

**T.C.**  
**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TANGERETİN VE DELFİNİDİN'İN PANKREAS KANSERİ HÜCRELERİ**  
**ÜZERİNE ANTI-KANSER ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ORCID : 0000 0002 3172 2175**

**Dyt. Şeniz GENİŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Mümin Alper ERDOĞAN**

**İZMİR,**

**OCAK, 2023**



**T.C.**  
**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TANGERETİN VE DELFİNİDİN'İN PANKREAS  
KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ANTI-KANSER  
ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Dyt. Şeniz GENİŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Mümin Alper ERDOĞAN**

**Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Yönetim birimi tarafından 2022-TYT-SABE-0008 numaralı proje ile  
desteklenmiştir.**

**İZMİR,**

**OCAK, 2023**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 25 / 01 / 2023

Tez Danışmanı : Doç.Dr.Mümin Alper ERDOĞAN, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof.Dr.Ahmet KOYU, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç.Dr.Vedat EVREN, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

ONAY : Bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

SARI

Prof. Dr. Hatice YILDIRIM

Enstitü Müdürü

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gele ekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

• Tezimin/Raporumun 01/01/2024 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopile edilmesini istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)

o Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

o Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

26/12/2022

Şeniz GENİŞ

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Tez Danışmanım Doç. Dr. Mümin Alper ERDOĞAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmir Katip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığımı beyan ederim.

26/12/2022

şeniz GENİş

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tavrı ve bilgisi ile her zaman yol gösteren ve tez dönemimde desteklerini üzerimden esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Mümin Alper ERDOĞAN'a

Eğitimim süresince, bilgi birikimini, güler yüzünü ve anlayışını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ahmet KOYU ve Sayın Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR'a

Tez çalışmamın maddi desteğini sağlayan İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Hayatım boyunca attığım her adımda yanımda olan, üzerimde sonsuz emekleri olan, her daim gururlandırmak isteyeceğim annem, babam ve ablama teşekkür ederim.

OCAK,2023

Dyt. Şeniz GENİŞ

## ÖZET

### **Tangeretin ve Delfinidin'in Pankreas Kanseri Hücreleri Üzerine Anti-Kanser Etkileri**

**Giriş ve Amaç:** Pankreas Kanseri, dünyada en yaygın 13.kanser tipi olarak ve kanser ile ilişkili ölümlerde 7. sırada yer almaktadır. Pankreas karsinomu günümüzde hızla ilerleyen ölümcül bir hastalık olarak kabul edilmektedir ve doğal seyrinde tipik olarak geç teşhis edilir.

Kötü bir prognoza ve düşük bir hayatta kalım süresine sahip olması nedeniyle oldukça önemli olan pankreas kanserinin tedavisi için, günümüzde kullanılan standart kemoterapötik ajanlara ve radyoterapiye karşı pankreas kanseri hücreleri direnç geliştirmektedirler. Bu nedenle ivedilikle mevcut tedaviye alternatif olacak yeni tedavi türlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu da ancak pankreas kanserinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ile mümkün olabilecektir.

Bu çalışma sonucunda tangeretin ve delfinidin'in pankreas kanseri hücreleri üzerindeki potansiyel anti-kanser etkileri hücre kültürü ortamında değerlendirilerek hem literatüre katkı sağlanması hem ilaç geliştirme hedefine yönelik ön verilerin eldesi hedeflenmektedir. Projemizde belirlenen bu amaçlar dahilindeki hedefimiz ise pankreas kanseri için bu iki ajanın anti-kanser etkinliklerini değerlendirmektir.

**Yöntem:** Bu çalışmada insan pankreas kanser hücre hattı (PANC-1) kullanılmıştır. Tedavi amacıyla tangeretin ve delfinidin uygulanmıştır. İn vitro deneyler olarak, MTS hücre proliferasyonu, koloni formasyonu, wound healing yara iyileşmesi testi western blot analizi ve flow sitometri analizi gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızda bulgular tangeretin ve delfinidin tedavilerinin 50 ve 100  $\mu\text{M}$  dozlarda hücre proliferasyonu ve koloni formasyonu testlerinde önemli düzeyde azalmalar, yara iyileşmesinde 50  $\mu\text{M}$  tangeretin ve delfinidin ile önemli dere azalmalar görülmüştür. Western Blot analizinde 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  tangeretin ve 50  $\mu\text{M}$  delfinidin PANC-1 hücre ölümünü indükleyici etki göstermiştir. Kombinasyon formlarında ise proliferasyonda 1  $\mu\text{M}$  tangeretin+1  $\mu\text{M}$  delfinidin, 5  $\mu\text{M}$



tangeretin+5  $\mu$ M delfinidin, 0,1  $\mu$ M tangeretin+1  $\mu$ M delfinidin ve 0,1  $\mu$ M tangeretin+5  $\mu$ M delfinidin önemli düzeyde azalmalara neden olmuştur.

Koloni formasyonunda kombinasyonlar 10  $\mu$ M tangeretin+10  $\mu$ M delfinidin ve 50  $\mu$ M tangeretin ve 50  $\mu$ M delfinidin ile azalmalara neden olmuştur. Wound healing testinde kombinasyon grupları 25  $\mu$ M tangeretin+25  $\mu$ M delfinidin ile yara iyileşmesi kapasitesinde önemli düzeyde azalmalar göstermiştir. Western Blot analizinde tüm kombinasyon grupları hücre ölümünü indükleyici etkiler sergilemiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak tüm bu veriler ile birlikte tangeretin ve delfinidin PANC-1 hücrelerinde hücre proliferasyonu, koloni formasyonu, apoptoz üzerine önemli etkilere sahip olduğu ortaya konulmuştur. Özetle, kombine olarak tangeretin ve delfinidin ile tedavi, ileride yapılacak ilave çalışmaların ışığında pankreas kanseri hastalarında faydalı ve uygulanabilir bir girişim olabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Tangeretin, Delfinidin, PANC-1, antikanser, proliferasyon, apoptoz

## ABSTRACT

### **Anti-Cancer Effects of Tangeretin and Delphinidin on Pancreatic Cancer Cells**

**Introduction and Aim:** Pancreatic Cancer is the 13th most common cancer type in the world and the 7th in cancer-related deaths. Pancreatic carcinoma is still recognized as a rapidly progressive and fatal disease and is typically diagnosed late in its natural history.

Pancreatic cancer cells are developing resistance to the standard chemotherapeutic agents and radiotherapy used today for the treatment of pancreatic cancer, which is very important due to its poor prognosis and low survival time. For this reason, it is urgently necessary to develop new types of treatment that will be an alternative to the existing treatment. This will only be possible by elucidating the molecular mechanisms of pancreatic cancer.

As a result of this study, it is aimed to contribute to the literature and to obtain preliminary data for drug development by evaluating the potential anti-cancer effects of tangeretin and delphinidin on pancreatic cancer cells in cell culture medium. Our aim within the scope of these aims determined in our project is to evaluate the anti-cancer activities of these two agents for pancreatic cancer.

**Method:** The human pancreatic cancer cell line (PANC-1) was used in this study. Tangeretin and Delphinidin were used for treatment. As in vitro experiments, MTS cell proliferation, colony formation, Wound Healing wound healing test and western blot analysis were performed.

**Results:** Findings in our study Significant reductions in cell proliferation and colony formation tests were observed in 50 and 100  $\mu\text{M}$  doses of tangeretin and delphinidin treatments, and significant reductions in wound healing were observed with 50  $\mu\text{M}$  tangeretin and delphinidin. In western blot analysis, 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  tangeretin and 50  $\mu\text{M}$  delfinidin PANC-1 showed cell death inducing effects. In combination forms, 1  $\mu\text{M}$  tangeretin+1  $\mu\text{M}$  delfinidin, 5  $\mu\text{M}$  tangeretin+5  $\mu\text{M}$  delfinidin, 0.1  $\mu\text{M}$

tangeretin+ 1  $\mu$ M delphinidin and 0.1  $\mu$ M tangeretin+5  $\mu$ M delphinidin caused significant reductions in proliferation.

Combinations of 10  $\mu$ M tangeretin+10  $\mu$ M delphinidin and 50  $\mu$ M tangeretin and 50  $\mu$ M delphinidin resulted in reductions in colony formation. In the wound healing test, combination groups showed significant reductions in wound healing capacity with 25  $\mu$ M tangeretin+25  $\mu$ M delphinidin. In western blot analysis, all combination groups exhibited cell death-inducing effects.

**Conclusion:** As a result, with all these data, it was revealed that tangeretin and delphinidin have important effects on cell proliferation, colony formation and apoptosis in PANC-1 cells. In summary, combined treatment with tangeretin and delphinidin may be a useful and feasible intervention in pancreatic cancer patients in the light of further studies.

**Keywords:** Tangeretin, Delphinidin, PANC-1, anticancer, proliferation, apoptosis

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR.....	vi
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR(devam).....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR(devam).....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvi
TABLOLAR DİZİNİ .....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Pankreas ve Kanser .....	3
2.1.1. Pankreasın Yapısı ve Görevleri .....	3
2.1.2. Pankreas Kanseri .....	5
2.1.3. Pankreas Kanseri Epidemiyolojisi.....	5
2.1.4. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri .....	7
2.1.5. Pankreas Kanserinde Tanı .....	9
2.1.6. Pankreas Kanserinde Tedavi .....	10
2.2. Polimetoksile Flavonlar.....	10
2.2.1. Tangeretin .....	12
2.3. Antosiyaninler .....	13
2.3.1. Delfinidin.....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	16
3.1. Deney planı.....	16

3.2. Deneyde Kullanılan Gereçler .....	16
3.2.1. Kanser Hücre Hatları .....	16
3.3. Deneyde Kullanılan Yöntemler .....	18
3.3.1. Hücre Hatları ve Kültür Koşulları .....	18
3.3.2. MTS Hücre Proliferasyon Testi .....	21
3.3.3. Koloni Formasyon Testi.....	23
3.3.4. Hücre Migrasyonu Testi (Wound-healing/Yara İyileşmesi) ..	24
3.3.5. Western Blot Analizi .....	24
3.3.6. Flow Sitometri Analizi .....	25
3.4. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR .....	27
4.1. Hücre Kültürü Testleri Bulguları .....	27
4.1.1. MTS Hücre Proliferasyonu Testi Bulguları.....	27
4.1.2. Hücre Koloni Formasyon Testi Bulguları.....	28
4.1.3. Hücre Migrasyonu Testi (Wound Healing/Yara İyileşmesi) Bulguları	31
4.1.4. Western Blot Analizi Bulguları .....	33
4.1.5. Flow Sitometri Analizi Bulguları .....	37
5. TARTIŞMA .....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKÇA .....	57

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACR: Amerikan Kanser Derneği

AGS: mide kanseri hücre hattı

AP: Aktivatör protein

AR: Androjen reseptörü

BFTC-90: Mesane karsinomu hücre hattı

BSA: Bovine Serum Albumin

COLO 205: kolorektal karsinom hücre hattı

COX 2: Siklooksijenaz-2

DHT: dihidrotestosteron

DMEM/F12: Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12

DMSO: Dimetil Sülfoksit

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EGCG: Epigallocatechin gallate

EC: Enterokromafin

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

EMT: Epithelial-Mesenchymal-Transition/Epitelyal-Mezenkimal  
Geçiş

EPIC: Avrupa Prospektif Kanser Araştırması

FACS: Fluorescence-activated cell sorting

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

FITC: Fluorescein İsothiocyanate

5FU: 5 Fluorouracil

GIS: Gastrointestinal sistem

HepG2: Hepatosellüler karsinoma hücre hattı

HCC: Hepatosellüler karsinom

## SİMGELER VE KISALTMALAR(devam)

HUVEC: İnsan Umbilikal Endotelyal Hücreleri

IARC: International Agency on Cancer for Research

IR:  $\gamma$ -iyonlaştırıcı radyasyon

JNK: c-Jun N-terminal kinaz

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase

MMP-2/-9: Matris metalloproteinazlar-2/9

MTS: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-Sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt

MRI: manyetik rezonans görüntüleme

NF- $\kappa$ B: Nuclear Factor  $\kappa$ B

NGF: Sinir Büyüme Faktörü

p21: Cyclin-Dependent Kinase İnhibitor 1/CDK-İnteracting Protein 1

p27: Cyclin-Dependent Kinase İnhibitor 1B

p27KIP1: Cyclin-Dependent Kinase İnhibitor 1B

PARP: Poly ADP Ribose Polymerase

PBS: Phosphate Buffered Saline

PCR: Polymerase Chain Reaction

PDGFR: Trombosit türevli büyüme faktörü reseptörü

PI: Propidyum İyodür

PMF: Polimetoksile flavonlar

PMS: Phenazine Methosulfate

P-NF $\kappa$ B: Phospho-Nuclear Factor  $\kappa$ B

P-PI3K: Phospho-Phosphoinositide 3-Kinase

PS: fosfatidilserin

PSA: Prostat spesifik antijenin

PVDF: Polyvinylidene Difluoride

RNA: Ribonükleik Asit

## **SİMGELER VE KISALTMALAR(devam)**

RNaz: Ribonükleaz

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RTK: Reseptör tirozin kinaz

RSV: Resveratrol

SDS: Sodyum Dodesil Sülfat

SK-MEL-1: Melanom hücre hatları

TBARS: Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi

TBE: Tris Borat EDTA

TBS: Tris Buffered Saline

VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

VKI: Vücut Kitle İndeksi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü/ World Health Organization



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1:</b> Langerhans Adacığı.....	3
<b>Şekil 2:</b> 2020 Yılında Her İki Yaş ve Cinsiyet için Yeni Vaka Sayıları Dağılımı (11).....	6
<b>Şekil 3:</b> 2020 Yılında Her İki Yaş ve Cinsiyet için Kanser Türlerine Göre Ölüm Sayıları (11).....	6
<b>Şekil 4:</b> Polifenollerin ve Flavonoidlerin Sınıflandırılması ve Antikanser Aktivitesi Olan Her Bir Alt Grubun Örnekleri (59).....	11
<b>Şekil 5:</b> Antioksidanların Sınıflandırılması (60).....	12
<b>Şekil 6:</b> Tangeretin'in Antikanser Özellikleri Mekanizması (69). ....	13
<b>Şekil 7:</b> PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in 48 Saatlik Uygulama Sonucu Hücre Proliferasyonuna Etkileri .....	27
<b>Şekil 8:</b> PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in 72 Saatlik Uygulama Sonucunda Hücre Proliferasyonuna Etkileri .....	28
<b>Şekil 9:</b> PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in Koloni Şekillendirme Kapasitesine Etkilerinin % Grafiği.....	29
<b>Şekil 11:</b> PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in Koloni Şekillendirme Kapasitesine Etkilerine Dair Kuyucuk Görüntüleri.....	30
<b>Şekil 12:</b> PANC-1 Hücrelerinde Kontrol, DMSO, Cisplatin ve Tangeretin Uygulamasının Yara İyileşmesi Düzeylerine Etkileri.....	31
<b>Şekil 13:</b> PANC-1 Hücrelerinde Tangeretin ve Delfinidin'in Yara İyileşmesi Düzeylerine Etkileri .....	32
<b>Şekil 14:</b> PANC-1 Hücrelerinde Tangeretin ve Delfinidin Kombinasyonlarının Yara İyileşmesi Düzeylerine Etkileri .....	33
<b>Şekil 15:</b> PANC-1 Hücrelerinde Tangeretin ve Delfinidin'in Apoptoz İle İlişkili Protein Ekspresyonlarına Etkileri .....	34
<b>Şekil 16:</b> Tangeretin ve Delfinidin'in Bax/Aktin Protein Ekspresyonu Oranları .....	34
<b>Şekil 17:</b> Tangeretin ve Delfinidin'in Bcl-2/Aktin Protein Ekspresyonu Oranları .....	35
<b>Şekil 18:</b> Tangeretin ve Delfinidin'in Bax/Bcl-2 Protein Ekspresyonu Oranları .....	36

**Şekil 19:** Tangeretin ve Delfinidin'in Flow Sitometri Analizi Bulguları ..... 38

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> Çalışmada Kullanılan Malzemeler Listesi.....	17
<b>Tablo 2:</b> Farklı Tangeretin konsantrasyonlarının hazırlanması.....	21
<b>Tablo 3:</b> Farklı Delfinidin konsantrasyonlarının hazırlanması.....	22
<b>Tablo 4:</b> MTS testi için kullanılan Tangeretin ve Delfinidin dozları (48 saat) .....	22
<b>Tablo 5:</b> MTS testi için kullanılan Tangeretin ve Delfinidin dozları (72 saat) .....	23

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas Kanseri, dünyada en yaygın 13. kanser tipi olarak ve kanser ile ilişkili ölümlerde 7. sırada yer almaktadır (1). Pankreas karsinomu günümüzde de hızla ilerleyen ölümcül bir hastalık olarak kabul edilmektedir ve doğal seyrinde tipik olarak geç teşhis edilir. Geç tayin edilmesi ve geleneksel tedavi yöntemlerine yanıt eksikliği ile karakterize edilmiştir (2). Bu sebeple kanser araştırmalarında önem arz ederek teşhis ve tedavi araştırmalarında yerini almaktadır.

Tüm kanserler arasında pankreas kanseri, prognozu düşük ve mortalitesi yüksek olması nedeniyle oldukça önemlidir. Pankreas kanseri en fazla ölüme neden olan malign tümörlerden biridir. Karsinogenezde rol alan biyolojik mekanizmaların anlaşılmasına yönelik yapılan çalışmalara, yeni hedef moleköl keyfi için yapılan araştırmalara ve gelişmiş cerrahi tekniklere rağmen, sağkalım süresi oldukça kısadır. Birçok kanserin aksine, pankreas kanserinin insidansı ve mortalitesi giderek artmaktadır. Pankreas kanserinin 2030 yılında dünyada kansere bağlı ölümlerin en önemli ikinci nedeni olabileceği tahmin edilmektedir (2).

Pankreas kanserine neden olan faktörler tam olarak bilinmese de sigara kullanımı, kronik pankreatit varlığı, obezite, artmış vücut kütle indeksi (VKI), diabetes mellitus ve çeşitli genetik sendromlar pankreas kanseri ile ilişkilidir. Pankreas kanserinin kötü prognozunun temel nedenleri; tümörün artmış invazyon yeteneği, yüksek metastaz kapasitesi, kemoterapi ve radyoterapiye karşı yüksek direnç göstermesidir. Bu nedenle pankreas kanseri için yeni tedavi stratejilerine duyulan ihtiyaç hayati önem taşımaktadır.

Şimdiye kadar, farklı kanser türlerinin tedavisi için birçok sentetik ilaç mevcuttur. Bununla birlikte, kemoterapötik ajanlarla ilişkili ana problemler, normal hücrelere karşı toksisitesi ve ilaca karşı direncin ortaya çıkmasıdır. Bu problemlerin üstesinden gelmek için fitokimyasalların kullanımı kanser tedavisinde umut verici bir yaklaşımdır çünkü normal hücrelere karşı minimal sitotoksikite uygulamıştır ve farklı kemoterapötik ajanların etkinliğini arttırmıştır.

Farklı flavonoid türleri farklı moleköl hedefler üzerinden modüle edilerek anti kanser özellik gösterir. Bu flavonoidler arasında, tangeretin, turunçgillerde

yaygın olarak bulunan bir grup polimetoksile flavonlara aittir. Tangeretin (4',5,6,7,8-penta methoxyflavone), Rutaceae familyasına ait turunçgillerde (esas olarak Citrus sinensis ve Citrus reticulata) bulunan önemli bir polimetoksiflavon'dur; ayrıca Euphorbiaceae'nin Hura krepitanlarında da bulunur. Birçok çalışma, tangeretin'in çeşitli kanser hücrelerinde sitotoksiste sergilediğini, hücre döngüsünü durdurduğunu, apoptozu indüklediğini, anjiyogenezi ve metastazı engellediğini göstermiştir. Ayrıca çeşitli antioksidan enzimleri modüle ederek hidroksil radikallerini, hidrojen peroksitleri, süperoksit anyon radikallerini temizlediği gösterilmiştir. Delphinidin, çeşitli meyvelerde bulunan önemli bir antosiyanidin bileşigidir. Anti-inflamatuar, anti-oksidan ve diğer çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Delfinidin'in antikanser özelliklerine ait literatürde; karaciğer kanseri, deri kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri, prostat kanseri, over kanseri, beyin tümörü, mezenkimal tümör, osteosarkom ve lösemi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda pankreas kanseri üzerine etkilerini inceleyeceğimiz tangeretin ve delfinidin kombinasyonu literatüre farklı bakış açıları kazandırmayı da amaçlamaktadır.

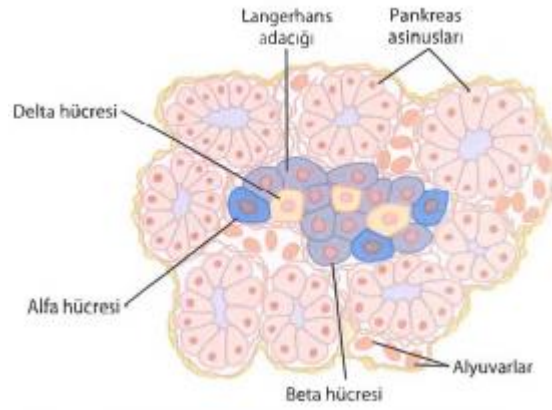
Bu çalışma sonucunda tangeretin ve delfinidin'in pankreas kanseri hücreleri üzerindeki potansiyel anti-kanser etkileri hücre kültürü ortamında değerlendirilerek hem literatüre katkı sağlanması hem de ilaç geliştirme hedefine yönelik ön verilerin eldesi hedeflenmektedir. Projemizde belirlenen bu amaçlar dahilindeki hedefimiz ise pankreas kanseri için bu iki ajanın anti-kanser etkinliklerini değerlendirmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Pankreas ve Kanser

#### 2.1.1. Pankreasın Yapısı ve Görevleri

Pankreasın %98-99 gibi büyük bir kısmı ekzokrin salgı yapan asiner hücreler (%80) ile boşaltım kanallarından (%18) oluşurken, yalnız %1-2 gibi küçük bir kısmı endokrin salgı yapan Langerhans adacıklarından oluşan karışık yapıda bir bezdir (3). İnsan pankreası, içine hormonların salgılandığı küçük kapillerler çevresinde organize olmuş, her biri yaklaşık 0,3 milimetre çapında 1-2 milyon Langerhans adacığına sahiptir. Bu adacıklar, birbirlerinden morfolojileri ve boyanma özellikleri ile ayırt edilen başlıca üç farklı tipte hücre içerir. Bunlar alfa, beta ve delta hücreleridir (4).



**Şekil 1:** Langerhans Adacığı

Pankreasın %99'u ekzokrin, %1'ise endokrin bölümden oluşmaktadır. Ekzokrin Pankreas Pankreasın ekzokrin sekresyonunu salgılayan bölümü tükürük bezlerine benzer yapıda ve bileşik tubulo-alveolar özelliktedir. Pankreas ekzokrin sekresyonu bikarbonat açısından zengin olan sulu kısım ve enzim kısmından oluşur. Pankreasın ekzokrin sekresyonu berrak, izotonik ve alkali özellikte olup, günde ortalama 1500-2000 ml kadar salgılanır (4) (5). Sıvının salgılanmasında sinir olarak n. vagus, hormon olarak duodenumda bulunan sekretin ve kolesistokinin hormonları sorumludur.

Pankreasın ekzokrin sekresyonunun sulu kısmı, esas olarak pankreas kanalları boyunca uzanan epitel hücreleri tarafından salgılanırken, enzim kısmı ise asinus

hücrelerinden salgılanmaktadır. Bu salgı tübüllerden itibaren toplanarak tek bir kanal olan ductus pancreaticusa (Wirsung kanalı) açılır. Kanal sisteminin bileşenleri ana pankreas kanalı (Wirsung kanalı), pankreas boyunca ana kanala akan interlobüler ve intralobüler kanallardır (4).

Asiner tübülleri interlobüler kanallara bağlayan kanallar (bazen interkalasyonlu duktüller olarak adlandırılır). İntralobüler kanallar ve kanallar normalde sadece ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde görülür. Asiner hücrelerden gelen enzimler, sentroasiner ve duktal hücreler tarafından salgılanan bikarbonattan zengin bir solüsyona salınır ve asiner tübüllerden intralobüler kanallara, daha sonra interlobüler kanallara ve ana kanala, son olarak da on iki parmak bağırsağına akar. Kanal sisteminin bütünlüğü, ekzokrin enzimlerin, aktive olabilecekleri ve pankreatit olarak ortaya çıkan doku hasarına neden olabilecekleri interstisyel boşluğa girmesini önlemede kilit öneme sahiptir. Ana ve interlobüler kanallar kalın, yoğun kolajen duvarlara sahiptir. Kanallar dallandıkça ve daraldıkça kanal duvarının bağ dokusu bileşeni giderek incilir. Kanal hücreleri, sentroasiner hücreler ve asiner hücreler arasındaki zonula oklüdens olarak da adlandırılan hücreler arası sıkı bağlantılar, kanal sisteminin sızıntısını önlemede büyük rol oynar (6).

Endokrin Pankreas (Langerhans adacıkları) alfa, beta ve delta olmak üzere, boyanma özellikleri ve morfolojileri ile birbirinden ayırt edilebilen üç hücre tipi yanında, gama ve enterokromafin (EC) adı verilen hücreleri de içerir (7). Langerhans adacıkları tüm organa dağılmış olmasına rağmen, bezin kuyruk kısmında daha yoğun olup pankreas ağırlığının %1-2' sini teşkil ederler. Sayıları 1-2 milyon kadardır. Her bir adacık 0,1-0,2 mm çapındadır. Langerhans adacıklarında bulunan hücrelerden insülin (beta hücreleri), glukagon (alfa hücreleri), somatostatin (delta hücreleri) ve pankreatik polipeptid (PP hücreleri) salgılanır (6) (8).

Endokrin hücreler, ekzokrin dokunun kapiler ağından yaklaşık 5 kat daha yoğun olan yoğun bir kılcal ağ ile yakından çevrilidir (9). İnsülin, beta hücrelerinin salgı granüllerinde depolanan ve kan şekeri homeostazının korunması için salınan adacıkların en önemli hormonudur. Glukagon, glikoz metabolizmasını düzenlemek için insülin ile birlikte çalışır. Somatostatin ve pankreas polipeptidi, diğer hormonların ve ekzokrin enzimlerin salgılanmasını düzenler (10).

### 2.1.2. Pankreas Kanseri

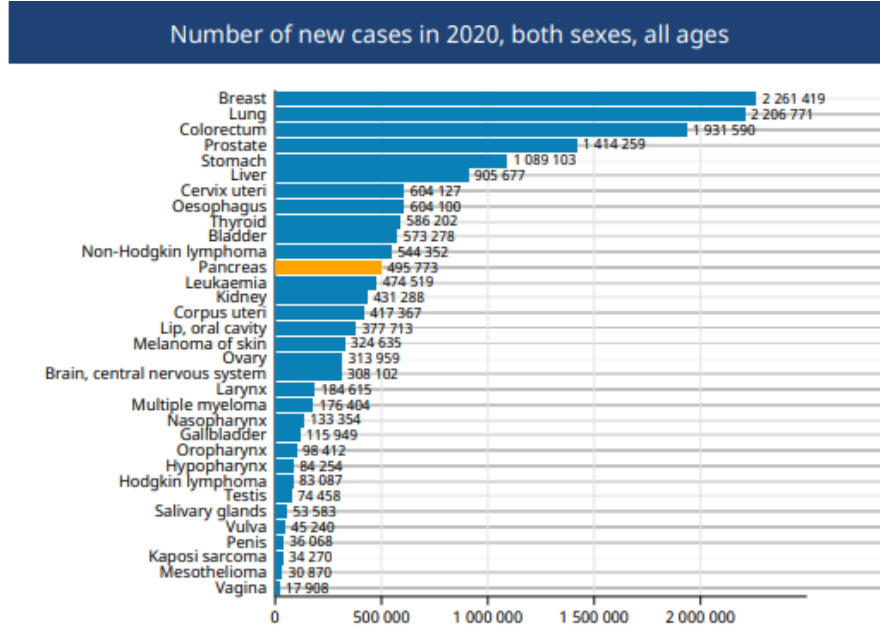
Pankreas kanseri, GLOBOCAN 2020 verilerine göre 2020'deki ölüm sayısı, her iki cinsiyet ve her yaştan 466.003 ile dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde yedinci sıradadır (11). Diğer kanserlerin aksine, pankreas kanseri insidansı artmaya devam etmektedir. Pankreas kanserinin dünya çapındaki insidansı ve mortalitesi artan yaşla ilişkilidir ve erkeklerde kadınlara göre biraz daha yaygındır (12). Tanı anında genellikle hastalığın ileri evresi ve uzak organ metastazı ile karşılaşılır. Burada en önemli etmen, hastalığın erken evresinde belirgin spesifik belirtilerin olmamasıdır (13). Pankreas kanseri temel olarak iki tip pankreas kanserine ayrılır: en sık görülen (vakaların %85'i) pankreasın ekzokrin bezlerinden kaynaklanan pankreas adenokarsinomu ve daha az görülen (daha az) pankreas nöroendokrin tümörü (Pan-NET). %5'ten fazla) ve pankreasın endokrin dokusunda meydana gelir. Pankreas adenokarsinoması çok kötü bir prognoza sahiptir, tipik olarak tanıdan sonra, insanların sadece %24'ü 1 yıl ve %9'u 5 yıl yaşar (14).

### 2.1.3. Pankreas Kanseri Epidemiyolojisi

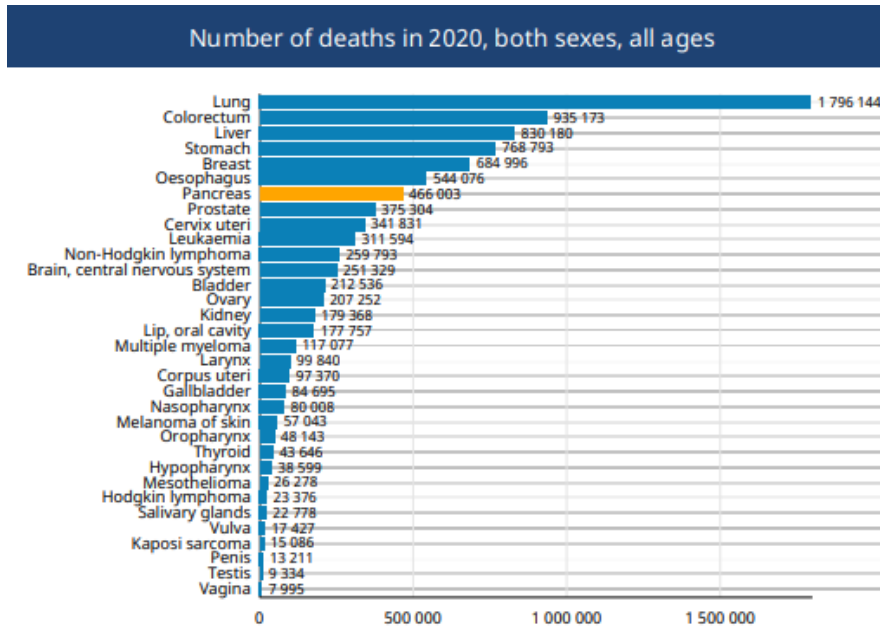
Pankreas kanseri, dünya çapında kansere bağlı ölümlerin yedinci önde gelen nedenidir. Hastalar hastalığın ileri bir aşamasına kadar nadiren semptom gösterdiğinden, pankreas kanseri 2018'de 432.242 yeni ölüme neden olan en ölümcül malign neoplazmlardan biri olmaya devam etmektedir. Küresel olarak, 2018'de 458.918 yeni pankreas kanseri vakası rapor edildi ve 2040'a kadar 355.317 yeni vakanın ortaya çıkacağı tahmin ediliyor (14).

GLOBOCAN 2020 verilerine göre ise 2020'deki ölüm sayısı, her iki cinsiyet, her yaştan 466.003 ile dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde yedinci sıradadır. Yeni vaka sayısı ise her iki yaş için pankreas kanseri yeni vaka sayısı 495.773 tür. (<https://gco.iarc.fr/today/explore> Erişim:29.01.2022) 28 Avrupa ülkesinde yapılan bir çalışmada pankreas kanserinin 2025 yılına kadar kansere bağlı ölümlerin üçüncü nedeni olarak meme kanserini geride bırakacağı tahmin edilmektedir (15).





Şekil 2: 2020 Yılında Her İki Yaş ve Cinsiyet için Yeni Vaka Sayıları Dağılımı (11).



Şekil 3: 2020 Yılında Her İki Yaş ve Cinsiyet için Kansere Türlerine Göre Ölüm Sayıları (11).

## 2.1.4. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri

### 2.1.4.1. Değiştirilebilir Risk Faktörleri

**Sigara Kullanımı:** Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı, sigara içmenin pankreas kanseri ile nedensel olarak ilişkili olduğunu doğrulamıştır (16). Pankreas kanseri riski, sigara içme süresi ve günlük içilen sigara sayısı ile artar. Sigara içenlerde, içmeyenlere göre risk yaklaşık iki kat daha fazladır. 2012 yılında, Avrupa Prospektif Kanser Araştırması (EPIC) çalışması, günde içilen her beş sigara için pankreas kanseri riskinin arttığını ve ayrıca pasif içiciliğin pankreas kanseri riskini %50 oranında artırabileceğini göstermiştir (17) (18).

**Alkol Tüketimi:** Birçok çalışmaya göre, pankreas kanseri riski yüksek alkol tüketimi (günde üçten fazla içki) ile artarken, düşük ila orta düzeyde alkol alımı ile bir ilişki bulunamamıştır (19) (20). Ayrıca, düşük ila orta düzeyde alkol alımı, halihazırda sigara içenler arasında artan pankreas kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (21), bu da sigara içmenin alkol-kanser ilişkisini değiştirebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, alkol ve sigara arasındaki ilişki çok yakındır. Bu nedenle, alkolü pankreas kanseri için bağımsız bir risk faktörü olarak dahil etmek zor olabilir.

**Obezite:** Pankreas kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türleri için artan risk ile ilişkilidir (22). Bazı araştırmalar obezitenin pankreas kanseri insidansını ve mortalitesini artırdığını bulmuştur (23) (24). Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırma, erken erişkinlik döneminde fazla kilolu olmanın (vücut kitle indeksi (BMI): 25,0 - 29,9 kg/m<sup>2</sup>) veya obez olmanın (BMI  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>) daha yüksek pankreas kanseri riski ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Ayrıca, ileri yaşlarda (30 - 79 yaş) obezite, daha düşük genel sağkalım ile ilişkilidir. Amerikan Kanser Derneği (ACR) çalışmasına göre, her iki cinsiyette de obezler arasında pankreas kanseri riski, obezlere kıyasla daha yüksekti (RR = 2.08). sağlıklı BKİ'ye sahip kişiler (18,5 - 24,9 kg/m<sup>2</sup>) (24). Yakın tarihli bir meta-analiz hem genel hem de abdominal şişmanlığın artmış pankreas kanseri riski ile ilişkili olduğu hipotezini doğrulamıştır (25). Ayrıca, fiziksel hareketsizlik (yağ birikimine ve aşırı kiloya neden olabilir) pankreas kanseri riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Diyet faktörleri: Diyetin, pankreas hastalıkları da dahil olmak üzere farklı sindirim hastalıkları ve kanser riskini etkilediği tahmin edilmektedir. Diyet faktörleri pankreas kanseri üzerinde %30-50'ye kadar etkilidir ve bazı gıdaların pankreas kanserinde risk oluşturduğuna, bazılarının ise koruyucu olduğuna dair kanıtlar vardır (26). Kırmızı et tüketimi (özellikle yüksek sıcaklıkta pişirildiğinde), işlenmiş etler, kolesterol, kızarmış yiyecekler ve nitrozamin içeren diğer yiyecekler pankreas kanseri riskini artırabilir (27) (28). Öte yandan, özellikle narenciye ve antioksidanlarla zenginleştirilmiş sebze ve meyvelerin tüketimi, koruyucu bir etkiye sahiptir (29).

Mesleki maruziyetler: Bir popülasyondaki mesleki maruziyetlere (metal işleme ve pestisitlere maruz kalmayı içeren) bağlı pankreas kanserinin etiyolojik fraksiyonu %12 olarak tahmin edilmiştir. Mesleki maruziyetler ve pankreas kanserine ilişkin bir meta-analiz, nikel maruziyeti ile riskin arttığını bildirmiştir (30). Kadmiyum, insan pankreasında biriktiği ve pankreas kanseri riskini ve ölüm oranını arttırdığı bilinen, esansiyel olmayan bir metaldir (31) (32). Arsenik maruziyeti artmış kanser riski ile ilişkilendirilmiştir, ancak pankreas kanseri ile ilişkisi hakkında çok az yayın yapılmıştır. Arsenikle kontamine olmuş süt tozuna çocuklukta maruz kalma ile pankreas kanserine bağlı ölümlerin neredeyse iki katı arasında potansiyel bir bağlantı yakın zamanda rapor edilmiştir (33) (34). Bunun tersi olarak, temel bir mikro besin maddesi olan selenyum ile ters orantılıdır (35). Selenyum ayrıca arsenik, kadmiyum ve kurşunun antagonisti olarak bu elementlere maruz kalmanın neden olduğu oksidatif stresi azaltan bir rol oynuyor gibi görünmektedir (36) (37). Son olarak, mesleki, çevresel etkileşimler üzerine yüksek kaliteli çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### **2.1.4.2. Değiştirilemez Risk Faktörleri**

Cinsiyet: Pankreas kanseri erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir. Küresel olarak, pankreas kanseri insidansı erkekler için 100.000'de 5.5 ve kadınlar için 100.000'de 4.0'dır (12).

Etnik köken: Birçok çalışma, pankreas kanseri insidansında ırklar arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir (38) (39). Afrikalı-Amerikalılar için pankreas kanseri insidans oranları Kafkasyalılardan daha yüksekken, insidans

Asyalı-Amerikalılarda ve Pasifik Adalılarında en düşüktür (40). Genel olarak, siyah insanlarda pankreas kanseri oranı riski, diğer herhangi bir ırk grubuna göre oldukça yüksektir (41).

**Diyabet:** Diyabeti olan hastalarda pankreas kanseri görülme sıklığı daha fazla bulunmuştur (42).

**Aile öyküsü:** Pankreas kanserli bireylerin yaklaşık %5-10'unun ailede pankreas kanseri öyküsü bildirdiği tahmin edilmektedir (42).

**Genetik faktörler:** Genetik varyasyon veya mutasyon (Germ-line mutasyonu), pankreas kanseri riskinin artmasında önemli bir rol oynar (43). Pankreas kanserli hastaların yaklaşık %10'unda gen varyasyonları veya hastalığı geliştirmeye yönelik değişiklikler gibi bazı genetik yatkınlıklar vardır (44). Pankreas kanserinin ayrıca kalıtsal polipoz olmayan kolon kanseri (Lynch sendromu), ailesel kanser gibi bazı kanser sendromları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (45).

**GIS (Gastro Intestinal Sistem) operasyonları:** İnce barsak ve ülser kanamalarına yönelik geçirilmiş operasyonlar sonrasında pankreas kanseri riskinin artabileceği öngörülmüştür (42).

### **2.1.5. Pankreas Kanseri Tanı**

Pankreas kanseri çoğunlukla ileri evrede teşhis edilir ve hastaların %80-90'ında tanı anında rezeke edilemeyen tümörler bulunur. Bunun meydana gelmesinin birkaç nedeni vardır. Birincisi, erken evre pankreas kanseri genellikle klinik olarak sessizdir. Semptomlar spesifik değildir ve safra yollarındaki bir tıkanıklığın bir sonucu olarak semptomlar gösterebilen karın ağrısı, sarılık, kaşıntı, koyu renkli idrar ve alkolik dışkıyı içerir (46). Ayrıca anoreksi, kilo kaybı (anoreksiden kaynaklanabilir), erken doyma, hazımsızlık ve mide bulantısı da görülür (47). Daha az yaygın belirtiler arasında pankreatik ve depresyon bulunur. Spesifik olmayan semptomların geniş bir yelpazesi göz önüne alındığında, kolanjit, kolesistit, kolelitiazis, koledokolitiazis, koledok kistleri, duodenal veya gastrik kistler dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere, ayırt edilmesi gereken çok sayıda hastalık vardır (48): Ülserler, gastrit, pankreatit, abdominal aort anevrizması, lenfomalar ve safra yolları, karaciğer, pankreas, mide veya bağırsağın birincil veya ikincil

kanserleri. Bu nedenle tanı gecikebilir veya atlanabilir, bu da pankreas kanserini otopsi çalışmalarında saptanan en yaygın tümör haline getirir (49) (50). Abdominal ultrasonografi, trifazik pankreas protokolü BT (tanı ve evreleme için standart olan (51) (52), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) (48) (53) ve sitolojik tanı için endoskopik ultrason eşliğinde ince iğne aspirasyonu (48) (duyarlılığın yaklaşık %80 olduğu bildirilmektedir (54)) tanıda kullanılmaktadır. Ek olarak, semptomatik hastalarda kanser antijeni 19-9'un kan düzeylerinin ölçümü tanıyı doğrulamaya ve rezeksiyon sonrası prognozu ve nüksü tahmin etmeye yardımcı olabilir (55); bununla birlikte, tümöre özgü olmadığı için asemptomatik hastalar için bireysel bir tarama aracı olarak ayakta duramaz (56).Tanı araçları ve çeşitli tanı yöntemlerinin kullanımındaki değişiklik, gelişmiş ve gelişmemiş ülkeler arasında farklılık gösterir.

#### **2.1.6. Pankreas Kanserinde Tedavi**

Pankreas kanseri tedavisi cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi ve palyatif bakımı içerir. Pankreas kanserinin evresine göre multidisipliner yaklaşımla tedavi seçenekleri seçilmektedir. Evre I/II hastalığı olan hastalara cerrahi rezeksiyon ve ardından adjuvan tedavi uygulanmalıdır. Bu hasta popülasyonunda neoadjuvan tedavi düşünülmelidir ancak tartışmalıdır, bununla birlikte Evre III sınırdaki rezektabl kanserli hastalar rezeksiyondan önce neoadjuvan tedavi görmelidir. Evre III lokal ileri hastalığı olan hastalar kemoterapi ve/veya kemoradyoterapi ile tedavi edilmelidir (57). Bu hastaların büyük çoğunluğu sonunda metastatik hastalık geliştirir, ancak seçilmiş hastalar yine de cerrahi rezeksiyon için düşünülebilir. Evre IV ve performans durumu iyi olan hastalar sistemik tedavi alabilir ve genel sağlık durumu kötü olanlara destekleyici tedavi verilmelidir (58).

#### **2.2. Polimetoksile Flavonlar**

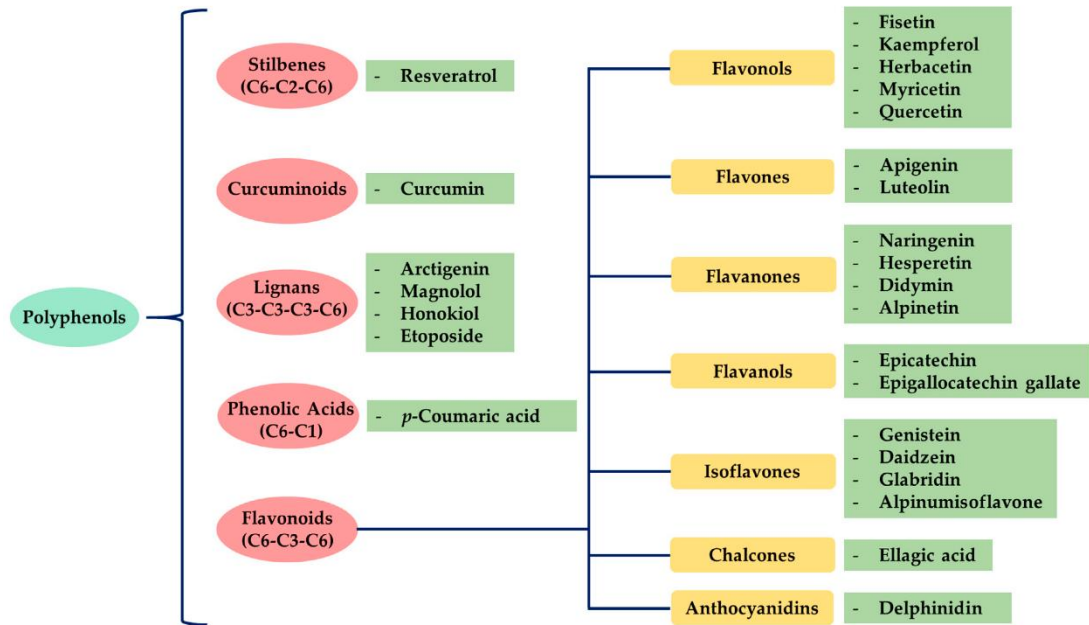
Polifenoller, çok sayıda fenolik halkanın varlığı ile karakterize edilen bitkiler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. Polifenollerin ana kaynakları meyveler, üzümler, zeytinyağı, kakao, fındık, yer fıstığı ve 100 g taze ağırlık başına 200-300 mg'a kadar polifenol içeren diğer meyve ve sebzelerdir. Ayrıca, çay, şarap veya bira gibi bu meyvelerden üretilen ürünler de önemli miktarlarda polifenol içerir. Fenolik

grupların sayısı ve özellikleri, her bir polifenol sınıfının (biyolojik, kimyasal ve fiziksel özellikler) özel özelliklerinden sorumludur (59).

Bitkilerde, polifenoller farklı roller sunar:

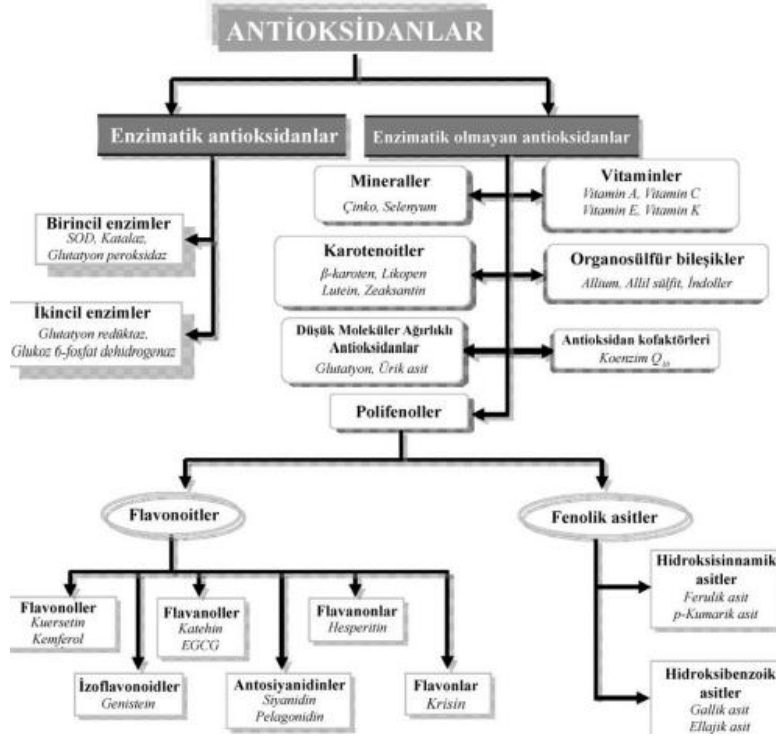
- Bazıları bitki fizyolojik fonksiyonları için gereklidir.
- Stres durumlarına ve çeşitli uyarılara (su, ışık vb.) karşı savunma süreçlerine katılır

Fenolik halkaların sayısına ve bu halkaların yapısal elemanlarına göre kurulmuş birkaç polifenol sınıfı ve alt sınıfı vardır. **Şekil 4** de ana polifenol gruplarının sınıflandırılmasını gösterilmektedir (59).



**Şekil 4:** Polifenollerin ve Flavonoidlerin Sınıflandırılması ve Antikanser Aktivitesi Olan Her Bir Alt Grubun Örnekleri (59).

Enzimatik olmayan antioksidanlar grubunda yer alan polifenoller; flavonoidler ve fenolik asitler olarak iki gruba sınıflandırılmıştır. Tangeretin Flavonoidlerin metillenmiş grubu olan Polimetoksile flavon grubunda yer alırken Delfinidin Flavonoidlerin antosiyaninler grubunda yer alır.



Şekil 5: Antioksidanların Sınıflandırılması (60)

### 2.2.1. Tangeretin

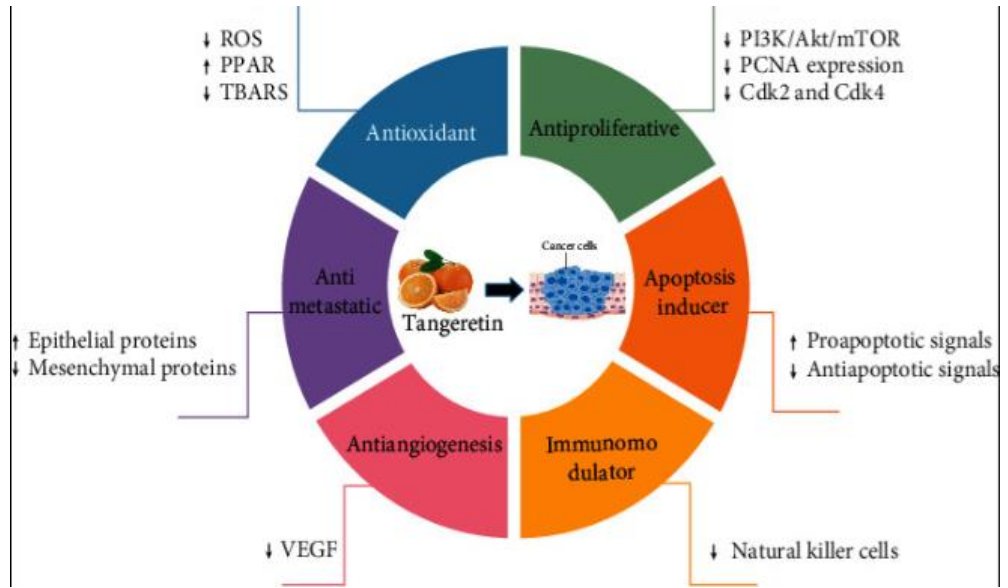
Flavonoidler, polifenolik yapıya sahip doğal ürünler sınıfıdır. Bu fitokimyasallar meyvelerde, sebzelerde, çayda, kakaoda ve bazı içeceklerde yaygın olarak bulunur. Şimdiye kadar, çeşitli bitki türlerinden yaklaşık 9000 bitki flavonoid türü tanımlanmıştır (61).

Flavonoidler flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonoidler, antosiyaninler ve kalkonlar olarak sınıflandırılır. Kimyasal olarak flavonoidlerin yapısı, heterosiklik halka (C) ile bağlantılı iki benzen halkasından (A ve B) oluşan on beş karbonlu bir iskelete dayanır. Glikozitler, aglikonlar ve metillenmiş türevler olarak ortaya çıkar (62).

PMF'ler, *Citrus reticulata* (mandalina), *Citrus paradisi* (greyfurt), *Citrus sinensis* (tatlı portakal) ve *Citrus aurantium* L. (ekşi portakal) dokularında ve kabuklarında bulunan bir grup metoksilatlı fenolik bileşiktir. Ana polimetoksile flavonlar (PMF'ler) mevcuttur. Narenciyede bulunan başlıca polimetoksile flavonlar (PMF'ler); tangeretin, nobiletin ve sinensetin'dir.

### 2.2.1.1. Tangeretin ve Anti-kanser Özellikleri

Farklı flavonoid, farklı moleküler hedefleri modüle ederek anti-kanser özelliği gösterir (63). Bu flavonoidler arasında tangeretin, narenciye meyvelerinde yaygın olarak bulunan bir grup polimetoksile flavonlara aittir (64). Birçok çalışma, tangeretin'in çeşitli kanser hücrelerinde sitotoksikite sergilediğini, hücre döngüsünü durdurduğunu, apoptozu indüklediğini, anjiyogenezi ve metastazı engellediğini göstermiştir. Ayrıca çeşitli antioksidan enzimleri modüle ederek DPPH radikallerini, hidroksil radikallerini, hidrojen peroksitleri, süperoksit anyon radikallerini temizler (65). Tangeretin'in kemoteropatik ilaçlarla kombine tedavisi, kolon, mesane, lenfoblastoid lösemi ve yumurtalık kanserinde ilaçların duyarlılığını arttırmıştır (66) (67). Ayrıca radyasyonun duyarlılığını ve zayıflatılmış metastazı arttırmış ve hayvan modelinde hücresel metabolik enerjiyi modüle etmiştir (68).



Şekil 6: Tangeretin'in Antikanser Özellikleri Mekanizması (69).

## 2.3. Antosiyaninler

### 2.3.1. Delfinidin

Flavonoidlerin bir alt ailesi olan antosiyaninler (Yunanca anthos = çiçek ve kianos = mavi), bitkilerde en bol bulunan suda çözünür pigmentlerdir (70). Antosiyaninler en yaygın olarak bir trisakarit, disakarit veya monosakarit birimi



sunar. Antosiyanidin veya antosiyanin aglikonlar, bir heterosiklik halka (C) ile ayrılmış iki benzoil halkasından (A ve B) oluşan flavilyum katyonunun moleküler yapısına bağlı şeker parçasına sahip değildir. R1 ve R2 konumlarında hidroksit (OH), bir hidrojen (H) atomu veya metoksi gibi bir ikame grubunun varlığı, bunları farklı türlere ayırdı. Delphinidin, hem R1 hem de R2 konumlarında OH ikamelerini tutan flavilyum katyonu tarafından temsil edilen bir antosiyanidindir. Delphinidin bazı antosiyaninler 2, 4, 6-trihidroksibenzaldehit, gallik ve siringik asitlere dönüştürülür (70).

Antosiyaninler ve fonksiyonel gıdalar konusundaki yeni araştırma çabaları ve başarıları, daha sürdürülebilir tarım, sağlık ve çevrelere katkıda bulunacaktır. Antosiyanin aglikonları, antosiyanidinler olarak bilinir. Antosiyanidinlerin kabaca 23 farklı çeşidi vardır ve en sık görülenleri siyanidin, delphinidin, pelargonidin, malvidin, peonidin ve petunidindir. Delphinidin (2 (3,4,5-trihidroksifenil) kromilyum-3,5,7-triol), en değerli polifenol antosiyanidin sınıflarından biridir ve önemli biyolojik aktiviteye sahiptir. Çok çeşitli parlak renkli meyve ve sebzelerde (örneğin üzüm, çilek, tatlı patates ve pigmentli lahana) ve diyet takviyelerinde bulunan en yaygın pigmentli antosiyanidinlerden biridir (71). İkincil yapısal değişiklikler, delphinidin'in stabilitesine, biyoyararlanımına ve metamorfoza yardımcı olur. Örneğin delphinidin'in glikosilasyonu, in vivo olarak fizikokimyasal ve biyolojik değişkenler tarafından değiştirilen gelişmiş stabilite ile ilişkilendirilmiştir (72). Delphinidin, antioksidan, anti inflamatuvar, hepatoprotektif, antidiyabetik, antimikrobiyal, nöroproteksiyon, anti-adipogenez, kardiyovasküler koruma ve antikanser etkileri dahil olmak üzere sağlığı geliştirici birçok aktiviteye sahiptir.

### **2.3.2.1. Delfinidin ve Anti-kanser Aktiviteleri**

Antosiyaninler ve antosiyanidinler gibi biyolojik olarak aktif fito-bileşenler, kanseri önlemek için çeşitli ve ilave mekanizmalar göstermiştir. Delphinidin ve glikozitlerinin olası mekanizmaları arasında apoptoz ve otofajinin indüklenmesi, hücre göçünün baskılanması, anti proliferasyon, anti-anjiyogenez, sinyal yollarının modülasyonu yer alır (73) (74). Antosiyanidinler, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), trombosit türevli büyüme faktörü reseptörü (PDGFR) ve vasküler

endotelyal büyüme faktörü (VEGF)/VEGF reseptörü (VEGFR) bulunan reseptör tirozin kinazları (RTK'ler) hedefleyerek kanser hücresi proliferasyonunu azaltabilir ve Ras/mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/Akt sinyal yollarını modüle edebilir. (75) (76). Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolunun (kanonik Wnt sinyal yolu olarak da bilinir) delphinidin tarafından baskılanması da kanseri önleyici ve terapötik etkilerini değerlendirmek için başka bir yaklaşım olarak kabul edilir (77). Delphinidin ayrıca nükleer faktör-E2 ile ilişkili faktör 2/antioksidan yanıt elemanı (Nrf2/ARE) sinyal sistemi yoluyla antioksidan elde etmek için faz II antioksidan enzimlerin ekspresyonunu değiştirerek kanseri önleyebilir (78) ve inflamasyonu baskılayabilir. Siklooksijenaz-2'yi (COX 2) düşürmek ve nitrik oksit sentaz (iNOS) sentezini indüklemek için PI3K/Akt ve nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) yolları üzerinde çalışarak. Delphinidin, RTK aktivitesini azaltır ve MAPK yolunu ve ayrıca kanserin başlangıcında malign transformasyonu önlemeye yardımcı olabilecek aktivatör protein 1 (AP-1) faktörünü hedefler (79). Antosiyaninler, ürünleri CDK-1 ve CDK-2 ekspresyonunu aşağı regüle etmek için çoklu sikline bağımlı kinazlar (CDK'ler) ile birleşebilen p53, p21 ve p27 genlerinin ekspresyonunu indükleyebilir ve ekspresyonunu inhibe edebilir. hepsi CDK inhibitörlerinin ekspresyonunu teşvik eden ve kanser hücrelerinin ölümüne neden olan siklin A, siklin B, siklin D ve siklin E. Antosiyaninler, reaktif oksijen türleri (ROS'ler) ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK)/p38-MAPK aracılığıyla aracılık edilen kaspazları aktive ederek kanser hücrelerinin ölmesine neden olur. VEGF sinyal yolunu bloke ederek ve matris metalloproteinazlar-2/9 (MMP-2/-9) yoluyla hücre dışı matris parçalanmasını azaltarak, antosiyaninler anti-metastatik etkilere sahip olabilir (80).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney planı

Yöntem / Teknik: PANC-1 pankreas kanseri hücre hatlarında tangeretin ve delfinidin'in farklı dozları ve kombinasyonları in vitro hücre proliferasyonu, koloni formasyonu ve hücre migrasyonu testleri ile değerlendirildi, önemli düzeyde etkiler ortaya konulursa western blot ile hücre ölümüne ilişkin proteinlerin düzeylerindeki değişimler incelendi. Elde edilen veriler SPSS v15.0 kullanılarak analiz edildi.

Proje kapsamında aşağıda belirtilen materyal ve yöntemler kullanıldı:

- 1) Hücre Kültürü
- 2) MTS Hücre Proliferasyonu Testi
- 3) Hücre Koloni Formasyon Testi
- 4) Hücre Migrasyonu Testi (Wound Healing/Yara İyileşmesi)
- 5) Western Blot Analizi
- 6) Flow Sitometri Analizi

#### 3.2. Deneyde Kullanılan Gereçler

##### 3.2.1. Kanser Hücre Hatları

Çalışmada kullanılan pankreas kanseri hücre hatları (PANC-1 hücre hattı American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) firmasından temin edilerek kullanıldı.

Çalışma için aşağıdaki kimyasal, tampon ve solüsyonlar kullanıldı; 10 X PBS (Phosphate buffered saline), 10 X TBS (Tris buffered saline) stok solüsyonu, Yürütme/Transfer tamponu stok solüsyonu, 1 X Yürütme tamponu, 1 X Transfer tamponu, 1 X TBS-Tween-20, Protein lizis tamponu çalışma solüsyonu, % 10'luk stok SDS çözeltisi, PCR yürütme tamponu (Tris Borat EDTA-TBE 10 X Stok), 3X yükleme tamponu.

<b>Malzeme</b>	<b>Marka</b>
DMEM Besiyeri 10 x 500 ml	GIBCO
Tripsin 0.25% EDTA 100 ml	GIBCO
Steril 96 kuyucuklu plaka	BD FALCON
Steril 15 ml falcon tüp	FISHER
Steril 50 ml falcon tüp	FISHER
Steril pipet 10 ml'lik	BD FALCON
Steril 25 cm2 flask	BD FALCON
Steril 75 cm2 flask	BD FALCON
Otomatik pipet uçları (0-10 µl)	
Otomatik pipet uçları (10-100 µl)	
Otomatik pipet uçları (200-1000 µl)	
Ependorf (0,2-0,5 ve 1,5ml)	
Şarj edilebilir pipetleme cihazı	FISHER
Steril DPBS	GIBCO
Penisilin/Streptomisin 100 ml	GIBCO
Fetal Bovine Serum 500 ml	GIBCO
Tangeretin 5mg	ADOOQ BIOSCIENCE
Delfinidin 10 mg	BIOSYNTH

**Tablo 1:** Çalışmada Kullanılan Malzemeler Listesi

### **3.3. Deneyde Kullanılan Yöntemler**

#### **3.3.1. Hücre Hatları ve Kültür Koşulları**

PANC-1 pankreatik adenokarsinoma hücre hattı besiyeri ortamında ve 37°C, %5 CO<sub>2</sub>'lik inkübatörde inkübe edilerek çoğaltıldı, pasajlandı. Besiyeri ortam içeriği ise DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)/F12, %10 Fetal Bovine Serum (FBS), Penicillin-streptomycin ve L-glutamin'dir. Hücreler 75cm<sup>2</sup>'lik flasklar içinde konfluent olduğunda (%80-90 oranında, yaklaşık 5-7 gün içinde) tripsin ile hücreler yüzeyden ayrılıp bir falcon tüpe aktarıldı ardından 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Oluşan hücre pelletine tekrar besiyeri eklendi, ardından tripan mavisi ve thoma lamı ile canlı/ölü hücre oranı ve hücre yoğunluğu hesaplandı.

##### **3.3.1.1. Malzemelerin Sterilizasyonu**

Kültür çalışmaları için bütün malzemeler ve kimyasal ajanlar sterilizasyonları sağlandıktan sonra kullanıldı. Radyoaktivite ile sterilizasyonu sağlanmış olan kültür flaskları ve hazır şişelenmiş hücre ortamları ticari olarak firmalardan temin edildi. Fazla ısılara dayanamayan malzemeler, 115°C sıcaklık ve 8 kg basınç altında 20 dk kadar, cam yapıdaki malzemeler de 160°C' sıcaklıkta 60 ila 90 dk kadar süreyle otoklavlanarak steril edildi. Sıvı maddelerin sterilizasyonu por çapı 0.22 µm'lik mikrobiyolojik şırınga filtrelerinden geçirilerek sağlandı. %70'lik alkol ve bazı spesifik dezenfektanlar ile ortam ve kabin temizlikleri gerçekleştirildi. Steril kabin içine sokulan malzemeler %70'lik alkolden geçirilmek amacıyla içeriye alındı. Tüm işlemler esnasında ise steril nitril eldivenler kullanıldı.

##### **3.3.1.2. Hücre Hatlarının Çoğaltılması ve İdame Edilmesi**

Hücrelerin kültüre edilmesindeki bütün süreçler laminar hava akımına sahip steril Class II kabin içinde uygulandı. -80°C'lik ortamda dondurulmuş şekilde tutulan hücreler, ilk olarak 37°C'deki su banyosu içinde çözülüp, ardından hücreler düşük devirde santrifüje edilip, üst kısımdaki DMSO içeren supernatant uzaklaştırıldıktan sonra T75 filtreli hücre kültürü flasklarına ekildi. Çalışmada kullanılan hücre hatları DMEM/F12 besiyerine %10 oranında ısıyla inaktive fetal sığır serumu (FBS) eklenmiş ortam içinde, 37°C sıcaklık, %5'lik CO<sub>2</sub> ve neme sahip inkübatör içinde

çoğaltıldılar. Penisilin ve streptomisin bütün kültür ortamlarına 100 ünite/ml olacak şekilde eklendi. Hücre hatlarındaki canlılık, çoğalma yoğunluğu ve enfeksiyon durumları inverted mikroskop altında günlük şekilde takip edildi. Kültür flaskları içinde %80'lik hücresel yoğunluk tespit edildiğinde hücreler pasajlanarak çoğaltılmaya devam edildi.

### **3.3.1.3. Hücrelerin Pasajlanması**

Yeterli miktarda çoğalma gösteren flask içindeki kültür ortamı steril pipet ile çekilerek uzaklaştırıldı. Kültür ortamı uzaklaştırılmış hücrelerin üzerine 0.22 µm'lik şırınga filtresiyle sterilize edilmiş ve 1X'lik Tripsin-EDTA solüsyonundan 2 ml kadar eklendi. Kültür flaskları %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 37°C'de ortalama 5 dakika kadar bekletildikten sonra hücrelerin flask yüzeyinden ayrılma durumları mikroskop altında değerlendirildi. Hücrelerin yüzeyden ayrıldıklarından emin olunduktan sonra aynı flask içine konulan tripsin miktarının 2 katı kadar ortalama 4 ml taze besiyeri eklendi. Bir steril pipet yardımıyla flask için bu karışım ile yıkanarak hücreler süspansiyon edildi. Ardından tüm flask içindeki ortalama 6 ml'lik karışım steril falkon santrifüj tüplerine alındı. Tüpler 1000 rpm devir hızında yaklaşık 5 dk kadar santrifüje edildi. Sonrasında tüplerdeki süpernatantlar uzaklaştırıldı. Dipte kalmış hücre peleti 2-3 ml taze besiyeri ile çözüldü. İhtiyaca göre yeni totalde T25 için 4 ml ve T75 için 10 ml besiyeri içerecek şekilde hazırlanan flasklar içine istenilen hücre yoğunluğuna göre tüp içindeki çözülmüş hücre peleti süspansiyonundan hücre ilavesi yapılarak yeni pasaj flaskları tamamlandı. Pasajı yeni yapılmış flasklar içindeki hücre yoğunluğu düzenli olarak mikroskop altında takip edildi.

### **3.3.1.4. Hücrelerin Dondurulması, Saklanması ve Çözülmesi**

Dondurulma öncesi istenilen yoğunluğa gelmiş flasklar içindeki hücreler tripsin ile yüzeyden kaldırılıp 1000 rpm 31 devirde 5 dk santrifüje edildi. Ardından süpernatant uzaklaştırılarak elde edilen pelet halindeki hücrelerin üzerine dondurma ortamı olarak %10 oranında DMSO + %90 oranında taze besiyeri içeren sıvı eklenerek pellet yavaş biçimde süspansiyon edildi. Süspansiyon 1,5 ml olacak şekilde kriyo tüplere dağıtıldı ve -80°C'lik dondurucuda bir tam gece bekletildikten sonra sıvı azot içeren dondurma tankına alındı. Hücrelerin çözülmesinde; sıvı azot

tankında saklanmış kriyo tüp içindeki hücre süspansiyonu 37°C'lik su banyosunda hızlı bir biçimde çözüldü. Ardından bu 1-1,5 ml'lik süspansiyonlar üzerine taze kültür ortamı eklenerek santrifüj tüpüne alındı. 1000 rpm devirde 5 dakika kadar santrifüj sonrasında süpernatant atıldı. Hücre pelleti, serum içeren yaklaşık 4 ml'lik taze kültür ortamıyla yeniden süspansiyon edilip T25 kültür flasklarına ekildi.

### **3.3.1.5. Hücre Sayımı**

Hücre sayımı öncesinde hücreler yine pasajlanma sürecindeki gibi tripsinizasyon işlemine tabi tutuldu. Santrifüj sonrası süpernatantlar uzaklaştırılarak dipteki hücre pelleti 5 ml kültür ortamı içinde yeniden süspansiyon edildi. Bu sıvı içinden 20 µl'lik örnek alınıp Tripan Blue boyası ile muamele sonrası Neubauer lamındaki sayım alanında değerlendirildi.

### **3.3.1.6. Tripan Blue ile Boyama**

Tripan, ölmüş hücrelerin ya da dokuların boyanmasında aktif olarak kullanılan vital bir ajandır. Hücre membranının seçici geçirgenliğinden yararlanan bu yöntemde canlı hücreler boyayı içlerine almazken, ölmüş olan hücreler zar bütünlüklerindeki bozulmalar neticesinde boyayı içine alıp belirgin boyanma göstermektedirler. Bu sebeple ölmüş hücreler sayım esnasında mavi renge boyanmış olarak görülmektedir. Boyama işlemi alttaki basamaklar takip edilerek uygulandı:

1. Ependorf tüpü içine Tripan Blue boyası ve sayım yapılacak hücre süspansiyonu içinden edinilen örnek 1:1 oranında konuldu ve pipetlendi.
2. Yeni karışımdan 10-15 µl kadar alınıp hemositometri lamı üzerinde lamel ile kapatılmış sayma alanı içine dolduruldu.
3. Bu lam üzerinde bulunan sayım alanındaki 1 mm'lik kare alan içindeki bütün hücreler sayıldı. Bu basamak 3'er kez tekrarlanıp ortalama değeri alındı.
4. Boya almamış canlı hücreler ve mavi renge boyanmış ölü hücreler ayrı olacak şekilde sayıldı. Hücrelerin sayım alanında yoğun kümeler biçiminde

görülmesi durumu %10'dan daha fazla olduğu zaman, hücre yayılımının sağlanması için basamaklar başından yenilendi.

5. Hemositometri lam sayım alanındaki her bir kare 0.1 mm<sup>3</sup> ya da 10<sup>-4</sup> cm<sup>3</sup>'lük toplam hacim miktarının göstermektedir. 1cm<sup>3</sup>, yaklaşık olarak 1ml'lik düzeye eşit olduğundan dolayı, her bir ml içinde bulunan hücrelerin sayısı şu formülle tespit edildi: Hücrelerin Sayısı = Her Bir Kare İçindeki Hücre Sayısı X Dilüsyon Faktörü (2) X 10<sup>4</sup> / ml

### 3.3.2. MTS Hücre Proliferasyon Testi

Hücre canlılığını ve proliferasyonunu tayin etmek için kullanılan MTS testi (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium salt), 37°C'de yaşayan hücrelerin mitokondriyal aktiviteleri sonucu, tetrazolium tuzunun (suda çözünebilen formazan ürünü), renkli bir yapıya dönüştürülmesi ve bunun ölçülmesi temeline dayanır. Dehidrogenaz enzimlerinin ürettiği formazan miktarı, kültürdeki canlı hücre sayısı ile doğrudan orantılıdır ve 490 nm'de ölçülebilir.

PANC-1 hücreleri için reaksiyonlar kuruldu ve her reaksiyon üç kere tekrarlandı. Hücreler, 100 µl'de ortalama 1 x 10<sup>3</sup> hücre/kuyucuk olacak şekilde 96-kuyucuklu plakalara ekildi. 24 saat sonra, besiyeri uzaklaştırıldı ve hücrelere tangeretin ve delfinidin farklı dozları uygulandı (0.1-1-5-10-50-100 µM ve 48 saat süreyle).

1 µM Tangeretin için 0,1 µL ara stok+999,9 µL DMEM
5 µM Tangeretin için 0,5 µL ara stok+999,5 µL DMEM
10 µM Tangeretin için 1 µL ara stok+999 µL DMEM
50 µM Tangeretin için 5 µL ara stok+995 µL DMEM
100 µM Tangeretin için 10 µL ara stok+990 µL DMEM

**Tablo 2:** Farklı Tangeretin Konsantrasyonlarının Hazırlanması



1 $\mu$ M Delfinidin için 0,1 $\mu$ L ara stok+999,9 $\mu$ L DMEM
5 $\mu$ M Delfinidin için 0,5 $\mu$ L ara stok+999,5 $\mu$ L DMEM
10 $\mu$ M Delfinidin için 1 $\mu$ L ara stok+999 $\mu$ L DMEM
50 $\mu$ M Delfinidin için 5 $\mu$ L ara stok+995 $\mu$ L DMEM
100 $\mu$ M Delfinidin için 10 $\mu$ L ara stok+990 $\mu$ L DMEM

**Tablo 3:** Farklı Delfinidin Konsantrasyonlarının Hazırlanması

**Tablo 2** ve **Tablo 3**'te gösterildiği şekilde hesaplanmalar yapılarak kuyucuklara eklendi.

MTS ve PMS (phenazine methosulfate) içeren solüsyondan (20:1 v/v) 20  $\mu$ l alınarak 100  $\mu$ l besiyeri içeren her bir kuyuya eklendi. Kontrol , DMSO ve Cisplatin 5  $\mu$ g grupları ile birlikte , 37°C'de 1-2 saat inkübasyondan sonra spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Ortalamalar hesaplanmış ve Microsoft Excel programı yardımıyla ortalama absorpsiyon  $\pm$  standart sapma baz alınarak grafikler bulgular kısmında belirtildi.

Bu şekilde ayrı ayrı Tangeretin ve delfinidin için etkin dozlar (IC50) belirlendi ve sonrasında her iki ilacın etkin doza yakın farklı dozları kombine edildi. Buna göre kombinasyonlar **Tablo 4** de belirtildiği gibi eklendi. Kombinasyonunun hücre proliferasyonu üzerine etkiler değerlendirildi.

Tangeretin 0.1 $\mu$ M + Delfinidin 0,1 $\mu$ M
Tangeretin 1 $\mu$ M + Delfinidin 1 $\mu$ M
Tangeretin 1 $\mu$ M + Delfinidin 1 $\mu$ M
Tangeretin 0.1 $\mu$ M + Delfinidin 1 $\mu$ M
Tangeretin 0,1 $\mu$ M + Delfinidin 5 $\mu$ M

**Tablo 4:** MTS Testi için Kullanılan Tangeretin ve Delfinidin Dozları (48 saat)

2. İlaçlama tangeretin ve delfinidin farklı dozları için yapıldı. (1-5-10-50-100-250 $\mu$ M). İlk uygulamadan farklı olarak 72 saat süreyle dozlar yapıldı. Kuyucuklara kontrol, DMSO, Cisplatin 5 $\mu$ g/ml grupları ekildi. Kombinasyonlar ise **Tablo 5**'de belirtildiği gibi eklendi.

Tangeretin 1 $\mu$ M + Delfinidin 1 $\mu$ M
Tangeretin 5 $\mu$ M + Delfinidin 5 $\mu$ M
Tangeretin 10 $\mu$ M + Delfinidin 10 $\mu$ M
Tangeretin 1 $\mu$ M + Delfinidin 5 $\mu$ M
Tangeretin 1 $\mu$ M + Delfinidin 5 $\mu$ M
Tangeretin 5 $\mu$ M + Delfinidin 1 $\mu$ M

**Tablo 5:** MTS Testi için Kullanılan Tangeretin ve Delfinidin Dozları (72 saat)

### 3.3.3. Koloni Formasyon Testi

PANC-1 hücreleri, 6 kuyucuklu plakalara her 2 ml'de ortalama 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi. 24-48 saat inkübasyon sonrası hücrelerin yüzeye tutunduklarından emin olunduktan sonra tangeretin ve delfinidin uygulamaları (IC50 ve yarısı düzeyde) gerçekleştirildi. Kuyucuklara sırasıyla

- Kontrol
- DMSO
- Cisplatin 5 $\mu$ g/ml
- Tangeretin 10  $\mu$ M
- Delfinidin 10  $\mu$ M
- Tangeretin 50  $\mu$ M
- Delfinidin 50  $\mu$ M
- Tangeretin 100  $\mu$ M
- Delfinidin 100  $\mu$ M
- Tangeretin 5  $\mu$ M+Delfinidin 5  $\mu$ M
- Tangeretin 10  $\mu$ M+Delfinidin 10  $\mu$ M
- Tangeretin 50  $\mu$ M+Delfinidin 50  $\mu$ M

1 hafta sonra ikinci kez ilaç uygulamaları yapıldı ve yaklaşık 2. hafta sonunda tedavi uygulanmamış kontrol kuyucuğundaki koloni sayısı ve yoğunluğu dikkate alınarak deney sonlandırıldı. Besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklar bir kez PBS ile yıkandı ve %10'luk kristal viyole ile boyandı. Son olarak da plakalardan resimler çekilerek kuyulardaki koloni sayıları ya da histogramik değerleri karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirildi.

### **3.3.4. Hücre Migrasyonu Testi (Wound-healing/Yara İyileşmesi)**

Yara iyileşmesi testi basit, ucuz, kolay uygulanabilir ve in vitro hücre migrasyonunun değerlendirilmesinde ilk olarak geliştirilmiş bir metottur. Bu yöntem in vivo yara iyileşmesi sırasındaki hücre migrasyonunu açıklamaktadır. PANC-1 hücreleri 6-kuyucuklu 2 adet plate 15 x 10<sup>4</sup> hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi ve 24 saat kadar inkübasyona bırakıldı. Sonrasında uygun dozda (IC50 ve yarısı düzeyde) tangeretin ve delfinidin ile uygulamalar gerçekleştirildi. (Tangeretin 10-25-50 µM, delfinidin 10-25-50 µM ve tangeretin 5 µM+delfinidin 5 µM, tangeretin 10 µM+delfinidin 10 µM, tangeretin 25 µM+delfinidin 25 µM). 3 kuyucuğa kontrol, DMSO ve Cisplatin 0,5 µg olarak sırayla eklendi. DMEM uygulaması sonrası her bir kuyu için 100 µl'lik pipet ucu ile çizik atılarak yara modelleri oluşturuldu. Hemen ardından inverted mikroskopta her kuyucuk için oluşturulan yaraların yaklaşık aynı bölgelerinden 2'er adet görüntü alındı ve bu süre 0. saat olarak kaydedildi. Hücreler ilaçlar ile 48 saat kadar tedaviye bırakıldı. Oluşturulan yaralar üzerindeki 2 ayrı noktadan mesafeler 0, 24, 48 ve 72. saat için görsel olarak karşılaştırılarak değerlendirildi.

### **3.3.5. Western Blot Analizi**

İlk deneylerde elde edilen sonuçların protein düzeyinde doğrulanması ve incelenmesi için Western Blot yöntemi kullanıldı. tangeretin ve delfinidin tedavisinden sonra, hücreler tripsinize edildi, ardından santrifüj işlemi ile toplandı, -80 derecede saklandı. Tüm hücre (wholecell) lizatları daha önce belirtildiği şekilde lizis tampon kullanılarak elde edildi.

Hücrelerin Lizatlanması : 12adet pellet ile çalışıldı

Lizis Tamponu :

- 1,2 ml için 1M Tris (pH7.5)= 24 µl
- 1,2 ml için 0.5 M EDTA = 12 µl
- 1,2 ml için NP-40= 12 µl
- 1,2 ml için Distile su= 1,128 ml
- 1,2 ml için Halt Proteaz inhibitör kokteyli (Pierce)= 12 µl

Hücreler – 80 °C den çıkarıldıktan sonra 30 dk buzda bekletildi. Üzerine 80 l lizis tamponu ilave edilip her 5 dakikada bir önce 20 sn sonra 10 sn en son 5 sn süreyle vortekslenerek 20 dakika daha buzda bekletildi. Bekletilme işlemi sonunda 14.000 rpm\* 15 dk +4 °C de santrifüj edilmiştir. Supernatant protein miktar tayini için kullanıldı.

Total protein konsantrasyonu protein assay kit kullanılarak belirlendi. Her örnekten 40 µg total protein içeren alikotlar % 4-20 akrilamid içeren sodium dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezine (SDS-PAGE) tabi tutuldu ve ardından PVDF (Polyvinylidene Difluoride) membranlara transfer edildi. Tris-buffered saline–Tween 20 (TBS-T) içinde %5 yağsız süt tozu ile bloklanmış membranlar, Bax, Bcl-2 antikoru gibi hücre ölümü ile ilgili primer antikolar ile muamele edildi. Antikolar %5 yağsız süt tozu içeren TBS-T içerisinde dilüe edilecek ve 4°C’de bir gece boyunca inkübe edildi. Membranlar TBS-T ile yıkandıktan sonra horseradish peroxidase-konjuge anti-tavşan ya da anti-fare sekonder antikolar ile inkübe edildi. Anti-tavşan ya da anti-fare sekonder antikolar eşit protein yüklemesi yapıp yapılmadığının değerlendirilmesinde β-aktin ekspresyonunu görüntülemeye kullanıldı. Kemiluminesens belirleme Chemi-glow tespit araçları ile gerçekleştirildi. Blotlama sonuçları kemiluminesens filtreye sahip kameralı bir sistem ile görüntülenmiş ve miktarlar cihaza ait uygulama programındaki dansitometre yada ImageJ programı vasıtasıyla belirlendi.

### **3.3.6. Flow Sitometri Analizi**

Normalde hücre zarının sitoplazmik kısmında membran lipidlerinden olan fosfatidilserin (PS) bulunmaktadır. Eğer ki hücrede apoptoz başlar ise normalde iç yüzeyde bulunan lipid molekülleri hücre membranının dış yüzeyine translokasyon şekillendirirler. Zar bütünlüğünün bozulmadığı apoptozun erken dönemlerinde

bahsedilen yer değiştirme meydana gelmektedir. AnneksinV hücrenin dış kısmına transloke olan bu lipid molekülüne bağlanabilen bir protein olduğundan dolayı, floresan bir maddeyle (FITC) işaretleme yoluyla apoptotik hücre görüntülenebilmektedir. FITC-Anneksin-V kompleksinin hücre membranında bulunan fosfatidilserine bağlanma düzeyi Flow Sitometri analizi ile görüntülenip değerlendirilebilmektedir. Nekrotik hücrelerde de Anneksin-V bağlanışı görülebmesinden dolayı ikinci boya olarak propidyum iyodür kullanılmaktadır. Annexin V-FITC (yeşil floresan) ve de non-vital boya olan propidyum iyodür (kırmızı floresan) ile aynı zamanda boyanan hücreler sonrasında canlı hücreler (FITC-PI-), erken apoptotik hücreler (FITC+PI-) ve geç apoptotik veya nekrotik hücrelerin (FITC+PI+) ayırt edilebilmesine imkan sağlamaktadır (81) (82).

PANC-1 hücrelerine uygulanan ilaçların apoptoza neden olup olmadığı Annexin V boyası kullanılarak gerçekleştirilen Flow Sitometri (Fluorescence-activated cell sorting (FACS)) ile incelendi. Önce hücreler 6 kuyucuklu plakalara  $2,5 \times 10^5$  hücre/flask olacak şekilde ekildi. Hücrelere 24 saat sonra ilaç uygulamaları yapıldı sonrasında 72 saat kadar tedavi edildi. sonrasında Annexin V/propidium iodide (PI) (BD Pharmingen FITC–Annexin V kit, San Diego, CA) boyası uygulandı. Apoptotik hücrelerde membran fosfolipidi fosfatidilserin (PS), membranın iç kısmından dış kısmına translokasyona uğramakta ve PS-bağlayan protein, Annexin V kullanılarak tespit edilebilmektedir. Bu şekilde Annexin V ile bağlanmış pozitif hücreler teyit edilerek FACS yöntemi ile değerlendirildi (83). FACS analizi, örneklerin protokole göre hazırlığının yapılmasının ardından BD Accuri™ C6 Plus Personal Flow Cytometer cihazında gerçekleştirildi.

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Çalışmada gerçekleştirilen in vitro deneyler birbirinden bağımsız olarak 3 kez tekrarlandı. İn vitro veriler grafiklerde ortalama  $\pm$  SD (Standart Sapma) değerleri olarak ifade edildi. Sonuçlar SPSS v15.0 paket programı kullanılarak değerlendirilecektir. İkidenden fazla farklı grubu karşılaştırmak için tek yönlü varyans (One-way ANOVA) analizi ve Tukey's Post Hoc testi uygulandı. Önemlilik düzeyi  $p < 0,0001$  olarak alındı.

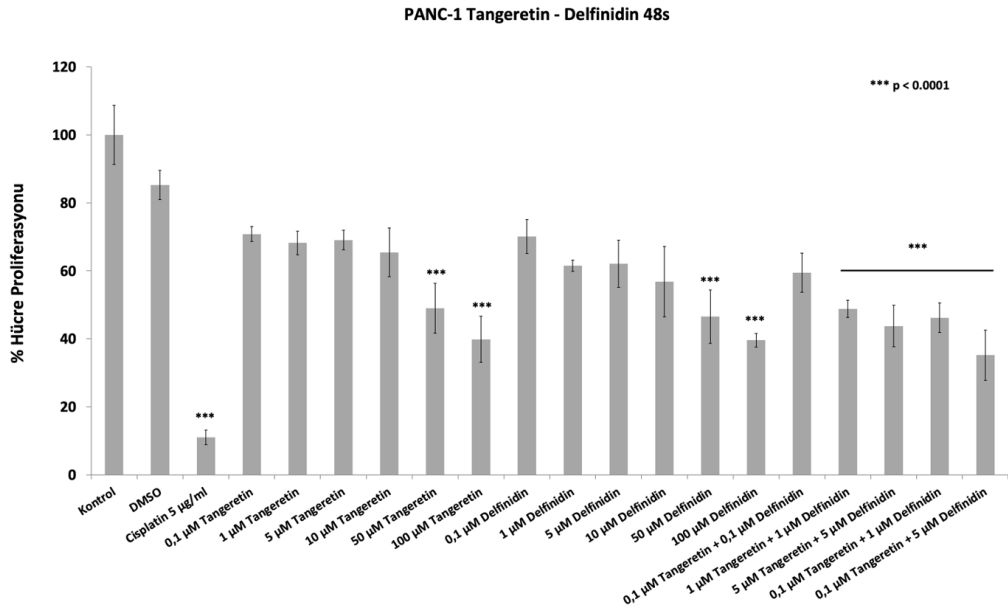
## 4. BULGULAR

### 4.1. Hücre Kültürü Testleri Bulguları

#### 4.1.1. MTS Hücre Proliferasyonu Testi Bulguları

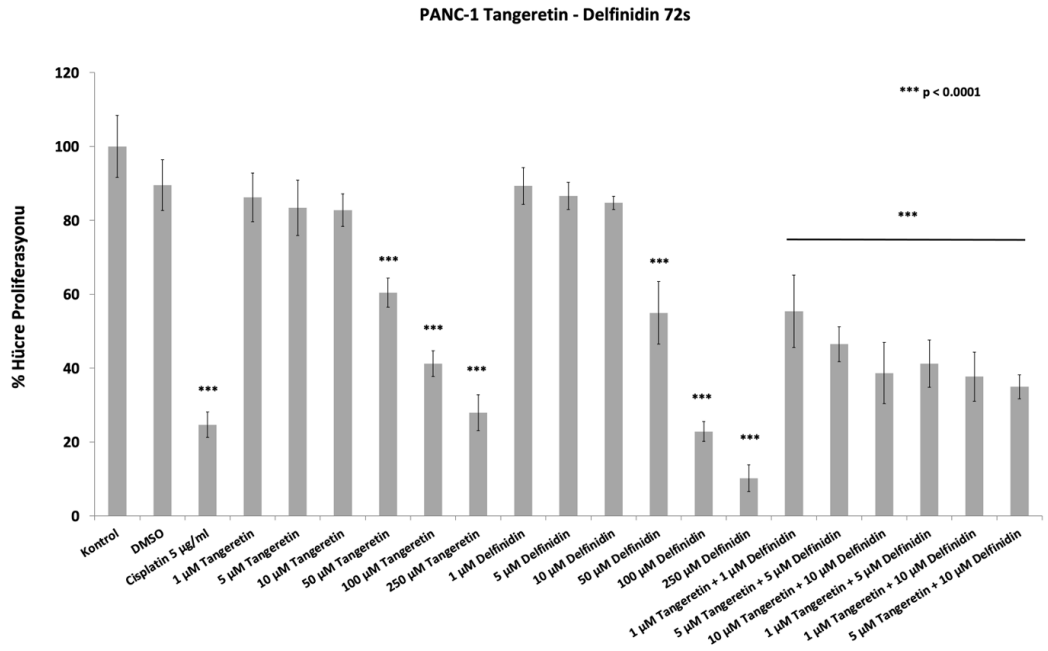
Tangeretin ve delfinidin'in farklı dozlarda PANC-1 hücre hattında hücre proliferasyonu üzerine etkileri incelendi. İlk denemede 48 saatlik uygulama sonucunda PANC-1 hücrelerinde proliferasyon düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla tangeretin 50µM, tangeretin 100 µM, delfinidin 50 µM ve delfinidin 100 µM uygulanan grupta azaldığı tespit edildi ( $p < 0,0001$ ) (Şekil 7).

Kombinasyon uygulamalarında ise 1 µM tangeretin+1 µM delfinidin, 5 µM tangeretin+5 µM delfinidin, 0,1 µM tangeretin+1 µM delfinidin ve 0,1 µM tangeretin+5 µM delfinidin uygulamalarının hücre proliferasyonunu azalttığı tespit edildi. Kombinasyon gruplarında proliferasyon düzeyini en fazla azaltan grup ve 0,1 µM tangeretin+5 µM delfinidin uygulaması olarak tespit edildi ( $p < 0,0001$ ) (Şekil 7).



Şekil 7: PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in 48 Saatlik Uygulama Sonucu Hücre Proliferasyonuna Etkileri

İkinci uygulama da ise PANC-1 hücreleri 72 saatlik tangeretin ve delfinidin uygulamasına maruz bırakıldı. 48 saatlik uygulamadan farklı olarak, sadece 250  $\mu\text{M}$  tangeretin ve sadece 250  $\mu\text{M}$  delfinidin uygulaması ile de proliferasyon düzeyinde azalmalar tespit edildi. Kombinasyon gruplarının hepsinde 72 saatlik uygulama sonucu PANC-1 hücrelerinde proliferasyon düzeylerinin, belirtilen dozlarda tangeretin ve delfinidin uygulamasıyla azaldığı tespit edildi ( $p < 0,0001$ ) (Şekil 8).



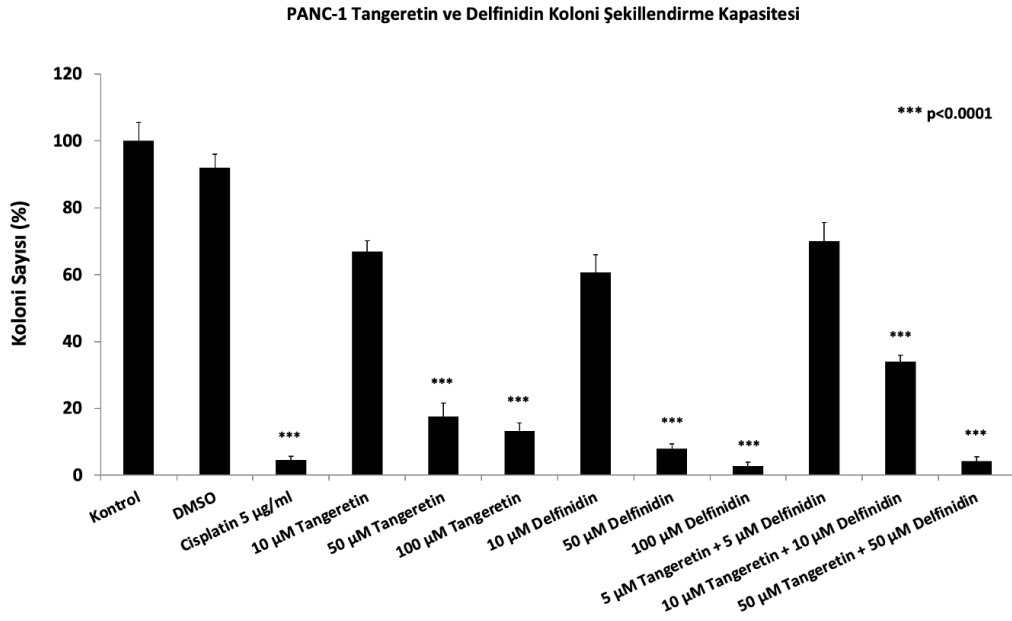
**Şekil 8:** PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in 72 Saatlik Uygulama Sonucunda Hücre Proliferasyonuna Etkileri

#### 4.1.2. Hücre Koloni Formasyon Testi Bulguları

PANC-1 hücrelerinde şekillenen koloni sayıları 50  $\mu\text{M}$  tangeretin, 100  $\mu\text{M}$  tangeretin, 50  $\mu\text{M}$  delfinidin, 100  $\mu\text{M}$  delfinidin azalma gösterdi ( $p < 0,0001$ ). Sadece delfinidin 100  $\mu\text{M}$  uygulanması cisplatin 5  $\mu\text{g/ml}$  uygulamasından daha fazla inhibisyon meydana getirdi (Şekil 9).

Kombinasyon gruplarında ise 10 µM tangeretin+10 µM delfinidin ve 50 µM tangeretin+50 µM delfinidin uygulamaları koloni formasyonunda anlamlı düzeyde inhibisyon gerçekleştirdi ( $p<0,0001$ ) (Şekil 9).

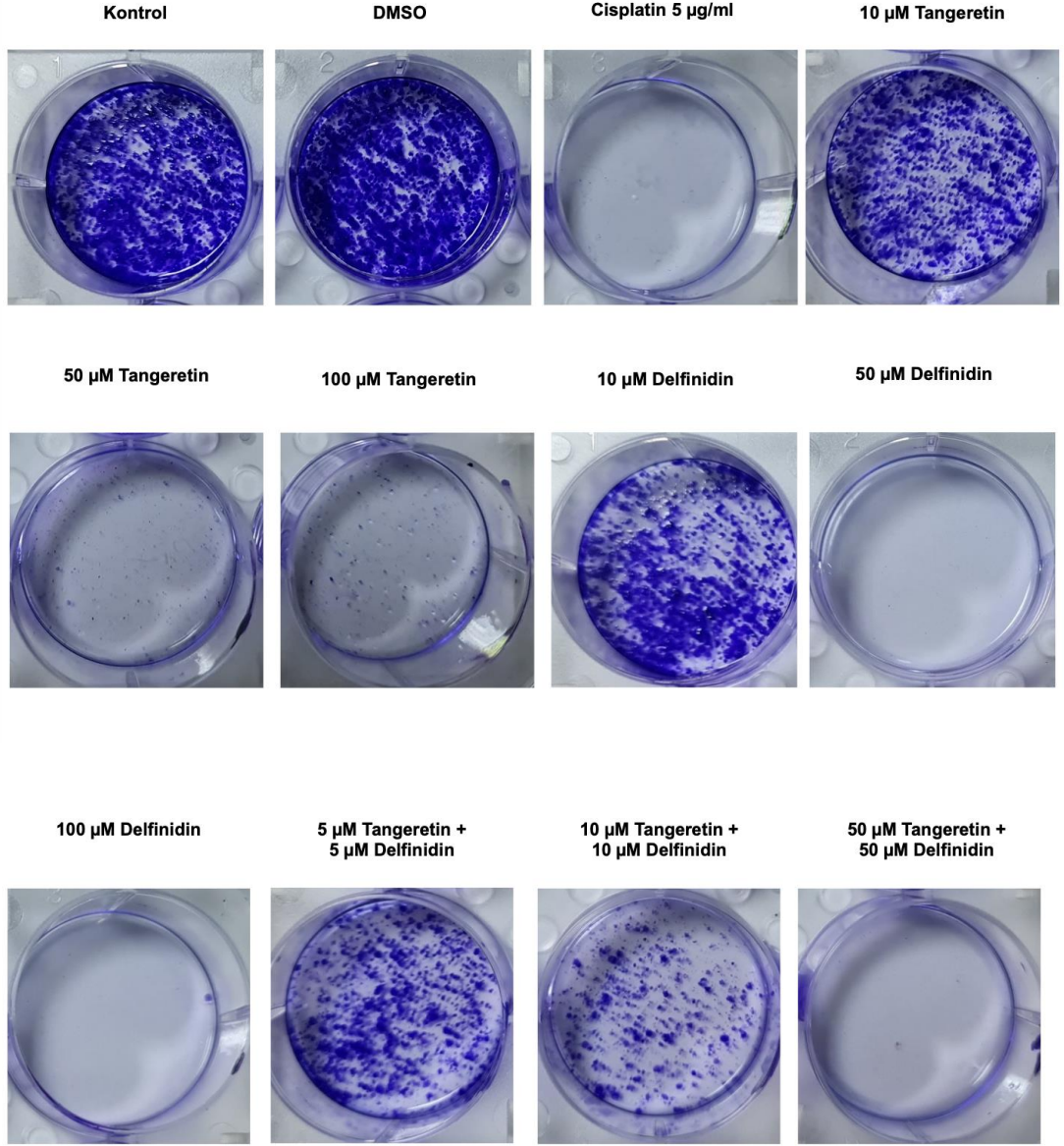
Sonuçlar Şekil 9'da % grafik olarak gösterildi.



**Şekil 9:** PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in Koloni Şekillendirme Kapasitesine Etkilerinin % Grafiği



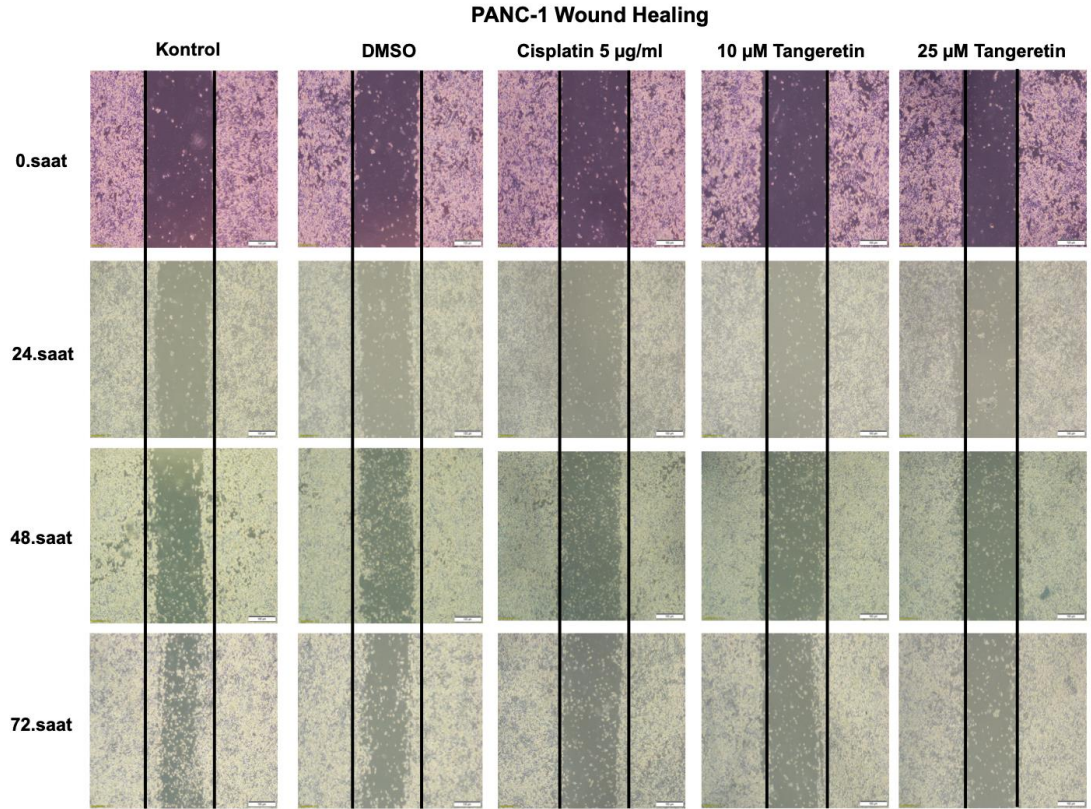
**PANC-1 Tangeretin – Delfinidin Koloni Şekillendirme Kapasitesi**



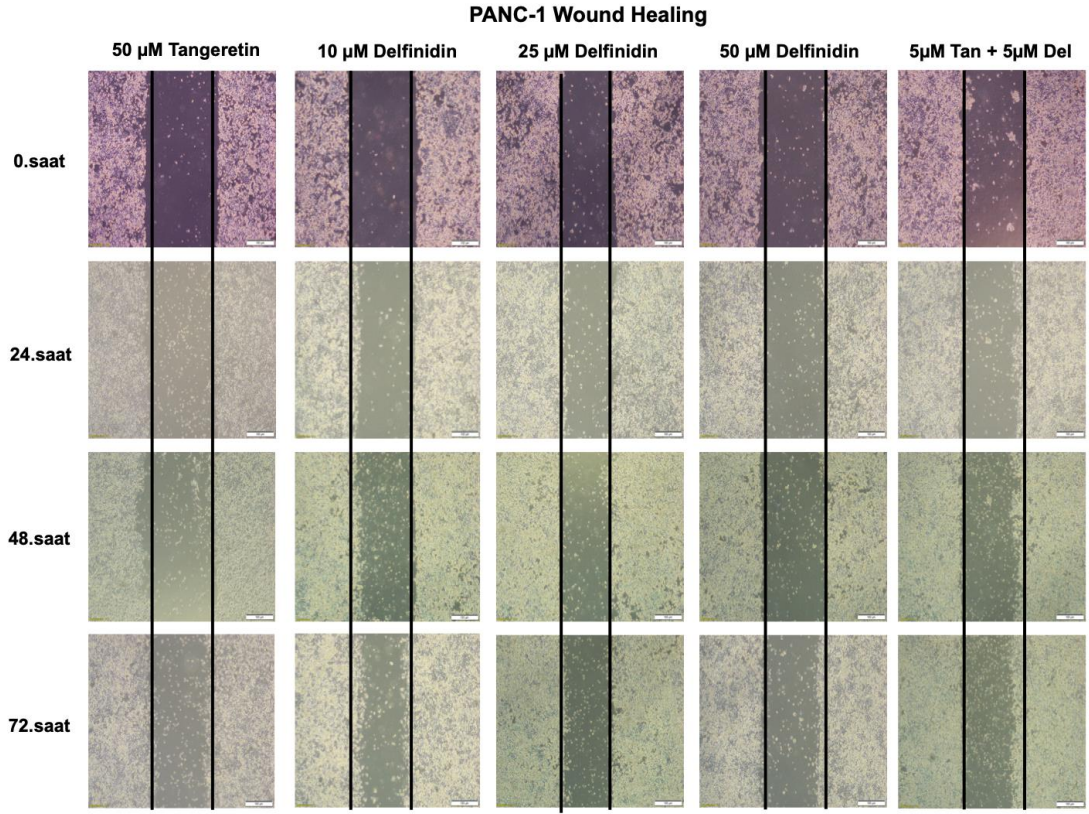
**Şekil 10:** PANC-1 Hücre Hattında Tangeretin ve Delfinidin'in Koloni Şekillendirme Kapasitesine Etkilerine Dair Kuyucuk Görüntüleri

### 4.1.3. Hücre Migrasyonu Testi (Wound Healing/Yara İyileşmesi) Bulguları

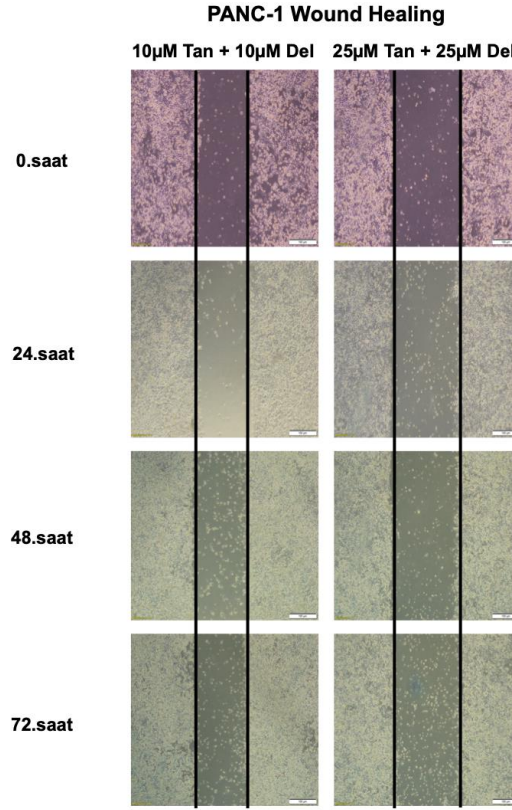
Yöntem bölümünde ayrıntılı bahsedildiği şekilde tasarlanıp tangeretin ve delfinidin ile tedavilerin yapılmasının ardından PANC-1 hücreesindeki hücre migrasyonu düzeyleri kontrol, DMSO ve cisplatin alan gruplara kıyasla, tangeretin ve delfinidin her ikisi için de 10, 25 ve 50  $\mu\text{M}$  dozlarda tedavi alan gruplarda doza bağlı şekilde artan düzeyde ve tangeretin+delfinidin kombinasyon gruplarında da önemli düzeyde azalma gösterdi (Şekil 12,13,14).



**Şekil 11:** PANC-1 Hücrelerinde Kontrol, DMSO, Cisplatin ve Tangeretin Uygulamasının Yara İyileşmesi Düzeylerine Etkileri



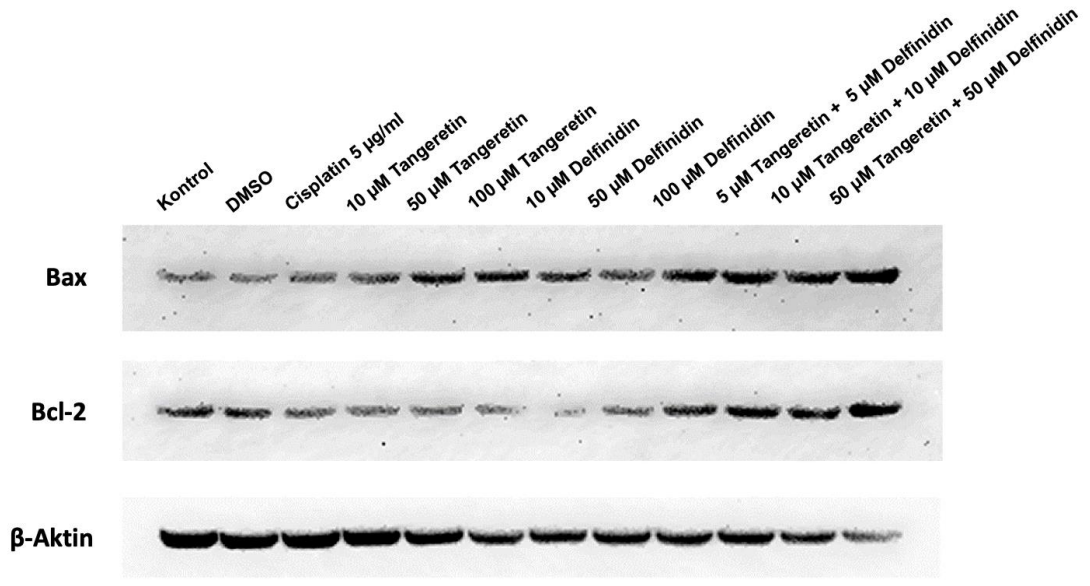
**Şekil 12:** PANC-1 Hücrelerinde Tangeretin ve Delfinidin'in Yara İyileşmesi Düzeylerine Etkileri



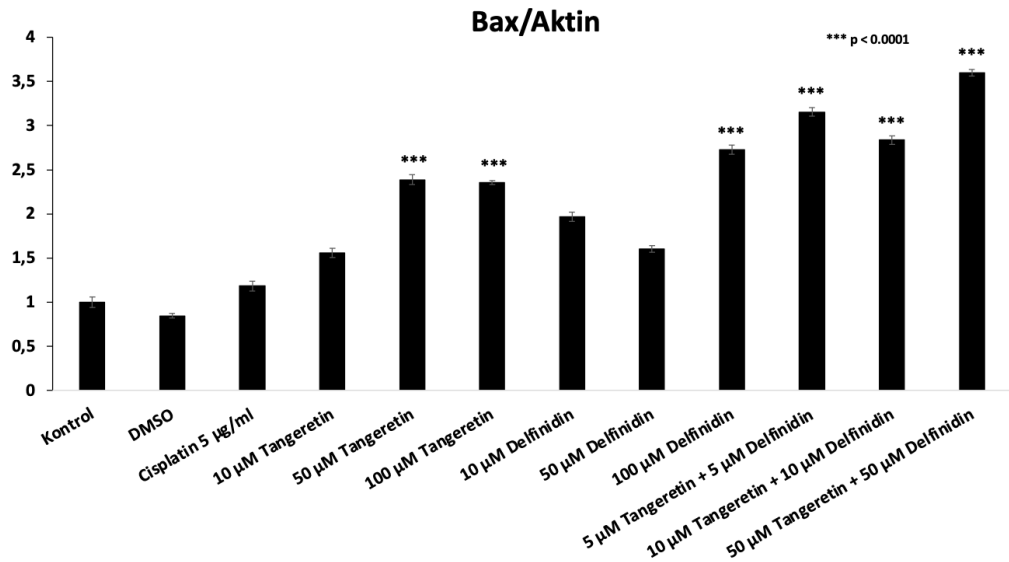
**Şekil 13:** PANC-1 Hücrelerinde Tangeretin ve Delfinidin Kombinasyonlarının Yara İyileşmesi Düzeylerine Etkileri

#### 4.1.4. Western Blot Analizi Bulguları

Blotlama sonuçları kemiluminesens filtreye sahip kameralı bir sistem ile görüntülendi ve protein ekspresyon düzeyleri ImageJ programı vasıtasıyla belirlendi. Bax ve Bcl-2 proteinleri apoptozla ilişkili olan Bcl2 protein ailesine dahil proteinlerdir. Apoptozun düzenlenmesine birden çok mekanizma yardımcı olmaktadır. Bunlardan bir tanesi Bcl-2 ailesi genleri ve bunların ürünleri olan proteinlerdir. Bcl-2 ailesine ait olan Bcl-2 proteini anti-apoptotik, Bax proteini ise pro-apoptotik etki oluştururlar. Western Blot analizinde tangeretin ve delfinidinin farklı doz ve kombinasyonlarında hücre ölümü indüklenmiştir (84).

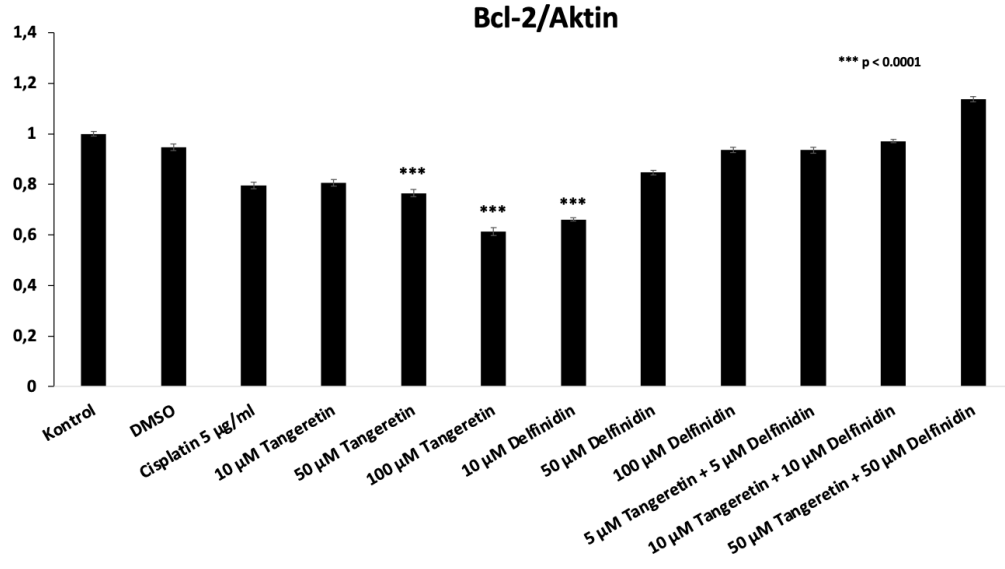


**Şekil 14:** PANC-1 Hücrelerinde Tangeretin ve Delfinidin'in Apoptoz İle İlişkili Protein Ekspresyonlarına Etkileri



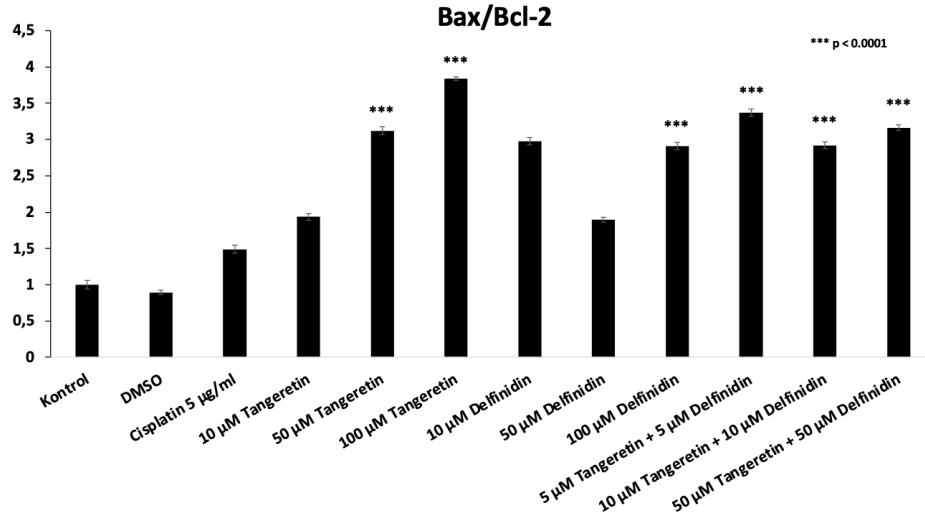
**Şekil 15:** Tangeretin ve Delfinidin'in Bax/Aktin Protein Ekspresyonu Oranları

PANC-1 hücreleri Bax/Aktin protein ekspresyon oranlarında 50 µM tangeretin, 100 µM tangeretin; 100 µM delfinidin konsantrasyonunda, kombinasyonlarda ise 5 µM tangeretin+5 µM delfinidin, 10 µM tangeretin+10 µM delfinidin, 50 µM tangeretin+50 µM delfinidin anlamlı apoptotik etkiler gösterdi ( $p<0,0001$ ) (Şekil 16).



**Şekil 16:** Tangeretin ve Delfinidin'in Bcl-2/Aktin Protein Ekspresyonu Oranları

PANC-1 hücreleri Bcl-2/Aktin protein ekspresyon oranlarında 50 µM tangeretin, 100 µM tangeretin konsantrasyonunda; 10 µM delfinidin konsantrasyonunda anlamlı anti-apoptotik etkiler gösterdi ( $p<0,0001$ ) (Şekil 17).

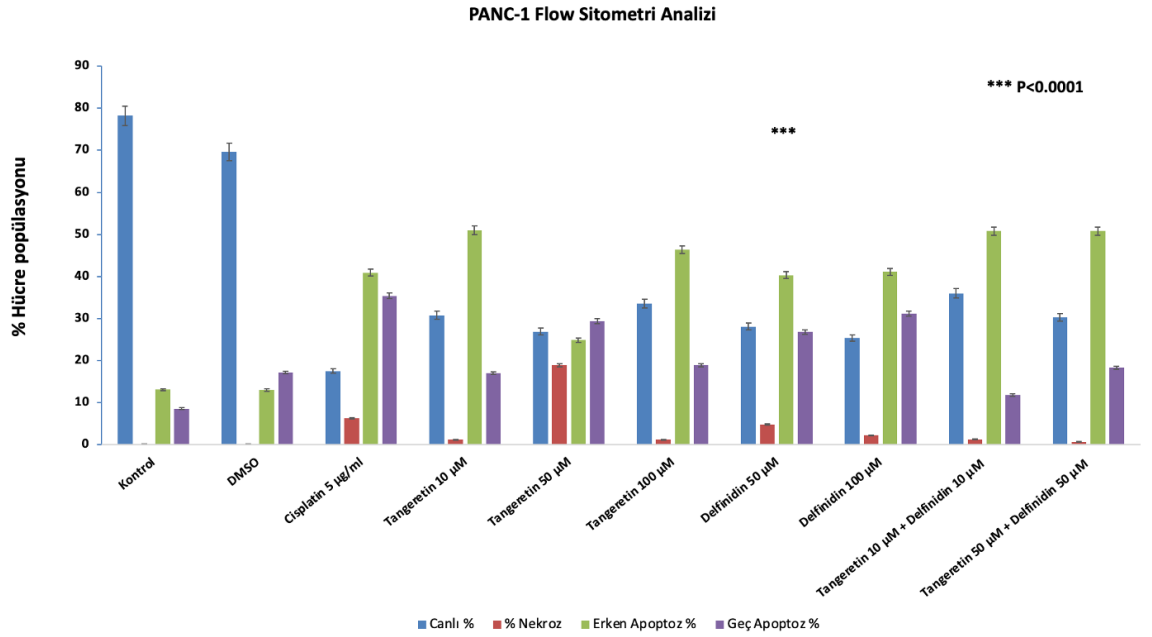


**Şekil 17:** Tangeretin ve Delfinidin'in Bax/Bcl-2 Protein Ekspresyonu Oranları

PANC-1 hücreleri Bax/Bcl-2 protein ekspresyon oranlarında 50 µM tangeretin, 100 µM tangeretin konsantrasyonunda; 100 µM delfinidin konsantrasyonunda; kombinasyon gruplarında ise 5 µM tangeretin+5 µM delfinidin, 10 µM tangeretin+10 µM delfinidin, 50 µM tangeretin+50 µM delfinidin programlı hücre ölümünü anlamlı olarak indükleyici etkiler göstermiştir ( $p < 0,0001$ ) (Şekil 18).

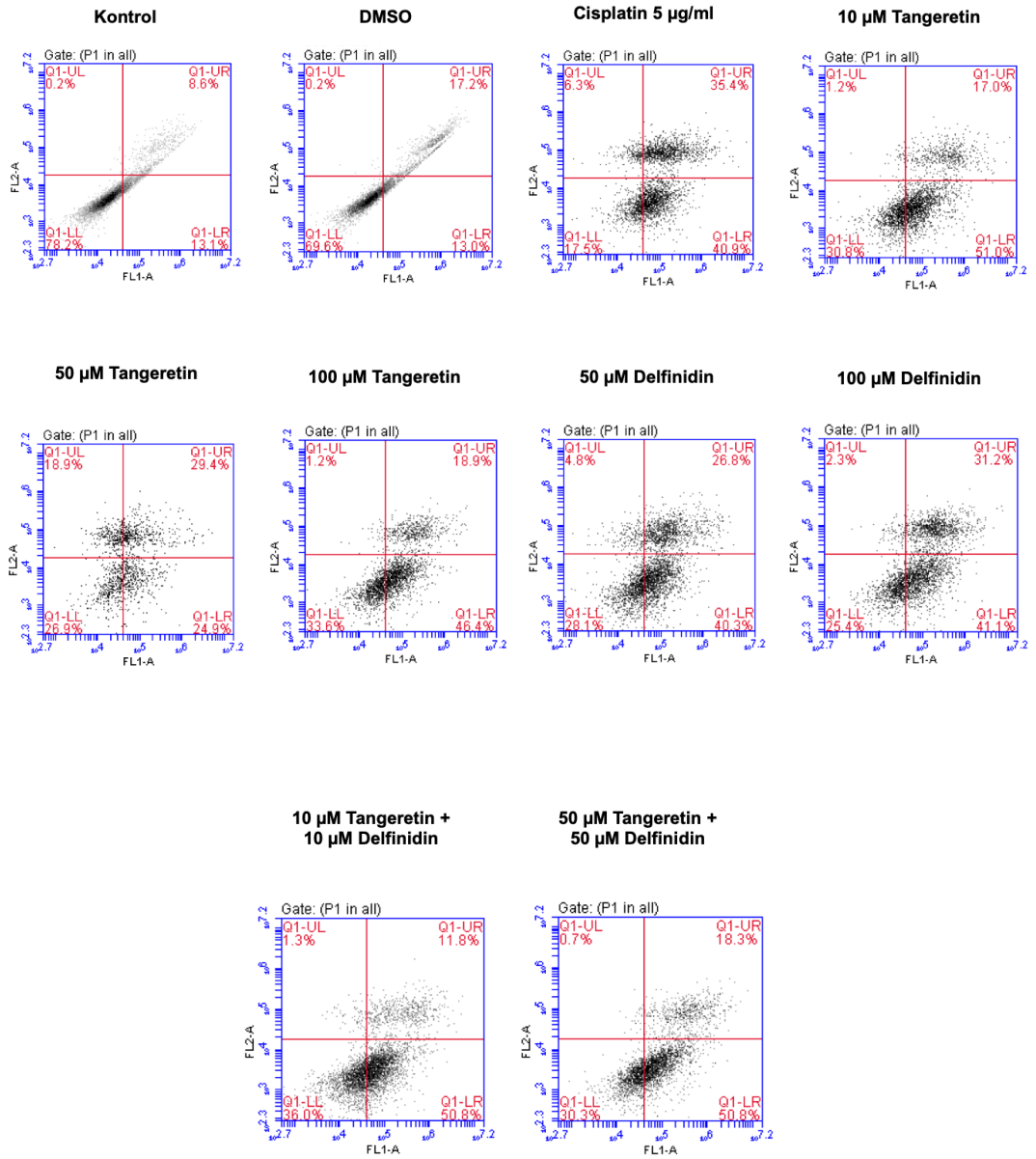
#### 4.1.5. Flow Sitometri Analizi Bulguları

PANC-1 hücre hattında flow sitometri ile belirlenen apoptoz düzeyleri kontrole göre, uygulanan tangeretin ve delfinidin tedavilerinde önemli düzeyde artışlar gösterdi ( $P < 0,0001$ ) (Şekil 19).





**PANC-1 Tangeretin – Delfinidin Flow Sitometri**



**Şekil 18:** Tangeretin ve Delfinidin'in Flow Sitometri Analizi Bulguları

## 5. TARTIŞMA

Kanser, basit bir tanım olarak kontrolsüzce şekillenen hücre büyümesi ile bu anormal hücrelerin organizmada yayılımı ve dağılımı şeklinde ifade edilebilir. Başka bir deyişle, belli faktörler yüzünden farklılaşmış hücrelerin, bölgesel olarak veya daha uzak mesafelerdeki bölgelere göç edip, kontrolsüz bir biçimde çoğalarak büyüme göstermeleri neticesinde meydana gelen malign nitelikte hastalıklar topluluğudur denilebilir. Hücrelerdeki bu malign değişimi sıklıkla iki ayrı grup faktör tetiklemektedir. Dış faktörler olarak sayılabilenler sigara tüketimi, beslenme ve yaşam tarzı, kimyasalların etkisi, geçirilen enfeksiyonlar, çevresel kirlilik veya maruz kalınan radyasyon gibi iken; intrinsik faktörler de kalıtsal / genetik nedenler, silici nitelikteki mutasyonlar, bağışıklık sisteminin kapasitesi, vücuttaki hormonlar şeklinde sayılabilir. Bu nedenlerle kanser nihayetinde birçok basamağa sahip ve çok çeşitli faktörlerin etkisi altında gelişen bir hastalıktır. Bu nedenlerden biri bile kanserin şekillenmesinde yeterli faktör olabilmektedir (85).

Pankreas kanserinin en sık görülen formu olan pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC), 2008 yılında dünya çapında yaklaşık 280.000 yeni vakanın teşhis edilmesi ve yalnızca Avrupa Birliği'nde görülen 70.000 vaka ile yaygın bir malignitedir (86). PDAC dünya çapında en yaygın on ikinci kanser olmasına rağmen, düşük hayatta kalma oranı gerekliydi. Bununla birlikte, yeni tedavilerin belirlenmesindeki ilerleme, hastalığın genetik karmaşıklığı ve prognostik belirteçlerin olmaması nedeniyle engellenmiştir ve bu da yeni tedavi yaklaşımlarına duyulan ihtiyacın altını çizmektedir.

Kötü bir prognoza ve düşük bir hayatta kalım süresine sahip olması nedeniyle oldukça önemli olan pankreas kanserinin tedavisi için, günümüzde kullanılan standart kemoterapötik ajanlara ve radyoterapiye karşı pankreas kanseri hücreleri direnç geliştirmektedirler. Bu nedenle mevcut tedaviye alternatif olacak yeni tedavi türlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu da ancak pankreas kanserinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ile mümkün olmaktadır.

Flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri ile ilgili yapılmış ilk çalışma 1936 yılında Szent-Gyorgyi ve Rusznyak tarafından yayınlanmıştır. Flavonoidler, en

büyük polifenol grubudur (87). Flavonoidler flavan çekirdeği ve C6-C8-C6 karbon iskeleti ile karakterize edilen sekonder metabolitlerdir. Flavonoidlerin temel yapısı iki benzen halkasının (A ve B) bir heterosiklik piren halkasına (C) bağlanması ile oluşmaktadır. Merkez C halkasının oksidasyon durumuna göre flavonoidler altı gruba ayrılırlar: flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavononlar, izoflavonlar ve antosiyanidinler (88). Flavonoidler yapısında 4000'den fazla polifenolik bileşiği barındıran ve bitkisel kaynaklı besinlerde doğal olarak bulunan bir gruptur. Tüm hücre içinde, bitki dokularında ya da çeşitli bitkisel organların yüzeyinde bulunan flavonoidler bitkilerde çoğunlukla glikozit formları halinde olup aglikon formlarına (şeker kısmını içermeyen form) ise daha az rastlanılmaktadır (87). Flavonoidler çok sayıda meyve, sebze, aromatik ve tıbbi bitkilerde, çay ve kırmızı şarapta bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda 29 baharat ve test edilmiş tıbbi bitkilerde zengin flavonoid içerikleri bulunmuştur. İnsan beslenmesinin bir parçası olan flavonoidlerin insan sağlığı üzerine yararlı etkileri vardır. Başta antikanser özellikleri olmak üzere antiviral, antioksidan antiinflamatuvar gibi çeşitli özelliklere ve serbest radikal süpürücü gibi çeşitli aktiviteye sahiptirler.

Narenciye türleri (*Citrus reticulata* ve *Citrus sinensis*) anti-kanser, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkiler de dâhil olmak üzere geniş bir farmakolojik aktivite spektrumuna sahip zengin polimetoksiflavon (veya bunların hidroksillenmiş türevlerinin) kaynaklarıdır. Mevcut literatürde şimdiye kadar bildirilen en az 135 polimetoksiflavon bileşiği bulunmaktadır ve bunların 20 çeşidi turunçgillerden izole edilmiştir (89). Araştırmacılar için giderek daha fazla ilgi odağı haline gelen polimetoksiflavonların anti-inflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal, anti-kanser, glukolipid metabolizmasını düzenleyici aktivitelere sahip oldukları gösterilmiştir (90).

Tangeretin narenciye kabukları içerisinde çokça bulunan bir pentametoksiflavon'dur. Kimyasal yapısı  $C_{20}H_{20}O_7$  ve molekül ağırlığı 372 g/mol'dür. Yapısındaki çoklu metoksi gruplarının lipofilik yapısından dolayı biyoyararlanımı yüksektir. Glikozid yapısından yoksun olduğu için bağırsaklardan da kolay emilebilmektedir (91).

Tangeretin'in, kolorektal kanser, mide ve akciğer karsinomundan türetilen insan kanser hücre hatlarının çoğalmasını inhibe ettiği bildirilmiştir PMF'lerin kanseri önleyici ve / veya antikanser aktiviteleri çeşitli kompleks mekanizmalar içermektedir. Bu mekanizmalar arasında, yapılarından dolayı doğal antioksidan özelliğe sahip olmaları, ROS moleküllerinin yakalanması ve oluşumunun engellenmesinde çeşitli oksidan ve antioksidan enzimlerle etkileşim, anti-mutajenik ve anti-kanserojenez etki, apoptoz indüksiyonu, hücre sinyallemesinin modülasyonu, hücre döngüsünün inhibisyonu ve özellikle çeşitli sitostatik ve sitotoksik mekanizmalar, otofajinin modülasyonu, invazyon ve anjiyogenez/metastaz inhibisyonu, fitoöstrojenik etkiler sayılabilir. Ayrıca sözü edilen bu biyolojik aktivitelere ek olarak, doğal diyet flavonoidleri ksenobiyotik faz-I metabolize edici enzimlerle, özellikle sitokrom P450 CYP1 enzimleriyle etkileşimlere girerek çeşitli mekanizmalarla da anti-karsinojenik aktivite de bulunurlar (92). Bitkisel kökenli birçok biyoaktif bileşik, serbest radikallerin oluşumu ile indüklenen biyokimyasal dengesizlikleri azaltma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, flavonoidler gibi doğal olarak oluşan antioksidanlar, kanserin yönetimi için normal hücrelere zarar vermeden ümit verici kemo preventif/terapötik ajanlar olarak görülmüştür . Narenciye kabuklarının, fenolik ve flavonoid bileşiklerinden dolayı potansiyel bir doğal antioksidan oldukları bilinmektedir. Tumbas ve ark., narenciye kabuklarının oksidan ve antioksidan kapasite üzerine etkilerini göstermek için yaptıkları çalışmada çeşitli narenciye kabuklarındaki fitoaktif moleküllerin, MDA gibi LPO'nun bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) kapasitelerini düşürerek LPO'nu engellediği, özellikle reaktif hidroksil radikalleri üzerinde konsantrasyona bağlı olarak, belirgin serbest radikal süpürücü aktivite gösterdikleri açıklanmıştır. Polisiklik aromatik hidrokarbon ile in-vivo olarak sıçanlarda oluşturulan bir kanser modelinde, tangeretin renel dokuları oksidatif strese karşı koruduğu kanıtlanmıştır. Dört hafta boyunca tangeretin (50 mg/kg/gün) uygulaması, lipid peroksidlerinin, enflamatuvar sitokinlerin düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ve böbrek dokusunda enzimatik ve nonenzimatik antioksidanların düzeylerini yükselttiği bildirilmiştir. Ayrıca hesperidin, nobiletin ve tangeretin'in in-vitro ortamda çeşitli antioksidan analizlerde antioksidan aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (93).

Tangeretin, farklı protein ekspresyonunu modüle ederek çeşitli kanser türlerinde hücre döngüsü durmasını indükler. Meme kanseri hücre hattında (MDA-MB-435 ve MCF-7) yapılan bir çalışmada G1 hücre döngüsü durmasını indüklemiştir. 54  $\mu$ M konsantrasyonda, tangeretin zamana bağlı bir şekilde G1 fazında önemli bir hücre birikimi göstermiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, Annexin V/PI boyama apoptozda anlamlı olmayan bir artış olduğunu göstermiştir, bu da sitotoksik etki yerine tangeretin sitostatik etkisine işaret etmektedir (94).

2019 da Mesane Kanseri hücre hattı kullanılan çalışmada tangeretin'in apoptozu indükleyip indükleyemeyeceği araştırıldı ve iki boyutlu jel elektroforez (2DGE) kullanılarak insan mesane kanseri hücrelerinde tangeretin kaynaklı apoptozun sinyal yollarını tanımladı. Çalışmanın sonuçları, 60  $\mu$ M tangeretin'in BFTC-905 mesane karsinomu hücre hattının hücre sağkalımını %42 oranında azalttığını ve hücrelerde erken ve geç apoptozu indüklediğini göstermiştir Ayrıca, western blot analizi, tangeretin tedavisinin mitokondride kalsiyum homeostazı bozduğunu, sitokrom C salınımını tetiklediğini ve apoptozise yol açan kaspaz-3 ve kaspaz-9'u aktive ettiğini göstermiştir (95).

Pan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DNA akımı sitometrik analizi, tangeretin, kolorektal karsinom COLO 205 hücrelerinde G<sub>1</sub> fazında hücre döngüsü ilerlemesini bloke ettiğini göstermiştir. Tangeretine 24 saatlik bir maruziyet boyunca, Rb'nin fosforilasyon derecesi 12 saat sonra azalmış ve G1 arresti gelişmiştir. İmmünokompleks kinaz deneyleri, tangeretin'in hücrede siklin-bağımlı kinazlar 2 (Cdk2) ve 4'ün (Cdk4) aktivitelerini doza bağımlı bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir. Hücreler 48 saat boyunca tangeretin'e (50  $\mu$ M) maruz kaldıklarında, hem Cdk2 hem de 4 kinaz aktivitesinde kademeli bir kayıp meydana gelmiş ve tangeretin Cdk inhibitörü p21 proteininin içeriğini arttırmıştır. Bu etki p53 seviyelerindeki yükselme ile korelasyon göstermiştir. Ek olarak, tangeretin 18 saat içinde Cdk inhibitörü p27 proteininin seviyesini arttırmıştır. Bu sonuçlar, tangeretin, Cdk2 ve Cdk4 gibi birkaç anahtar G1 düzenleyici proteinin aktivitelerinin modülasyonu yoluyla büyüme inhibitör etkilerini uyguladığını veya Cdk inhibitörleri p21 ve p27'nin artışına aracılık ettiğini göstermektedir (96).

Tangeretin'in etkisini araştırmak ve proteomik bir yaklaşım kullanarak AGS mide kanseri hücresinde potansiyel biyobelirteçleri belirlemek için yapılan bir çalışma, tangeretin'in AGS hücre canlılığını, doza bağlı olarak 100 µM'lik yarı maksimum inhibitör konsantrasyonuyla inhibe ettiğini ortaya çıkarmıştır. Kontrol ve tangeretin (100 µM) ile işlenmiş AGS hücreleri arasındaki potansiyel biyobelirteci belirlemek için iki boyutlu jel elektroforezi gerçekteşirilmifitir. Western blot analizi kullanılarak, seçilen dört proteinin, protein kinaz C, mitojenle aktive olan protein kinaz 4, fosfoinositid 4-kinaz ve poli(ADP-riboz) polimeraz 14'ün düzenleyici modeli, kopya numune setlerinde doğrulanmıştır. Bu seçilmiş proteinler birincil olarak apoptoz sinyali, anjiyogenez, hücre döngüsü düzenlemesi, reseptör kinaz bağlanması, hücre içi sitoplazmik ve nükleer değişiklikler ile ilgilidir. Tangeretin'in AGS hücrelerinin yaşayabilirliği üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir MTT testi yapılmış ve Tangeretin tedavisinin 100 µM IC50 değerini ile AGS hücrelerinin hücre canlılığını doza bağlı olarak azalttığı görölmüştür . Bu sonuç, tangeretin'in AGS hücrelerinde önemli inhibisyon ve hücre ölümu indüklediğini göstermiştir (97).

Guo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma, tangeretin'in insan prostat kanseri hücreleri (DU145, PC3, LNCaP) üzerindeki olası anti-kanser etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Tangeretin (25, 50 ve 100 µM), azaltılmış anti-apoptotik proteinler (Bcl-2 ve Bcl-xL) ile kaspaz-3 ve pro apoptotik proteinleri (Bad ve Bax) artırarak kanser hücresi canlılığını önemli ölçüde inhibe etmiş ve apoptozu indüklemiştir. Androjen reseptörü (AR) ve prostat spesifik antijenin (PSA) önemli derecede inhibisyonu görölmüştür. Sonuçlar, tangeretin'in kanser gelişimindeki kritik yolları - AR sinyali ve PI3/Akt/mTOR - Notch sinyal yollarını inhibe ederek prostat kanseri hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini ve apoptozu indüklediğini göstermiştir (98).

Hepatosellüler karsinoma tangeretin'in HepG2 (Hücre hattı) hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisi için yapılan bir çalışmada flow sitometrisi kullanarak hücre döngüsü ilerlemesini ölçölmüştür. HepG2 hücreleri sırasıyla 24 saat boyunca 0, 30, 60 ve 90 µg / ml tangeretin ile tedavi edilmiş ve daha sonra hücre döngüsü ölçölmüştür. Tangeretin ile muamele edilmiş HepG2 hücreleri G2 / M fazında birikmiştir ve tangeretin konsantrasyonu 90 µg / ml'ye ulaştığında, G2 / M fazındaki hücre sayısı % 21'den % 50'ye yükselmiştir, buna G1 fazındaki hücrelerin

azalması eşlik etmiştir (kontrole kıyasla). Bu bulgular, tangeretin'in HCC hücrelerinin çoğalmasını baskıladığını göstermektedir.

Tangeretin'in hücre göçü üzerindeki etkisi de tespit edilmiştir. HepG2 hücreleri, serumsuz ortamda 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda mandalina ile tedavi edildi ve transwell tahlilleri yapılmış, tangeretin hücre göçünü doza bağımlı bir şekilde önemli ölçüde inhibe etmiş ve 90 µg / ml Tangeretin konsantrasyonunda% 75 inhibisyon gözlenmiştir ayrıca tangeretin yara iyileşmesini ve göçünü önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (99).

Flavonoidler kanserojen sürecin her aşamasında etkili gibi görünse de, melanom hücre hatlarındaki etkileri hakkında çok az bilgi mevcuttur. Rodriguez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın amacı B16F10 ve SK-MEL-1 melanom hücre hatlarının 24 ve 72 saatlik maruziyetten sonra altı farklı flavonoid ile tedaviye yanıtını değerlendirmek ve yanıt yapılarıyla ilişkilendirmektir. Daha sonra bulguları melphalan tedavisi için olanlarla karşılaştırılmıştır. Kültürler 24 saat boyunca tedavi edildiğinde, tangeretin ve luteolinin en yüksek konsantrasyonlarında (25 ve 50 µM) sadece hafif inhibisyon gözlenirken, melphalan tüm konsantrasyonlarda dozla ilişkili büyüme inhibisyonu gerçekleştirmiştir. Quercetin, hesperetin, 7,3'-dimethylhesperetin ve eriodictyol, B16F10 veya SK-MEL-1 hücreleri üzerinde 24 saatte herhangi bir etki yaratmamış, bu da flavonoidlerin düşük toksisitesine işaret etmektedir. 72 saatlik maruziyetten sonra kültür büyümesi 50 µM'de 7,3'-dimetilhesperetin tarafından inhibe edilmiş, ancak daha düşük konsantrasyonların hiçbir etkisi olmamıştır. Tangeretin, B16F10 ve SK-MEL-1 hücre büyümesini inhibe etmede flavonoidlerin en etkili olanı olarak bulunmuş ve 72 saat sonra net bir doz-yanıt eğrisi göstermiştir. Bu sonuçlar, tangeretin'in 7,3'-dimetilhesperetin ile karşılaştırıldığında daha güçlü bir antiproliferatif etki sağladığını düşündürmektedir (100).

Tangeretin'in ilaç kombinasyonları ile çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada Tangeretin (40 µM), sisplatin (20µM) ile birlikte, mesane karsinomu hücrelerinde (BFTC-905) sitotoksisiteyi artırmış ve sinerjistik mitokondriyal strese neden olduğunu ve hücre ölümüne neden olduğunu öne süren Bax ve Bad ifadelerini artırmıştır (95).

İlaç kombinasyonları üzerine yapılan başka bir çalışmada tangeretin ayrıca doksorubisinin sitotoksik etkisini geliştirmiş ve meme kanseri (MCF-7 ve T47D) hücre hatlarında hücre döngüsünü modüle etmiştir. Doksorubisin (MCF-7 hücrelerinde 200 nM ve T47D hücrelerinde 7.5 nM) ile birlikte tangeretin (50 ve 100 µM), doksorubisin ile tedavi edilen gruplara kıyasla sitotoksiteyi arttırmıştır. Ayrıca MCF-7 ve T478D hücrelerinde hücre döngüsünün sırasıyla G1 (%83,42) ve G2/M fazındaki (%46,78) hücreleri de durdurmuştur (101). Ayrıca imatinib (1.8 µM imatinib ve 40 µM tangeretin) ile sinerji oluşturmuş ve eritrolösemi hücre hattındaki (K562) ölü hücre sayısını artırmıştır. Diğer ortak tedaviler (80 µM tangeretin ve 0.8 µM imatinib), PARP bölünmesini, kaspaz-9, -3 bölünmesini arttırmış ve K562 hücre dizilerinde mitotik tutuklamayı indüklemiştir (102). Kombinasyon çalışmalarındaki çeşitli rollere rağmen Depypere ve arkadaşları, tangeretin'in meme kanseri fare modelinde tamoksifenin inhibitör etkilerini tamamen nötralize ettiğini ileri sürmektedir. Tek başına tedavi edilen gruplara kıyasla tamoksifen ile tedavi edilen farelerin ortalama hayatta kalma süresini de azaltmıştır (103).

Sıçanlarda cisplatin kaynaklı böbrek hasarına karşı tangeretin'in koruyucu potansiyelini araştırmayı amaçlamayan bir çalışmada tangeretin, cisplatin (7.5 mg / kg i.p.) enjeksiyonundan bir gün önce başlayarak 1 hafta boyunca 50 ve 100 mg / kg p.o.'da uygulanmıştır. Aynı şekilde, silimarin oral yoldan 100 mg / kg'da uygulanmış böbrek fonksiyon testleri, histopatoloji, oksidatif stres ve inflamatuvar olaylar araştırılmıştır. Tangeretin, serum kreatinin, kan üre azotu ve cisplatin tarafından uyarılan histopatolojik değişikliklerin artmış seviyelerini hafifletmiştir. GSH ve GPx'in eşzamanlı olarak arttırılmasıyla lipid peroksidleri, nitrik oksit ve Nrf2 seviyelerini düşürerek cisplatine bağlı renal oksidatif stresi hafifletmiştir. Tangeretin ayrıca aktif NF-κB p65 proteininin down regülasyonu ile cisplatin tedavisi ile görülen up regüle inflamatuvar yanıtı baskılamıştır. Sonuç olarak, tangeretin, Hep3B ve HCT-116 insan kanseri hücre hatlarında cisplatinin sitotoksik etkilerini arttırmıştır (104).

Delphinidin'in antitümör aktivitesi çok sayıda araştırmacı tarafından gösterilmiştir Radyasyona maruz kalan küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) otofaji ile ilişkili delphinidin'in anti-kanser aktivitesi gösterilmiştir. Radyosensitize edici etkiler, γ-iyonlaştırıcı radyasyona (IR) maruz kalmadan önce



hücrelerin sub-sitotoksik dozda delphinidin (5  $\mu$ M) ile muamele edilmesiyle in vitro olarak değerlendirilmiştir. Delphinidin veya IR ile tedavinin in vitro NSCLC hücre ölümüne neden olduğu bulunmuş; Bununla birlikte, delphinidin ön tedavisi ve IR'nin kombinasyonu tek başına her iki ajandan daha etkili olmuştur. Ayrıca, delphinidin ve IR ile kombine tedavi, apoptotik hücre ölümünü arttırmış, mTOR yolunu baskılamış ve JNK / MAPK yolunu aktive etmiştir. Delphinidin, PI3K, AKT ve mTOR'un fosforilasyonunu inhibe etmiş ve radyasyona maruz kalan NSCLC hücrelerinde otofajiye bağlı hücre ölümü ile ilişkili proteinin ekspresyonunu arttırmıştır. Ek olarak, JNK fosforilasyonu, radyasyona maruz kalan NSCLC hücrelerinde delphinidin ön işlemi ile desteklenmiştir. Toplu olarak, bu sonuçlar delphinidin'in otofaji indüksiyonu ve JNK / MAPK yol aktivasyonu yoluyla radyasyona duyarlı bir ajan olarak hareket ettiğini ve böylece NSCLC hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü arttırdığını göstermektedir (105).

Kolon kanseri için yetersiz tedavi seçenekleri nedeniyle yapılan bir çalışmada, insan kolon kanserinde delphinidin'in antiproliferatif ve proapoptotik özelliklerini araştırılmıştır. Hücrelerin delphinidin (30-60-120-180-240  $\mu$ M; 48 saat IC50=110  $\mu$ M) ile tedavisinin sonucunda (i) hücre canlılığında azalma (ii) apoptoz indüksiyonu, (iii) PARP bölünmesi, (iv) kaspaz-3 aktivasyonu, - 8 ve -9, (v) Bcl-2 proteininde eşlik eden bir azalma ile Bax'ta artış ve (vi) G2/M fazı hücre döngüsü durması gibi etkilerle karşılaşılmıştır. NF  $\kappa$ B, inflamasyon ve kanser arasında mekanik bir bağlantı sağlar ve hem pre-neoplastik hem de malign hücrelerin apoptoza dayalı tümör sürveyans mekanizmalarına direnme yeteneğini kontrol eden önemli bir faktördür. Bu nedenle delphinidin'in NF- $\kappa$ B sinyal yolu üzerindeki etkisini belirlenmiştir ve İmmünoblot, ELISA ve EMSA analizi, HCT116 hücrelerinin delphinidin ile tedavisinin, (i) IKK $\alpha$ 'nın inhibisyonu, (ii) I $\kappa$ Ba'nın fosforilasyonu ve bozunması, (iii) Ser536'da NF-KB/p65'in fosforilasyonu, (iv) ile sonuçlandığını gösterilmiştir. HCT116 hücrelerinin delphinidin tedavisinin NF- $\kappa$ B yolunu baskıladığını ve bunun G2/M fazı durması ve apoptoz ile sonuçlandığını göstermektedir. Delphinidin'in kolon kanseri büyümesini inhibe etme potansiyeline sahip olabileceğini önerilmektedir (84).

Delphinidin'in insan PC3 prostat kanseri hücrelerinde  $\beta$ -katenin sinyal yolunun anormal aktivasyonu üzerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Bir MTT testi,

delphinidin (15-180  $\mu$ M, 72 saat) ile yapılan tedavinin, hücrelerin doza bağımlı büyüme inhibisyonu ile sonuçlandığını göstermiştir. Delphinidin ile tedavi, serin veya treonin kalıntılarının  $\beta$ -katenin üzerindeki fosforilasyonunu arttırdı ve sitoplazmik  $\beta$ -katenin seviyelerini azalttı. Dahası, delphinidin ile tedavi,  $\beta$ -katenin'in nükleer translokasyonunu ve siklin D1, c-myc, Aksin-2 ve T hücre faktörü-1 gibi  $\beta$ -katenin hedef genlerinin ekspresyonunu inhibe etti. Delphinidin ayrıca glikojen sentaz kinaz 3 $\beta$ 'nin fosforilasyonunu ve adenomatöz polipozis coli ve Aksin proteinlerinin ekspresyonunu indükledi. Sonuçlar, delphinidin tarafından hücre büyümesinin inhibisyonunun,  $\beta$ -katenin sinyal yolunun modülasyonu yoluyla aracılık ettiğini göstermektedir (106).

Gasmi ve Sanderson'un yaptığı bir çalışmada, androjene bağımlı LNCaP insan prostat kanseri hücrelerinde narda bulunan 13 saf bileşiğin büyüme inhibitörü, antiandrojenik ve pro-apoptotik etkilerini araştırdık. Steroid hormonlarından yoksun bırakılan hücreler, 0.1 nM dihidrotestosteron (DHT) varlığında nar bileşiklerinin artan konsantrasyonlarına (1-100  $\mu$ M) maruz bırakılmış ve hücre büyümesinin inhibisyonu 4 günlük bir maruziyetten sonra WST-1 kolorimetrik tahlil ile ölçülmüştür. Dört bileşik, epigallocatechin gallate (EGCG), delphinidin klorür, kaempferol ve punikik asit, 10  $\mu$ M ve üzeri konsantrasyonlarda DHT ile uyarılmış hücre büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur. Bu dört nar bileşiği, DHT ile uyarılmış androjen reseptörü nükleer birikimini ve androjen reseptörüne bağımlı genlerin prostat spesifik antijeni ve steroid 5 $\alpha$ -redüktaz tip 1'in ekspresyonunu  $\geq 10$   $\mu$ M konsantrasyonlarında inhibe etmiştir. Apoptozun hücre büyümesinde gözlenen azalmaya olası katkısını belirlenmiş ve üç bileşiğin, EGCG, kaempferol ve özellikle punik asidin, 24 saatlik bir tedaviden sonra, 10-100  $\mu$ M aralığındaki konsantrasyonlarda DNA parçalanmasına neden olduğu bulunmuştur. Nar çekirdeğinde önemli bir yağ asidi olan punic asidin, kaspaza bağımlı bir yol yoluyla intrinsik apoptozu indüklediği bulunmuştur. Sonuç olarak, nar çekirdeğinin ana bileşeni olan punik asit (%70-80), androjene bağımlı LNCaP hücrelerinde, hem antiandrojenik hem de pro-apoptotik mekanizmaların aracılık ettiği görülen güçlü büyüme inhibitör aktiviteleri sergilemiştir (107).

HOS ve U2OS insan osteosarkomu ve delphinidin tedavisi (10, 25, 50, 75 ve 100 µM 24 saat) apoptozu indüklemiş ve ERK / p38 MAPK sinyalizasyonu yoluyla insan OS hücre hatlarında EMT ile ilişkili protein ekspresyonunu inhibe etmiştir (108). Başka bir çalışmada U2OS ile delphinidin (10, 50, 100 ve 200 µM), 48 saat uygulaması, OS hücre canlılığında sırasıyla yüzde 96, yüzde 55, yüzde 32 ve yüzde 22'lik 10, 50, 100 ve 200 µg / mL'de doza bağlı azalmalara yol açmıştır. Ayrıca, antioksidan NAC ile ön işlemden sonra canlılıkta bir azalma görülmemiştir. Çalışma, delphinidin kaynaklı hücre ölümünün doğrudan ROS oluşumu ile bağlantılı olduğunu ve delphinidin'in anti-oksidan kapasitesine bakılmaksızın bir anti-kanser ajanı olarak çalıştığını göstermektedir (109).

Delphinidin'in çeşitli moleküler alt tiplerin yerleşik meme kanseri hücre hatları üzerindeki etkisi, antikanser etkinliğini belirlemek için in vitro olarak araştırılmıştır. Yedi meme kanseri hücre hattından oluşan bir panel, 12,5 µg / mL'den 100 µg / mL'ye kadar değişen artan delphinidin konsantrasyonları ile tedavi edilmiştir. Bu konsantrasyonlar, benzer dozlar kullanılarak yayınlanmış çalışmalara dayanarak seçilmiştir. Proliferasyon MTS testi ile belirlenmiş ve hücre hattı başına kontrol DMSO ile tedavi edilen hücrelerin yüzdesi olarak ifade edilmiştir. Hücre hatlarının çoğunluğu yaklaşık 50 µg/mL'de proliferasyonun % 50 inhibisyonu göstermiş, ancak MDA468 hücreleri 50 µg/mL'de sadece % 20-30 inhibisyon ile biraz daha az hassas olarak bulunmuştur. ER veya HER2 ekspresyon durumuna göre moleküler alt tipin yanıt için öngörüle bulunmadığı görülmüştür. Meme kanseri hücre hatlarının çoğunun aksine, dönüştürülmemiş ölümsüzleştirilmiş meme epitel hücre hattı MCF10A'nın proliferasyonu, en yüksek konsantrasyon dışında delphinidin tarafından anlamlı bir şekilde inhibe edilmemiştir. Delphinidin, proliferasyonu inhibe etmiş, ankradan bağımsız büyümeyi bloke etmiş ve ER-pozitif, üçlü negatif ve HER2-aşırı eksprese eden meme kanseri hücre hatlarında apoptozu Bununla birlikte, kombinasyon çalışmalarında, delphinidin ve HER2'ye yönelik tedavi arasında olası bir antagonizmanın kanıtı olmuştur ve bu da HER2'yi aşırı eksprese eden meme kanserinde diğer hedefli tedavilerle birlikte kullanıldığında potansiyel farmakolojik antagonizma ile ilgili endişeleri artırmaktadır. Bu veriler, delphinidin'in meme kanseri tedavisinde yardımcı olabileceğini, ancak diğer tedavilere ek olarak kullanılmamasına dikkat edildiğini göstermektedir (110).

Delphinidin'in idrar kesesi kanseri hücre hattında proliferasyon, apoptoz ve hücre döngüsü durması üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada (T24). Kültürlenmiş hücreler, 24 saat boyunca delphinidin'in farklı konsantrasyonları (% 0.1 DMSO'da 30, 40, 50 ve 60 µg / mL) ile tedavi edilmiştir. Kontrol (tedavi edilmemiş) hücreler bir araçla tedavi edilmiştir. Delphinidin tedavisinin T24 hücrelerinde reaktif oksijen spekülatif üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca, delphinidin tedavisi üzerine hücre döngüsü dağılımı, delphinidin'in T24 hücrelerinde apoptozu indüklediğini ortaya koymuştur. Sonuçlar kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur. Delphinidin'in sitotoksitesi başlangıçta MTT testi kullanılarak değerlendirilmiş delphinidin (10-60 µg / mL) T24 hücrelerine karşı önemli bir sitotoksik etki göstermiştir. Morfolojik analiz ve oksidatif stresin analizi, kontrol grubuna kıyasla önemli sayıda ölü hücre ortaya çıkarmıştır. Flow sitometri sonuçları, delphinidin'in T24 hücrelerinin doza bağımlı apoptozuna neden olduğunu ortaya koymuştur.

Delphinidin'in sitotoksitesi T24 hücreleri, RPMI-1640 ortamında 24 saat boyunca çözünmüş farklı konsantrasyonlarda delphinidin'e maruz kalırken, kontrol hücreleri araca (RPMI-1640 ortam) maruz bırakılmıştır. Delphinidin'in doza bağımlı sitotoksik etkisi, 34 µg / mL'lik bir IC<sub>50</sub> ile gözlenmiş, delphinidin'in maksimum büyüme inhibitör etkisi 60 µg / mL konsantrasyonunda etkin gözlenmiştir. (111).

Glioblastoma, insanlarda en ölümcül beyin tümörüdür. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, 5-aza-2-deoksitidin (AzaC), tümör baskılayıcı mikroRNA-137'nin (miR-137) ekspresyonunda dolaylı bir artışla insan glioblastoma kök hücrelerinde hücre döngüsü ilerlemesini inhibe edebileceğini düşündürmektedir. Bu sebeple Chakrabart ve Ray MiR-137'nin dolaylı veya doğrudan aşırı ekspresyonundan sonra glioblastoma büyümesinin inhibisyonunu ve ardından delphinidin tedavisinin araştırmıştır. Hücre büyümesinin en yüksek inhibisyonu, insan glioblastoma U87MG ve LN18 hücrelerinde 10 µM AzaC ve 50 µM Delphinidin kombinasyonu ile tedavi ile meydana gelmiştir. Sonuçlar ayrıca miR-137 taklitlerinin doğrudan transfeksiyonu ve delphinidin tedavisinden sonra en yüksek miR-137 ekspresyonunu göstermiştir. MiR-137 mimiks transfeksiyonu ve delphinidin tedavisinin kombinasyonu, insan mikrovasküler endotel hücreleri ile ko-kültürde insan glioblastoma hücrelerinde anjiyojenik faktörün (VEGF) en az ekspresyonu

nedeniyle hücre invazyonunun en yüksek inhibisyonuna neden olmuş ve anjiyojenik ağ oluşumunu önlemiştir. Bu kombinasyon stratejisi sağkalım faktörlerini (p-Akt ve NF-κB), anjiyojenik faktörleri (VEGF ve b-FGF), büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) ve invaziv faktörleri (MMP-9 ve MMP-2) en etkili şekilde inhibe etmiştir. MiR-137'nin doğrudan aşırı ekspresyonu, dışsal ve intrinsik yolların aktivasyonu ile apoptozu indüklemek için delfinidin'in etkinliğini en etkili şekilde arttırmıştır. Bu nedenle, sıralı miR-137 aşırı ekspresyonu ve delfinidin tedavisi, insan glioblastoma hücrelerinin büyümesini inhibe etmek için umut verici bir kombinasyon tedavisi olabilir (112).

Resveratrolün (RSV) kanser hücrelerinin yaşayabilirliği üzerindeki etkilerini incelemek için, pankreas kanseri hücreleri Panc-1 ve Mia pac-2, 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca artan dozlarda RSV (0, 25, 50, 100 ve 200 µM) ile tedavi edilmiş ve MTT testi kullanılarak hücre canlılığı değerlendirilmiştir. Resveratrol, kanser hücrelerinin büyümesini doz ve zamana bağlı bir şekilde azaltmıştır. RSV'nin düşük konsantrasyonları (25 ve 50 µ M) sadece hafif sitotoksisite sergilemiş, ancak yüksek konsantrasyonlar (100 ve 200 µM) hücre canlılığını engellemiştir. Resveratrolün pankreas kanseri hücrelerinde proliferasyon ve apoptoz üzerindeki inhibitör etkisini daha fazla araştırmak için, Panc-1 ve Mia paca-2 hücrelerinde resveratrol kaynaklı apoptozu Flow sitometri ile ölçülmüştür. Hücreler 48 saat boyunca RSV (50 µM) ile tedavi edildi ve Panc-1 ve Mia paca-2 hücrelerinde Flow sitometrik analizleri yapıldı. 50 µM resveratrolün, tedavi edilmeyen kontrol hücrelerine kıyasla apoptotik popülasyonda bir artışa neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca, 50 µM resveratrol ile yapılan tedavi, Panc-1 ve Mia paca-2 hücrelerinin koloni oluşumunu kontrol gruplarınıninkine kıyasla önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuçlar, resveratrolün klon oluşumuna karşı güçlü bir etkiye sahip olduğunu ve kanser hücrelerinde apoptozu indüklediğini göstermiştir (113).

Hispidulinin tümör büyümesi üzerinde inhibitör etkiler gösterip göstermediğini belirlemek için, bir ksenograft insan pankreas tümörü fare modeli ile çalışma yapılmıştır. Sonuçlar, 35 gün boyunca 20 mg / kg hispidulin ile SC tedavisinin tümör hacmini ve tümör ağırlığını önemli ölçüde baskıladığını, ancak fare vücut ağırlığı üzerinde çok az etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Bu veriler,

hispidulinin tümör büyümesini *in vivo* olarak baskılama yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (114).

Apigeninin BxPC-3 ve PANC-1 insan pankreas kanseri hücreleri üzerindeki inhibitör etkilerini incelemek ve flavonoid apigeninin glikojen sentaz kinaz-3 $\beta$  / nükleer faktör kappa B sinyal yolu ile ilişkili antiproliferatif etki mekanizmasına odaklanan bir çalışmada Apigeninin BxPC-3 ve PANC-1 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri test edilmiştir (IC<sub>50</sub> = BxPC-3 ve IC için 24 ve 48 saat için 23 ve 12  $\mu$ M<sub>50</sub> = PANC-1 için 24 ve 48 saat için 71 ve 41  $\mu$ M). Apigenin, glikojen sentaz kinaz-3 $\beta$ /nükleer faktör kappa B sinyal yolunun inhibisyonu yoluyla pankreas hücre ölümünü indüklemiştir. Apigenin, apoptozun mitokondriyal yolunu aktive etmiştir. (BxPC-3 ve PANC-1 için sırasıyla 50  $\mu$ M'de % 44 ve% 14) ve apoptotik proteinlerin ekspresyonunu değiştirmiştir. Apigenin, BxPC-3 hücrelerinde sitokin genleri IL17F (114.2 kat), LTA (33.1 kat), IL17C (23.2 kat), IL17A (11.3 kat) ve IFNB1 (8.9 kat) ekspresyonunu yüksek oranda up regüle etti ve bu da potansiyel olarak antikanser özelliklerine katkıda bulunmuştur (115).

Flavonoid quercetin (yani, doğal formundaki quercetin glukozitleri), pankreas kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser modellerinde antineoplastik aktiviteleri için yaygın olarak araştırılmıştır. Kemopreventif özelliklerini destekleyen kanıtlar, quercetin tedavisinin PANC-1, BxPC-3 ve MiaPaCa-2 gibi *in vitro* pankreas kanseri hücre hatlarının canlılığını veya proliferasyonunu doz ve / veya zamana bağlı bir şekilde azalttığını gösteren çalışmaları içerir (116).

Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmalar, MiaPaCa-2 pankreas kanseri hücrelerinde quercetin alımını *in vitro* olarak ve ayrıca murin pankreas tümörü ksenogreftlerinde, plazmada, akciğerde, karaciğerde ve pankreasta *in vivo* dağılımını değerlendirmiştir. Yazarlar, 30  $\mu$ M quercetin ile tedaviyi takiben, MiaPaCa-2 hücrelerinde nmol / mg protein konsantrasyonunda 30 dakika içinde hızla biriktiğini, ancak seviyesinin zamana bağlı bir şekilde kademeli olarak azaldığını göstermiştir. Gemsitabinin (fare başına 120 mg / kg, yani quercetin (% 1) ile birlikte muamele edilmesinin, pankreas tümörlerinin büyümesinde önemli ölçüde azalmaya neden olduğu bulunurken, gemsitabin, dolaşım sisteminde ve karaciğerde quercetin emilimini azalttı, ancak diğer dokularda azaltmamıştır (116).

Pankreas kanseri de dahil olmak üzere kanser modellerinde kapsamlı olarak çalışılan bir başka diyet polifenol flavonoidi luteolindir. Çok sayıda çalışma, pankreas kanserinin çeşitli in vitro ve in vivo modellerini kullanarak luteolinin rolünü ve kemopreventif mekanizmalarını araştırmıştır. Apigeninin kemoprevensiyon mekanizmalarını ve kemoterapötik ajanların duyarlılığını veya etkinliğini artırma yeteneğini göstermektedir. Cai ve ark. tarafından yürütülen bir çalışma, luteolin tedavisinin PANC-1, COLO-357 ve BxPC-3 pankreas kanseri hücre hatlarının proliferasyonunu apoptozu indükleyerek inhibe ettiğini göstermiştir (117). Bu etkiler, pro-apoptotik Bax'ın artan ekspresyonu ile ilişkili artmış kaspaz-3 ve poli ADP-riboz polimeraz (PARP) bölünmesi ve anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin ekspresyonunun azalması yoluyla aracılık etmiştir. Tübül oluşumunu veya anjiyogenezi incelemek için yaygın olarak kullanılan bir model olan HUVEC hücre hattını kullanarak, yazarlar luteolin'in NF-kB'nin transkripsiyonel aktivitesini baskılama yeteneği yoluyla HUVEC hücre proliferasyonunu ve kılcal oluşumunu inhibe ettiğini ve bunun sonucunda VEGF ekspresyonunun ve sekresyonunun azalmasına neden olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, luteolinin pankreas kanseri hücrelerinde apoptozu indükleyen mekanizmalardan biri olarak anjiyojenliği inhibe ettiğini göstermiştir (117).

Luteolinin pankreas kanserine karşı yararlı etkileri göz önüne alındığında, Johnson ve ark. tarafından yapılan çalışmalar, in vitro BxPC-3 pankreas kanseri hücre modeli kullanarak kemoterapötik ajanlarla kombinasyonunu değerlendirdi. Luteolinin 5FU veya gempitabin ile kombinasyon halinde eşzamanlı tedavisi nispeten daha az sitotoksik etkiye neden olurken, luteolin ile ön tedavi hücreleri bu kemoterapötik ajanların büyüme inhibitörü etkilerine duyarlı hale getirmiştir (118). Bu etkiler, GSK3 $\beta$  ve NF-kB'nin ekspresyonunun azalması ve pro-apoptotik sitokrom c proteininin salınımının artmasıyla aracılık etmiştir. Benzer etkiler başka bir flavonoid apigenin ile gözlenmiştir. Aynı grup tarafından yapılan bir başka çalışma, luteolin'in etkilerini, pankreas kanserinin in vivo ortotopik modelini kullanarak gempitabin ile kombinasyon halinde test etmiştir. Yazarlar, luteolin ve gempitabin ile kombinasyon tedavisinin, kontrol grubuna veya iki tek ajanlı tedavi grubuna kıyasla tümör büyümesinde önemli bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir (119). Mekanik olarak, luteolin + gempitabin kombinasyon tedavisi ile

K-ras / GSK3 $\beta$  / NF-kB yolunun inhibisyonunun, artmış kaspaz-3 aktivasyonu ve azalmış Bcl-2 / Bax oranı ve sitokrom c salınımı ile doğrulandığı gibi azalmış tümör hücresi proliferasyonu ve artmış apoptoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur (119). Bu bulgular, luteolin'in pankreas kanserine karşı büyümeyi inhibe etmek veya kemoterapi duyarlılığını arttırmak için hem in vitro hem de in vivo modellerde benzer sinyal yollarını hedeflediğini göstermiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya genelinde ve Türkiye’de kanser vaka sayıları her geçen yıl daha da artış gösterme seyrindedir. Kanser, toplam ölümlerin bütün dünyada en başta gelen nedenini teşkil etmektedir. Gerçekleştirilen istatistikler ve tahminler, kanser insidans değerlerinin gelecek yıllar için de oldukça yüksek seyredeceğini bizlere göstermektedir. Bunun sonucu olarak ortalama insan ömrü ve yaşam kalitesi seviyelerindeki azalmayla birlikte kanser sebebiyle sağlık ekonomisinin ve dolayısıyla da ülkelerin karşılaştacağı ekonomik zorluklar da artış gözlenecektir. Tüm bu sebeplerden ötürü kansere yönelik devam edilen bu savaş sürecinde terapötik amaçlı olarak kullanılabilir, ciddi potansiyele sahip yeni nesil tedavi girişimlerinin etkinliklerinin, kullandıkları moleküler mekanizmalar ve henüz açıklanamamış özelliklerinin değerlendirilmesi hem dünyamız hem de ülkemiz adına kritik öneme sahiptir.

Projemizde literatürde daha önce yer almamış olup, ilk defa sunulan çalışmamız ile gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda saptadığımız bulguların, hem bizlerin bir sonraki çalışmaları için hem de bu konuda çalışan diğer araştırmacılar için yol gösterici nitelikte olacağına inanmaktayız.

Çalışmamızda ilk olarak hücre proliferasyon düzeyi değişiklikleri inceledik. Tangeretin ve delfinidin tedavilerinin PANC-1 hücre hatlarındaki proliferasyonu önemli ölçüde inhibe ettiği gözlemlendi. Deney sonuçlarımıza göre yine tangeretin ve delfinidin tedavilerinin PANC-1 hücre hatlarında koloni şekillendirme kapasitesini önemli ölçüde azalttığı belirlendi ve bu sonuç da proliferasyon üzerine olan etkiyi destekledi. Bu sonuçlar 50 ve 100  $\mu\text{M}$  yalnızca tangeretin ve yalnızca delfinidin uygulanması; kombinasyon formlarında ise 1  $\mu\text{M}$  tangeretin+1  $\mu\text{M}$  delfinidin , 5  $\mu\text{M}$  tangeretin+5  $\mu\text{M}$  delfinidin, 0,1  $\mu\text{M}$  tangeretin+1  $\mu\text{M}$  delfinidin ve 0,1  $\mu\text{M}$  tangeretin+5  $\mu\text{M}$  delfinidin uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Kombinasyon gruplarında proliferasyon düzeyini en fazla azaltan grup ve 0,1  $\mu\text{M}$  tangeretin+5  $\mu\text{M}$  delfinidin uygulaması olarak tespit edildi. Bu durumda düşük dozlarda tangeretin ve delfinidin kombine uygulaması tek başına yüksek dozlara göre PANC-1 hücre hattında proliferasyonu inhibe edici özellik göstermiştir.

Koloni formasyon deneyi çoğunlukla, sitotoksik ajanların ve diğer antikanser terapötiklerin etkilerinin farklı hücre hatları üzerindeki koloni oluşturabilme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Çalışmamızda koloni formasyon testi ile her iki maddenin de PANC-1 hücrelerinin koloni oluşturması üzerinde inhibe edici etkileri artan konsantrasyonlara bağlı olarak gözlenmiştir. Ancak kombinasyon formunda 10 µM tangeretin+10 µM delfinidin ve 50 µM tangeretin ve 50 µM delfinidin'de PANC-1 hücrelerinin koloni oluşturması üzerinde inhibe edici etkileri daha fazla olmuştur.

Hücre migrasyonunu değerlendirmek için yaptığımız yara iyileşmesi testi ile birlikte kontrol ve cisplatin grubuna PANC-1 hücre hatlarının göre yara iyileşmesi kapasitesini önemli ölçüde azaltan grup 50 µM tangeretin ve delfinidin ayrı uygulamasında gözlenirken; Kombinasyon halinde 25 µM tangeretin ve delfinidin uygulaması yara iyileşmesinde azalma göstermiştir.

Western blot testinde membranlar Bax, Bcl-2 antikorları gibi hücre ölümü ile ilgili primer antikorlar ile muamele edilmiştir. Sonuçlar düşük dozlarda tangeretin ve delfinidin kombinasyonunun apoptoz indükleyici etkiler sergilediğini göstermektedir.

PANC-1 hücre hattında Flow sitometri ile belirlenen apoptoz düzeyleri kontrole göre, uygulanan tangeretin ve delfinidin tedavilerinde önemli düzeyde artışlar göstermiştir.

Bu çalışma sunduğu bulgular ile literatürde bu kapsamda ilk çalışma olması nedeniyle önem arz etmektedir. Elde edilen bu bulgular ile uygulanan terapötik girişimin pankreas kanserinin organizmadaki yayılışını ve progresyonunu inhibe ederek onun kronik bir hastalık şekline dönüşmesini sağlayabilecek, standart olarak kullanılan kemoterapötiklerin etkinliklerini artırabilecek, pankreas kanserine savaşta önemli bir potansiyele sahip olabileceği söylenebilir. Ayrıca bu bilgilerin hem gelecek in vivo/in vitro araştırmalar ve hem de translasyonel çalışmalar için yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

Sonuç olarak tüm bu veriler ile birlikte tangeretin ve delfinidin PANC-1 hücrelerinde hücre proliferasyonu, koloni formasyonu, apoptoz üzerine önemli

etkilere sahip olduğu ortaya konulmuştur. Özetle, kombine olarak tangeretin ve delfinidin ile tedavi, ileride yapılacak ilave çalışmaların ışığında pankreas kanseri hastalarında faydalı ve uygulanabilir bir girişim olabilecektir.

## KAYNAKÇA

1. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory. 2018.
2. Dastjerdi MN, Babazadeh Z, Salehi M, Hashemibeni B, Kazemi M. Comparison of the anti-cancer effect of Disulfiram and 5-Aza-CdR on pancreatic cancer cell line PANC-1. Adv Biomed Res.156, 2014, , Cilt 3.
3. Gao R. In vitro development of islets from human adult pancreatic tissues. Finland : Academic dissertation, Program of Developmental and Reproductive Biology Faculty of Medicine and Pediatric Graduate School Hospital for Children and Adolescents University of Helsinki, 2007.
4. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical of Medical. 11.baskı. Pennsylvania : Insevier inc, 2006. s. 961-976.
5. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. [dü.] Türk Fizyolojik Bilimler Derneği. 20. Ankara : Nobel Tıp Kitabevi, 2001. s. 323-483.
6. Kern HF. Anatomy and Histology of the Pancreas. Pancreapedia:Exocrine Pancreas Knowledge Base. [Çevrimiçi] 21 Mart 2014. [Alıntı Tarihi: 27 Ocak 2022.] <https://www.pancreapedia.org>.
7. Kesler O. Akut pankreatit tedavisinde erken kolesistektominin yeri. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul : yazarı bilinmiyor, 2008. s. 6-16, Uzmanlık tezi.
8. Sarsılmaz M. Anatomi. 1. Ankara : Nobel Tıp Kitabevi, 2009. s. 173.
9. Konstantinova I, Lammert E. Microvascular development: learning from pancreatic islets. 2004, Bioessays, Cilt 26, s. 1069-1075.
10. Roncoroni L, Violi V, Montanari M, Muri M. Effect of somatostatin on exocrine pancreas evaluated on a total external pancreatic fistula of neoplastic origin. 1983, Am J Gastroenterol, Cilt 78, s. 425-428.\*/\*
11. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN. <https://gco.iarc.fr>. [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 22 Aralık 2022.] <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>.
12. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre L. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 can-cers in 185 countries. 6, 2018, CA Cancer J Clin, Cilt 68, s. 394-424.
13. Çetin Ş, Dede İ Pankreas Kanserinde Progrestik Faktörler.. 1, 2019, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Cilt 26, s. 30-34.
14. Rawla P, Sunkara T, Gaduputi V Epidemiology of Pancreatic Cancer: 1, 2019, World Journal of Oncology, Cilt 10, s. 10-27.
15. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and

Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. 3, 2021, *Cancer Journal for Clinicians*, Cilt 71, s. 209-249.

16. Ezzati M, Henley SJ, Lopez AD. Role of smoking in global and regional cancer epidemiology: current patterns and data needs. *Thun MJ*. 6, 2005, *Int J Cancer*, Cilt 116, s. 963-971.

17. Lynch SM, Vrieling A, Lubin JH, Kraft P, Mendelsohn JB, Hartge P, Canzian F, et al. Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. 4, 2009, *Am J Epidemiol*, Cilt 170, s. 403-413.

18 Vrieling A, Bueno-de-Mesquita HB, Boshuizen HC, Michaud DS, Severinsen MT, Overvad K, Olsen A, et al. Cigarette smoking, environmental tobacco smoke exposure and pancreatic cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. 2010, *Int J Cancer*, s. 2394-2403.

19. Wang YT, Gou YW, Jin WW, Xiao M, Fang HY. Association between alcohol intake and the risk of pancreatic cancer: a dose-response meta-analysis of cohort studies. 2016, *BMC Cancer*, s. 212.

20. Tramacere I, Scotti L, Jenab M, Bagnardi V, Bellocchio R, Rota M, Corrao G, et al. Alcohol drinking and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of the dose-risk relation. 6, 2010, *Int J Cancer*, Cilt 126, s. 1474-1476.

21. Rahman F, Cotterchio M, Cleary SP, Gallinger S. Association between alcohol consumption and pancreatic cancer risk: a case-control study. 2015, *PLoS One*, s. e0124489.

22. Davoodi SH, Malek-Shahabi T, Malekshahi-Moghadam A, Shahbazi R, Esmaeili S. Obesity as an important risk factor for certain types of cancer. 4, 2013, *Iran J Cancer Prev*, Cilt 6, s. 186-194.

23. Berrington de Gonzalez A, Sweetland S, Spencer E. A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. 3, 2003, *Br J Cancer*, Cilt 89, s. 519-523.

24. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. 2003, *N Engl J Med*, s. 1625-1638.

25. Aune D, Greenwood DC, Chan DS, Vieira R, Vieira AR, Navarro Rosenblatt DA et al. Body mass index, abdominal fatness and pancreatic cancer risk: a systematic review and non-linear dose-response meta-analysis of prospective studies. 4, 2012, *Ann Oncol*, Cilt 23, s. 843-852. doi:10.1093/annonc/mdr363.

26. Michaud DS, Skinner HG, Wu K, Hu F, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, et al. Dietary patterns and pancreatic cancer risk in men and women. 7, 2005, *J Natl Cancer Inst*, Cilt 97, s. 518-524.

27. Lightsey D. Comment on 'Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies'. 4, 2012, *Br J Cancer*, Cilt 107, s. 754-755.

28. Stolzenberg-Solomon RZ, Cross AJ, Silverman DT, Schairer C, Thompson FE, Kipnis V, Subar AF, et al. Meat and meat-mutagen intake and

pancreatic cancer risk in the NIH-AARP cohort. 12, 2007, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, Cilt 16, s. 2664-2675.

29. Paluszkiwicz P, Smolinska K, Debinska I, Turski WA. Main dietary compounds and pancreatic cancer risk. The quantitative analysis of case-control and cohort studies. 1, 2012, *Cancer Epidemiol*, Cilt 36, s. 60-67.

30. Partanen TJ, Ahlbom A, Boffetta P, Hakulin-en T, Jourenkova N, Kauppinen TP, et al. Occupational exposures and pancreatic cancer: a meta-analysis. Jajarvi IA, 2000, *Occup Environ Med*, s. 316-324.

31. Schwartz GG, Reis IM Is cadmium a cause of human pancreatic cancer?. 2, 2000, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, Cilt 9, s. 139-145.

32. Kriegel AM, Soliman AS, Zhang Q, El-Ghawalby N, Ezzat F, Soultan A, Abdel-Wahab M, et al. Serum cad-mium levels in pancreatic cancer patients from the East Nile Delta region of Egypt. 1, 2006, *Environ Health Perspect*, Cilt 114, s. 113-119.

33. Yorifuji T, Tsuda T, Doi H, Grandjean P. Cancer excess after arsenic exposure from contaminated milk powder.. 3, 2011, *Environ Health Prev Med.*, Cilt 16, s. 164-170.

34. Yorifuji T, Tsuda T, Grandjean P. Unusual cancer excess after neonatal arsenic exposure from contaminated milk powder. 5, 2010, *J Natl Cancer Inst*, Cilt 102, s. 360-361.

35. Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. 2, 2001, *Public Health Nutr*, Cilt 4, s. 593-599.

36. Fowler BA, Whittaker MH, Lipsky M, Wang G, Chen XQ. Oxidative stress induced by lead, cadmium and arsenic mixtures: 30-day, 90-day, and 180-day drinking water studies in rats: an overview. 5, 2004, *Biometals*, Cilt 17, s. 567-568.

37. Schrauzer GN. Anticarcinogenic effects of selenium. 13-14, *Cell Mol Life Sci*, Cilt 57, s. 1864-1673.

38. Brotherton L, Welton M, Robb SW. Racial disparities of pancreatic cancer in Georgia: a county-wide comparison of incidence and mortality across the state, 2000-2011. 1, 2016, *Cancer Med.*, Cilt 5, s. 100-110.

39. Ma J, Siegel R, Jemal A. Pancreatic cancer death rates by race among US men and women, 1970-2009. 22, 2013, *J Natl Cancer Inst*, Cilt 105, s. 1694-1700.

40. Society, American Cancer. Cancer Facts and Figures 2014. <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2014>. [Çevrimiçi] 2014.

41. Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pan-creatitis and pancreatic cancer. 2013, *Cilt 144*, s. 1252-1261.

42. Perek S. Hepato-Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları. İstanbul : İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 2002. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Cilt 28, s. 215-230.

43. Ghiorzo P. Genetic predisposition to pancreatic cancer. 2014, *World J Gastroenterol*, s. 10778–10789.
44. Shi C, Daniels JA, Hruban RH. Molecular characterization of pancreatic neoplasms. 4, 2008, *Adv Anat Pathol*, Cilt 15, s. 185-195.
45. Klein AP. Genetic susceptibility to pancreatic cancer. 1, 2012, *Mol Carcinog*, Cilt 51, s. 14-24.
46. American Gastroenterological Association. Epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. American gastroenterological association. *Gastroenterology*. 1999, Cilt 117, s. 1463-1484.
47. Krech RL, Walsh D. Symptoms of pancreatic cancer. 6, 1991, *Pain Symptom Manage*, Cilt 6, s. 360-367.
48. De La Cruz MS, Young AP, Ruffin MT. Diagnosis and management of pancreatic cancer. 8, 2014, *Am Fam Physician*, Cilt 89, s. 626-632.
49. Avgerinos DV, Bjornsson J. Malignant neoplasms: discordance between clinical diagnoses and autopsy findings in 3,118 cases. 11, 2001, *APMIS*, Cilt 109, s. 774-780.
50. Sens MA, Zhou X, Weiland T, Cooley AM. Unexpected neoplasia in autopsies: potential implications for tissue and organ safety. 2009, *Arch Pathol Lab Med*, s. 1923-1931.
51. Klauss M, Schobinger M, Wolf I, Werner J, Meinzer HP, Kauczor HU, Grenacher L. Value of three-dimensional reconstructions in pancreatic carcinoma using multidetector CT: initial results. 15, 2009, *World J Gastroenterol*, Cilt 46, s. 5827-5832.
52. Wong JC, Lu DS. Staging of pancreatic adenocarcinoma by imaging studies. 6, 2008, *Clin Gastroenterol Hepatol*, Cilt 12, s. 1301-1308.
53. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic Cancer. 2011, *Lancet*, s. 607-620.
54. Harewood GC, Wiersema MJ. Endosonography-guided fine needle aspiration biopsy in the evaluation of pancreatic masses. 2002, *Am J Gastroenterol*, s. 1386-1391.
55. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, Asbun H, Bain A, Behrman SW, Benson AB, et al. Pancreatic adenocarcinoma, Version 2.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. 15, 2017, *J Natl Compr Canc Netw.*, Cilt 8, s. 1028-1061.
56. Safi F, Roscher R, Bittner R, Schenkluhn B, Dopfer HP, Begler HG. High sensitivity and specificity of CA 19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. Serological and immunohistochemical findings. *Pancreas*. [Çevrimiçi] 1 Ocak 1987. [Alıntı Tarihi: 4 Şubat 2022.] [https://journals.lww.com/pancreasjournal/Abstract/1987/07000/High\\_Sensitivity\\_and\\_Specificity\\_of\\_CA\\_19\\_9\\_for.6.aspx](https://journals.lww.com/pancreasjournal/Abstract/1987/07000/High_Sensitivity_and_Specificity_of_CA_19_9_for.6.aspx).

57. Evans DB, Varadhachary GR, Crane CH, et al. Preoperative gemcitabine-based chemoradiation for patients with resectable adenocarcinoma of the pancreatic head. 2008, *Journal of clinical oncology*, Cilt 26, s. 3496–3502.
58. Tempero MA, Arnoletti JP, Behrman SW, et al. Pancreatic Adenocarcinoma, version 2.2012: featured updates to the NCCN Guidelines. 2012, *J Natl Compr Canc Netw*, Cilt 10, s. 703–713.
59. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouysegu L. Bitki Polifenoller: Kimyasal Özellikler, Biyolojik Aktiviteler ve Sentez. 2011, *Angew. Kimya Int. Ed*, Cilt 50, s. 586–621.
60. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *The Journal of Controlled Release*, s. 189–207.
61. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. 2016, *J. Nutr. Sci*, s. 47.
62. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. 2013, *Sci. World J.*, Cilt 2013.
63. Bracke ME, Vanhoecke BWA, Derycke L, Bolca S, Possemiers S, Heyerick A. Plant polyphenolics as anti-invasive cancer agents. 2008, *Anticancer Agents Med*, s. 171-185.
64. Rafiq S, Kaul R, Sofi S, Bashir N, Nazir F, Nayik G. Citrus peel as a source of functional ingredient: a review. 4, 2018, *J. Saudi Soc. Agric. Sci.*, Cilt 17, s. 351-358.
65. Meiyanto E, Hermawan A. 2012, *Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP.*, Cilt 13, s. 427-436.
66. Feng SL, Yuan ZW, Yao XJ, Ma WZ, Liu L, Liu ZQ, Xie Y. Tangeretin, a citrus pentamethoxyflavone, antagonizes ABCB1-mediated multidrug resistance by inhibiting its transport function. 2016, *Pharmacol. Res.*, Cilt 110, s. 193-204.
67. Ishii K, Tanaka S, Kagami K, Henmi K, Toyoda H, Kaise T, Hirano T. Effects of Naturally Occurring Polymethoxyflavonoids on Cell Growth, P-Glycoprotein Function, Cell Cycle, and Apoptosis of Daunorubicin-Resistant T Lymphoblastoid Leukemia Cells. 2010, *Cancer Invest*, Cilt 28, s. 220-229.
68. Zhang X, Zheng L, Sun Y, Wang T, Wang B. Tangeretin enhances radiosensitivity and inhibits the radiation induced epithelial mesenchymal transition of gastric cancer cells. 2015, *Oncol. Reports*, s. 302-310.
69. Arafa E-SA, Shurrab BT, Buabeid MA. Therapeutic Implications of a Polymethoxylated Flavone, Tangeretin, in the Management of Cancer via Modulation of Different Molecular Pathways. 2021, *Adv Pharmacol Pharm Sci*.
70. Pieńkowska N, Bartosz G, Furdak P, Sadowska-Bartosz I. Delphinidin Increases the Sensitivity of Ovarian Cancer Cell Lines to 3-Bromopyruvate. 709, 2021, *Int. J. Mol. Sci.*, Cilt 22.



71. Ozbay T, Nahta R. Delphinidin inhibits HER2 and Erk1/2 signaling and suppresses growth of HER2-overexpressing and triple. *Breast Cancer Basic Clin. Res.* 2011, Cilt 5, s. 143-154.
72. Chen Z, Zhang R, Shi W, Li L, Liu H, Liu Z, Wu L. The Multifunctional Benefits of Naturally Occurring Delphinidin and Its Glycosides. *J. Agric. Food Chem.* 2019, Cilt 67, s. 11288-11306.
73. Wang X, Kang Y, Li J, Jing L, Zhang Y. Antiproliferative and apoptosis inducing effect of delphinidin against human bladder cancer cell line. *Pharmacogn. Mag.* 2021, Cilt 17, s. 101.
74. Lim W, Song G. Inhibitory effects of delphinidin on the proliferation of ovarian cancer cells via PI3K/AKT and ERK 1/2 MAPK signal transduction. *Oncol. Lett.* 2017, Cilt 14, s. 810-818.
75. Kim MH, Jeong YJ, Cho HJ, Hoe HS, Park KK, Park YY, Choi YH, Kim CH, Chang HW, Park YJ, et al. Delphinidin inhibits angiogenesis through the suppression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression in A549 lung cancer cells. *Oncol. Rep.* 2016, Cilt 37, s. 777-784.
76. Pal HC, Sharma S, Strickland LR, Agarwal J, Athar M, Elmets CA, Afaq F. Delphinidin Reduces Cell Proliferation and Induces Apoptosis of Non-Small-Cell Lung Cancer Cells by Targeting EGFR/VEGFR2 Signaling Pathways. *PLoS ONE.* 2013, Cilt 8, s. e77270.
77. Lee W, Yun JM. J.-M. Suppression of  $\beta$ -catenin Signaling Pathway in Human Prostate Cancer PC3 Cells by Delphinidin. *J. Cancer Prev.* 2016, Cilt 21, s. 110-114.
78. Kuo HCD, Wu R, Li S, Yang AY, Kong AN. Anthocyanin Delphinidin Prevents Neoplastic Transformation of Mouse Skin JB6 P+ Cells: Epigenetic Re-activation of Nrf2-ARE Pathway. *AAPS J.* 2019, Cilt 21, s. 83.
79. Kang NJ, Lee KW, Kwon JY, Hwang MK, Rogozin EA, Heo YS, Bode AM, Lee HJ, Dong Z. Delphinidin Attenuates Neoplastic Transformation in JB6 Cl41 Mouse Epidermal Cells by Blocking Raf/Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase/Extracellular Signal-Regulated Kinase Signaling. *Cancer Prev. Res.* 2008, Cilt 1, s. 522-531.
80. Lim W, Song G. Inhibitory effects of delphinidin on the proliferation of ovarian cancer cells via PI3K/AKT and ERK 1/2 MAPK signal transduction. *Oncol. Lett.* 2017, Cilt 14, s. 810-818.
81. Kockx MM, Muhring J, Knaapen MWM, De Meyer GRY. RNA synthesis and splicing interferes with DNA in situ end labeling techniques used to detect apoptosis. *RNA.* 4, 1998, *Am. J. Pathol.* Cilt 152, s. 885.
82. Overbeeke R, Steffens-Nakken H, Vermes I, Reutelingsperger C, Hanen C. Early features of apoptosis detected by four different flow cytometry assays. 2, 1998, *Apoptosis*, Cilt 3, s. 115-121.

83. Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, Reutelingsperger C. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. 3. 1995, *J Immunol Methods*, Cilt 184, s. 39-51.
84. Yun JM, Afaq F, Khan N, Mukhtar H. Delphinidin, an anthocyanidin in pigmented fruits and vegetables, induces apoptosis and cell cycle arrest in human colon cancer HCT116 cells. *Mol. Carcinog.*, Cilt 48, s. 260-270.
85. Garcia M, Jemal A, Ward EM, Center MM, Hao Y, Siegel RL, & Thun M. *Global Cancer Facts & Figures 2007*. 52, Atlanta : yazarı bilinmiyor, 2007, GA: American Cancer Society, Cilt 1.
86. GLOBOCAN. N. European age-standardised rates calculated by the statistical information team at cancer research . GLOBOCAN 2008 v1.2, IARC. [Çevrimiçi] 2011 . <http://globocan.iarc.fr..>
87. Çapanoğlu Güven E, Toydemir Otkun G, Boyacıoğlu D. Flavonoidlerin Biyoyararlılığını Etkileyen Faktörler. *The Journal Of Food*. 2010, Cilt 35, 5, s. 387-394.
88. Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 2010, Cilt 15, 10, s. 7313-7352;.
89. Okuyama S, Miyazaki K, Yamada R, Amakura Y, Yoshimura M, Sawamoto A, Nakajima M, Furukawa Y. Permeation of polymethoxyflavones into the mouse brain and their effect on MK-801-induced locomotive hyperactivity. 3, 2017, *Int. J. Mol. Sci.*, Cilt 18, s. 486.
90. Li Z, Zhou Z. Simultaneous separation and purification of five polymethoxylated flavones from "Dahongpao" tangerine (*Citrus tangerina* Tanaka) using macroporous adsorptive resins combined with prepHPLC. 10, 2018, *Molecules*, Cilt 23, s. 2660.
91. Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K, Yano M. Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines.. 1999, *Biosci. Biotech. Biochem.*, Cilt 63, s. 896-899.
92. Surichan S, Arroo RR, Tsatsakis AM, Androutsopoulos VP. Tangeretin inhibits the proliferation of human breast cancer cells via CYP1A1/CYP1B1 enzyme induction and CYP1A1/CYP1B1-mediated metabolism to the product 4' hydroxy tangeretin. 2018, *Toxicol In Vitro* , Cilt 50, s. 274-284.
93. Tumbas VT, Ćetković GS, Đilas SM, Čanadanović-Brunet JM, Vulić JJ, Knez Ž, Škerget M. Antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata*) peel. Ocak 2010, *Acta Periodica Technologica*, Cilt 41, s. 194-203.
94. Morley KL, Ferguson PJ, Koropatnick J. Tangeretin and nobiletin induce G1 cell cycle arrest but not apoptosis in human breast and colon cancer cells. 2007, *Cancer Lett.*, s. 168-178.

95. Lin JJ, Huang CC, Su YL, Luo HL, Lee NL, Sung MT, Wu YJ. Proteomics analysis of tangeretin-induced apoptosis through mitochondrial dysfunction in bladder cancer cells. 2019, *Int. J. Mol. Sci.*
96. Pan MH, Chen WJ, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JK. Tangeretin induces cell-cycle G1 arrest through inhibiting cyclin-dependent kinases 2 and 4 activities as well as elevating Cdk inhibitors p21 and p27 in human colorectal carcinoma cells. 2002, *Carcinogenesis*, s. 1677-1684.
97. Yumnam S, Raha S, Kim SM, Venkataram Gowda Saralamma V, Lee HL, Ha SE, Heo JD, Lee SJ, Kim EH, Lee WS, Kim JA, Kim GS. Identification of a novel biomarker in tangeretin induced cell death in AGS human gastric cancer cells. 2018, *Oncol. Rep.*, Cilt 40, s. 3249-3260.
98. Guo JJ, Li YJ, Xin LL. Tangeretin prevents prostate cancer cell proliferation and induces apoptosis via activation of notch signalling and regulating the androgen receptor (AR) pathway and the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT/mTOR pathways. 2015, *Bangladesh J. Pharmacol.*, Cilt 10, s. 937.
99. Zheng J, Shao Y, Jiang Y, Chen F, Liu S, Yu N, Zhang D, Liu X, Zou L. Tangeretin inhibits hepatocellular carcinoma proliferation and migration by promoting autophagy-related BECLIN. 11 (2019) 5231. 2019, *Canc. Manag. Res.*, Cilt 11, s. 5231.
100. Rodriguez J, Y'anez J, Vicente V, Alcaraz M, Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Lozano JA. Effects of several flavonoids on the growth of B16F10 and SK-MEL-1 melanoma cell lines: relationship between structure and activity. 2002, *Melanoma Res.*, Cilt 12, s. 99-107.
101. Meiyanto E, Fitriyani A, Hermawan A, Junedi S, Susidart RA. The improvement of doxorubicin activity on breast cancer cell lines by tangeretin through cell cycle modulation. 2011, *Orient. Pharm. Exp. Med.*, s. 1896-1902.
102. Lust S, Vanhoecke B, Van Gele M, Philipp'e J, Bracke M, Offner F. The flavonoid tangeretin activates the unfolded protein response and synergises with imatinib in the erythroleukemia cell line K562. 2010, *Mol. Nutr. Food Res.*, Cilt 54, s. 823-832.
103. Depypere HT, Bracke ME, Boterberg T, Mareel MM, Nuytinck MM, Vennekens K, Serreyn R. Inhibition of tamoxifen's therapeutic benefit by tangeretin in mammary cancer. 2000, *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.*, Cilt 36, s. 73.
104. Arab HH, Mohamed WR, Barakat BM, Arafa E-SA. Tangeretin attenuates cisplatin-induced renal injury in rats: impact on the inflammatory cascade and oxidative perturbations. 2016, *Chem. Biol. Interact.*, Cilt 258, s. 205-213.
105. Kang SH, Bak D-H, Chung BY, Bai HW, Kang BS. Delphinidin enhances radio-therapeutic effects via autophagy induction and JNK/MAPK pathway activation in non-small cell lung cancer. 2020, *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, Cilt 24, s. 413-422.
106. Lee W, Yun JM. Suppression of  $\beta$ -catenin Signaling Pathway in Human Prostate Cancer PC3 Cells by Delphinidin. 2016, *J. Cancer Prev.*, Cilt 21, s. 110-114.

107. Gasmi J, Sanderson JT. Growth Inhibitory, Antiandrogenic, and Pro-apoptotic Effects of Punicic Acid in LNCaP Human Prostate Cancer Cells. 2010, *J. Agric. Food Chem.*, Cilt 58, s. 12149–12156.
108. Kang HM, Park BS, Kang HK, Park HR, Yu SB, Kim IR. Delphinidin induces apoptosis and inhibits epithelial-to-mesenchymal transition via the ERK/p38 MAPK-signaling pathway in human osteosarcoma cell lines. 6, 2018, *Environ. Toxicol.*, Cilt 33.
109. Kim KD, Moon DK, Kim DH Cytotoxic effects of delphinidin in human osteosarcoma cells. . Lee DY, Park YJ, Hwang SC., 58, 2018, *Acta Orthop. Traumatol. Turc*, Cilt 52.
110. Ozbay T, Nahta R. Delphinidin inhibits HER2 and Erk1/2 signaling and suppresses growth of HER2-overexpressing and triple negative breast cancer cell lines. 2011, *Breast Cancer Basic Clin. Res*, Cilt 5, s. 143-154.
111. Wigner P, Bijak M, Saluk-Bijak J. The Green Anti-Cancer Weapon. The Role of Natural Compounds in Bladder Cancer Treatment. 2021, *Int. J. Mol. Sci*, Cilt 22, s. 7787.
112. Ray SK, Chakrabarti M. .Direct transfection of miR-137 mimics is more effective than DNA demethylation of miR-137 promoter to augment anti-tumor mechanisms of delphinidin in human glioblastoma U87MG and LN18 cells. 2015, *Gene*, Cilt 573, s. 141-152.
113. Cheng L, Yan B, Chen K, Jiang Z, Zhou C, Cao J, Qian W, Li J, Sun L, Ma J, Ma Q, Sha H. Resveratrol-Induced Downregulation of NAF-1 Enhances the Sensitivity of Pancreatic Cancer Cells to Gemcitabine via the ROS/Nrf2 Signaling Pathways. 2018, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.*, Cilt 16.
114. He L, Wu Y, Lin L, Wang J, Wu Y, Chen Y, Yi Z, Liu M, Pang X. Hispidulin, a small flavonoid molecule, suppresses the angiogenesis and growth of human pancreatic cancer by targeting vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. 2011, *Cancer Sci.*, Cilt 102, s. 219-225.
115. Jodee LJ, Elvira GM. Flavonoid apigenin modified gene expression associated with inflammation and cancer and induced apoptosis in human pancreatic cancer cells through inhibition of GSK-3 $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling cascade. 12, *Mol. Nutr. Food Res.*, *Mol. Nutr. Food Res.*, Cilt 57, s. 2112-2127.
116. Borska S, Drag-Zalesinska M, Wysocka T, Sopol M, Dumanska M, Zabel M. Antiproliferative and pro-apoptotic effects of quercetin on human pancreatic carcinoma cell lines EPP85-181P and EPP85-181RDB. 2010, *Folia Histochem. Cytobiol.* , Cilt 48, s. 222-229.
117. The molecular mechanism of luteolin-induced apoptosis is potentially related to inhibition of angiogenesis in human pancreatic carcinoma cells. Cai X, Lu W, Ye T, Lu M, Wang J, Huo J, Qian S, Wang X, Cao P. 2012, *Oncol. Rep.*, Cilt 28, s. 1353–1361.

118. Interactions between dietary flavonoids apigenin or luteolin and chemotherapeutic drugs to potentiate anti-proliferative effect on human pancreatic cancer cells, in vitro. Johnson JL, Gonzalez de Mejia E. 2013, Food Chem. Toxicol., Cilt 60, s. 83-91.

119. Luteolin and Gemcitabine Protect Against Pancreatic Cancer in an Orthotopic Mouse Model. Johnson, J.L., ve diğeri. 2015, Pancreas, Cilt 44, s. 144-151.

## **EKLER**

## ÖZGEÇMİŞ

1996 yılının aralık ayında Isparta’da doğdum. İlkokul ve orta öğrenimimi Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu’nda, lise öğrenimimi Milli Piyango Anadolu Lisesi’nde tamamladım. Ardından 2015 yılında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü’nü kazandım ve 2019 yılında mezun oldum. 2020 yılında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Yüksek Lisans programına kabul edildim. 2021 Yılında onkoloji diyetisyeni olarak özel bir klinikte göreve başladım. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Doç. Dr. Mümin Alper ERDOĞAN’ın danışmalığında yüksek lisans öğrencisi olarak eğitim almaktayım.

### Eğitim Bilgileri

2020-2022 İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı

2015-2019 İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü derece:  
3.09/4

2011-2015 Ahmet Melih Doğan Anadolu Lisesi derece:95.52/100

### Kurs/Seminer

1. Dünya Süt Gününde Süt Ve Sağlık Temasıyla ;Beslenme ve Sağlık İç içe Sempozyumu İzmir ,18/05/2016
2. Uluslararası Sağlıklı Beslenme Kongresi Gastrointestinal Hastalıklar İzmir,05/10/2017-07/10/2017
3. 10/08/2017 İngilizce B2 seviye yeterlilik sertifikası Isparta
4. III. Klinik Nutrisyon Öğrenci Kongresi KEPAN , İzmir, Nisan 2018
5. İnsülin Direnci Sempozyumu İzmir,22/03/2017
6. Nutrigenetik Sempozyumu Besin Destekleri ve Nutrigenetik İstanbul 17/03/2018-18/03/2018
7. Genel Beslenme Eğitimi, İKÇÜ İzcilik Topluluğu 10/05/2018
8. BIA ve Antropometrik Vücut Analizi Yöntemleri Eğitim Programı,Tartı Medikal Dış. Tic. ve Pazarlama, 16/05/2018

9. Gıda Hijyeni eğitimi Halk Eğitim Merkezi İzmir 10/07/2019
10. 360 Beslenme Akademisi, ORZAX Akademi 22 Şubat 2021
11. Nutritional Support in Pediatric Patients , ESPEN LLL Programme, 19 Haziran-2021, Ankara.,
12. IHSLC 4. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi, Burdur, Nisan 2021
13. Antioksidanlar ve Kansere Seminer Sunumu, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Fizyoloji ABD, 20 Mayıs 2021
14. Nutritional in Obesity , ESPEN LLL Programme , 7 Eylül-2021.
15. Besin Takviyeleri, Neptün İlaç Firması, 10 Eylül 2021
16. Kansere ve Sağkalım Sempozyumu, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi 17-18 Aralık 2021
17. Fonksiyonel Beslenme Semineri. Metepol, 26. Şubat 2022
18. Erişkin Nutrisyon Dijital Toplantısı, NUTRİGÜNCEL , 27 Mart 2022.

#### Yayınlar

1. 02/05/2018-05/05/2018 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi Sözlü sunum Obezite mi D Vitamini Yetersizliğine Neden Olur Yoksa D Vitamini Yetersizliği mi Obezite Nedenidir? Burdur
2. 02/05/2018-05/05/2018 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi Poster sunumu ‘’sporcularda karbonhidrat yükleme (glikojen yükleme) yarar sağlar mı?’’
3. 10/06/2019 Üniversite Öğrencilerinin Besin Etiket Okuma Alışkanlığının Beslenme Durumuna ve Antropometrik Ölçümlere Etkisi Lisans Tezi/İzmir



### Proje ve Stajlar

- TÜBİTAK inovasyon projesi ‘‘Buğday Ruşeymli Çikolata’’ 2016
- Amerika Birleşik Devletleri Ankara Büyükelçiliği ve Türk Eğitim Derneği İşbirliği ile gerçekleşen Genç İnovatif Girişimcilik Projesi-5 Katılım Ödülü 2014
- Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi 2 Ay ( Mart 2019 - Mayıs 2019 ) Stajyer Diyetisyen
- İzmir Konak Sağlıklı Hayat Merkezi 3 Ay ( Şubat 2019 - Mayıs 2019 ) Stajyer Diyetisyen
- İzmir Atatürk eğitim araştırma hastanesi yemekhanesi 3 Ay ( Ocak 2019 - Nisan 2019 )
- Yüksek Lisans Tez Projesi "Tangeretin ve Delfinidin' in Pankeas Kanseri Hücreleri Üzerine Anti-Kanser Etkileri’’ Ocak 2022

### İş Deneyimleri

- İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi /İzmir-İntörn
- Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi /İzmir - İntörn Diyetisyen
- Konak Toplum Sağlığı Merkezi/İzmir-İntörn Diyetisyen
- Online Beslenme Danışmanlığı/Homeoffice /Halen
- EMS Gym Factory Spor Merkezi/Isparta Haziran 2020-Eylü l2020
- Oncolive clinic /Nisan 2022-Ekim 2022 – diyetisyen

### Bilgisayar Bilgisi

BEBİS Öğrenci 8.1 : Çok İyi.

Microsoft WORD : Çok İyi.

Microsoft PowerPoint : Çok İyi.

Microsoft Excel : Çok İyi.

Microsoft Outlook : Çok İyi.

PSAW Statistics 2018: Çok İyi.

### Yabancı Dil Bilgisi

## 1.İngilizce

-Okuma : Çok iyi

-Yazma: Çok iyi

-Konuşma: İyi

## 2. Almanca

-Okuma: Başlangıç

-Yazma: Başlangıç

-Konuşma: Başlangıç

## Dernek/Kulüp Üyelikleri

-Türkiye Diyetisyenler Derneği

- Klinik Enteral Parenteral Nutrisyon Derneği

- İKÇÜ Doğa Sporları Kulübü

- Türk Kanser Derneği

- İyileştirmek İyiliktir Derneği

- Nutrition Network