneylerde kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edildi.

Liyofilizasyon sonrası elde edilen EPS'nin karakterizasyon analizleri FTIR yöntemi ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden; HPLC yöntemi ile analizler ise ODTÜ Merkez Laboratuvarı Moleküler Biyoloji-Biyoteknoloji Ar-Ge Merkezi Kromatografi ve Fermentasyon Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

## 3.3. EPS ve Antioksidan Maddelerin Sitotoksik Analizleri

### 3.3.1. Hücre kültürü temini, besiyeri ve büyüme koşulları

Meme Kanseri hücre hatları MCF7 ve MDA-MB231, Bursa Uludağ Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. MCF-7 hücre hattı için %10 fetal bovine serum (FBS), %1 Penisilin (100U/ml)-Streptomisin (100 µg/ml), %1 L-Glutamin içeren ve 10 µg/ml oranında insülin eklenmiş DMEM; MDA-MB-231 hücre hattı için ise, %10 fetal bovine serum (FBS), %1 Penisilin (100U/ml)-Streptomisin (100 µg/ml), %1 L-Glutamin içeren yüksek glikozlu RPMI 1640 besiyeri kullanılmıştır. MCF-7 pasajlama işlemlerinde %0,05 lik, MDA-MB-231 pasajlama işlemlerinde ise %0,25'lik Trypsin EDTA kullanılmıştır. Her iki hücre hattı deneyler boyunca kullanılmadıkları süreçlerde 37°C sıcaklıkta, neme doygun, %5 $CO_2$ koşullarında inkübatörde tutulmuştur.

### 3.3.2. Hücrelerin çözdürülme, pasajlanma ve dondurulma koşulları

-80°C'de dondurulmuş olan hücre soyları su banyosunda 37°C'de sıvı hale geçtikten sonra 15 ml'lik falkon tüpe aktarıldı ve üzerine 2-2,5 ml kadar besiyeri eklendi. 1000 rpm hızda 5 dk santrifüj edildi ve süpernatan atılarak DMSO uzaklaştırıldı. Kalan hücre pelletinin 75 $cm^2$'lik hücre kültür kaplarına ekimi yapıldı. Uygun koşullardaki inkübatörde tutularak hergün gözlemlenen hücrelerin ortalama iki günde bir kez besiyeri değiştirildi ve %80 konfluense ulaştığında pasajlama işlemi yapıldı. Pasajlama işlemi için hücreler 1xPBS ile yıkandı ve hücreye uygun Trypsin EDTA eklenerek 5 dk inkübe edildi. Süre sonunda invert mikroskop altında incelenen hücrelerin yüzeyden ayrıldığı görüldüğünde tripsinasyon durdurularak hücreler toplandı. Toplanan hücreler 1000 x rpm hızda 5 dk. santrifüj edildi. Süpernatan uzaklaştırıldı ve hücre pelletine 2-3 ml kadar besiyeri eklendi. Bu aşamadan sonra hücreler deneyde kullanılacaksa sayım işlemine alındı, kalan hücreler ise cryovial tüplerde son hacim %5 olacak şekilde DMSO eklenerek -80°C'de donduruldu.

### 3.3.3. EPS ve antioksidan maddelerin çözdürülmesi, stoklanması ve filtrelenmesi

Liyofilize halde temin edilen kurkumin ve resveratrol sırasıyla 270 mM ve 440mM olacak şekilde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) içinde çözdürüldü ve 10 dk. sonike edilerek ana stok hazırlandı. Alikotlanarak -20°C'de deneyler boyunca kullanılmak üzere donduruldu. Deneyden hemen önce çözdürülerek medium ile ara stoklar hazırlandı ve nihai hedef derişimde çözelti oluşturuldu. Liyofilize haldeki EPS ise, deneylerden hemen önce steril distile su ile çözdürülüp vortex cihazı ile karıştırılarak kullanıldı. Literatürde, kimyasal dayanımı yüksek olduğu için etanol ve DMSO gibi solventlerde çözünen hidrofobik özellikteki maddelerin filtrasyonu için PTFE membranlar uygun görülmektedir (Hou ve diğerleri, 2024). Hidrofilik özellikteki PES membranların da polisakkarit ya da protein yapılarda madde kaybını minimumda tuttuğu belirtilmiştir (Yun ve diğerleri, 2023). Bu bilgiler doğrultusunda, kurkumin ve resveratrol kuyucuklardaki hücre ortamına 0,22 μm gözenek çapına sahip hidrofilik politetrafloroetilen (PTFE) filtreden geçirilerek; EPS ise 0,22 μm gözenek çapına sahip polietersülfon (PES) filtreden geçirilerek eklenmiştir.

### 3.3.4. Sitotoksik aktivitelerin belirlenmesi

EPS, Kurkumin ve Resveratrol'ün MCF7 ve MDA-MB231 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi 1990 yılında Skehan ve arkadaşlarının geliştirdiği Sulforodamin B (SRB) testi yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Skehan ve diğerleri,1990). Yöntemin prensibi, trikloro asetik asit (TCA) ile sabitlenmiş hücrelerin protein içeriğine SRB'nin asidik koşullarda bağlanabilmesine dayanır. SRB, asidik pH'ta bazik aminoasitlere bağlanır ve bazik ortamda tekrar çözünerek hücre miktarına bağlı olarak kolorimetrik bir ölçüm yapılmasına olanak verir.

Yöntem, kullanılan etken maddelerin adezyon gösteren hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini 96 kuyucuklu plakalarda taramak için optimize edilmiştir. Belirlenen sürede inkübasyon sonrasında hücre monolayerleri %10 (w/v) triklorasetik asit ile fikse edilir ve 30 dakika SRB boyasına maruz bırakılır; ardından fazla boya %1 (v/v) asetik asit ile birkaç kez yıkanarak uzaklaştırılır. Proteinlere bağlanan SRB boyası, 10 mM Tris baz çözeltisi içinde çözülür ve mikroplaka okuyucu aracılığıyla 510-570 nm'de optik yoğunluk ölçülür.

Diğer canlılık testlerine kıyasla SRB yöntemi proteinlerin boyanması esasına dayalıdır. Kısa sürede çok sayıda örneğin test edilmesine olanak sağlaması, aynı zamanda yalnızca basit ekipman ve düşük maliyetli reaktifler gerektirmesi nedenleriyle SRB testi, tarama için verimli bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Vichai ve Kirtikara, 2006).

SRB analizi için öncelikle uygun koşullarda açılan ve 75cm$^2$'lik hücre kültür kaplarına ekilen MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları %80 konfluense ulaştığında hücre sayım işlemi triphan blue boyama yöntemi ile thoma lam lamel preparatı hazırlanarak mikroskop altında değerlendirildi. Sayım sonrası her bir hücre hattı için ayrı iki 96 kuyucuklu plaka hazırlanarak etiketlendi ve her bir kuyucukta 100 µl'de 4x10$^3$ sayıda hücre olacak şekilde ekim yapıldı. Ekilen MCF-7 hücreleri 48 saat, MDA-MB-231 hücreleri 24 saat 37°C'de, %5 $CO_2$ koşullarında inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında MDA-MB-231 hücrelerine ve MCF-7 hücrelerine doz-cevap denemeleri geniş doz aralıklarında değerlendirilmiştir. EPS, kurkumin, resveratrol ve siklofosfamid (pozitif kontrol) doz-cevap denemeleri için taranan dozları Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Tüm doz denemeleri ve deneylerde 3 tekrarlı olarak negatif kontrol (blank), solvent kontrol (%0,2 DMSO) ve pozitif kontrol deney setine alınmıştır. Her iki hücre hattı da etken madde uygulama sonrası 48 saat aynı koşullarda inkübe edilmiştir.

**Çizelge 3.2.** MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine uygulanan etken maddeler ve dozları

| EPS (mg/ml) | Kurkumin(µM) | Resveratrol(µM) | Siklofosfamid(mM) |
|---|---|---|---|
| 20 | 300 | 1000 | 20 |
| 17,5 | 150 | 750 | 10 |
| 15 | 75 | 500 | 5 |
| 10 | 37,5 | 250 | 2,5 |
| 7,5 | 18,75 | 125 | 1,25 |
| 5 | 9,4 | 62,5 | |
| 3,75 | 4,7 | 31,2 | |
| 2,5 | 2,35 | 15,6 | |

İnkübasyon sonrasında, mikroplakaların her kuyucuğuna 25'er µl %50'lik trikloro asetik asit (TCA) eklendi, ışık maruziyeti engellenerek 4ºC'de 1,5 saat inkübe edildi ve

sonrasında deiyonize su ile 5 kez yıkandı. Tamamen kuruduktan sonra her kuyucuğa %1'lik (v/v) asetik asit ile hazırlanan %0,4 (w/v) SRB çözeltisinden 50'şer µl pipetlenerek eklendi ve 30 dakika normal oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda % 1'lik (v/v) asetik asit çözeltisiyle plakalar 5 kez yıkanmıştır. Kuyucukların tamamen kurumasının ardından 10 mM tris bazı her bir kuyucuğa eklendi ve yine oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Süre sonunda absorbans değerleri 570 nm dalgaboyunda ELISA mikroplaka okuyucusu (ALLSHENG, AMR100) ile ölçülmüştür.

Elde edilen veriler doğrultusunda % canlılık değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\%\text{Canlılık} = \frac{\text{Abs}_{\text{örnek}} - \text{Abs}_{\text{blank}}}{\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{blank}}} \times 100$$

$IC_{50}$ değerleri bu formül üzerinden belirlenmiştir.

Her iki hücre hattında da doz-cevap denemeleri ile taranmış ve EPS, kurkumin ve resveratrolün $IC_{50}$ dozları belirlenmiştir. EPS, resveratrol ve kurkuminin tek tek ve kombinasyon dozlarının sitotoksik etkilerinin incelenmesi amacıyla yeni bir deney tasarımı oluşturulmuştur. $IC_{50}$ dozlarında uygulanan farklı kombinasyon modelleri Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir. Farklı kombinasyonlarda kullanılan EPS, kurkumin ve resveratrolün sinerjistik/antagonistik etkileşimlerini ölçmek için aşağıda yer alan Chou-Talalay Metodu formülü kullanılarak CI indeksleri hesaplanmıştır (Chou, 2010).

$$CI = \frac{(D)1}{(Dx)1} + \frac{(D)2}{(Dx)2}$$

**Çizelge 3.3.** Her iki hücre hattında $IC_{50}$ dozlarında uygulanan EPS, kurkumin ve resveratrolün kombinasyon modelleri

| **MDA-MB-231** | **MCF-7** |
|---|---|
| EPS | EPS |
| Kurkumin (Kur) | Kurkumin (Kur) |
| Resveratrol (Rsv) | Resveratrol (Rsv) |
| Kur+Rsv | Kur+Rsv |
| EPS+Kur | EPS+Kur |
| EPS+Rsv | EPS+Rsv |
| EPS+Kur+Rsv | EPS+Kur+Rsv |

## 3.4. EPS, Kurkumin ve Resveratrol'ün Genotoksik/Antigenotoksik Potansiyelinin *in vitro* Belirlenmesi

### 3.4.1. *In vitro* alkali komet testi

EPS, Kurkumin ve Resveratrol'ün MCF7 ve MDA-MB231 hücreleri üzerindeki genotoksik ve/veya antigenotoksik etkilerini belirlemek için Singh ve diğerleri (1988) *in vitro* alkali komet testi modifikasyonlarla uygulanmıştır. Alkali komet testi, tek tek hücrelerde DNA zincir kırıklarını ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, parçalanmış DNA'nın agaroz jel içinde elektroforez sırasında sağlam DNA'ya göre daha hızlı göç etmesi prensibine dayanır. Özet anlatımla agaroz jel içindeki tek hücre süspansiyonları mikroskop lamları üzerine yerleştirilir, membranları bozmak ve histonları uzaklaştırmak için deterjan ve yüksek molariteli NaCl ile lizis yapılır, ardından elektroforeze tabi tutulur. Zincir kırıkları varlığında DNA, katottan anota doğru göç eder ve floresan boya ile boyanıp floresan mikroskop altında incelendiğinde kuyruklu yıldızı andıran bir görüntü oluşturur (Collins ve diğerleri, 2023). Çok yönlülüğü ve yüksek duyarlılığı sayesinde bu yöntem, çok çeşitli deneysel koşullar altında farklı organizmalardan elde edilen hücrelerde kimyasal veya fiziksel ajanların neden olduğu DNA hasarını değerlendirmek için kullanılmaktadır (Cordelli ve diğerleri, 2021).

Test için 6 kuyucuklu plakalara $3x10^5$/2 ml olacak şekilde MCF-7 ve MDA-MB-231 hücreleri ekilmiştir. MCF-7 hücreleri 48 saatlik, MDA-MB-231 hücreleri ise 24 saatlik

inkübasyon sonrasında %80 konfluense ulaşmıştır. İnkübasyon sonrası kuyucuklara doz-cevap denemeleri sonucunda belirlenen $IC_{50}$ dozlarında EPS, Kurkumin, Resveratrol ve kombine halde EPS+Kur+Rsv uygulanmıştır. İnkübasyon süresinin son 1 saatinde pozitif kontrol ajanı olarak güçlü bir genotoksik etkiye sahip olduğu bilinen etil metan sülfonat (EMS) 40µM olarak literatüre uygun şekilde uygulanmıştır (Matos ve diğerleri, 2019). Tüm Komet deney setlerinde negatif kontrol ve pozitif kontrol (EMS), EPS, kurkumin, resveratrol ve kombinasyon grupları her iki hücre hattı için birlikte uygulanmıştır.

Süre sonunda kuyucuklardaki medium aspire edilerek uzaklaştırılmış ve hücre hatlarının kendilerine özgü besiyeri ve tripsin kullanarak hücre pasajlama işleminde olduğu gibi her bir kuyuda bulunan hücreler ayrı ayrı tripsin ile kaldırılmış, her kuyuya 1xPBS eklenmiş ve mikroskop altında sayılmıştır. Sayım sonrası gerekli ise PBS ile seyreltilerek 60 µl'de $3x10^4$ sayıda hücre olacak şekilde süspansiyon hazırlanmıştır. Hücre süspansiyonlarının her birinin üzerine final konsantrasyon % 0,65 olacak şekilde düşük erime noktalı (LMP) agar eklenmiştir.

Lamlar %1'lik Normal Erime Noktalı (NMP) agar ile kaplanıp etiketlenen lamlar üzerine hızlıca hazırlanan hücre süspansiyonu eklenmiştir. Lamlar 20×40 mm lameller ile kapatılmış ve jelin katılaşması için +4 °C'de bekletilmiştir. Sonrasında, lameller katılaşan jeli zedelememeye özen göstererek kaldırılmış ve lamlar içerisinde lizis çözeltisi (2,5 M NaCl, 100 mM Na2EDTA, 10 mM tris bazı, %1 Triton X-100, %10 DMSO; pH:10) bulunan şalelere yerleştirilerek +4 °C'de karanlıkta gece boyunca bekletilmiştir. Ertesi gün lamlar içinde soğuk elektroforez tamponu çözeltisi (300 mM NaOH, 1 mM $Na_2EDTA$; pH :13) bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiş ve lamlar bu çözeltide DNA sarmalının açılması için 15 dk bekletilmiştir. Sonrasında 25 V ve 300 mA'de 30 dk yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Yürütmenin ardından tanktan alınan lamlar pH'ın dengelenmesi için +4 °C'deki nötralizasyon tamponuna (0,4 M tris bazı; pH:7,5) yerleştirilmiştir ve 5 dk bekletilmiştir. Süre sonunda distile su ile yıkanan lamlar kurumaya bırakılmıştır. Lamlar iyice kuruduktan sonra soğuk saf etil alkol ile şale içinde +4 °C'de 5 dk daha bekletilmiş ve yeniden süre sonunda kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamların üzerine son konsantrasyon 2 µg/ml olacak şekilde etidyum bromür eklenerek 20×20 lamel kapatılmıştır ve Novel N-800M floresans ataçmanlı faz kontrast mikroskopta ×200 büyütme ile BP 546/10 nm filtre kullanılarak incelenmiştir. Her bir

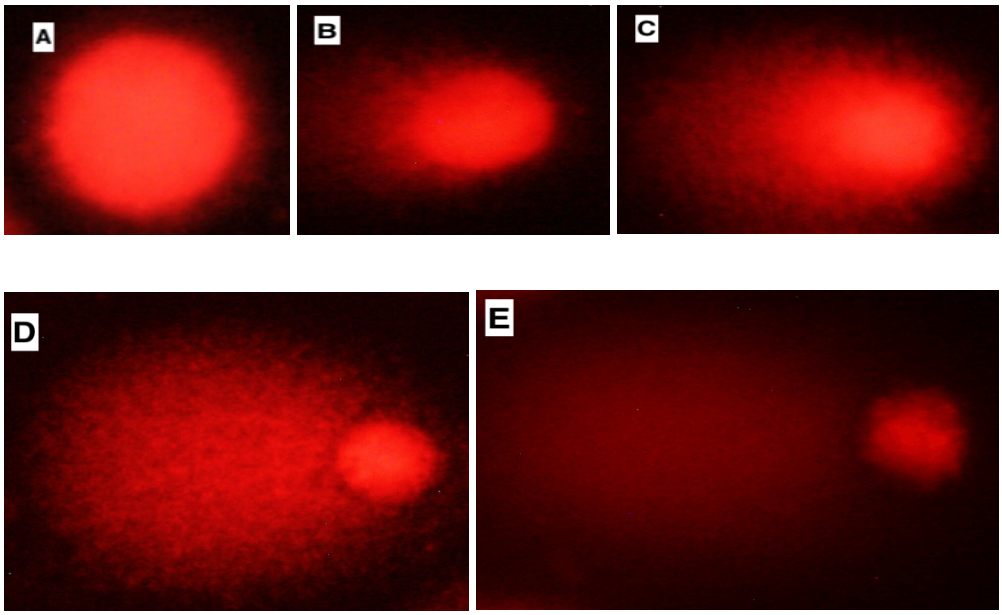
deney grubu için minimum 50 hücre sayılmış ve fotoğraflanmıştır. Fotoğraflar, Kameram 21 (Mikrosistem, İstanbul, Türkiye) yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme verileri olarak komet alanı, komet uzunluğu, komet yoğunluğu, kuyruk uzunluğu, kuyruk % DNA, kuyruk moment uzaklığı, kafa yoğunluğu, kafa % DNA ve Olive kuyruk momenti ile Genetik Hasar İndeksi (GHİ) ve Hasarlı Hücre Yüzdesi (HHY) kullanılmıştır.

Genetik Hasar İndeksi (GHİ) ve Hasarlı Hücre Yüzdesi aşağıdaki formüller aracılığı ile hesaplanmıştır:

$$\mathrm{GHI} = \frac{(1 \times \Sigma\mathrm{Tip1}) + (2 \times \Sigma\mathrm{Tip2}) + (3 \times \Sigma\mathrm{Tip3}) + (4 \times \Sigma\mathrm{Tip4})}{\Sigma\mathrm{Tip0} + \Sigma\mathrm{Tip1} + \Sigma\mathrm{Tip2} + \Sigma\mathrm{Tip3} + \Sigma\mathrm{Tip4}}$$

$$\mathrm{HHY} = \frac{\Sigma\mathrm{Tip2} + \Sigma\mathrm{Tip3} + \Sigma\mathrm{Tip4}}{\Sigma\mathrm{Tip0} + \Sigma\mathrm{Tip1} + \Sigma\mathrm{Tip2} + \Sigma\mathrm{Tip3} + \Sigma\mathrm{Tip4}}$$

Görsel olarak DNA hasarının değerlendirilmesi ve sınıflandırılması Şekil 3.1.'de verilmiştir. Hasarsız hücreler Tip 0 olarak değerlendirilirken, hasar görüntüsü arttıkça Tip 4'e kadar sınıflandırma yapılmıştır.




**Şekil 3.1.** Komet testi sonucu görsel genetik hasar sınıflaması A) Tip 0, B) Tip 1, C) Tip 2, D) Tip 3, E) Tip 4

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Deneyler sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, SPSS 29.0 paket bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar normalite testinin akabinde parametrik testlerden One Way ANOVA; non-parametrik testlerden Kruskall Wallis testi ile incelenmiştir. Fark grupları uygun Post Hoc analiz testlerinden Tamhane's T2 testi ve/veya Tukey HSD testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki farklar $p < 0,05$ anlamlılık seviyesinde verilmiştir. Grafikler Microsoft 365 Excel programı ve SPSS 29.0 paket programı ile oluşturulmuştur.

# 4.BULGULAR

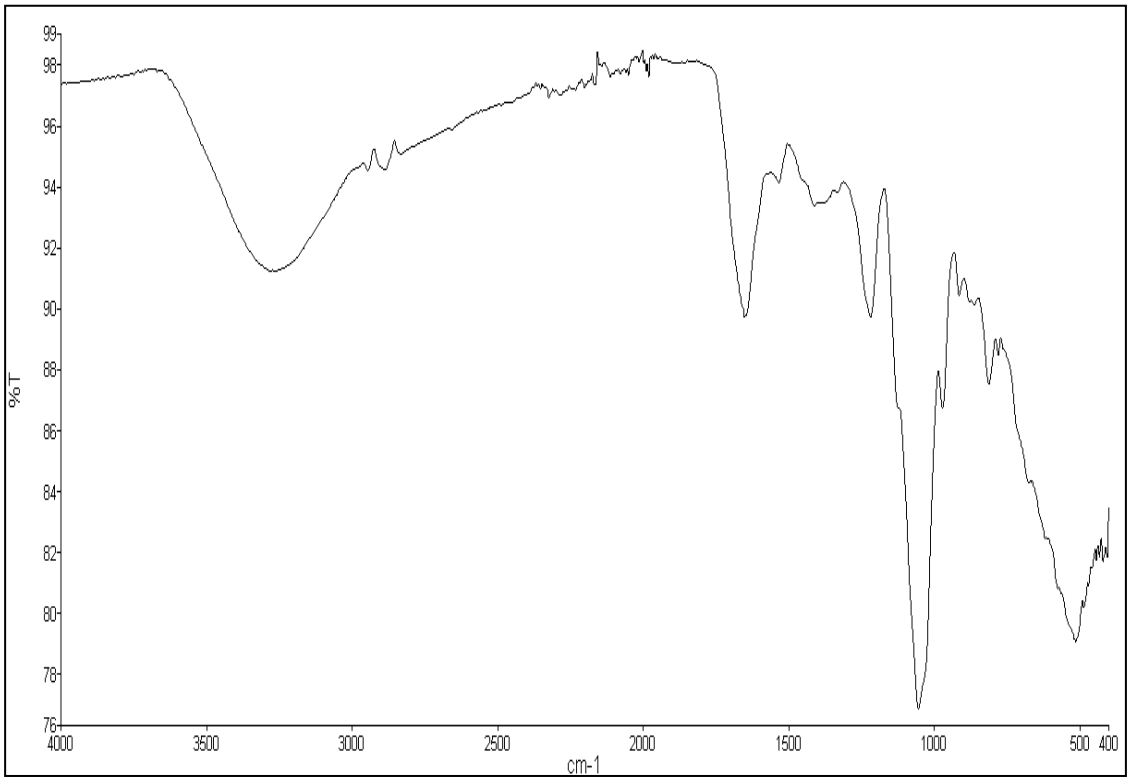
## 4.1. EPS Fiziksel Özellikleri ve Kimyasal Profili

Yapılan ekstraksiyon işlemleri sonucunda liyofilize halde 187 mg. EPS elde edilmiştir. Elde edilen EPS'nin rengi gri-beyaz tonlarda, hafif yapışkan bir toz görünümündedir. Şekil 4.1'de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen liyofilize EPS (LA-5 EPS) gösterilmiştir.



**Şekil 4.1.** *Lactobacillus acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen liyofilize EPS

FTIR analizlerine göre; *L. acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen EPS (LA-5 EPS örneğinde 3266 $cm^{-1}$ civarında gözlenen geniş bantlar hidroksil (O–H) gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. 2946–2884 $cm^{-1}$ bölgelerinde gözlenen bantlar alifatik C–H gerilme titreşimleri ile ilişkilidir ve organik karbon iskeletinin varlığını göstermektedir. Spektrumda yaklaşık 1650 $cm^{-1}$ civarında görülen pikler karbonil (C=O) gruplarının asimetrik gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca 1400–1200$cm^{-1}$ aralığında görülen bantlar karboksilat ($COO^-$) gruplarının gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilmekte ve asidik polisakkarit yapılarının varlığına işaret etmektedir. 1054 $cm^{-1}$ civarında gözlenen güçlü bantlar ise C–O ve C–O–C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Bunun yanında 812 $cm^{-1}$ aralığında gözlenen pikler glikozidik bağlara ait titreşimler olup şeker monomerlerinin α- ve β-bağlar ile bağlandığını göstermektedir. Şekil 4.2.'de LA-5 EPS'ye ait FTIR analizi grafiği görülmektedir.




**Şekil 4.2.** *Lactobacillus acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen ekzopolisakkarit örneğine ait FTIR analizi sonucu. Dalga sayısı (wavenumber - $cm^{-1}$) ve geçirgenlik/absorbans (transmittance - %T) değerleri gösterilmiştir.

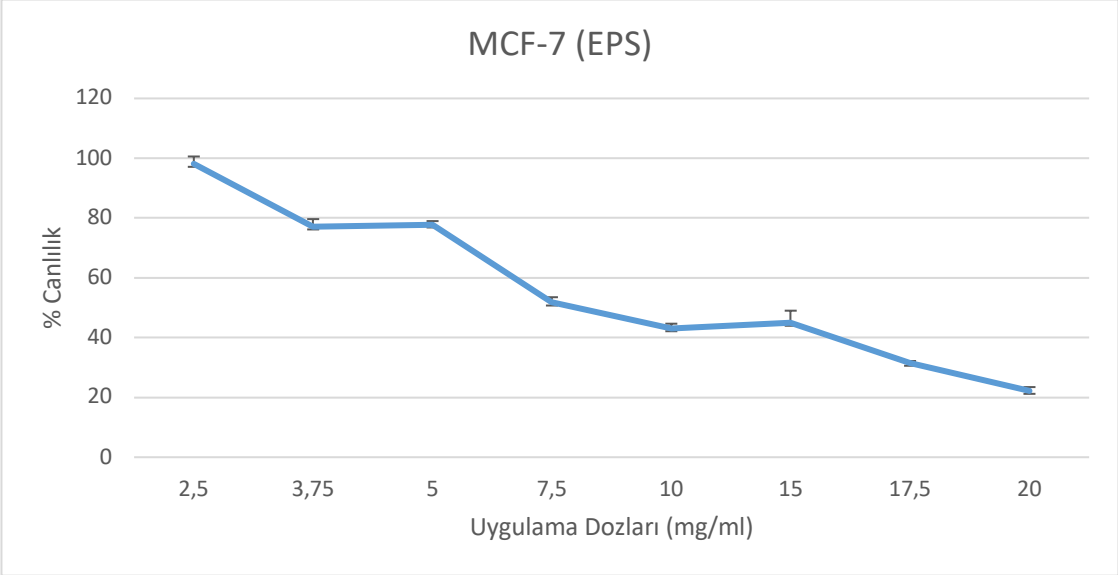
HPLC analizlerine göre ise elde edilen ekzopolisakkaritin monosakkarit kompozisyonunda fruktoz 0,3 ± 0,0 mg/ml, glikoz 0,2 ± 0,0 mg/ml, mannoz 0,2 ± 0,0 mg/ml ve ramnoz 0,02 ± 0,00 mg/ml miktarlarında tespit edilmiştir. Galaktoz tespit edilmemiştir.

## 4.2. Sitotoksisiste Analizi Sonuçları

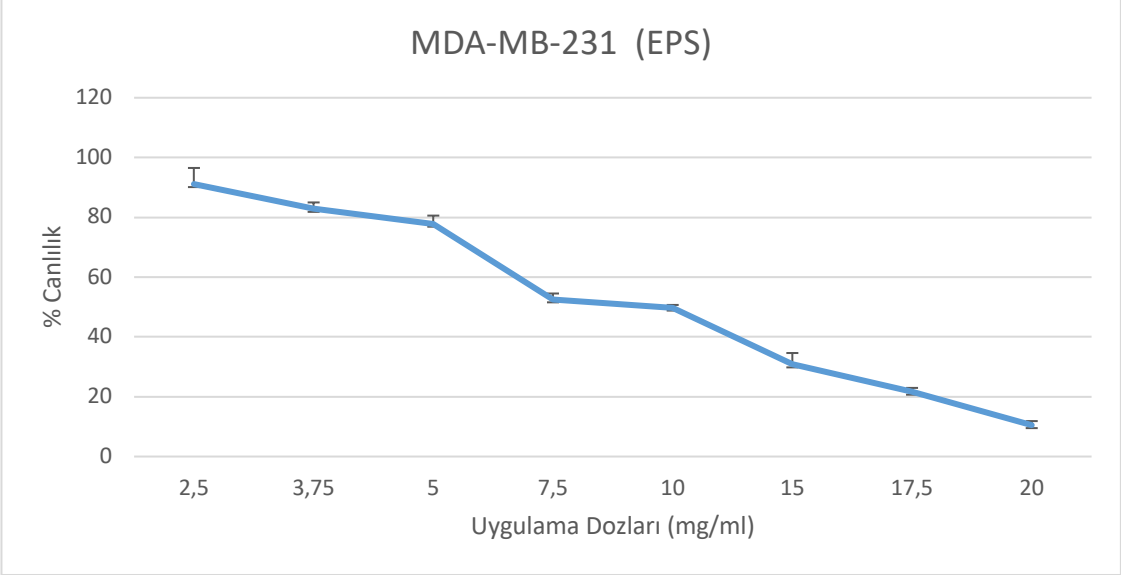
### 4.2.1.EPS sitotoksisite analiz sonuçları

MCF-7 hücre hattında 48 saat süreyle yapılan EPS doz-cevap denemeleri ile elde edilen canlılık oranları grafiği Şekil 4.3'de verilmiştir. MCF-7 hücre hattında LA-5 EPS'nin $IC_{50}$ değeri 8,00 mg/ml olarak tespit edilmiş ve canlılık oranlarının doza bağımlı olarak azaldığı bulunmuştur. LA-5 EPS'nin MDA-MB-231 hücre hattında uygulanması sonucu elde edilen canlılık oranları Şekil 4.4'de verilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında LA-5

EPS'nin $IC_{50}$ değeri 9,8 mg/ml olarak tespit edilmiştir. MCF-7'ye benzer şekilde EPS uygulaması sonucunda % canlılık oranlarının doza bağımlı olarak azaldığı görülmüştür.



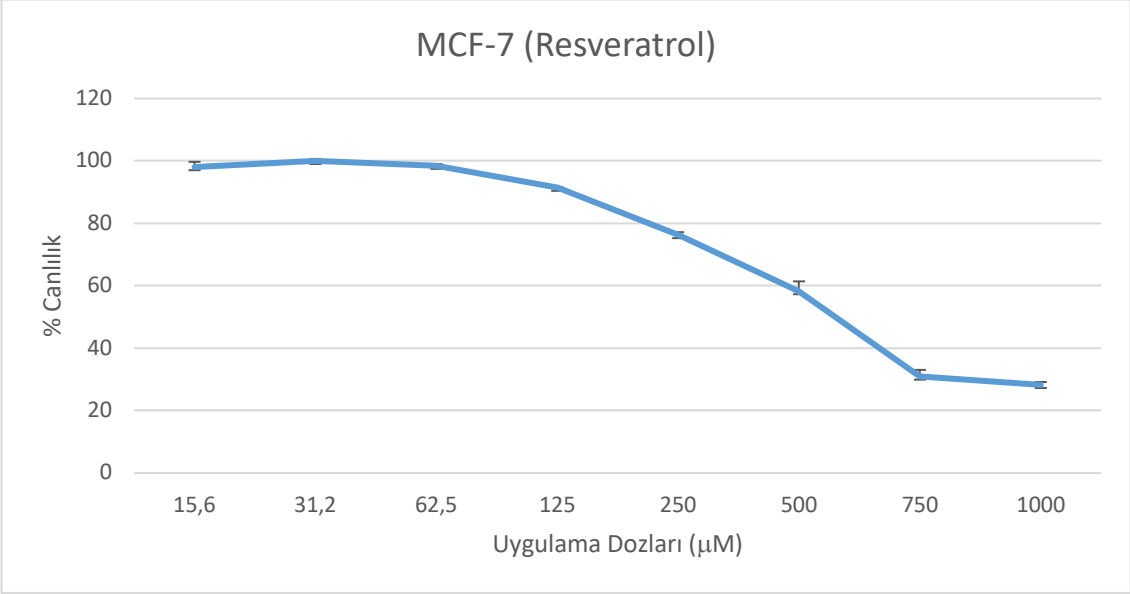

**Şekil 4.3.** LA-5 EPS'nin uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.



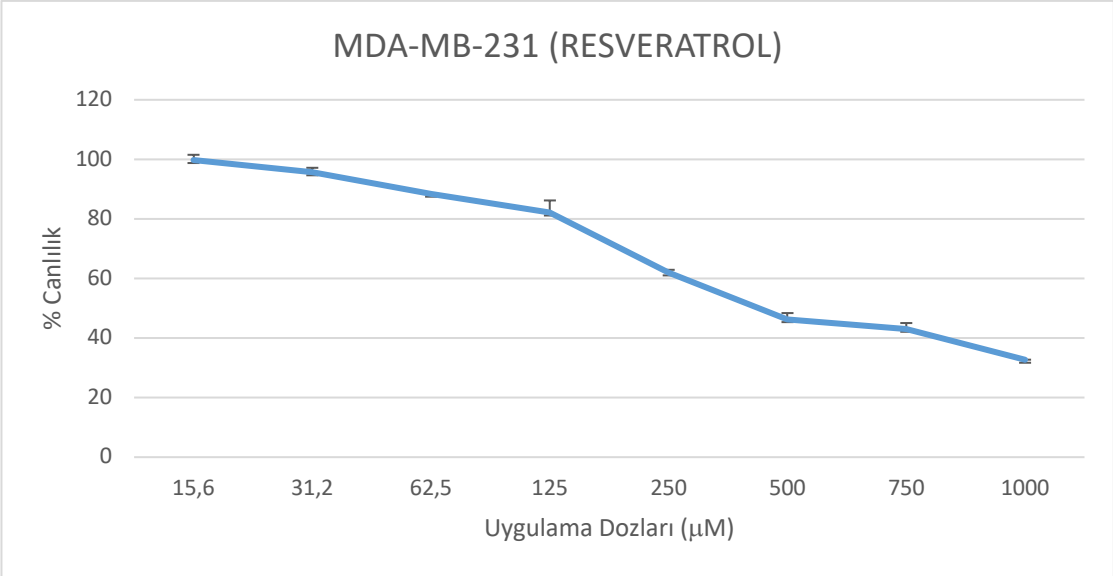

**Şekil 4.4.** LA-5 EPS'nin uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

### 4.2.2.Resveratrol sitotoksisite analizleri

Resveratrolün MCF-7 hücre hattında farklı dozlara göre canlılık oranları yüzde (%) olarak Şekil 4.5' de gösterilmiştir. MCF-7 hücre hattında resveratrolün $IC_{50}$ değeri 575,83 µM olarak tespit edilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında resveratrol uygulaması sonucunda ölçülen canlılık oranları Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında resveratrolün $IC_{50}$ değeri 441,75 µM olarak tespit edilmiştir.




**Şekil 4.5.** Resveratrolün uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.



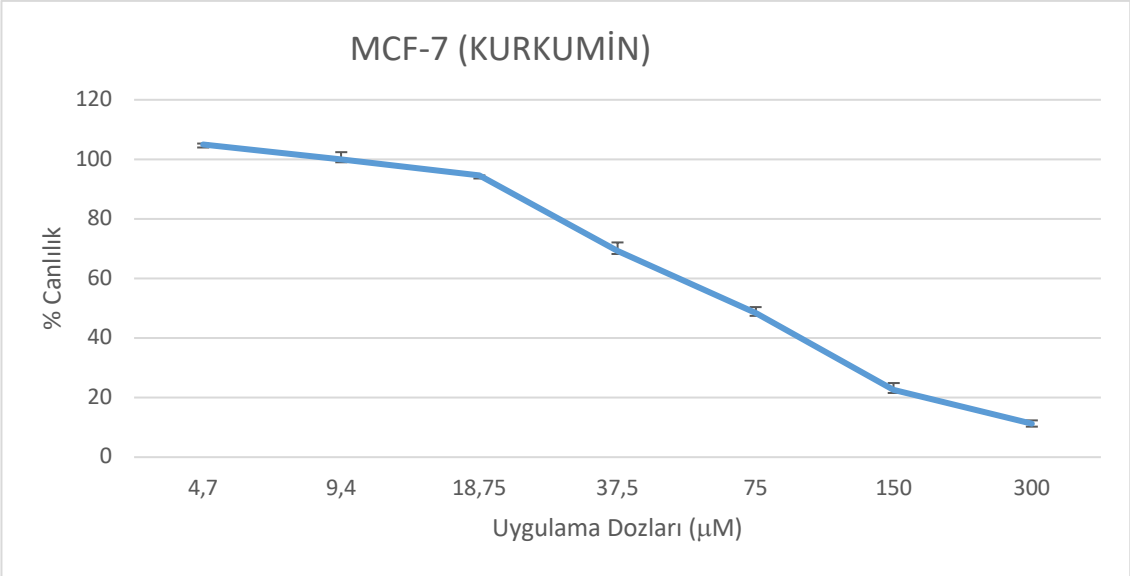

**Şekil 4.6.** Resveratrolün uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

Her iki hücre hattında da resveratrol uygulaması ile hücre canlılığının doza bağlı olarak azaldığı görülmektedir.

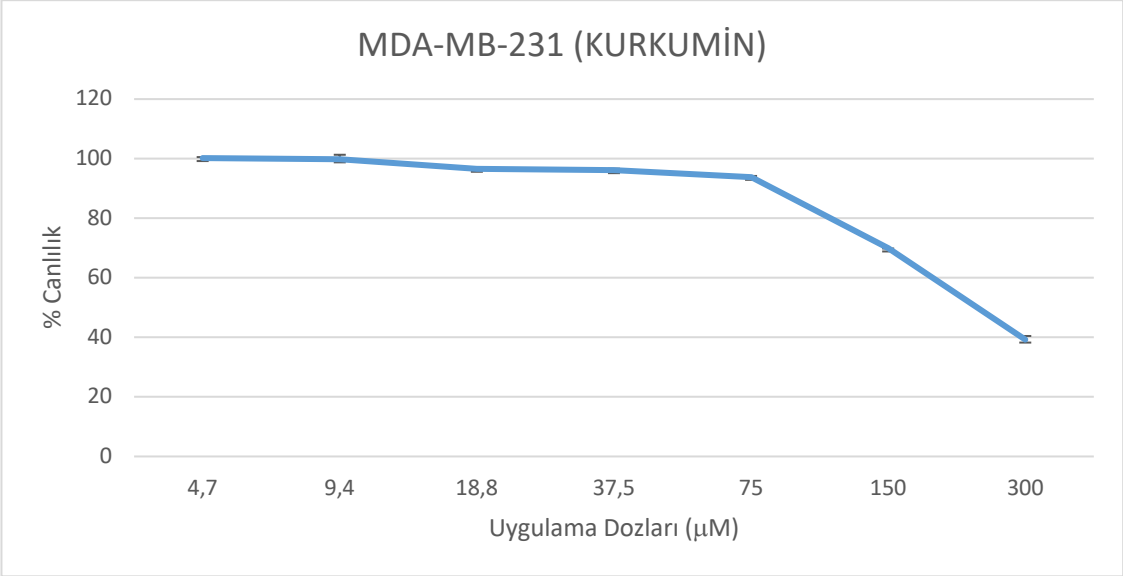
### 4.2.3.Kurkuminin sitotoksik analizleri

Kurkuminin doz-cevap denemeleri sonucu MCF-7 hücre hattı için % canlılık oranları Şekil 4.7.'de, MDA-MB-231 hücre hattı için ise Şekil 4.8'de gösterilmiştir.

MCF-7 hücre hattında kurkuminin $IC_{50}$ değeri 72,2 µM, MDA-MB-231 hücre hattında kurkuminin $IC_{50}$ değeri 247,25 µM olarak belirlenmiştir. Kurkuminin MDA-MB-231 hücre hattında 75µM'a kadar olan dozlardaki uygulamasının canlılık üzerinde herhangi bir etki göstermezken, bu dozdan itibaren artan dozlarda hücre canlılığında düşüş görülmektedir. MCF-7 hücre hattında ise kurkumin uygulamasının doza bağlı olarak hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür.



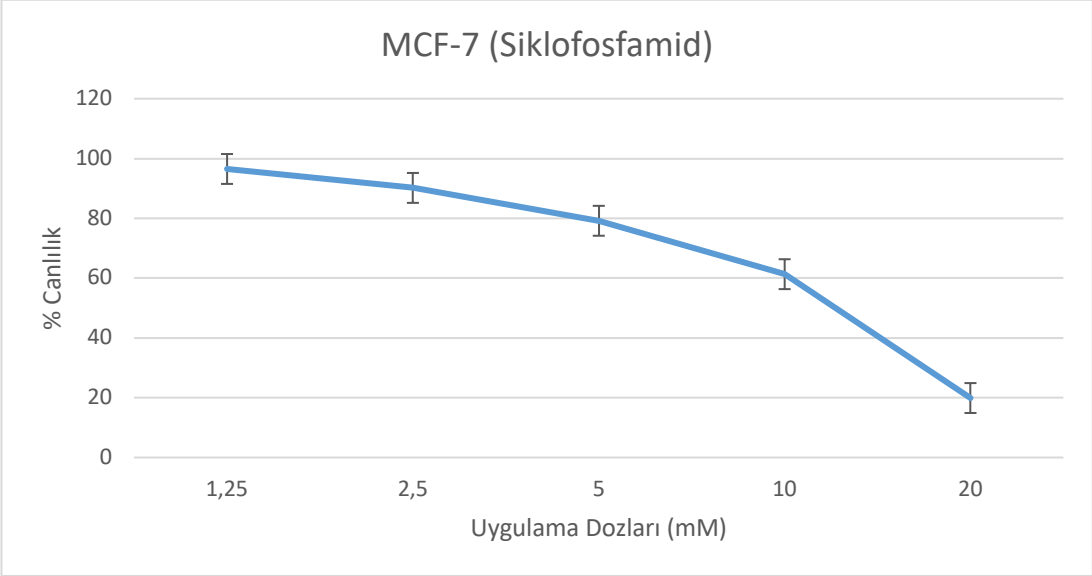

**Şekil 4.7.** Kurkuminin uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.



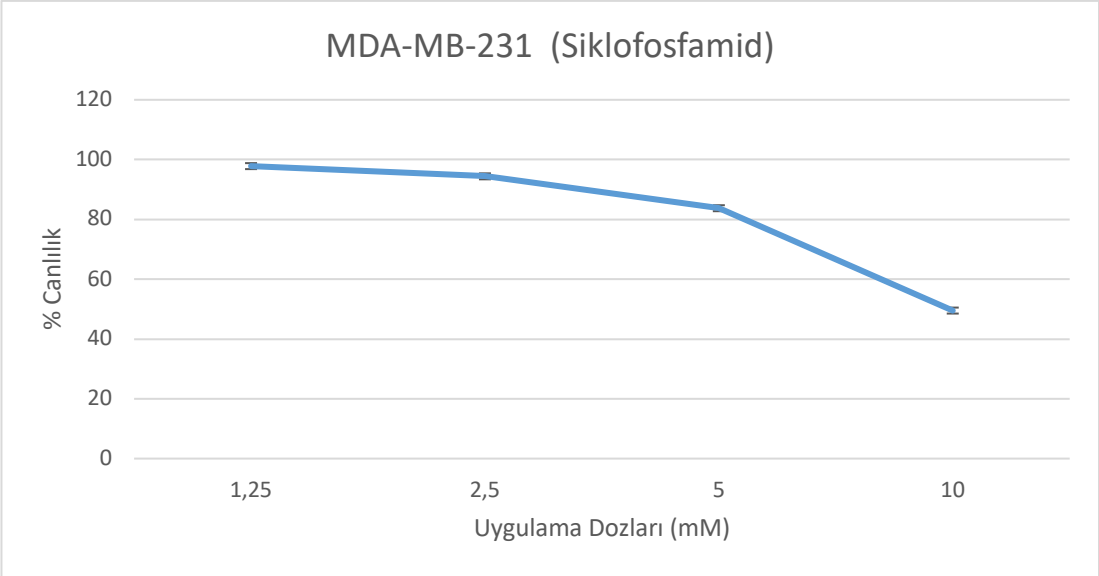

**Şekil 4.8.** Kurkuminin uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

### 4.2.4. Siklofosfamidin (SF) sitotoksik analizleri

MCF-7 hücre hattında siklofosfamid $IC_{50}$ değeri 12,73 mM olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.9'da siklofosfamidin MCF-7 hücre hattında 48 saatlik uygulama sonunda farklı dozlara göre canlılık oranları % olarak gösterilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında siklofosfamidin $IC_{50}$ değeri 10 mM olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.10'da siklofosfamidin MDA-MB-231 hücre hattında 48 saatlik uygulama sonunda farklı dozlara göre canlılık oranları % olarak gösterilmiştir. MDA-MB-231 ve MCF-7 hücreleri siklofosfamid uygulama dozu arttıkça % hücre canlılık oranları doğru orantılı olarak azalmaktadır.




**Şekil 4.9.** Siklofosfamidin uygulama dozlarına göre MCF-7 hücrelerinin canlılık oranları Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

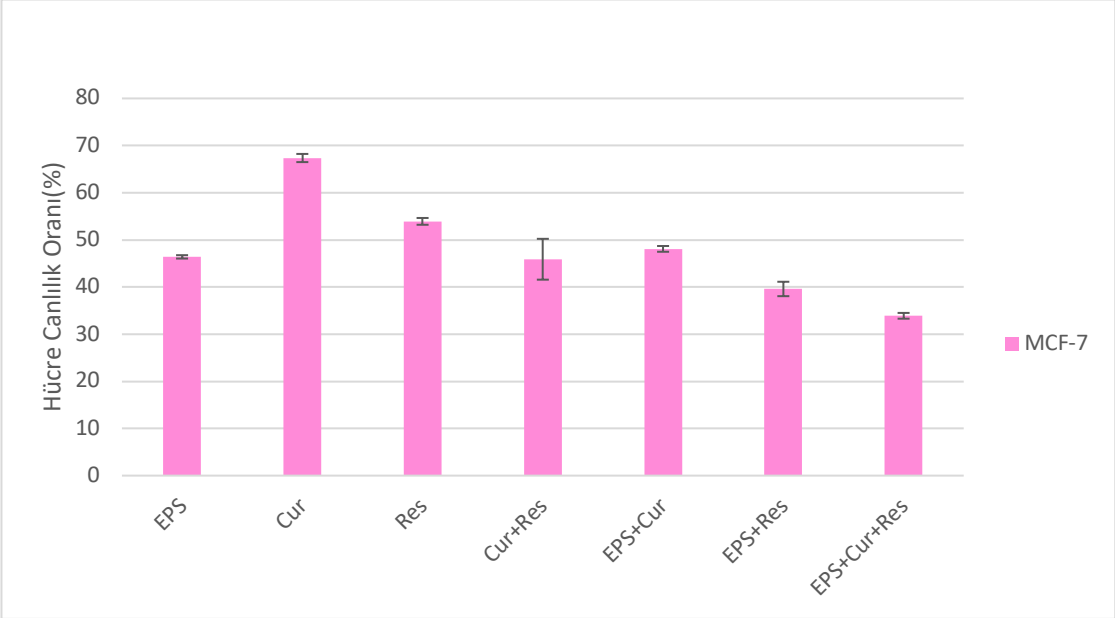



**Şekil 4.10.** Siklofosfamidin uygulama dozlarına göre MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

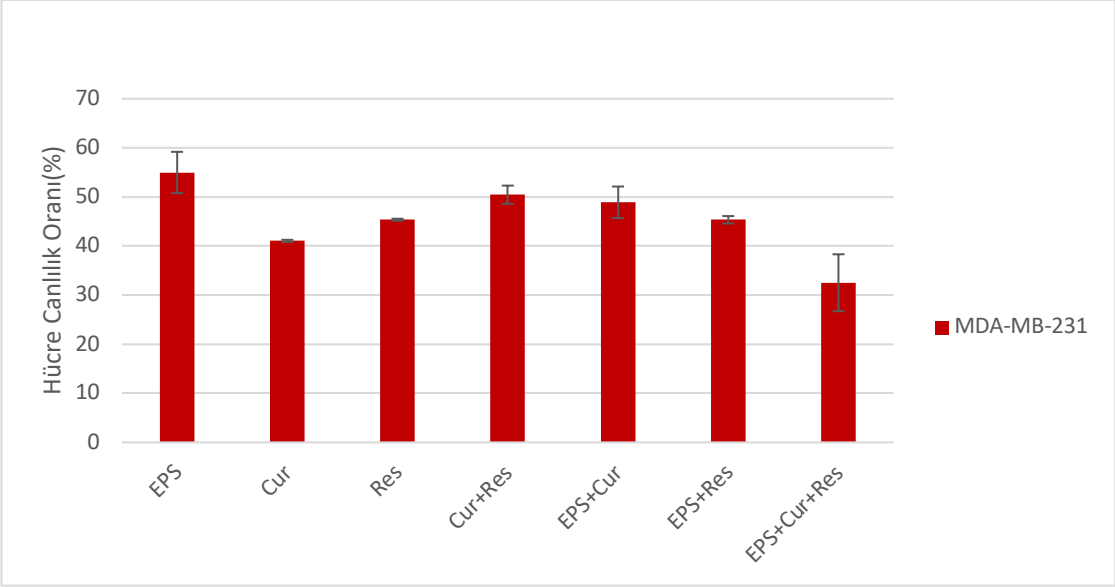
### 4.2.5. EPS-Resveratrol-Kurkumin kombinasyonlarının sitotoksik analizleri

EPS'nin kurkumin ile ikili, resveratrol ile ikili, resveratrol ve kurkumin ile üçlü kombinasyonlarının her iki hücre hattındaki sitotoksik etkilerinin nasıl olacağını gözlemlemek amacıyla yapılan SRB testinde; MCF-7 hücre hattında en düşük canlılık oranı %33,9 ile EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu uygulamasında gözlemlenmiştir. EPS+kurkumin kombinasyonu sonucu canlılık oranı %48; EPS+Resveratrol kombinasyonu sonucu canlılık oranı %39,5 ve Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu sonucu canlılık oranı %45,9 olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.11'da MCF-7 hücre hattında EPS, kurkumin ve resveratrolün belirlenen $IC_{50}$ dozlarının farklı kombinasyonların uygulanması sonundaki canlılık oranları gösterilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında en düşük canlılık oranı %35,6 ile EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu uygulamasında gözlemlenmiştir. EPS+kurkumin kombinasyonu sonucu canlılık oranı %46,5; EPS+Resveratrol kombinasyonu sonucu canlılık oranı %44,3 ve Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu sonucu canlılık oranı %52,7 olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.12'de MDA-MB-231 hücre hattında EPS, kurkumin ve resveratrolün

belirlenen $IC_{50}$ dozlarının farklı kombinasyonların uygulanması sonundaki canlılık oranları gösterilmiştir.

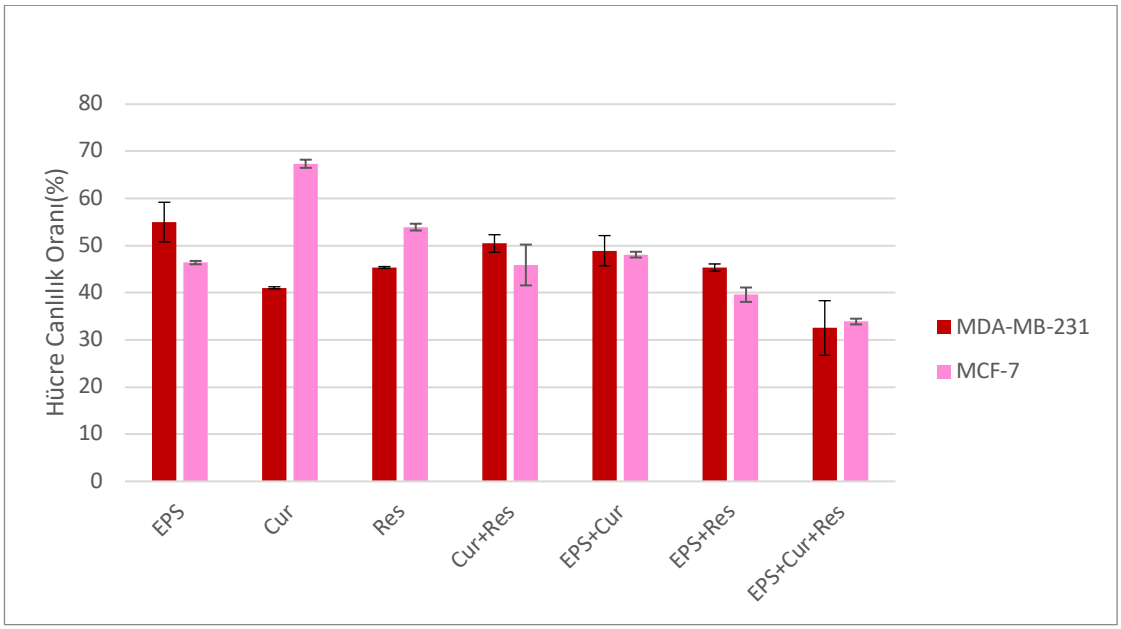



**Şekil 4.11.** EPS-Resveratrol-Kurkumin farklı kombinasyonlarına göre MCF-7 hücre hattındaki canlılık oranları. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.




**Şekil 4.12.** EPS-Resveratrol-Kurkumin farklı kombinasyonlarına göre MDA-MB-231 hücre hattındaki canlılık oranları. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

İki hücre hattında EPS, kurkumin ve resveratrol kombinasyon uygulamaları doğrultusundaki canlılık oranları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.13' de verilmiştir. Bu verilere göre EPS uygulaması sonucunda MDA-MB-231 hücre hattındaki canlılık oranı MCF-7 hücre hattından %12,59 daha yüksek olarak bulunmuştur. Kurkumin uygulaması sonucunda MDA-MB-231 hücrelerine kıyasla MCF-7 hücrelerindeki canlılık oranları %26,31 daha düşük ölçülürken; resveratrol uygulama sonuçlarına göre MDA-MB-231'deki canlılık oranı MCF-7 hücrelerinden %8,55 daha yüksektir. EPS'nin kurkumin ile kombine uygulanması ile MDA-MB-231'ya kıyasla MCF-7 hücre hatlarında ölçülen canlılık oranları %0,82 daha düşüktür. EPS'nin resveratrol ile kombinasyonu sonucu ölçülen canlılık oranları MDA-MB-231 hücrelerine göre MCF-7 hücrelerinde %5,76 daha yüksek kaydedilmiştir. Kurkumin ve resveratrolün ikili kombinasyon etkisiyle MDA-MB-231'ye kıyasla MCF-7 hücrelerinde ölçülen canlılık oranları %4,57 daha düşük ölçülmüştür. EPS kurkumin ve resveratrolün üçlü kombinasyon etkisinin MDA-MB-231'da görülen canlılık oranı MCF-7 hücrelerinde ölçülen canlılık oranından %1,37 daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.




**Şekil 4.13.** EPS, kurkumin ve resveratrolün farklı kombinasyonlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerindeki canlılık oranı karşılaştırması. Her bir veri noktası aynı koşullarda yürütülen üç bağımsız kuyunun ortalaması ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

Bu kombinasyonların hücre hatları üzerindeki sinerjistik/antagonistik etki tanımlamalarını yapabilmek amacı ile uygulanan Chou-Talalay Metodu'na göre hesaplanan kombinasyon indeksleri (CI) Çizelge 4.1.'de sunulmuştur. Belirlenen indeks değerlerine göre tüm kombinasyonlar her iki hücre hattında da CI >1 olarak hesaplanmış ve antagonistik etki olarak tanımlanmıştır.

**Çizelge 4.1.** Chou-Talalay metoduna göre MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında kullanılan kombinasyonların kombinasyon indeks değerleri ve etki tanımlamaları

| Biyoaktif Bileşenler | Hücre Soyu | Kombinasyon İndeksi(CI) | Etki Tanımı |
|---|---|---|---|
| EPS+Kurkumin | MCF-7 | 1,74 | Antagonizm |
| EPS+Resveratrol | MCF-7 | 1,41 | Antagonizm |
| Kurkumin+Resveratrol | MCF-7 | 1,81 | Antagonizm |
| EPS+Kurkumin+Resveratrol | MCF-7 | 1,88 | Antagonizm |
| EPS+Kurkumin | MDA-MB-231 | 1,89 | Antagonizm |
| EPS+Resveratrol | MDA-MB-231 | 1,64 | Antagonizm |
| Kurkumin+Resveratrol | MDA-MB-231 | 2,03 | Antagonizm |
| EPS+Kurkumin+Resveratrol | MDA-MB-231 | 1,86 | Antagonizm |

## 4.3. Alkali Komet Testi Bulguları

### 4.3.1. MCF-7 hücre hattı alkali komet testi bulguları

MCF-7 hücreleri üzerinde EPS, kurkumin, resveratrol ile bunların üçlü kombinasyonu ve pozitif kontrol grubu olarak eklenen EMS'nin alkali komet testi ile yapılan ölçüm sonuçlarının negatif kontrol grubuna göre fark analizleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Şekil 4.14'de MCF-7 hücre hattında EPS, resveratrol, kurkumin, EPS+kurkumin+resveratrol üçlü kombinasyonu, pozitif kontrol olarak EMS ve negatif kontrol gruplarının komet alanı, komet yoğunluğu, komet uzunluğu, kafa yoğunluğu, kafa % DNA, kuyruk % DNA, kuyruk uzunluğu, kuyruk moment uzaklığı ve olive kuyruk momenti ölçümleri gösterilmiştir.

MCF-7 hücre hattında kuyucuklardaki hücrelere eklenen EPS, kurkumin, resveratrol ve bu üç maddenin birlikte eklendiği üçlü kombinasyonun sonuçları, negatif kontrol grubu ile kıyaslandığında tümünün komet alanı (Şekil 4.14, A) ve komet uzunluğu (Şekil 4.14,

B), p<0,001 düzeyinde anlamlı olarak fazla tespit edilmiştir. Komet yoğunluğu (Şekil 4.14, C) ise kurkumin hariç diğer parametrelerde yine p<0,001düzeyinde anlamlı olarak fazla tespit edilmiştir.

Kafa yoğunluğu (Şekil 4.14, D) sadece resveratrol eklenen grupta ve EMS eklenerek oluşturulan pozitif kontrol grubunda p<0,001 düzeyinde anlamlı olarak fazla tespit edilmiştir. Kafa % DNA (Şekil 4.14, E) EPS, EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyonlarında ve pozitif kontrolde, negatif kontrole göre p<0,001 düzeyinde anlamlı olarak düşük iken; paralel şekilde kuyruk % DNA (Şekil 4.14, F) aynı ölçüde düşüktür.

Kuyruk uzunluğu (Şekil 4.14, G) da EPS, EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu ve pozitif kontrolde istatistiksel olarak p<0,001 düzeyinde anlamlı ölçüde fazla tespit edilmiştir. Kuyruk moment uzaklığı (Şekil 4.14, H) tüm uygulamalarda negatif kontrole göre p<0,001 düzeyinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Olive kuyruk momenti (Şekil 4.14, I) ise sadece EPS, EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu ve pozitif kontrol grubunda p<0,001 düzeyinde anlamlı olarak negatif kontrol grubuna kıyasla yüksek tespit edilmiştir.

Kurkumin ve resveratrolün tek başına uygulamalarında negatif kontrol grubuna göre kuyruk moment uzaklığı istatistiksel olarak p<0,001 düzeyinde anlamlı bulunmasına karşın kafa DNA oranı, kuyruk DNA oranı ve olive kuyruk momenti parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

**Çizelge 4.2.** MCF-7 hücrelerinde komet testi ortalama ve standart hata değerleri ile negatif kontrol grubu ve EPS grubuna göre fark analizleri Veriler ortalama değer ± standart hata (SE) olarak sunulmuştur.

| | Komet Alanı | Komet Uzunluğu | Komet Yoğunluğu | Kafa Yoğunluğu | Kafa % DNA | Kuyruk % DNA | Kuyruk Uzunluğu | Kuyruk Moment Uzaklığı | Olive Kuyruk Momenti |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Negatif Kontrol[a]** | 367.11±13.99 b*** | 27,5±0,54 b*** | 11686,1±621,24 b*** | 10997,44±599,84 | 93,75±0,42 b*** | 6,25±0,42 b*** | 4,51±0,18 b*** | 12,2±0,24 b*** | 0,75±0,04 b*** |
| **EPS[b]** | 1334.48±88.96 a*** | 55,98±1,71 a*** | 22725,43±1086,41 a*** | 9187,59±758,99 | 42,74±3,39 a*** | 57,26±3,39 a*** | 30,69±2,02 a*** | 23,92±0,78 a*** | 14,65±1,22 a*** |
| **Kurkumin** | 548.29±27.81 a*** b*** | 32,78±0,85 a*** b*** | 14027,7±689,54 b*** | 13251,56±609,43 b*** | 94,45±0,83 b*** | 5,55±0,83 b*** | 5,75±0,4 b*** | 14,93±0,38 a*** b*** | 0,85±0,15 b*** |
| **Resveratrol** | 640.49±35.50 a*** b*** | 36,27±1,36 a*** b*** | 18501,02±534,57 a*** b* | 16851,76±649,02 a*** b*** | 90,62±2,36 b*** | 9,38±2,36 b*** | 7,64±1,12 b*** | 16,19±0,51 a*** b*** | 2,12±0,62 b*** |
| **EPS+Kur+Resv** | 1003.76±76.32 a*** | 50,03±2,07 a*** | 16330,5±696,86 a*** b*** | 9502,66±642,21 | 60,71±3,69 a*** b** | 39,29±3,69 a*** b** | 23±2,08 a*** | 21,57±0,88 a*** | 9,79±1,25 a*** |
| **Pozitif Kontrol** | 1316.49±48.78 a*** | 55,62±0,84 a*** | 23434,01±1346,58 a*** | 5923,03±545,42 a*** b** | 24,74±1,49 a*** b*** | 75,26±1,49 a*** b*** | 34,53±0,63 a*** | 24,81±0,31 a*** | 18,65±0,42 a*** b* |

*p<0,05, **p<0,01, *** p<0,001

[a] : Tüm grupların negatif kontrol grubuna göre istatistiksel kıyaslaması

[b] : Tüm grupların EPS grubuna göre istatistiksel

Tüm gruplar bu kez EPS grubuna göre kıyaslandığında ise; komet alanı ve komet uzunluğu parametrelerinde EPS etkisinin kurkumin, resveratrol ve negatif kontrol gruplarından $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak fazla olduğu tespit edilmiştir. Komet yoğunluğu EPS grubunda kurkumin, negatif kontrol ve EPS+kurkumin+resveratrol gruplarına göre istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak, resveratrol grubuna göre de $p<0,05$ düzeyinde anlamlı olarak daha fazla tespit edilmiştir.

Kafa yoğunluğu sadece resveratrol eklenen grupta ve EMS eklenerek oluşturulan pozitif kontrol grubunda $p<0,001$düzeyinde anlamlı olarak fazla tespit edilmiştir. Kafa % DNA kurkumin, resveratrol, negatif kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak daha az; pozitif kontrol grubuna göre ise istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde daha yüksektir. EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyon grubuna göre ise EPSnin etkisi kafa % DNA açısından istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde anlamlı şekilde düşüktür. Kuyruk % DNA açısından da EPS grubunun diğer gruplarla fark analizleri; kafa % DNA değerleri ile aynı oranlarda olmak üzere daha yüksektir.

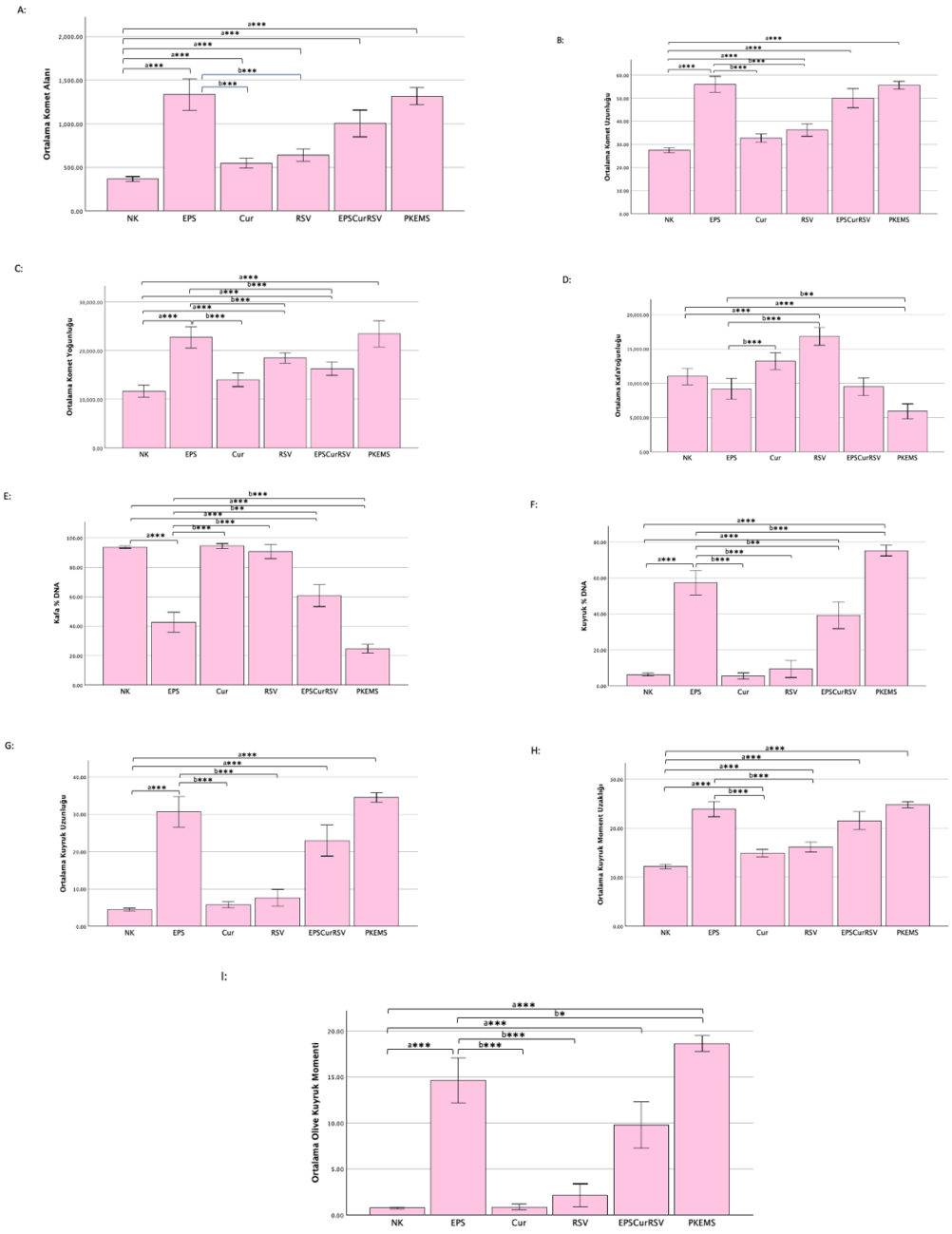
Kuyruk uzunluğu ve kuyruk moment uzaklığı kurkumin ve resveratrol ile negatif kontrol gruplarına göre EPS grubunda istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak yüksektir. Olive kuyruk momenti kurkumin, resveratrol, EPS+Kurkumin+Resveratrol kombinasyonu ve negatif kontrol gruplarına göre $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak EPS grubundan daha düşük; pozitif kontrol grubu ise $p<0,01$ düzeyinde EPS grubundan yüksektir. Çizelge 4.2.'de MCF-7 hücreleri üzerinde, kurkumin, resveratrol ile bunların üçlü kombinasyonu ve pozitif kontrol grubu olarak eklenen EMS'nin ve negatif kontrol gruplarının alkali komet testi ile yapılan ölçüm sonuçlarının EPS grubuna göre fark analizleri verilmiştir.

Ortalama komet alanı ve komet uzunluğu değerlendirmelerinde pozitif kontrol grubuna en yakın değer EPS grubunda görülmektedir. Aradaki istatistiksel fark anlamlı değildir. EPS'nin tek başına etkisine göre EPS+resveratrol+kurkuminin verdiği DNA hasarı daha düşük olsa da, DNA hasarı sıralamasında üçüncü sırada yer almıştır.

Kafa yoğunluğu pozitif kontrol grubuna en yakın şekilde EPS grubunda gözlemlenmiştir ve aradaki fark istatistiksel olarak $p<0,05$ düzeyinde anlamlıdır. Kafa % DNA pozitif kontrol grubunda %24,7, bu değere en yakın şekilde de EPS grubunda %42,7 olarak tespit edilmiştir ve aradaki fark istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Kafa % DNA EPS+kurkumin+resveratrol grubunda ise %60,7 olarak belirlenmiştir. Kuyruk % DNA ise pozitif kontrol grubunda %75,3, EPS grubunda ise %57,3 olarak tespit edilmiş ve fark istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Üçlü kombinasyon grubunda kuyruk % DNA %39,2 olarak tespit edilmiştir. Kurkumin, resveratrol ve negatif kontrol grubunun kuyruk % DNA'sı ise sırasıyla %5,5, %9,3 ve %6,2 olarak tespit edilmiştir.

Kuyruk uzunluğu ve kuyruk moment uzaklığı pozitif kontrol grubuna en yakın düzeyde EPS grubunda tespit edilmiş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Üçlü kombinasyonun her iki parametre değerlendirmesinde EPS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Kurkumin ve resveratrol gruplarında ise EPS ye göre kuyruk uzunluğu ve kuyruk moment uzaklığı çok daha düşük olup aradaki fark $p<0,001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Olive kuyruk momenti parametresi değerlendirildiğinde pozitif kontrol grubuna en yakın değerler yine EPS grubunda gözlemlenmiş olup aradaki fark $p<0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Kurkumin ve resveratrolün olive kuyruk momenti ölçümleri EPS grubuna kıyasla $p<0,001$ düzeyinde anlamlı şekilde düşük iken; EPS+Kurkumin+Resveratrol grubunda ise EPS grubuna kıyasla anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.




**Şekil 4.14.** MCF-7 hücre hattı deney gruplarında çeşitli komet testi parametreleri ölçümleri A: Komet Alanı, B: Komet Uzunluğu, C: Komet Yoğunluğu, D: Kafa Yoğunluğu, E: Kafa % DNA, F: Kuyruk % DNA, G: Kuyruk Uzunluğu, H: Kuyruk Moment Uzaklığı, I: Olive Kuyruk Momenti

### 4.3.2.MDA-MB-231 hücre hattı alkali komet testi bulguları

MDA-MB-231 hücreleri üzerinde EPS, kurkumin, resveratrol ile bunların üçlü kombinasyonu ve pozitif kontrol grubunun negatif kontrol grubuna göre ve kurkumin, resveratrol ve bunların EPS ile üçlü kombinasyonu, pozitif kontrol grubu ve negatif kontrol gruplarının EPS grubuna göre fark analizleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Şekil 4.15'de MDA-MB-231 hücre hattında EPS, resveratrol, kurkumin, EPS+kurkumin+resveratrol üçlü kombinasyonu, pozitif kontrol olarak EMS ve negatif kontrol gruplarının komet alanı, komet yoğunluğu, komet uzunluğu, kafa yoğunluğu, kafa % DNA, kuyruk % DNA, kuyruk uzunluğu, kuyruk moment uzaklığı ve olive kuyruk momenti ölçümleri gösterilmiştir.

Komet alanı (Şekil 4.15, A) ve komet uzunluğu (Şekil 4.15, B) değerleri negatif kontrol grubuna göre tüm deney grupları istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı ölçüde farklı bulunmuştur.

Kafa yoğunluğu (Şekil 4.15, D) ise negatif kontrol grubuna kıyasla EPS grubunda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı bulunmamıştır.

Kafa % DNA (Şekil 4.15, E) negatif kontrol grubuna kıyasla EPS ve pozitif kontrol gruplarında $p<0,001$ düzeyinde anlamlı ölçüde düşük bulunurken, resveratrol grubunda $p<0,01$ düzeyinde anlamlılık ölçüsünde düşüş gözlemlenmiştir. Üçlü kombinasyon grubunda anlamlı düzeyde bir fark görülmezken, kurkumin grubunda negatif kontrole kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı ölçüde artış kaydedilmiştir.

Kuyruk % DNA (Şekil 4.15, F) negatif kontrol grubuna kıyasla EPS, pozitif kontrol ve resveratrol gruplarında $p<0,001$düzeyinde daha fazla tespit edilmiş, kurkumin grubunda yine aynı düzeyde fark ile daha az tespit edilmiş olup kombinasyon grubunda ise fark gözlemlenmemiştir.

Kuyruk uzunluğu (Şekil 4.15, G) kurkumin hariç tüm gruplarda negatif kontrol grubuna kıyasla $p<0,001$ düzeyinde anlamlı şekilde farklı bulunmuştur. Kuyruk moment uzaklığı (Şekil 4.15, H) parametresinde tüm gruplarda negatif kontrole kıyasla $p<0,001$ düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur. Olive kuyruk momenti (Şekil 4.15, I) ise sadece pozitif kontrol

ve EPS gruplarında $p<0,001$ düzeyinde fark ölçülürken, resveratrol grubunda bu fark $p<0,01$ olarak kaydedilmiştir.

**Çizelge 4.3.** MDA-MB-231 hücrelerinde komet testi ortalama ve standart hata değerleri ile negatif kontrol grubu ve EPS grubuna göre fark analizleri. Veriler ortalama değer ± standart hata (SE) olarak sunulmuştur.

| | Komet Alanı | Komet Uzunluğu | Komet Yoğunluğu | Kafa Yoğunluğu | Kafa % DNA | Kuyruk % DNA | Kuyruk Uzunluğu | Kuyruk Moment Uzaklığı | Olive Kuyruk Momenti |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Negatif Kontrol[a]** | 328,33±9,49 $^{b***}$ | 24,95±0,37 $^{b***}$ | 9813±487,55 | 9527,62±483,2 | 96,79±0,16 $^{b***}$ | 3,21±0,16 $^{b***}$ | 3,06±0,10 $^{b***}$ | 11,28±0,16 $^{b***}$ | 0,35±0,01 $^{b***}$ |
| **EPS[b]** | 599,79±44,35 $^{a***}$ | 40,48±1,22 $^{a***}$ | 12501,61±1091,96 | 8094,95±809,61 | 62,97±2,24 $^{a***}$ | 37,03±2,24 $^{a***}$ | 18,25±0,90 $^{a***}$ | 17,54±0,56 $^{a***}$ | 6,57±0,48 $^{a***}$ |
| **Kurkumin** | 468,52±15,45 $^{a***}$ | 29,22±0,41 $^{a***\ b***}$ | 13833,89±541,8 $^{a***}$ | 13531,08±541,63 $^{a***\ b***}$ | 97,65±0,17 $^{a**\ b***}$ | 2,35±0,17 $^{a**}$ $^{b***}$ | 3,10±0,10 $^{b***}$ | 13,30±0,20 $^{a***\ b***}$ | 0,30±0,02 $^{b***}$ |
| **Resveratrol** | 641,85±45,14 $^{a***}$ | 38,41±2 $^{a***}$ | 17095,37±644,29 $^{a***\ b***}$ | 14978,56±720,5 $^{a***\ b***}$ | 86,86±2,35 $^{a**\ b***}$ | 13,14±2,35 $^{a**\ b***}$ | 11,92±1,87 $^{a***\ b*}$ | 17,48±0,87 $^{a***}$ | 3,19±0,74 $^{a**}$ $^{b**}$ |
| **EPS+Kur+Resv** | 440,9±14,95 $^{a***\ b*}$ | 29,23±0,72 $^{a***\ b***}$ | 12767,83±438,61 $^{a*}$ | 12194,43±410,63 $^{a***\ b***}$ | 95,63±0,46 $^{b***}$ | 4,37±0,46 $^{b***}$ | 4,76±0,52 $^{a*\ b***}$ | 13,51±0,34 $^{a***\ b***}$ | 0,65±0,10 $^{b***}$ |
| **Pozitif Kontrol** | 1433,63±36,07 $^{a***\ b***}$ | 64,35±0,56 $^{a***\ b***}$ | 20138,58±814,33 $^{a***\ b***}$ | 3917,01±261,14 $^{a***\ b***}$ | 19,68±1,14 $^{a***\ b***}$ | 80,32±1,14 $^{a***\ b***}$ | 44,68±0,86 $^{a***\ b***}$ | 29,26±0,31 $^{a***\ b***}$ | 23,57±0,48 $^{a***\ b***}$ |

$^{*}p<0,05$, $^{**}p<0,01$, $^{***}p<0,001$

[a] : Tüm grupların negatif kontrol grubuna göre istatistiksel kıyaslaması

[b] : Tüm grupların EPS grubuna göre istatistiksel kıyaslaması

EPS grubuna göre üçlü kombinasyon grubunda komet alanı ve komet uzunluğu istatistiksel olarak sırası ile $p<0,05$ ve $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Kafa % DNA EPS grubuna kıyasla tüm gruplarda $p<0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı bulunmuştur. Pozitif kontrol grubundan daha yüksek, diğer gruplardan ise daha düşük düzeyde kaydedilmiştir. Kuyruk % DNA da benzer şekilde tüm gruplarda $p<0,001$ düzeyinde farklı olup pozitif kontrol grubundan daha düşük, diğer gruplardan daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir.

Kuyruk uzunluğu EPS grubuna göre resveratrol grubunda $p<0,05$ düzeyinde, diğer tüm gruplarda $p<0,001$ düzeyinde anlamlı ölçüde farklı bulunmuştur. Kuyruk moment uzaklığı da EPS grubuna kıyasla resveratrol grubu hariç diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı ölçüde farklı tespit edilmiştir. Olive kuyruk momenti de EPS grubuna göre resveratrol grubunda $p<0,01$ düzeyinde, diğer tüm gruplarda $p<0,001$ düzeyinde anlamlı ölçüde farklı kaydedilmiştir.

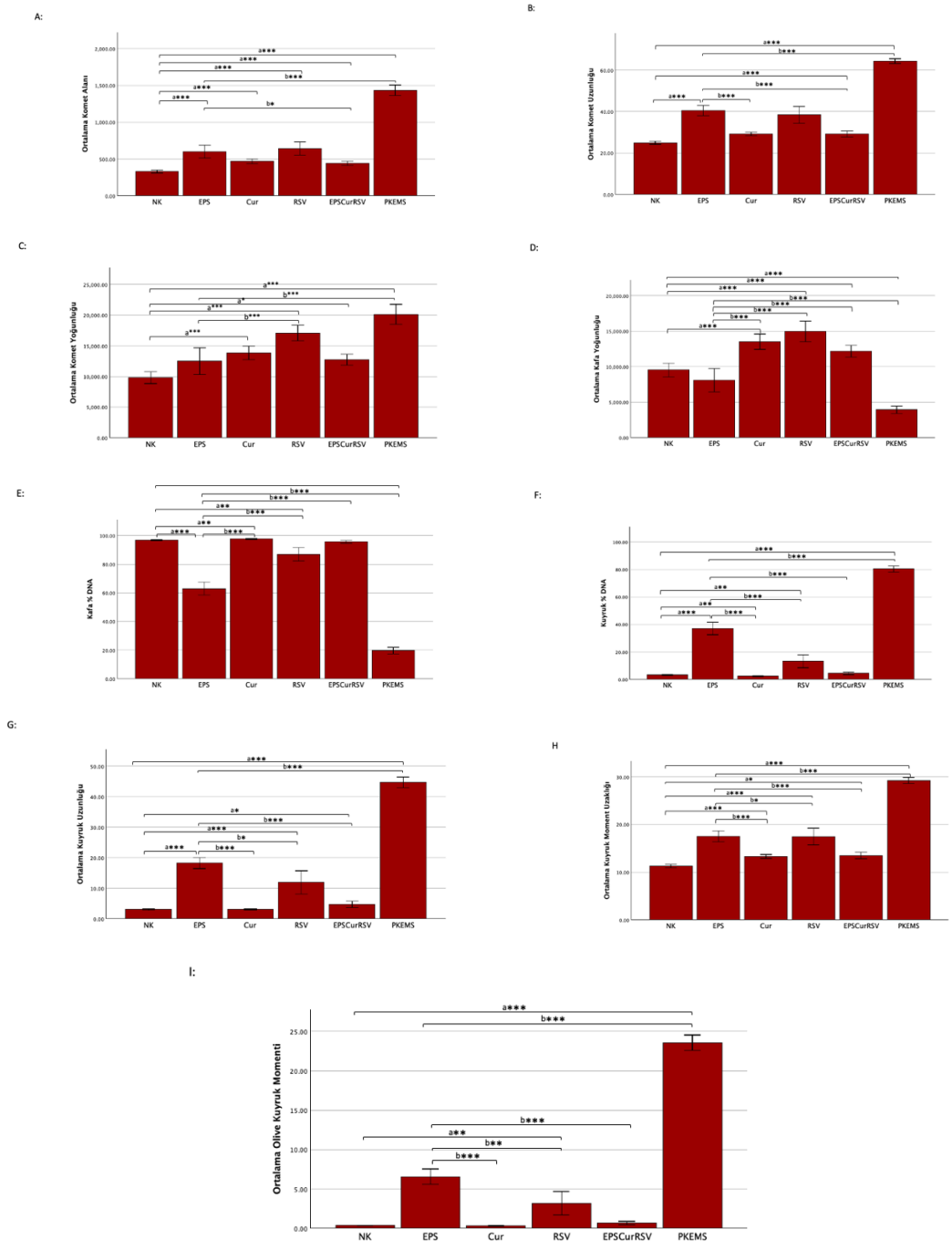
EPS grubunda komet alanı ve komet uzunluğu negatif kontrol grubuna göre $p<0,001$ anlamlılık düzeyinde yüksek olsa da pozitif kontrol grubuna göre de $p<0,001$ düzeyinde anlamlı ölçüde düşük kaydedilmiştir.

Kafa % DNA pozitif kontrol grubunda %19,2, EPS grubunda ise %62,9 olarak tespit edilmiştir ve bu fark istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlıdır. EPS+kurkumin+resveratrol üçlü kombinasyon grubu, resveratrol ve kurkumin grupları ile negatif kontrol grubunun kafa % DNA değerleri ise sırasıyla %95,6, %86,8, %97,6 ve %96,7 olarak bulunmuştur. Kuyruk % DNA pozitif kontrol grubunda %80,8, EPS grubunda ise %37,1 olarak bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak $p<0,001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. EPS+kurkumin+resveratrol üçlü kombinasyon grubu, resveratrol ve kurkumin grupları ile negatif kontrol grubunun kuyruk % DNA oranları ise sırasıyla %4,4, %13,2, %2,4 ve %3,3 olarak kaydedilmiştir.

Kuyruk uzunluğu pozitif kontrol grubuna göre EPS grubunda $p<0,001$ düzeyinde anlamlı fark tespit edilmiştir. Negatif kontrol grubuna kıyasla EPS grubunda kuyruk uzunluğu

$p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak kaydedilirken, resveratrol ile kurkumin ve üçlü kombinasyon gruplarında negatif kontrol grubuna göre anlamlı bir fark kaydedilmemiştir.

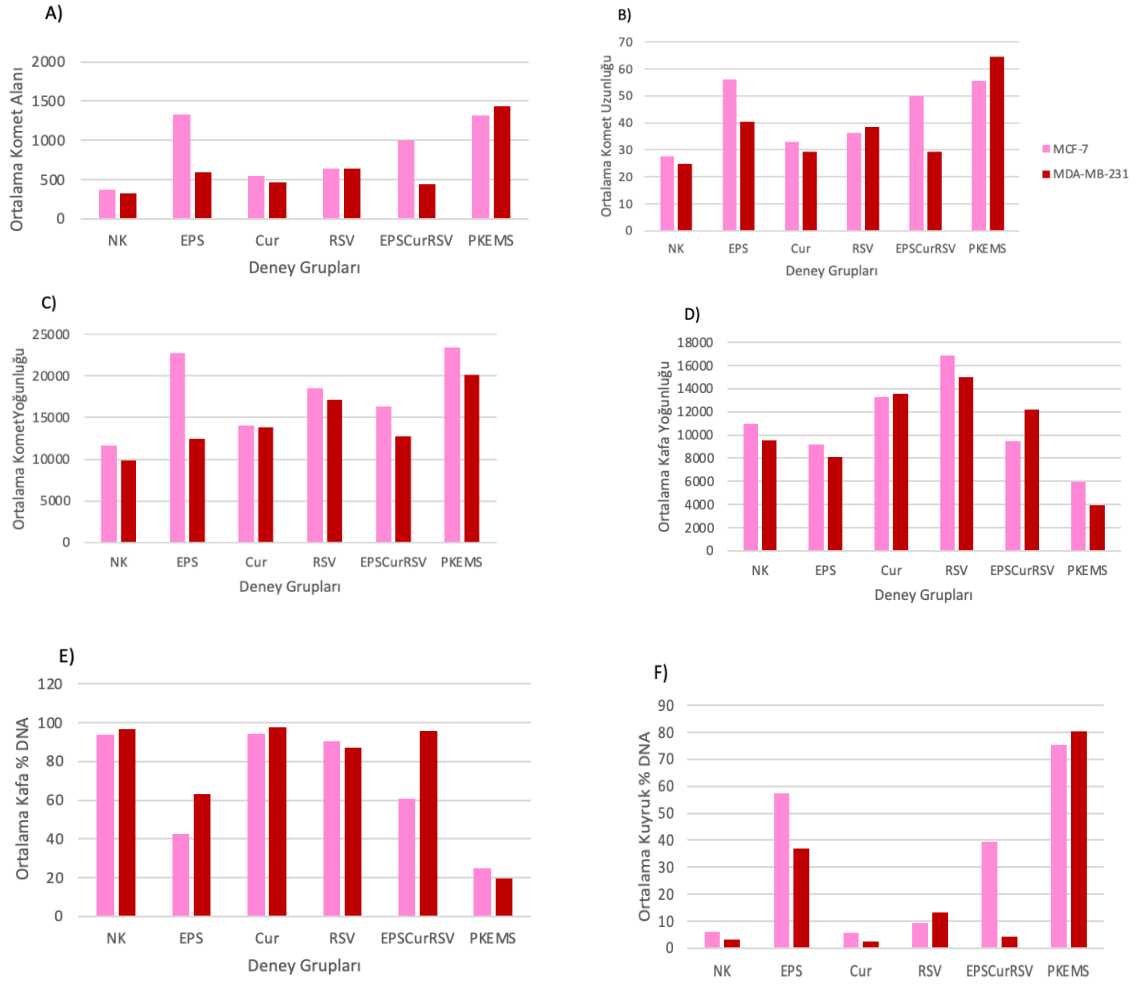
Kuyruk moment uzaklığı ve olive kuyruk momenti değerleri pozitif kontrolden sonra en yüksek düzeyde resveratrol ile EPS gruplarında görülmüştür fakat her iki grupta her iki parametre de pozitif kontrol grubuna göre $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak düşük, negatif kontrol grubuna göre ise $p<0,001$ düzeyinde anlamlı olarak yüksek kaydedilmiştir.



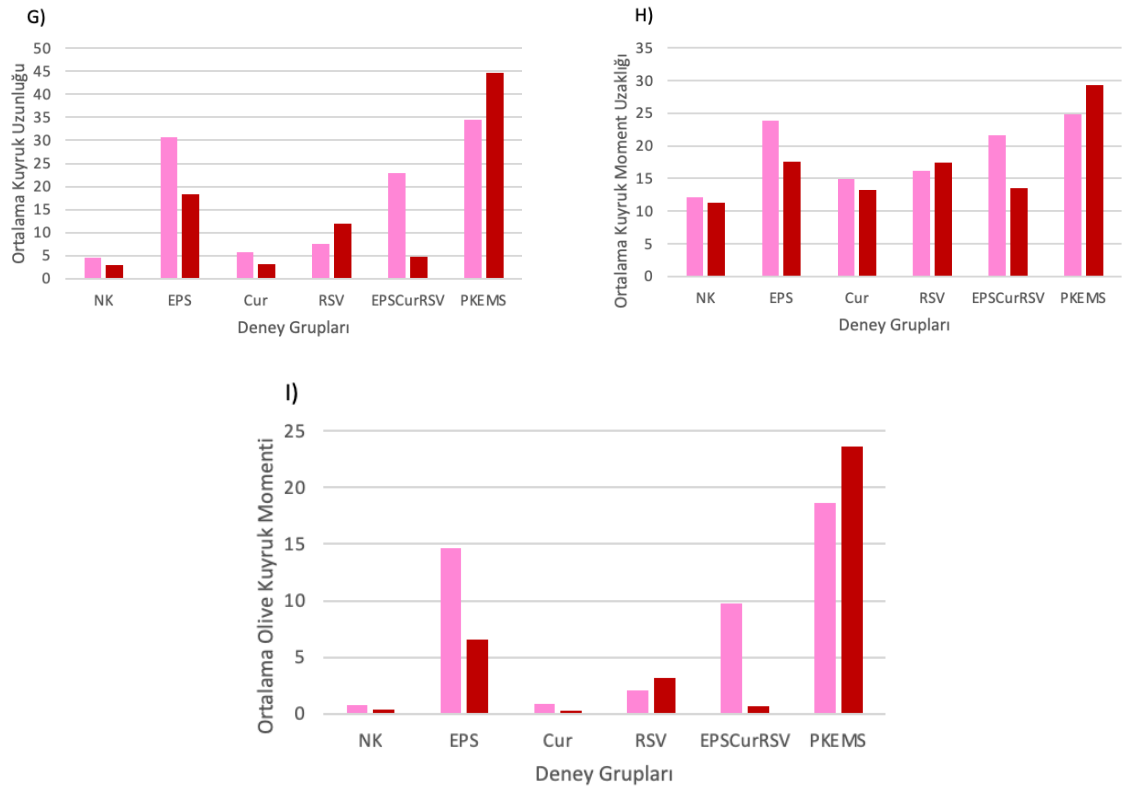

**Şekil 4.15.** MDA-MB-231 hücre hattı deney gruplarında çeşitli komet testi parametreleri ölçümleri A: Komet Alanı, B: Komet Uzunluğu, C: Komet Yoğunluğu, D: Kafa Yoğunluğu, E: Kafa % DNA, F: Kuyruk % DNA, G: Kuyruk Uzunluğu, H: Kuyruk Moment Uzaklığı, I: Olive Kuyruk Momenti

### 4.3.3. İki hücre hattında komet analiz parametrelerinin karşılaştırılması

İki hücre hattının komet parametreleri açısından karşılaştırmaları Şekil 4.16'da gösterilmektedir. Bu grafiklere göre EPS'nin tek başına MDA-MB-231 hücrelerine kıyasla MCF-7 hücrelerindeki tüm parametre ölçümleri, DNA hasarı bakımından daha yüksek seviyelerde ölçülmüştür. Kurkuminin her iki hücre hattında gösterdiği DNA hasarı etkisi ölçülen parametrelerde yakın düzeylerde iken; resveratrol grubunda kuyruk uzunluğu, kuyruk % DNA, kuyruk uzaklık momenti ve olive kuyruk momenti parametreleri MCF-7 hücrelerine kıyasla MDA-MB-231 hücrelerinde az farkla daha yüksek ölçülmüştür.




**Şekil 4.16.** MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları komet veri karşılaştırmaları A) Komet Alanı, B) Komet uzunluğu, C) Komet yoğunluğu, D) Kafa Yoğunluğu, E) Kafa % DNA F) Kuyruk % DNA, G) Kuyruk uzunluğui H) Kuyruk moment uzaklığı, I) Olive kuyruk momenti




**Şekil 4.17.** MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları komet veri karşılaştırmaları (devamı) A) Komet Alanı, B) Komet uzunluğu, C) Komet yoğunluğu, D) Kafa Yoğunluğu, E) Kafa % DNA F) Kuyruk % DNA, G) Kuyruk uzunluğui H) Kuyruk moment uzaklığı, I) Olive kuyruk momenti

Komet analizleri ile incelenen genetik hasar indeksi hasar tipi konusunda, hasarlı hücre oranları ise hasar tipi farketmeksizin toplam hasar almış hücre sayısı konusunda fikir vermektedir. Her iki hücre hattına ait genetik hasar indeksi ve hasarlı hücre oranları Çizelge 4.4'de sunulmuştur. Hem genetik hasar indeksi hem de hasarlı hücre oranı MDA-MB-231 hücre hattında EPS grubunda, resveratrol grubunda, EPS kurkumin resveratrol birlikte uygulanan grupta ve pozitif kontrol grubunda negatif kontrol grubuna göre $p<0,001$ anlamlılık düzeyinde yüksek bulunmuştur. EPS grubunun tek başına etkisine kıyasla ise yalnız kurkumin uygulanan grupta, yalnız resveratrol uygulanan grup ile EPS, kurkumin ve resveratrolün üçlü uygulandığı kombinasyon grubunda $p<0,001$ anlamlılık düzeyinde yüksek bulunmuş; aynı anlamlılık düzeyinde ($p<0,001$) pozitif kontrol grubundan düşük bulunmuştur.

MCF-7 hücre hattında genetik hasar indeksi negatif kontrol grubuna kıyasla EPS grubunda, resveratrol grubunda, EPS kurkumin resveratrol birlikte uygulanan grupta ve pozitif kontrol grubunda $p<0,001$ anlamlılık düzeyinde yüksek bulunmuştur. Hasarlı hücre oranlarında ise negatif kontrole kıyasla EPS grubunda ve üçlü kombinasyon grubunda $p<0,01$ düzeyinde anlamlı ölçüde yüksek değer kaydedilirken; kurkumin ve resveratrolün tek başına uygulandığı gruplarda EPS grubuna kıyasla $p<0,01$ düzeyinde daha düşük ölçümler gözlemlenmiştir.

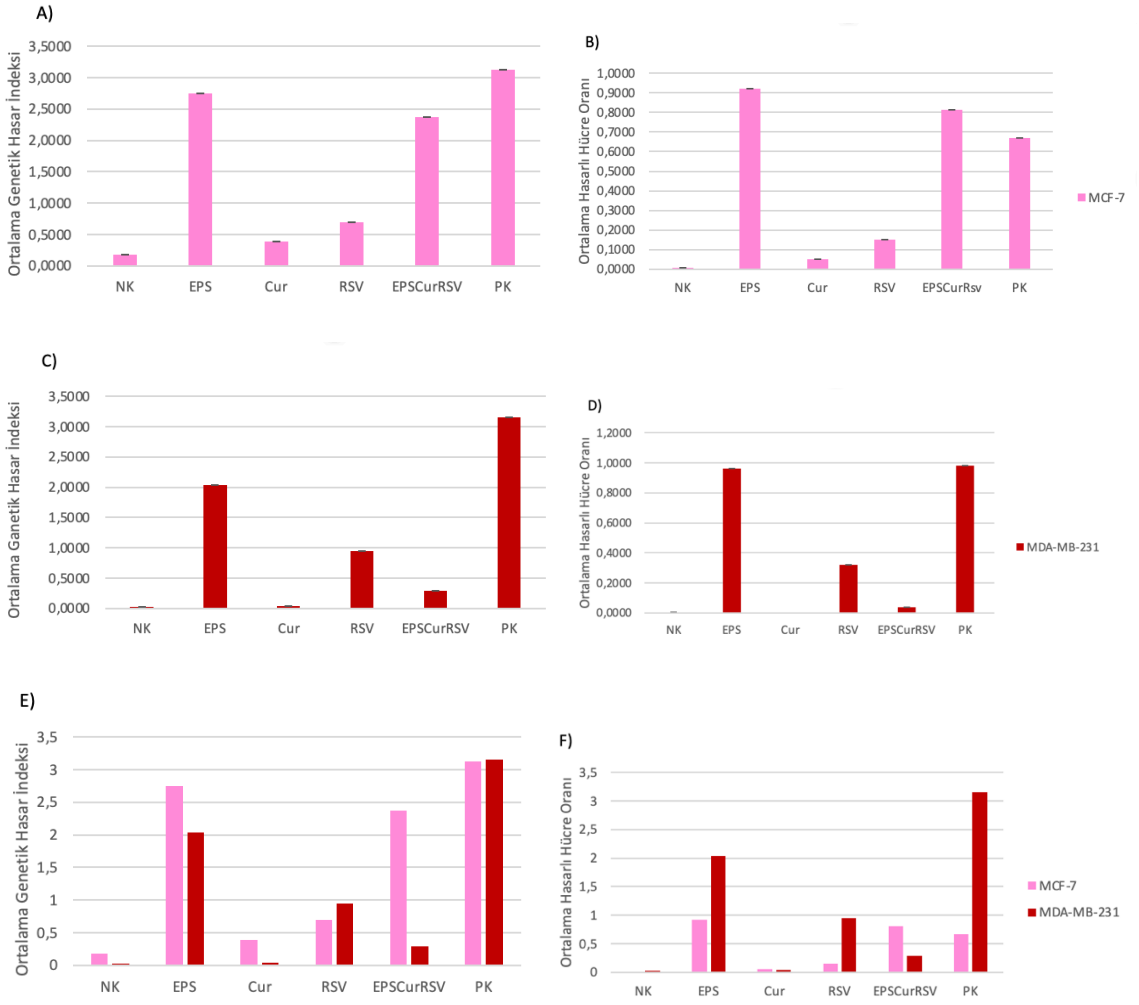
**Çizelge 4.4.** MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarının Genetik Hasar İndeksi ve Hasarlı Hücre Yüzdesi Değerleri. Veriler ortalama değer ± standart hata (SE) olarak sunulmuştur.

| Deney Grupları | MDA-MB-231 | | MCF-7 | |
|---|---|---|---|---|
| | Genetik Hasar İndeksi | Hasarlı Hücre Yüzdesi | Genetik Hasar İndeksi | Hasarlı Hücre Yüzdesi |
| **Negatif Kontrol[a]** | 0,03±0,002 $b^{***}$ | 0,006±0,003 $b^{***}$ | 0,19±0,003 $b^{***}$ | 0,006±0,003 $b^{**}$ |
| **EPS[b]** | 2,04±0,003 $a^{***}$ | 0,96±0,000 $a^{***}$ | 2,75±0,03 $a^{***}$ | 0,92±0,00 $a^{**}$ |
| **Kurkumin** | 0,04±0,000 $b^{***}$ | 0,00±0,000 $b^{***}$ | 0,39±0,002 $a^{***}b^{***}$ | 0,05±0,00 $b^{**}$ |
| **Resveratrol** | 0,94±0,003 $a^{***}b^{***}$ | 0,32±0,002 $a^{***}b^{***}$ | 0,69±0,003 $a^{***}b^{***}$ | 0,15±0,003 $b^{**}$ |
| **EPS+Kurkumin +Resveratrol** | 0,29±0,001 $a^{***}b^{***}$ | 0,04±0,00 $a^{***}b^{***}$ | 2,36±0,04 $a^{***}b^{***}$ | 0,81±0,002 $a^{**}$ |
| **Pozitif Kontrol** | 3,15±0,005 $a^{***}b^{***}$ | 0,98±0,004 $a^{***}b^{***}$ | 3,13±0,04 $a^{***}b^{***}$ | 0,67±0,29 $a^{*}$ |

$^{*}p<0,05$, $^{**}p<0,01$, $^{***}p<0,001$
[a] : Tüm grupların negatif kontrol grubuna göre istatistiksel kıyaslaması
[b] : Tüm grupların EPS grubuna göre istatistiksel kıyaslaması

MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında ölçülen genetik hasar indeksi, hasarlı hücre oranları ve iki hücre hattında genetik hasar indeksi ve hasarlı hücre oranları kıyaslamaları grafik şeklinde Şekil 4.17'de sunulmuştur. İki hücre hattı karşılaştırıldığında genetik hasar indeksi EPS ve resveratrol grubunda MDA-MB-231 hücrelerine kıyasla MCF-7 hücrelerinde daha düşük kaydedilirken; kurkumin uygulanan grup ve üçlü kombinasyonun uygulandığı gruplarda genetik hasar indeksi MCF-7 hücrelerine göre MDA-MB-231 hücrelerinde daha düşük bulunmuştur. Hasarlı hücre oranları ise

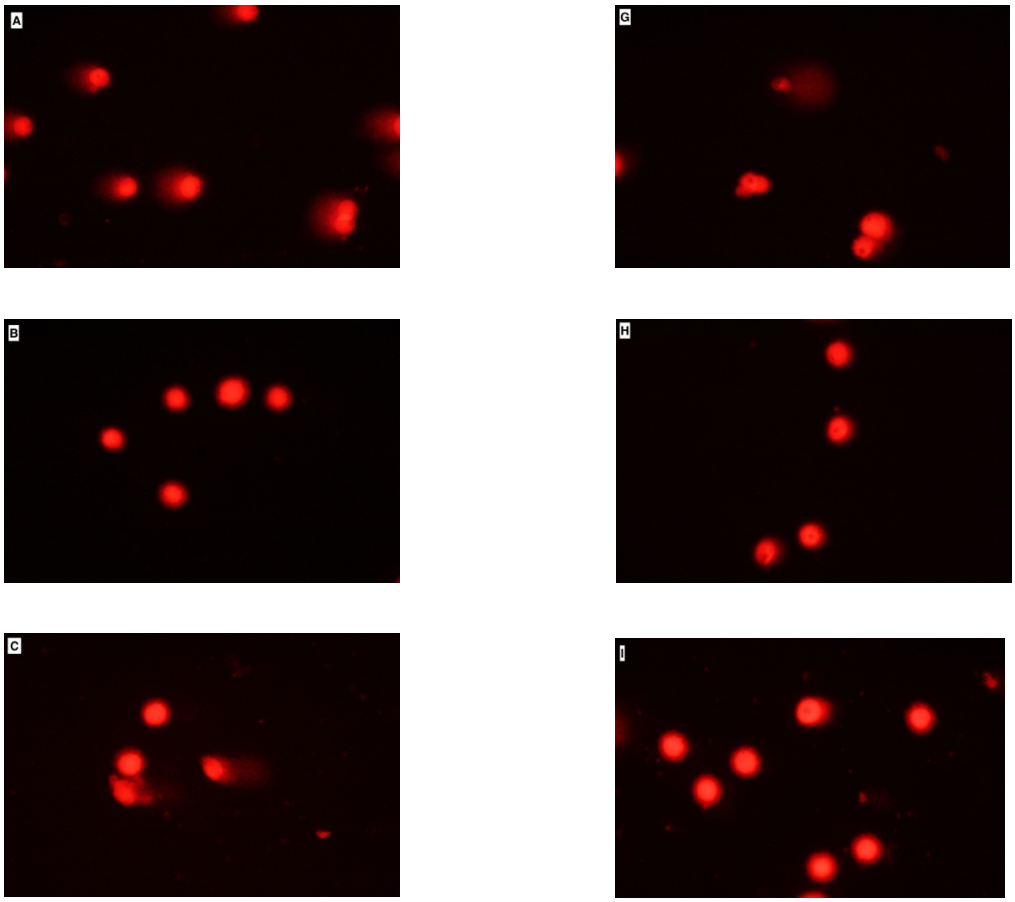
resveratrol grubunda MCF-7 hücrelerine kıyasla MDA-MB-231 hücrelerinde daha yüksek; kurkumin grubunda ise daha düşük ölçülmüştür.



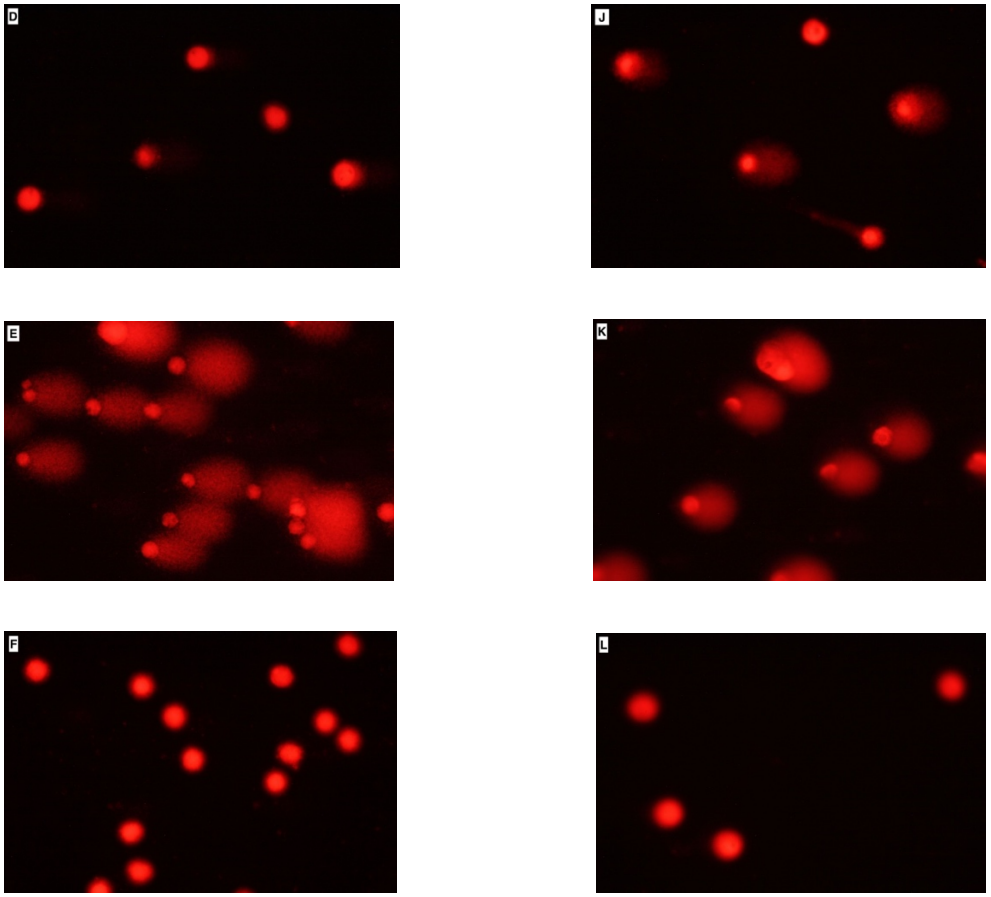

**Şekil 4.17.** MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında genetik hasar indeksi ve hasarlı hücre oranları ile iki hücre hattının karşılaştırılması A) MCF-7 hücre hattı deney gruplarında genetik hasar indeksi, B) MCF-7 hücre hattı deney gruplarında hasarlı hücre oranları, C) MDA-MB-231 hücre hattı deney gruplarında genetik hasar indeksi, D) MDA-MB-231 hücre hattı deney gruplarında hasarlı hücre oranları, E) MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarının genetik hasar indeksi karşılaştırması, F) MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarının hasarlı hücre oranı karşılaştırması

EPS ve üçlü kombinasyon grubundaki hasar tipi çeşitliliği MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine kıyasla daha fazla bulunmuştur. EPS grubunda MDA-MB-231 hücrelerinde hasar tipi sadece yoğun olarak Tip 2 iken; MCF-7 hücrelerinde Tip 2'ye

ilave olarak Tip 3 ve Tip 4 kategorisinde DNA hasarları gözlemlenmiştir. Kurkumin ve pozitif kontrol grubundaki hasar tipleri iki hücre hattında birbirine benzerdir. Resveratrol grubunda ise MDA-MB-231 hücre hattındaki hasar tipleri MCF-7 hücrelerine kıyasla daha fazla bulunmuştur. İki hücre hattına ait Komet testi fotoğrafları Şekil 4.18'de gösterilmiştir.




**Şekil 4.18**. MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hattında tüm gruplara ait komet analizi görüntüleri.
MDA-MB-231 hücre hattı; A: EPS grubu, B: Kurkumin grubu, C: Resveratrol grubu, D: Üçlü kombinasyon grubu E: Pozitif kontrol grubu, F: Negatif Kontrol grubu. MCF-7 hücre hattı; G: EPS grubu, H: Kurkumin grubu, I: Resveratrol grubu, J: Üçlü kombinasyon grubu K: Pozitif kontrol grubu, L: Negatif Kontrol grubu.




**Şekil 4.18**. MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hattında tüm gruplara ait komet analizi görüntüleri (devamı)
MDA-MB-231 hücre hattı; A: EPS grubu, B: Kurkumin grubu, C: Resveratrol grubu, D: Üçlü kombinasyon grubu E: Pozitif kontrol grubu, F: Negatif Kontrol grubu.
MCF-7 hücre hattı; G: EPS grubu, H: Kurkumin grubu, I: Resveratrol grubu, J: Üçlü kombinasyon grubu K: Pozitif kontrol grubu, L: Negatif Kontrol grubu.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tez çalışmasında probiyotik özellikteki *L. acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen ekzopolisakkaritin (LA-5 EPS) hem tek başına hem de resveratrol ve kurkumin ile kombinasyonlarının meme kanseri hücre hatları MCF-7 ve MDA-MB-231 üzerindeki olası sitotoksisite ve genotoksisite/antigenotoksisite etkileri değerlendirilmiştir.

*L. acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen ekzopolisakkarit beyaz - açık gri renkte olup (Şekil 4.1) fiziksel yapısı literatürde belirtilen diğer probiyotik bakteri ekzopolisakkarit özellikleri ile uyum göstermektedir (Lynch ve diğerleri, 2026; Zang ve diğerleri, 2024).

Elde ettiğimiz LA-5 EPS'nin FTIR analizi sonucuna göre; EPS örneğinde 3266 $cm^{-1}$ civarında gözlenen ve hidroksil (O–H) gerilme titreşimlerine karşılık gelen geniş bantlar polisakkarit yapılar için karakteristik bir özelliktir. Ayrıca literatürde de 3288 $cm^{-1}$ civarında görülen geniş piklerin hidroksil gruplarından kaynaklandığı ve karbohidrat yapısının göstergesi olduğu bildirilmiştir (Zaghloul ve diğerleri, 2023). Bunun dışında 1650 $cm^{-1}$ civarında görülen piklerin hidrojen bağlarıyla ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Zaghloul ve diğerleri, 2023). 1054 $cm^{-1}$ civarında gözlenen güçlü bantlar ise C–O ve C–O–C gerilme titreşimlerine karşılık gelmekte olup polisakkaritlerin karakteristik bölgesi olarak kabul edilmektedir. Elde edilen bu sonuçlar, *L.acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen numunenin literatürde verilen mikrobiyal kaynaklı ekzopolisakkarit FTIR spektrumları ile uyumlu olduğunu ve karbohidrat temelli polisakkarit yapılar içerdiğini açıkça göstermektedir (Zaghloul ve diğerleri, 2023; Şekil 4.2).

Literatürde probiyotik baktiyel kökenli ekzopolisakkaritlerin de heteropolisakkarit yapıda olduğu bildirilmektedir (Berthold-Pluta ve diğerleri, 2019; Nguyen ve diğerleri, 2024). HPLC sonuçları değerlendirildiğinde, *L.acidophilus* LA-5 suşundan elde edilen ekzopolisakkaritin de heteropolisakkarit yapıda olduğu görülmektedir.

Amiri ve arkadaşlarının (2019) *Bifidobacterium animalis subsp.lactis* BB-12 suşu ve *L.acidophilus* LA-5 suşundan elde edilebilecek ekzopolisakkaritlerin optimizasyon koşulları üzerine yaptığı çalışmada, optimal koşullar altında *L.acidophilus* LA-5

suşundan elde edilen ekzopolisakkaritin (LA-5 EPS) maksimum miktarı 348,24 mg/L olarak belirtilmiştir (Amiri ve diğerleri, 2019). Bu miktar, bizim çalışmamızda 500 ml'den elde ettiğimiz 187,1 mg. liyofilize miktar ile uyumludur.

Farklı kanser hücre hatları ile yapılan *in vitro* çalışmalarda *L. acidophilus*'dan elde edilen ekzopolisakkaritlerin antiproliferatif etki gösterdiği bilinmektedir (Deepak ve diğerleri, 2016). Bunun gibi birçok laktobasil kaynaklı ekzopolisakkaritlerin (LAB-EPS) de benzer şekilde kanserli hücre hatlarında farklı metabolik yolaklar üzerinden seçici antiproliferatif, antitümör ve apoptotik etki gösterdikleri bilinmektedir (Mojibi ve diğerleri, 2019; Kadioglu ve Karaduman Yesildal, 2024). Kanser mekanizmaları ile ilintili genlerden başta BAX ve BCL-2, Capcase-3, Capcase-8, Capcase-9, p53 olmak üzere yapılan birçok gen ifadesi çalışmaları LAB-EPS'lerin güçlü antikanser etkisinin altını çizmektedir (Jurášková ve diğerleri, 2022). LAB-EPS'lerin antiproliferatif etkileri için doz ve zamana bağımlı olduğu ve çalışmalarda saptanan $IC_{50}$ değerlerinin 0,01mg/ml (*L.casei* SB27'den elde edilen EPS) ile 34,7mg/ml (*L.plantarum* NRRL B-4496'den elde edilen EPS) arasında çok geniş bir aralıkta olabileceği bildirilmiştir (Kadioglu ve Karaduman Yesildal, 2024). Bizim çalışmamızda da LA-5 EPS'nin her iki hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin literatürle uyumlu şekilde doza bağımlı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3, Şekil 4.4). MCF-7 hücre hattı için tespit edilen $IC_{50}$ değeri 8 mg/ml ve MDA-MB-231 hücre hatları için tespit edilen $IC_{50}$ 10mg/ml yine literatürde belirtilen aralıkta olup LA-5 EPS'nin her iki hücre hattında da antiproliferatif etki potansiyeli olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar kanser hücre hatlarında kurkumin ve resveratrolün sitotoksik etkilerinin genel olarak hücre tipine göre değişebilen doz ve zaman bağımlı olduğu belirtilmektedir (Schmidt ve diğerleri, 2020). Passos ve arkadaşlarının (2023) yaptığı bir çalışmada kurkuminin MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin 48 saatteki $IC_{50}$ değeri 11,21 μM ve MDA-MB-231 hücre hattı için ise 18,62 μM olarak tespit edilmiştir. Schmidt ve arkadaşlarının (2020) yaptığı bir başka çalışmada ise, MCF-7 hücre hattında kurkuminin 48 saatteki $IC_{50}$ değeri 11,4 μM olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, resveratrol için 48 saatteki $IC_{50}$ değeri 38,3μM olarak ölçülmüştür (Schmidt ve diğerleri, 2020). Gao ve Tollefsbol'un (2018) yaptıkları bir çalışmada ise resveratrolün 48 saatteki

10μM ve 20μM'lık uygulama dozlarında hücre canlılığını MDA-MB-231 hücre hattında %15 ila %42 oranında, MCF-7 hücre hattında ise %18 ila %47 oranlarında azalttığı tespit edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada her iki hücre hattında da resveratrol ve kurkuminin sitotoksik etkilerinin doza bağımlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8). $IC_{50}$ değerleri ise MDA-MB-231 hücre hattında resveratrol için 441,75 μM (Şekil 4.6), kurkumin için 247,25 μM (Şekil 4.8), MCF-7 hücre hattında $IC_{50}$ değeri resveratrol için 575,83 μM (Şekil 4.5), kurkumin için 72,2 μM olarak literatürde belirtilen dozlardan daha yüksek bulunmuştur. Referans gösterilen çalışmalarda test için ekilen hücrelerin pasaj sayılarının farklı olması, kurkumin ve resveratrolün menşelerinin farklı olması, kullanılan kurkuminin stabilite farkı ve resveratrolün serum proteinlerine bağlanma oranının yüksek olması gibi faktörlerle bu durum açıklanabilir.

Antikanser etkisi bilinen doğal bileşiklerin sinerjistik ya da antagonistik etkilerinin incelenmesi, klasik kemoterapi ajanlarına alternatif ya da potansiyel destek terapötik ajan geliştirme çabalarının sonucudur. Bilinen doğal aktif bileşenlerin kombine etkileri incelenmiş olsa da, keşfi daha geç olan EPS'lerin antikanser etkilerinin diğer doğal moleküller ile kombinasyonuna dair çalışmalar literatürde sınırlıdır. Bu doğrultuda bu tez çalışması resveratrolün, kurkuminin ve LA-5 EPS'nin kombine etkilerini sitotoksisite ve genotoksisite açısından değerlendiren ve literatüre kazandırılacak olan ilk çalışma niteliğindedir.

Sitotoksisite açısından literatür taramalarında bitkisel doğal moleküllerin kombine uygulamalarının meme kanseri hücre hatlarında sinerjistik etkisi daha fazla görülmektedir. Örneğin; Gao ve Tollefsbol'un 2018 yılında yaptığı çalışmada MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında resveratrol ile üzüm çekirdeği antosiyanidinlerinin kombine uygulaması, bu iki ajanın ayrı ayrı uygulamalarına kıyasla belirgin şekilde hücre canlılık oranlarını azaltmıştır (Gao ve Tollefsbol, 2018). Yapılan bir başka çalışmada antikanser etkileri bilinen kurkumin, resveratrol, piperinin ikili kombinasyonlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri ile sinerjistik/antagonistik etkileri incelenmiş ve sonuçlarda kurkumin ve resveratrolün MCF-7 hücre hattında sinerjistik, MDA-MB-231 hücre hattında ise antagonistik etkileşimleri gözlemlendiği belirtilmiştir (Schmidt ve diğerleri, 2022). Bizim yaptığımız

bu çalışmada ise, kurkumin ve resveratrolün her iki hücre hattında da Chou-Talalay Metoduna göre hesaplanan kombinasyon indeks değerleri (CI) doğrultusunda antagonistik etki gösterme potansiyeli olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1). MCF-7 hücre hattında literatürden farklı olarak kurkumin ve resveratrolün bizim çalışmamızda antagonistik etki potansiyeli göstermesi çok yönlü değerlendirilmeye açıktır; ancak en kuvvetli ihtimallerin kurkumin ve resveratrolün orjin farklılığı, uygulanan doz ve zamana bağlı olabileceği şeklinde değerlendirilmektedir.

Çalışmamızın verilerine göre en düşük hücre canlılığı oranı her iki hücre hattında da EPS, resveratrol ve kurkuminin üçlü kombinasyon uygulanan grupta gözlemlenmektedir (Şekil 4.12, Şekil 4.13). Tespit edilen bu antiproliferatif etki her iki hücre hattında Chou-Talalay Metodu'na göre ise CI>1 değeri ile "antagonistik etki" olarak tanımlanmaktadır. Diğer tüm kombinasyonların da benzer şekilde antagonistik eğilim gösterdiği gözlemlenmektedir. Antikanser etkisi son yıllarda keşfedilen EPS'nin kurkumin ve resveratrol ile kombine etkilerinin sitotoksisite açısından yorumlanabilmesi için daha fazla veriye ihtiyaç duyulmaktadır. Resveratrol ve kurkuminin elde edildiği kaynağın farklı olmasının sonuçları etkileyebileceği gibi, farklı probiyotik bakterilerden de elde edilen EPS'lerin, resveratrol ve kurkumin ile yapılabilecek kombinasyon çalışmalarında farklı etkiler gösterebileceği öngörülmektedir.

Kanser hücrelerinde kemoterapi ajanlarına alternatif ya da destekleyici doğal bitkisel moleküllerin ötesinde, insan sağlığı üzerindeki bilinen olumlu etkileri sebebiyle probiyotik bakterilerin postbiyotik ya da parabiyotik olarak adlandırılan metabolitleri, antikanser etkileri ile son 10 yılda bilimsel çalışmalara sıklıkla konu olmuştur (Aghebati-Maleki ve diğerleri, 2022). Bu bağlamda LAB-EPS'lerin kanser hücre hatları üzerindeki genotoksik ve sağlıklı hücre hatları üzerindeki DNA hasar onarıcı ya da koruyucu etkileri dikkat çekmiştir. Yıldız ve arkadaşlarının 2023 yılında yaptığı bir çalışmada *L. salivarus* KC27L suşundan elde ettikleri ekzopolisakkaritlerin insan periferal lenfosit hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri ve DNA hasar onarım potansiyeli komet analizi ile incelenmiştir. Söz konusu EPS'nin 100µg/ml'lık doz uygulamasında DNA kuyruk oranı pozitif kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak $p<0,05$ düzeyinde anlamlı ölçüde düşük bulunmuş, negatif kontrol grubuna kıyasla aynı dozda EPS eklenen grupta ise

anlamlı bir fark gözlenmediği belirtilmiştir (Yildiz ve diğerleri, 2023). Literatürde LAB-EPS'ler ile birlikte fungal ve diğer mikroorganizma kaynaklı EPS'lerin genotoksik etkileri, daha çok sağlıklı hücre hatları üzerinde ya da DNA hasarı oluşturulmuş hücre hatları üzerinde test edilmiştir. Az sayıda çalışmada da HT-29 gibi kolon kanseri hücre hatları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Meme kanseri hücre hatları üzerinde LAB-EPS'lerin genotoksik etkileri ve dozları tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışma ile ilk kez bir probiyotik bakteri menşeli ekzopolisakkaritin iki farklı meme kanseri hücre hattı üzerindeki genotoksik etkisi incelenmiştir. Çalışmamız sonuçlarında her iki hücre hattında da LA-5 EPS'nin belirlenen $IC_{50}$ dozlarında (MCF-7 için 8mg/ml ve MDA-MB-231 için 10 mg/ml) uygulandığı gruplarda negatif kontrole kıyasla DNA fragmantasyonu ve göçü açısından belirgin parametrelerden olan kuyruk uzunluğu, kuyruk %DNA, kuyruk moment uzaklığı ve olive kuyruk momentinin $p<0,001$ düzeyinde istatistiksel anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. EPS'nin DNA hasarı oluşturma potansiyeli diğer gruplar içinde pozitif kontrol grubuna en yakın ölçümler olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3). Ayrıca EPS uygulamasının her iki hücre hattında hasarlı hücre tipleri değerlendirildiğinde; MCF-7 hücre hattında Tip3 ve Tip 4 iken, MDA-MB-231 hücre hattında ise ağırlıklı olarak Tip2 hasar derecesi olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular LA-5 EPS'nin, meme kanseri tedavisi üzerine yapılan çalışmalarda destekleyici terapötik ajan olarak değerlendirilmeye aday olabileceğini düşündürmektedir.

Resveratrolün normal sağlıklı hücre hatlarında koruyucu ve DNA adduktu oluşturulmuş hücre hatlarında DNA hasarını onarıcı etkisi olduğu bilinmektedir (Hinrichs ve diğerleri, 2011). Bunun yanısıra Gao ve Tollefsbol'un 2018 yılında yaptığı çalışmada resveratrolün 10 μM ve 20 μM'lık dozları ayrı ayrı ve antosiyanidin ile kombine olarak MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine uygulanmış ve 48 saat sonunda HDAC aktiviteleri ölçülmüştür. Çalışma sonuçlarında her iki hücre hattında da hem resveratrolün tek uygulandığı gruplarda hem de daha belirgin şekilde antosiyanidin ile kombine uygulandığı grupta HDAC aktivitesinde azalma kaydedilmiştir. Bu durum, resveratrolün antosiyanidin ile sinerjistik olarak kanser hücrelerinde görülen tümör baskılayıcı genlerin susturulması durumunu azaltmak yoluyla epigenetik mekanizmalar üzerinden antikanser etkiye sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Gao ve Tollefsbol, 2018). Kurkumin de antikanser etkileriyle bilinen doğal bitkisel moleküllerden olup meme kanseri üzerindeki

genotoksik etkileri birçok çalışmada incelenmiştir. Bozalı ve arkadaşlarının (2022) yaptığı bir çalışmada MCF-7, MDA-MB-231 ve 184A1 hücre hatlarında kurkuminin 48 saatlik 5-60μM arasında değişen dozlardaki uygulaması sonucunda komet analizi ile DNA kuyruk oranları incelenmiş ve doza bağımlı olarak kuyruk oranının arttığı gözlemlenmiştir (Bozali ve diğerleri, 2022). Bu tez çalışmasında elde edilen bulgularda ise MCF-7 hücre hattında negatif kontrole kıyasla kurkumin ve resveratrolün istatistiksel olarak anlamlı düzeyde DNA fragmenti oluşturma potansiyeli sadece komet alanı ($p<0,001$), komet uzunluğu ($p<0,001$) ve kuyruk moment uzaklığı ($p<0,001$), parametresinde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2). EPS ile kıyaslama sonucunda ise, kurkuminin de resveratrolün de MCF-7 hücre hattında DNA hasarı oluşturma etkileri tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktür (Komet yoğunluğu: $p<0,05$, diğer tüm parametreler: $p<0,001$). MDA-MB-231 hücre hatlarında da EPS'nin tek başına uygulanması sonucunda kafa yoğunluğu ve komet yoğunluğu hariç tüm parametrelerde negatif kontrole kıyasla $p<0,001$ anlamlılık düzeyinde artış belirlenmiştir. Bu verilerin ötesinde, MCF-7 hücre hattında da EPS'nin tek başına uygulanmasının oluşturduğu DNA hasarı etkisinin pozitif kontrol grubuna göre komet alanı ve komet yoğunluğu parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması ve daha kompleks bir ölçüt olan olive kuyruk momentinde sadece $p<0,05$ düzeyinde fark ile düşük olması dikkat çekicidir (Çizelge 4.2). Bu veriler, EPS'nin tek başına uygulamalarının kanser hücrelerinde genotoksisite çalışmalarında inclenmeye değer olduğunu düşündürmektedir.

Kurkumin ve resveratrolün EPS ile üçlü kombinasyonunun MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerindeki genotoksisite açısından etkileri ise ilk kez yine bu çalışma ile incelenmiştir. EPS grubu ile kıyaslandığında MCF-7 hücre hattında üçlü kombinasyon grubunun sadece komet yoğunluğu ($p<0,001$) ve kuyruk % DNA parametresinde istatistiksel anlamlı ($p<0,01$) farklar gözlemlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında komet yoğunluğu hariç tüm parametrelerde kombinasyon grubuna kıyasla EPS'nin tek başına etkisinin $p<0,05$ ile $p<0,001$ arasında değişen anlamlılık düzeyinde daha fazla DNA hasarı oluşturma potansiyeline sahip olduğu saptanmıştır. Bu üç antikanser özellikteki molekülün bir arada kullanımının, EPS'nin tek başına kullanımına kıyasla daha az DNA hasarı oluşturma etkisinin gözlemlenmesi, meme kanseri için destek

terapötik ajan geliştirme çalışmalarında genotoksisite açısından EPS'nin tek başına değerlendirilmesinin daha uygun olabileceği düşüncesini desteklemektedir.

DNA hasarının önemli göstergelerinden olan kuyruk uzunluğu, kuyruk moment uzaklığı ve olive kuyruk momenti parametreleri MCF-7 hücre hattında MDA-MB-231 hücrelerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 4.17) Bu durum, MDA-MB-231 hücrelerinin MCF-7 hücrelerine göre EPS'nin ve üçlü kombinasyonun DNA hasarı oluşturma etkisine karşı daha dayanıklı olduğunu göstermektedir.

MDA-MB-231 hücre hattında genetik hasar indeksleri ve hasarlı hücre yüzdeleri tüm gruplarda negatif kontrol grubuna kıyasla $p<0,001$ düzeyinde yüksektir. MCF-7 hücre hattında ise negatif kontrol grubuna kıyasla genetik hasar indeksleri $p<0,001$ düzeyinde yüksek iken; hasarlı hücre yüzdeleri sadece EPS ve üçlü kombinasyon gruplarında $p<0,01$ anlamlılık düzeyinde yüksektir (Çizelge 4.4). MDA-MB-231 hücrelerinin MCF-7 hücrelerine kıyasla resveratrolden DNA hasarı açısından daha fazla etkilendiği gözlemlenmiştir. Bu durum, daha agresif ama daha yüksek genomik instabiliteye sahip olan MDA-MB-231 hücrelerinin yüksek dozlarda antioksidan değil daha çok pro-oksidan özellik sergileyebilen resveratrol ve kurkuminden MCF-7 hücrelerine kıyasla daha çok DNA hasarı etkisi almış olabileceği şeklinde yorumlanabilir. İki hücre hattı kıyaslandığında MCF-7'nin genetik hasar indeksi MDA-MB-231 hücrelerine göre EPS grubu ve üçlü kombinasyon gruplarında daha yüksek iken, hasarlı hücre oranları MDA-MB-231 de daha yüksek ölçülmüştür (Çizelge 4.4). Bu veriye göre Triple Negatif-Basal Like hücre hattı olan MDA-MB-231 hücrelerinin daha agresif yapısı itibariyle Luminal A tipi hücre hattı olan MCF-7'ye göre terapötik/sitotoksik/genotoksik ajanlara daha dirençli olması ile açıklanabilir. Genotoksisite analiz sonuçlarından hareketle, her iki hücre hattında da bu çalışmada kullanılan LA-5 EPS'nin tek başına DNA hasarı oluşturma potansiyelinin, resveratrol ve kurkumin ile kombinasyonlarına kıyasla daha yüksek olabileceği yorumlanmaktadır. Bu doğrultuda LA-5 EPS'nin tek başına etkilerinin kanser mekanizma yolakları üzerindeki rollerinin gibi detaylı incelenmesinin terapötik ajan çalışmalarına önemli veriler sağlayacağı düşünülmektedir.

Tüm bu değerlendirmeler doğrultusunda, EPS'nin kurkumin ve resveratrol ile üçlü kombinasyonu uygulamalarının her iki hücre hattında da antiproliferatif etki

potansiyelinin güçlü olabileceği fakat bu çalışmada tespit edilen antagonistik etkilerinin doz ve mekanizma üzerine yapılabilecek ileri çalışmalarla aydınlanması gerektiği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, EPS'nin hem sitotoksik etkilerinin hem genetik hasar oluşturma potansiyelinin sağlıklı meme hücre hattında da incelenmesiyle birlikte EPS'nin antikanser etki mekanizmalarının aydınlatılmasının terapötik ajan geliştirme çalışmalarına önemli katkılar sunacağı öngörülmektedir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen verilerden hareketle; kanserli hastalarda gıda takviyesi olarak kurkumin, resveratrol ve EPS'nin tek tek ve/veya kombinasyon kullanımlarında kanser moleküler hücre tipledirmelerinin dikkate alınması ve buna göre kullanımlarının sınırlandırılması ve/veya günlük alım dozunun ayarlanması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR


Aghebati-Maleki, L., Hasannezhad, P., Abbasi, A., & Khani, N. (2022). Antibacterial, antiviral, antioxidant, and anticancer activities of postbiotics: A review of mechanisms and therapeutic perspectives. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *12*(2), 2629–2645. https://doi.org/10.33263/BRIAC122.26292645

Albadran, H. A., Chatzifragkou, A., Khutoryanskiy, V. V., & Charalampopoulos, D. (2018). Development of surfactant-coated alginate capsules containing Lactobacillus plantarum. *Food Hydrocolloids*, *82*, 490–499. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.035

Amaroli, A., Panfoli, I., Bozzo, M., Ferrando, S., Candiani, S., & Ravera, S. (2024). The Bright Side of Curcumin: A Narrative Review of Its Therapeutic Potential in Cancer Management. In *Cancers* (Vol. 16, Number 14). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/cancers16142580

Amiri, S., Rezaei Mokarram, R., Sowti Khiabani, M., Rezazadeh Bari, M., & Alizadeh Khaledabad, M. (2019). Exopolysaccharides production by Lactobacillus acidophilus LA5 and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB12: Optimization of fermentation variables and characterization of structure and bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, *123*, 752–765. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.084

Anas, M., Falak, A., Khan, A., Khattak, W. A., Nisa, S. G., Aslam, Q., Khan, K. A., Saleem, M. H., & Fahad, S. (2024). Therapeutic potential and agricultural benefits of curcumin: a comprehensive review of health and sustainability applications. In *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. Springer. https://doi.org/10.1007/s43994-024-00200-7

Anwar, M. J., Altaf, A., Imran, M., Amir, M., Alsagaby, S. A., Abdulmonem, W. Al, Mujtaba, A., El-Ghorab, A. H., Ghoneim, M. M., Hussain, M., Jbawi, E. Al, Shaker, M. E., & Abdelgawad, M. A. (2023). Anti-cancer perspectives of resveratrol: a comprehensive review. In *Food and Agricultural Immunology* (Vol. 34, Number 1). Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/09540105.2023.2265686

Arruebo, M., Vilaboa, N., Sáez-Gutierrez, B., Lambea, J., Tres, A., Valladares, M., & González-Fernández, Á. (2011). Assessment of the evolution of cancer treatment therapies. In *Cancers* (Vol. 3, Number 3, pp. 3279–3330). https://doi.org/10.3390/cancers3033279

Ates, O. (2015). Systems Biology of Microbial Exopolysaccharides Production. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 3). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00200

Bejenaru, L. E., Biţă, A., Belu, I., Segneanu, A. E., Radu, A., Dumitru, A., Ciocîlteu, M. V., Mogoşanu, G. D., & Bejenaru, C. (2024). Resveratrol: A Review on the Biological Activity and Applications. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 14, Number 11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/app14114534

Ben Ayed-Guerfali, D., Ben Kridis-Rejab, W., Ammous-Boukhris, N., Ayadi, W., Charfi, S., Khanfir, A., Sellami-Boudawara, T., Frikha, M., Daoud, J., & Mokdad-Gargouri, R. (2021). Novel and recurrent BRCA1/BRCA2 germline mutations in patients with breast/ovarian cancer: a series from the south of Tunisia. *Journal of Translational Medicine*, *19*(1). https://doi.org/10.1186/s12967-021-02772-y

Berthold-Pluta, A. M., Pluta, A. St., Garbowska, M., & Stasiak-Różańska, L. (2019). Exopolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacteria – Health-Promoting Properties And Application In The Dairy Industry. *Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology*, *58*(2), 191–204. https://doi.org/10.21307/pm-2019.58.2.191

Boonen, R. A. C. M., Wiegant, W. W., Celosse, N., Vroling, B., Heijl, S., Kote-Jara, Z., Mijuskovic, M., Cristea, S., Solleveld-Westerin, N., Van Wezel, T., Beerenwinkel, N., Eeles, R., Devilee, P., Vreeswijk, M. P. G., Marra, G., & Van Attikum, H. (2022). Functional Analysis Identifies Damaging CHEK2 Missense Variants Associated with Increased Cancer Risk. *Cancer Research*, *82*(4), 615–631. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-1845

Bozali, K., Bozali, K., Guler, E. M., & Celikten, M. (n.d.). *INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CURCUMIN ON CYTOTOXICITY, GENOTOXICITY, AND APOPTOSIS ON BREAST CANCER CELLS*.

Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, *21*(11), 1142–1147. https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411

Bücker, L., & Lehmann, U. (2022). CDH1 (E-cadherin) Gene Methylation in Human Breast Cancer: Critical Appraisal of a Long and Twisted Story. In *Cancers* (Vol. 14, Number 18). MDPI. https://doi.org/10.3390/cancers14184377

Carbognin, L., Miglietta, F., Paris, I., & Dieci, M. V. (2019). Prognostic and predictive implications of PTEN in breast cancer: Unfulfilled promises but intriguing perspectives. In *Cancers* (Vol. 11, Number 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/cancers11091401

Cenciarini, M. E., & Proietti, C. J. (2019). Molecular mechanisms underlying progesterone receptor action in breast cancer: Insights into cell proliferation and stem cell regulation. *Steroids*, *152*. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108503

Chikara, S., Nagaprashantha, L. D., Singhal, J., Horne, D., Awasthi, S., & Singhal, S. S. (2018). Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. In *Cancer Letters* (Vol. 413, pp. 122–134). Elsevier Ireland Ltd. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.11.002

Chou, T. C. (2010). Drug combination studies and their synergy quantification using the chou-talalay method. In *Cancer Research* (Vol. 70, Number 2, pp. 440–446). https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1947

Collins, A., Møller, P., Gajski, G., Vodenková, S., Abdulwahed, A., Anderson, D., Bankoglu, E. E., Bonassi, S., Boutet-Robinet, E., Brunborg, G., Chao, C., Cooke, M. S., Costa, C., Costa, S., Dhawan, A., de Lapuente, J., Bo', C. Del, Dubus, J., Dusinska, M., … Azqueta, A. (2023a). Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. In *Nature Protocols* (Vol. 18, Number 3, pp. 929–989). Springer Nature. https://doi.org/10.1038/s41596-022-00754-y

Collins, A., Møller, P., Gajski, G., Vodenková, S., Abdulwahed, A., Anderson, D., Bankoglu, E. E., Bonassi, S., Boutet-Robinet, E., Brunborg, G., Chao, C., Cooke, M. S., Costa, C., Costa, S., Dhawan, A., de Lapuente, J., Bo', C. Del, Dubus, J., Dusinska, M., … Azqueta, A. (2023b). Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. In *Nature Protocols* (Vol. 18, Number 3, pp. 929–989). Springer Nature. https://doi.org/10.1038/s41596-022-00754-y

Cordelli, E., Bignami, M., & Pacchierotti, F. (2021). Comet assay: A versatile but complex tool in genotoxicity testing. In *Toxicology Research* (Vol. 10, Number 1, pp. 68–78). Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa093

Costa, P. S. da, Ramos, P. S., Ferreira, C., Silva, J. L., El-Bacha, T., & Fialho, E. (2022). Pro-Oxidant Effect of Resveratrol on Human Breast Cancer MCF-7 Cells is Associated with CK2 Inhibition. *Nutrition and Cancer*, *74*(6), 2142–2151. https://doi.org/10.1080/01635581.2021.1977834

Cunha, R., Nejo, P., Bento, S., & Vaz, F. (2021). ATM germline variants and male breast cancer. In *BMJ Case Reports* (Vol. 14, Number 1). BMJ Publishing Group. https://doi.org/10.1136/bcr-2020-238100

Deepak, V., Ramachandran, S., Balahmar, R. M., Pandian, S. R. K., Sivasubramaniam, S. D., Nellaiah, H., & Sundar, K. (2016). In vitro evaluation of anticancer properties of exopolysaccharides from Lactobacillus acidophilus in colon cancer cell lines. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal*, *52*(2), 163–173. https://doi.org/10.1007/s11626-015-9970-3

Du, R., Huang, C., Liu, K., Li, X., & Dong, Z. (2021). Targeting AURKA in Cancer: molecular mechanisms and opportunities for Cancer therapy. In *Molecular Cancer* (Vol. 20, Number 1). BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s12943-020-01305-3

Duffy, M. J., Harbeck, N., Nap, M., Molina, R., Nicolini, A., Senkus, E., & Cardoso, F. (2017). Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). In *European Journal of Cancer* (Vol. 75, pp. 284–298). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.017

El-Deeb, N. M., Yassin, A. M., Al-Madboly, L. A., & El-Hawiet, A. (2018). A novel purified Lactobacillus acidophilus 20079 exopolysaccharide, LA-EPS-20079, molecularly regulates both apoptotic and NF-KB inflammatory pathways in human colon cancer. *Microbial Cell Factories*, *17*(1). https://doi.org/10.1186/s12934-018-0877-z

Ermiş, E., Poyraz, E., Dertli, E., & Yılmaz, M. T. (2020). Optimization of exopolysaccharide production of Lactobacillus brevis E25 using RSM and characterization. *Sakarya University Journal of Science*, *24*(1), 151–160. https://doi.org/10.16984/saufenbilder.545929

Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. In *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* (Vol. 116, pp. 135–170). Academic Press Inc. https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001

Gao, Y., & Tollefsbol, T. O. (2018). Combinational proanthocyanidins and resveratrol synergistically inhibit human breast cancer cells and impact epigenetic–Mediating machinery. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(8). https://doi.org/10.3390/ijms19082204

Gonzales Carazas, M. M., Pinto, J. A., & Casado, F. L. (2021). Biological bases of cancer immunotherapy. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, *23*. https://doi.org/10.1017/erm.2021.5

Greville-Heygate, S. L., Maishman, T., Tapper, W. J., Cutress, R. I., Copson, E., Dunning, A. M., Haywood, L., Jones, L. J., & Eccles, D. M. (2020). Pathogenic Variants in CHEK2 Are Associated With an Adverse Prognosis in Symptomatic Early-Onset Breast Cancer. In *JCO Precis Oncol* (Vol. 4). https://doi.org/10.

Guerrero, B. G., Santos, K. de L., Kamimura, E. S., & de Oliveira, C. A. F. (2024). Application of microbial exopolysaccharides in packaging films for the food industry: a review. In *International Journal of Food Science and Technology* (Vol. 59, Number 1, pp. 17–29). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1111/ijfs.16789

Guney Eskiler, G., Sahin, E., Deveci Ozkan, A., Cilingir Kaya, O. T., & Kaleli, S. (2020). Curcumin induces DNA damage by mediating homologous recombination mechanism in

triple negative breast cancer. *Nutrition and Cancer*, *72*(6), 1057–1066. https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1670216

Hilton, H. N., Clarke, C. L., & Graham, J. D. (2018). Estrogen and progesterone signalling in the normal breast and its implications for cancer development. In *Molecular and Cellular Endocrinology* (Vol. 466, pp. 2–14). Elsevier Ireland Ltd. https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.08.011

Hinrichs, B., Zahid, M., Saeed, M., Ali, M. F., Cavalieri, E. L., & Rogan, E. G. (2011). Formation of diethylstilbestrol-DNA adducts in human breast epithelial cells and inhibition by resveratrol. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *127*(3–5), 276–281. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.009

Hou, M., Li, Q., & Che, Y. (2024). Hydrophilic Modification of Polytetrafluoroethylene (PTFE) Capillary Membranes with Chemical Resistance by Constructing Three-Dimensional Hydrophilic Networks. *Polymers*, *16*(8). https://doi.org/10.3390/polym16081154

Ismail, B., & Nampoothiri, K. M. (2013). Exposition of antitumour activity of a chemically characterized exopolysaccharide from a probiotic Lactobacillus plantarum MTCC 9510. *Biologia (Poland)*, *68*(6), 1041–1047. https://doi.org/10.2478/s11756-013-0275-2

Jin, Y., Liu, X., Liang, X., Liu, J., Liu, J., Han, Z., Lu, Q., Wang, K., Meng, B., Zhang, C., Xu, M., Guan, J., Ma, L., & Zhou, L. (2022). Resveratrol rescues cutaneous radiation-induced DNA damage via a novel AMPK/SIRT7/HMGB1 regulatory axis. *Cell Death and Disease*, *13*(10). https://doi.org/10.1038/s41419-022-05281-y

Jurášková, D., Ribeiro, S. C., & Silva, C. C. G. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. In *Foods* (Vol. 11, Number 2). MDPI. https://doi.org/10.3390/foods11020156

Kabir, M. T., Rahman, M. H., Akter, R., Behl, T., Kaushik, D., Mittal, V., Pandey, P., Akhtar, M. F., Saleem, A., Albadrani, G. M., Kamel, M., Khalifa, S. A. M., El-Seedi, H. R., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Potential role of curcumin and its nanoformulations to treat various types of cancers. In *Biomolecules* (Vol. 11, Number 3, pp. 1–39). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/biom11030392

Kadioglu, I. S., & Karaduman Yesildal, T. (2024). A non-immunotoxic exopolysaccharide with anticancer effect in colorectal cancer isolated from Lacticaseibacillus rhamnosus ACS5 strain. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, *17*(2), 100891. https://doi.org/10.1016/j.jrras.2024.100891

Kaur, G., Kaur, R., Sodhi, G. K., George, N., Rath, S. K., Walia, H. K., Dwibedi, V., & Saxena, S. (2024). Stilbenes: a journey from folklore to pharmaceutical innovation. In *Archives of Microbiology* (Vol. 206, Number 5). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1007/s00203-024-03939-z

Kaur, R., Bhardwaj, A., & Gupta, S. (2023). Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers. In *Molecular Biology Reports* (Vol. 50, Number 11, pp. 9663–9676). Springer Science and Business Media B.V. https://doi.org/10.1007/s11033-023-08809-3

Khan, U., & Khan, M. S. (2021). Prognostic Value Estimation of BRIP1 in Breast Cancer by Exploiting Transcriptomics Data Through Bioinformatics Approaches. *Bioinformatics and Biology Insights*, *15*. https://doi.org/10.1177/11779322211055892

Khan, W., Hosseinkhani, H., Ickowicz, D., Hong, P. Da, Yu, D. S., & Domb, A. J. (2012). Polysaccharide gene transfection agents. *Acta Biomaterialia*, *8*(12), 4224–4232. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.09.022

Koushki, M., Amiri-Dashatan, N., Ahmadi, N., Abbaszadeh, H. A., & Rezaei-Tavirani, M. (2018). Resveratrol: A miraculous natural compound for diseases treatment. In *Food Science and Nutrition* (Vol. 6, Number 8, pp. 2473–2490). Wiley-Blackwell. https://doi.org/10.1002/fsn3.855

Kudela, E., Samec, M., Kubatka, P., Nachajova, M., Laucekova, Z., Liskova, A., Dokus, K., Biringer, K., Simova, D., Gabonova, E., Dankova, Z., Bodova, K. B., Zubor, P., & Trog, D. (2019). Breast cancer in young women: Status quo and advanced disease management by a predictive, preventive, and personalized approach. In *Cancers* (Vol. 11, Number 11). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/cancers11111791

Kurzava Kendall, L., Ma, Y., Yang, T., Lubecka, K., & Stefanska, B. (2024). Epigenetic Effects of Resveratrol on Oncogenic Signaling in Breast Cancer. *Nutrients*, *16*(5). https://doi.org/10.3390/nu16050699

Kuzucu, V., & Dogan, N. (2023). Antikanser Etkili Doğal Bir Bileşik: Bakteriyel Ekzopolisakkaritler. *Karaelmas Science and Engineering Journal*, *13*(1), 217–223. https://doi.org/10.7212/karaelmasfen.1127313

Li, J., & Wang, N. (2012). The gpsX gene encoding a glycosyltransferase is important for polysaccharide production and required for full virulence in Xanthomonas citri subsp. citri. *BMC Microbiology*, *12*. https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-31

Li, W., Tang, W., Ji, J., Xia, X., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., Zhou, J., & Dong, M. (2015). Characterization of a novel polysaccharide with anti-colon cancer activity from Lactobacillus helveticus MB2-1. *Carbohydrate Research*, *411*, 6–14. https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.12.014

Li, Z., Wei, H., Li, S., Wu, P., & Mao, X. (2022). The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer. In *Drug Design, Development and Therapy* (Vol. 16, pp. 305–314). Dove Medical Press Ltd. https://doi.org/10.2147/DDDT.S336643

Lu, J., Mao, Y., Ma, T., Liu, X., Cheng, X., Bai, Y., & Li, S. (2023). Screening and genome analysis of lactic acid bacteria with high exopolysaccharide production and good probiotic properties. *Food Bioscience*, *56*. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103211

Lumachi, F. (2015). Current medical treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *World Journal of Biological Chemistry*, *6*(3), 231. https://doi.org/10.4331/wjbc.v6.i3.231

Lynch, K. M., Zannini, E., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2026). *Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides in Foods and Beverages: Isolation, Properties, Characterization, and Health Benefits*. *23*, 35. https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117

Mahmoud, Y. K., & Abdelrazek, H. M. A. (2019). Cancer: Thymoquinone antioxidant/pro-oxidant effect as potential anticancer remedy. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 115). Elsevier Masson SAS. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108783

*Marsha A. mossess ve ark.* (n.d.).

Matos, C. P., Adiguzel, Z., Yildizhan, Y., Cevatemre, B., Onder, T. B., Cevik, O., Nunes, P., Ferreira, L. P., Carvalho, M. D., Campos, D. L., Pavan, F. R., Pessoa, J. C., Garcia, M. H., Tomaz, A. I., Correia, I., & Acilan, C. (2019). May iron(III) complexes containing phenanthroline derivatives as ligands be prospective anticancer agents? *European Journal of Medicinal Chemistry*, *176*, 492–512. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.070

Menon, S. S., Guruvayoorappan, C., Sakthivel, K. M., & Rasmi, R. R. (2019). Ki-67 protein as a tumour proliferation marker. In *Clinica Chimica Acta* (Vol. 491, pp. 39–45). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.01.011

Mills, J. N., Rutkovsky, A. C., & Giordano, A. (2018). Mechanisms of resistance in estrogen receptor positive breast cancer: overcoming resistance to tamoxifen/aromatase inhibitors. In *Current Opinion in Pharmacology* (Vol. 41, pp. 59–65). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.04.009

Mojibi, P., Tafvizi, F., & Torbati, M. B. (2019a). Cell-bound exopolysaccharide extract from indigenous probiotic bacteria induce apoptosis in HT-29 cell-line. *Iranian Journal of Pathology*, *14*(1), 41–51. https://doi.org/10.30699/IJP.14.1.41

Mojibi, P., Tafvizi, F., & Torbati, M. B. (2019b). Cell-bound exopolysaccharide extract from indigenous probiotic bacteria induce apoptosis in HT-29 cell-line. *Iranian Journal of Pathology*, *14*(1), 41–51. https://doi.org/10.30699/IJP.14.1.41

Moscovici, M. (2015). Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 6, Number SEP). Frontiers Research Foundation. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01012

Mouro, C., Gomes, A. P., & Gouveia, I. C. (2024). Microbial Exopolysaccharides: Structure, Diversity, Applications, and Future Frontiers in Sustainable Functional Materials. In *Polysaccharides* (Vol. 5, Number 3, pp. 241–287). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/polysaccharides5030018

Moyer, C. L., Ivanovich, J., Gillespie, J. L., Doberstein, R., Radke, M. R., Richardson, M. E., Kaufmann, S. H., Swisher, E. M., & Goodfellow, P. J. (2020). Rare BRIP1 missense alleles confer risk for ovarian and breast cancer. *Cancer Research*, *80*(4), 857–867. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-1991

Nenclares, P., & Harrington, K. J. (n.d.). *The biology of cancer*.

Nepomuceno, T. C., De Gregoriis, G., de Oliveira, F. M. B., Suarez-Kurtz, G., Monteiro, A. N., & Carvalho, M. A. (2017). The role of PALB2 in the DNA damage response and cancer predisposition. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Number 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms18091886

Netrusov, A. I., Liyaskina, E. V., Kurgaeva, I. V., Liyaskina, A. U., Yang, G., & Revin, V. V. (2023). Exopolysaccharides Producing Bacteria: A Review. In *Microorganisms* (Vol. 11, Number 6). MDPI. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061541

Neves Rebello Alves, L., Dummer Meira, D., Poppe Merigueti, L., Correia Casotti, M., do Prado Ventorim, D., Ferreira Figueiredo Almeida, J., Pereira de Sousa, V., Cindra Sant'Ana, M., Gonçalves Coutinho da Cruz, R., Santos Louro, L., Mendonça Santana, G., Erik Santos Louro, T., Evangelista Salazar, R., Ribeiro Campos da Silva, D., Stefani Siqueira Zetum, A., Silva dos Reis Trabach, R., Imbroisi Valle Errera, F., de Paula, F., de Vargas Wolfgramm dos Santos, E., … Drumond Louro, I. (2023). Biomarkers in Breast Cancer: An Old Story with a New End. In *Genes* (Vol. 14, Number 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/genes14071364

Nguyen, H. T., Pham, T. T., Nguyen, P. T., Le-Buanec, H., Rabetafika, H. N., & Razafindralambo, H. L. (2024). Advances in Microbial Exopolysaccharides: Present and Future Applications. In *Biomolecules* (Vol. 14, Number 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/biom14091162

Nguyen, M. R., Ma, E., Wyatt, D., Knight, K. L., & Osipo, C. (2023). The effect of an exopolysaccharide probiotic molecule from Bacillus subtilis on breast cancer cells. *Frontiers in Oncology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1292635

Nicolini, A., Ferrari, P., & Duffy, M. J. (2018). Prognostic and predictive biomarkers in breast cancer: Past, present and future. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 52, pp. 56–73). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.010

Oh, W. Y., Gao, Y., & Shahidi, F. (2020). Food Bioactives International Society for Nutraceuticals and Functional Foods Stilbenoids: Chemistry, occurrence, bioavailability and health effects-a review. *J. Food Bioact*, *13*, 20–31. https://doi.org/10.31665/JFB.2021.13256

Onur, E., Gökmen, G. G., Nalbantsoy, A., & Kışla, D. (2022). Investigation of the supportive therapy potential of propolis extract and Lactobacillus acidophilus LA-5 milk combination against breast cancer in mice. *Cytokine*, *149*. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155743

Passos, C. L. A., Polinati, R. M., Ferreira, C., dos Santos, N. A. N., Lima, D. G. V., da Silva, J. L., & Fialho, E. (2023). Curcumin and melphalan cotreatment induces cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Scientific Reports*, *13*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-023-40535-5

Pucci, C., Martinelli, C., & Ciofani, G. (2019). Innovative approaches for cancer treatment: Current perspectives and new challenges. In *ecancermedicalscience* (Vol. 13). ecancer Global Foundation. https://doi.org/10.3332/ecancer.2019.961

Rakha, E. A., Chmielik, E., Schmitt, F. C., Tan, P. H., Quinn, C. M., & Gallagy, G. (2022). Assessment of Predictive Biomarkers in Breast Cancer: Challenges and Updates. In *Pathobiology* (Vol. 89, Number 5, pp. 263–277). S. Karger AG. https://doi.org/10.1159/000525092

Ramamoorthy, S., Gnanakan, A., S. Lakshmana, S., Meivelu, M., & Jeganathan, A. (2018). Structural characterization and anticancer activity of extracellular polysaccharides from ascidian symbiotic bacterium Bacillus thuringiensis. *Carbohydrate Polymers*, *190*, 113–120. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.047

Rane, J. K., Frankell, A. M., Weeden, C. E., & Swanton, C. (2023). Clonal Evolution in Healthy and Premalignant Tissues: Implications for Early Cancer Interception Strategies. In *Cancer Prevention Research* (Vol. 16, Number 7, pp. 369–378). American Association for Cancer Research Inc. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-22-0469

Reinhardt, K., Stückrath, K., Hartung, C., Kaufhold, S., Uleer, C., Hanf, V., Lantzsch, T., Peschel, S., John, J., Pöhler, M., Bauer, M., Bürrig, F. K., Weigert, E., Buchmann, J., Kantelhardt, E. J., Thomssen, C., & Vetter, M. (2022). PIK3CA-mutations in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, *196*(3), 483–493. https://doi.org/10.1007/s10549-022-06637-w

Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., & Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. In *International Dairy Journal* (Vol. 12).

Sarhadi, V. K., & Armengol, G. (2022). Molecular Biomarkers in Cancer. In *Biomolecules* (Vol. 12, Number 8). MDPI. https://doi.org/10.3390/biom12081021

Schmidt, B., Ferreira, C., Passos, C. L. A., Silva, J. L., & Fialho, E. (2020). Resveratrol, curcumin and piperine alter human glyoxalase 1 in mcf-7 breast cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(15), 1–16. https://doi.org/10.3390/ijms21155244

Sert, P. İ., & Küçükkılınç, T. T. (2022). Current Approaches in Breast Cancer Treatment. In *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy* (Vol. 42, Number 1, pp. 46–

59). Hacettepe University, Faculty of Pharmacy. https://doi.org/10.52794/hujpharm.959879

Shah, I. A., Kavitake, D., Tiwari, S., Devi, P. B., Reddy, G. B., Jaiswal, K. K., Jaiswal, A. K., & Shetty, P. H. (2024). Chemical modification of bacterial exopolysaccharides: Antioxidant properties and health potentials. In *Current Research in Food Science* (Vol. 9). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100824

Shahbandi, A., Nguyen, H. D., & Jackson, J. G. (2020). TP53 Mutations and Outcomes in Breast Cancer: Reading beyond the Headlines. In *Trends in Cancer* (Vol. 6, Number 2, pp. 98–110). Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.01.007

Shapira, A., Livney, Y. D., Broxterman, H. J., & Assaraf, Y. G. (2011). Nanomedicine for targeted cancer therapy: Towards the overcoming of drug resistance. *Drug Resistance Updates*, *14*(3), 150–163. https://doi.org/10.1016/j.drup.2011.01.003

Sharifi-Rad, J., Rayess, Y. El, Rizk, A. A., Sadaka, C., Zgheib, R., Zam, W., Sestito, S., Rapposelli, S., Neffe-Skocińska, K., Zielińska, D., Salehi, B., Setzer, W. N., Dosoky, N. S., Taheri, Y., El Beyrouthy, M., Martorell, M., Ostrander, E. A., Suleria, H. A. R., Cho, W. C., … Martins, N. (2020). Turmeric and Its Major Compound Curcumin on Health: Bioactive Effects and Safety Profiles for Food, Pharmaceutical, Biotechnological and Medicinal Applications. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01021

Singh, N. P., Mccoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A Simple Technique for Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells'. In *Experimental Cell Research* (Vol. 175).

Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., Mcmahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S., & Boyd, M. R. (1990). ARTICLES New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. In *J Natl Cancer Inst* (Vol. 82). http://jnci.oxfordjournals.org/

Smolarz, B., Zadrożna Nowak, A., & Romanowicz, H. (2022). Breast Cancer—Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). In *Cancers* (Vol. 14, Number 10). MDPI. https://doi.org/10.3390/cancers14102569

Subik, K., Lee, J.-F., Baxter, L., Strzepek, T., Costello, D., Crowley, P., Xing, L., Hung, M.-C., Bonfiglio, T., Hicks, D. G., & Tang, P. (2010). The expression patterns of eR, pR, HeR2, cK5/6, eGFR, Ki-67 and AR by Immunohistochemical Analysis in Breast cancer cell Lines. In *Breast Cancer: Basic and Clinical Research* (Vol. 4). http://www.la-press.com.

Suer, I., Abuaisha, A., Kaya, M., Abanoz, F., Cefle, K., Palanduz, S., & Ozturk, S. (2024). Curcumin suppresses cell viability in breast cancer cell line by affecting the expression of miR-15a-5p. *Turkish Journal of Biochemistry* , *49*(5), 656–665. https://doi.org/10.1515/tjb-2024-0031

Swift, L. H., & Golsteyn, R. M. (2014). Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 15, Number 3, pp. 3403–3431). Molecular Diversity Preservation International. https://doi.org/10.3390/ijms15033403

Thorpe, L. M., Yuzugullu, H., & Zhao, J. J. (2015). PI3K in cancer: Divergent roles of isoforms, modes of activation and therapeutic targeting. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 15, Number 1, pp. 7–24). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/nrc3860

Toss, A., Tenedini, E., Piombino, C., Venturelli, M., Marchi, I., Gasparini, E., Barbieri, E., Razzaboni, E., Domati, F., Caggia, F., Grandi, G., Combi, F., Tazzioli, G., Dominici, M.,

Tagliafico, E., & Cortesi, L. (2021). Clinicopathologic profile of breast cancer in germline ATM and CHEK2 mutation carriers. *Genes*, *12*(5). https://doi.org/10.3390/genes12050616

Tukenmez, U., Aktas, B., Aslim, B., & Yavuz, S. (2019). The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells in vitro. *Scientific Reports*, *9*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-019-44753-8

Van De Haar, J., Hoes, L., & Voest, E. (2019). Advancing molecular tumour boards: Highly needed to maximise the impact of precision medicine. In *ESMO Open* (Vol. 4, Number 2). BMJ Publishing Group. https://doi.org/10.1136/esmoopen-2019-000516

Venetis, K., Sajjadi, E., Haricharan, S., & Fusco, N. (2020). Mismatch repair testing in breast cancer: The path to tumor-specific immuno-oncology biomarkers. In *Translational Cancer Research* (Vol. 9, Number 7, pp. 4060–4064). AME Publishing Company. https://doi.org/10.21037/tcr-20-1852

Vichai, V., & Kirtikara, K. (2006). Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*, *1*(3), 1112–1116. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.179

Witt, B. L., & Tollefsbol, T. O. (2023). Molecular, Cellular, and Technical Aspects of Breast Cancer Cell Lines as a Foundational Tool in Cancer Research. In *Life* (Vol. 13, Number 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/life13122311

Wu, J., Zhang, Y., Ye, L., & Wang, C. (2021). The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides in vitro: A review. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 253). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117308

Xu, Z., Wu, W., Yan, H., Hu, Y., He, Q., & Luo, P. (2021). Regulation of p53 stability as a therapeutic strategy for cancer. In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 185). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114407

Yegorenkova, I. V., Tregubova, K. V., Matora, L. Y., Burygin, G. L., & Ignatov, V. V. (2011). Biofilm formation by Paenibacillus polymyxa strains differing in the production and rheological properties of their exopolysaccharides. *Current Microbiology*, *62*(5), 1554–1559. https://doi.org/10.1007/s00284-011-9896-2

Yildiz, B. M., Yuzbasioglu, D., Yuksekdag, Z., Cetin, D., Unal, F., & Suludere, Z. (2023). In vitro genotoxic and antigenotoxic effects of an exopolysaccharide isolated from Lactobacillus salivarius KC27L. *Toxicology in Vitro*, *86*. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2022.105507

Yun, K. H., Sharma, K., Kim, H. U., & Bae, T. H. (2023). Modification of a PES microfiltration membrane to enhance sterile filtration by inhibiting protein adsorption. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, *123*, 311–319. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2023.03.048

Zaghloul, E. H., Ibrahim, M. I. A., & Zaghloul, H. A. H. (2023). Antibacterial activity of exopolysaccharide produced by bee gut-resident Enterococcus sp. BE11 against marine fish pathogens. *BMC Microbiology*, *23*(1). https://doi.org/10.1186/s12866-023-02977-9

Zang, W., Cao, H., Ge, J., & Zhao, D. (2024). Structures, physical properties and antibacterial activity of silver nanoparticles of Lactiplantibacillus plantarum exopolysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, *263*. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130083

Zhang, J., Xiao, Y., Wang, H., Zhang, H., Chen, W., & Lu, W. (2023). Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharide: Formation, immunomodulatory ability, health effects, and

structure-function relationship. In *Microbiological Research* (Vol. 274). Elsevier GmbH. https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127432

Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K., & Phillips, G. O. (2013). Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. In *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* (Vol. 1, Number 1, pp. 53–71). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.01.002

Zheng, Y., Li, B., Pan, D., Cao, J., Zhang, J., Wang, X., Li, X., Hou, W., Bao, D., Ren, L., Yang, J., Wang, S., Qiu, Y., Zhou, F., Liu, Z., Zhu, S., Zhang, L., Qing, T., Wang, Y., … Shi, L. (2021). Functional consequences of a rare missense BARD1 c.403G>A germline mutation identified in a triple-negative breast cancer patient. *Breast Cancer Research*, *23*(1). https://doi.org/10.1186/s13058-021-01428-5

Zhu, J., Li, Q., Wu, Z., Xu, Y., & Jiang, R. (2024). Curcumin for Treating Breast Cancer: A Review of Molecular Mechanisms, Combinations with Anticancer Drugs, and Nanosystems. In *Pharmaceutics* (Vol. 16, Number 1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010079

Zhu, Y., Liu, Y., Zhang, C., Chu, J., Wu, Y., Li, Y., Liu, J., Li, Q., Li, S., Shi, Q., Jin, L., Zhao, J., Yin, D., Efroni, S., Su, F., Yao, H., Song, E., & Liu, Q. (2018). Tamoxifen-resistant breast cancer cells are resistant to DNA-damaging chemotherapy because of upregulated BARD1 and BRCA1. *Nature Communications*, *9*(1). https://doi.org/10.1038/s41467-018-03951-0

# ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif Pınar GÜNDÜZ
Doğum Yeri ve Tarihi: Bursa, 1983
Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim Durumu

| | | |
|---|---|---|
| Lise | : | İnegöl Turgutalp Anadolu Lisesi, 1994-2001 |
| Lisans | : | Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik,2001-2005 |
| Yüksek Lisans | : | Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi Biyoteknoloji A.B.D., 2026 |

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Mendika Yemek, ANKARA, 2005-2007
Dr. Ayten Bozkaya Spastik Çocuklar Hastanesi, BURSA, 2007-2010
Rentıp Hastanesi, BURSA, 2010-2013
Eliform Beslenme ve Diyet Danışmanlık, 2013-Halen

İletişim (e-posta): eliformbeslenmediyet@gmail.com, 502239013@ogr.uludag.edu.tr

Projeleri: **1.** Güldaş, M., Gündüz E.P., Çelikler S, Vardar E. (2025). Lactobacillus plantarum ve Lactobacillus acidophilus Probiyotik Bakteri Suşlarından Elde Edilen Ekzopolisakkarit Kimyasal Profillerinin Karşılaştırılması (Yayınlanmamış performansa dayalı destek projesi). Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

**2.** Güldaş M., Gündüz E.P., Çelikler S., Vardar E. (2025). Probiyotik Menşeili Ekzopolisakkaritlerin Resveratrol ve Kurkumin ile Kombinasyonlarının Olası Genotoksik/Antigenotoksik Etkilerinin in vitro Araştırılması (Yüksek Lisans Tez Projesi). Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü